



## Aspectos da fisiologia reprodutiva da cadela

*Aspects of the reproductive physiology of the bitch*

Lúcia Daniel Machado da Silva<sup>‡</sup>, David Baruc Cruvinel Lima

Faculdade de Veterinária/Universidade Estadual do Ceará, Fortaleza, Ceará, Brasil.

### Resumo

A convivência entre o cão e o homem é antiga, mas o mesmo não ocorre com o conhecimento acerca da fisiologia reprodutiva da cadela cujos trabalhos pioneiros datam da década de 1970. A partir desses primeiros estudos, muitos avanços foram obtidos, facilitando um melhor acompanhamento do ciclo estral das cadelas. Para tanto, faz-se inicialmente uma avaliação física da cadela, incluindo o escore de condição corporal, a cadeia mamária, a vulva e a vagina. Em seguida, o ciclo estral que tem fases bem características e já bem documentadas é acompanhado. Dentre as ferramentas que podem ser utilizadas nas avaliações, há a colpocitologia, a dosagem sérica de progesterona, a vaginoscopia, a ultrassonografia, dentre outras. Com o emprego dessas ferramentas, foi possível esclarecer alguns aspectos da fisiologia reprodutiva canina. Dessa forma, o propósito dessa narrativa é trazer alguns desses aspectos interessantes da fisiologia reprodutiva da cadela.

**Palavras-chave:** cão, ciclicidade, ciclo estral, ciclo reprodutivo, reprodução.

### Abstract

*The coexistence between the dog and the man is old, but the same does not occur with the knowledge about the reproductive physiology of the bitch whose pioneering works date back to the 1970s. From these initial studies, many advances were obtained, facilitating a better follow-up of the estral cycle of bitches. Therefore, a physical evaluation of the bitch is initially performed, including the body condition score, the mammary chain, the vulva and the vagina. Then, the estrous cycle that has well characterized and well documented phases is followed up. Among the tools that can be used in the evaluations are colpocitology, serum progesterone assay, vaginoscopy, ultrasonography, among others. Using these tools, it was possible to clarify some aspects of canine reproductive physiology. In this way, the purpose of this brief narrative is to bring some of these interesting aspects of the bitch's reproductive physiology.*

**Keywords:** dog, cyclicity, estrous cycle, reproductive cycle, reproduction.

### Introdução

Há milhares de anos que a espécie canina convive com a espécie humana. O cão descende do lobo e parece ter sido domesticado entre 40.000 e 27.000 anos atrás. Essa conclusão foi obtida depois que o material genético de um lobo siberiano que viveu há cerca de 35.000 anos foi analisado. Nessa investigação, foram evidenciados indícios de que os homens mantiveram inicialmente lobos em cativeiro e mesmo após a separação genealógica, lobos e cães mantiveram cruzamentos entre si, derivando raças como os cães de trenó da Groelândia e os Huskies Siberianos (Skoglund et al., 2015).

Apesar dessa convivência de longa data entre homens e cães, o conhecimento acerca da fisiologia reprodutiva da espécie, contrariamente ao que se poderia imaginar, não é muito antiga. Os primeiros trabalhos que foram publicados sobre a fisiologia reprodutiva da cadela datam da década de 70 (Bell et al., 1973; Phemister et al., 1973; Concannon et al., 1975). A partir desses estudos iniciais, uma série de características foram progressivamente sendo elucidadas na espécie.

Dessa forma, quase meio século decorreu e mais alguns aspectos da fisiologia da cadela foram sendo revelados. Diante do exposto, o propósito dessa narrativa é trazer alguns desses aspectos relevantes a respeito da fisiologia reprodutiva da fêmea canina que foram sendo desvendados ao longo desse breve período, com enfoque para cadelas que se destinam à reprodução. Serão abordados aspectos que tangem a avaliação geral e as características do ciclo estral da cadela.

### Avaliação geral de uma reprodutora em potencial

A avaliação de uma cadela candidata à reprodução é essencial. Essa avaliação, no entanto, é pontual e a condição da cadela (de fertilidade, de subfertilidade ou de infertilidade) pode mudar ao longo do tempo. Dessa forma, uma avaliação reprodutiva periódica fornece um banco de dados mínimo para auxiliar o veterinário a fazer um diagnóstico sobre a capacidade reprodutiva de um animal.

<sup>‡</sup>Correspondência: lucia.daniel.machado@hotmail.com

Recebido: 11 de dezembro de 2018

Aceito: 8 de abril de 2019



Avaliações ginecológicas são raramente realizadas em cadelas, em grande parte devido à dificuldade de examinar boa parte dos órgãos reprodutivos. Uma avaliação ginecológica, no entanto, pode fornecer informações valiosas para orientar futuras procriações e pode ajudar a melhorar os índices reprodutivos. Embora uma avaliação ginecológica possa ser realizada a qualquer momento do ciclo estral da cadela, se o objetivo é obter informações específicas, então a fase do ciclo deve ser levada em consideração ao planejar o exame (Wilborn e Maxwell, 2012).

Inicialmente, faz-se uma avaliação física da cadela, incluído o escore de condição corporal, a cadeia mamária, a vulva e a vagina. A reprodutora deve apresentar um escore corporal ideal, pois cadelas com escore corporal elevado podem apresentar ciclos estrais irregulares ou terem dificuldade de levarem a gestação a termo, além de serem mais predispostas a desenvolverem distocias (Zoran, 2010).

Uma boa inspeção de toda a cadeia mamária, verificando a higidez da mesma é de suma importância, uma vez que a cadela é altamente predisposta a comprometimento das glândulas mamárias por desenvolver fisiologicamente hiperplasia mamária ciclicamente, podendo essa ser seguida de lactogênese e lactopoiese (Concannon, 2011). Essa característica parece ser condição predisponente para aumentar a ocorrência de neoplasia mamária (Morris et al., 1998).

A glândula mamária pode ser avaliada por meio da ultrassonografia em modo bidimensional e modo Doppler. Este último é de suma importância, pois permite avaliar a vascularização normal da glândula e ainda observar os padrões de vascularização nos casos de patologia mamária, em especial no estudo das neoplasias (Feliciano et al., 2012).

Os mecanismos moleculares do desenvolvimento de neoplasias mamárias caninas ainda são pouco compreendidos. Uma glândula mamária normal potencialmente pode desenvolver uma neoplasia. Klose et al. (2011) observaram que diferenças nos diversos estágios de malignidade e na aquisição do potencial metastático das neoplasias mamárias estão associados a uma mudança gradual nos níveis de expressão de 48 proteínas.

A inspeção da vulva e da vagina deve ser feita para avaliar se não há nenhuma alteração ou corrimento. A vulva é única porção do trato reprodutor feminino que está exteriorizada e, portanto, pode ser inspecionada mais facilmente. Ela pode ser avaliada quanto à integridade, coloração, aspecto, conformação, tamanho e presença ou não de secreção. Se a vulva apresentar uma característica anormal, isso pode representar um obstáculo para o macho fazer a monta natural (Barstow et al., 2018).

A vagina pode ser inspecionada por meio de um vaginoscópio. A mucosa vaginal muda drasticamente em cor e aspecto à medida que a cadela progride de anestro para o proestro e estro. As alterações observadas inicialmente são devidas ao aumento dos níveis sanguíneos de estrógeno, mas as alterações posteriores são devidas ao aumento da progesterona (Jeffcoate e Lindsay, 1989). A vaginoscopia é uma excelente ferramenta para inspecionar a vagina (Lindsay, 1983), no entanto ela não é eficaz para determinar a ovulação (Bergeron et al., 2014).

### **Características do ciclo estral**

A cadela é uma espécie monoéstrica, não estacional – à exceção da raça Basenji – e que apresenta ciclos estrais longos. Cada fase do ciclo apresenta uma mudança gradativa e com algum grau de sobreposição entre as fases folicular e lútea, devido à luteinização precoce dos folículos ovarianos (Forsberg et al., 1993). A duração total do ciclo estral e a duração de cada fase podem ter variações importantes de acordo com a raça e com o indivíduo, dificultando a determinação da fase do ciclo e o momento ideal para a reprodução (Concannon, 2011). O ciclo estral canino consiste em sucessivas fases recorrentes, que variam de quatro a cinco, dependendo dos autores (proestro, estro, metaestro/diestro e anestro).

#### *Proestro*

O proestro dura em média 9 dias, podendo variar de tanto para mais, quanto para menos dias. É caracterizado pelo interesse sexual do macho pela fêmea, no entanto com recusa da monta pela fêmea. Há um aumento gradativo de edema vulvar e de corrimento serossanguinolento. O epitélio vaginal sofre progressivamente um processo de queratinização, o que leva a uma contínua modificação das características da citologia vaginal (Bell et al., 1973). Nessa fase, os folículos ovarianos variam até 9 mm antecedendo o pico do hormônio luteinizante (LH) e podem aumentar até 12 mm antes da ovulação (Concannon, 2011). O término do proestro é marcado pelo início do interesse da fêmea pela corte do macho.

#### *Estro*

O estro dura em média 9 dias, podendo variar tanto para mais, quanto para menos dias. O comportamento de estro é definido pela aceitação de monta da cadela pelo macho. Nessa fase, a cadela apresenta o pico de queratinização do epitélio vaginal e o de crenulação (Jeffcoate e Lindsay, 1989). É nessa fase que ocorre a ovulação cerca de 48 a 60 horas após o pico de LH (Phemister et al., 1973). A citologia vaginal também permite acompanhar a evolução do estro, no entanto não é precisa para determinar o momento da ovulação (Linde e Karlsson, 1984).

A cadela apresenta a particularidade de liberar oócitos imaturos, ou seja, no início da primeira divisão meiótica (prófase I) em estágio de vesícula germinativa (VG), portanto ainda não fecundáveis. Esses oócitos devem



permanecer na tuba uterina por mais cerca de 48 horas para atingirem o estágio de maturação com a quebra da VG para serem fecundáveis (Concannon, 2011).

Os folículos no dia da ovulação apresentam um diâmetro médio de 4,6 mm em cadelas com pesos de 6 a 10 Kg (Barbosa et al., 2013). Os cistos foliculares ovarianos podem variar de 2 mm a 40 mm. Devido ao fato do tamanho dos folículos e dos cistos se sobreporem, é fundamental verificar o histórico da cadela, juntamente com os achados clínicos para se chegar a um diagnóstico. Frequentemente, cadelas com cisto folicular ovariano apresentam estro e descarga vaginal sanguinolenta prolongados (Knauf et al., 2014).

A concentração sérica de progesterona aumenta rapidamente acima de 1-3 ng/mL durante o pico pré-ovulatório de LH e segue aumentando, atingindo 10-25 ng/mL até o dia 10, logo após o final do estro. O estro na cadela ocorre em resposta ao declínio do estrógeno que normalmente começa pouco antes do aumento do LH e continua durante todo o estro. O início do estro é facilitado sinergicamente pelo rápido aumento da progesterona resultante do pico de LH (Concannon, 2011)

### *Metaestro*

A cadela não apresenta a fase de metaestro como ela é classicamente definida (período de instalação do corpo lúteo), posto que ela é uma espécie que apresenta uma luteinização precoce, ainda na fase de folículo pré-ovulatório. No entanto, a fase de metaestro pode ser muito bem caracterizada do ponto de vista citológico pela presença das células do metaestro e pelas células espumosas (*foam cells*) que são células intermediárias ou células parabasais com múltiplos vacúolos citoplasmáticos claros (Post, 1985). O metaestro citológico é curto, durando em torno de dois dias (Jeffcoate e Lindsay, 1989).

### *Diestro*

O diestro não gestacional dura em torno de 75 dias, ao passo que o diestro gestacional, como o próprio nome já sugere, dura o tempo da gestação que é, em média, de 65 dias (Concannon et al., 1975). O término do diestro é determinado pelo declínio da progesterona abaixo do necessário para manter uma gestação (1 a 2 ng/mL) (Concannon et al., 1977; Concannon, 1986; 2011; Hoffmann et al., 2004; Günzel-Apel et al., 2009).

A cadela que ovula e não gesta, não retorna imediatamente a um novo estro, pois ela não sofre luteólise abrupta como no pré-parto. Nesse caso, o corpo lúteo regride por um processo lento de luteólise, em que os primeiros sinais de degeneração foram vistos por microscopia eletrônica no dia 60 do diestro não gestacional, acompanhados por alguns eventos apoptóticos (Hoffmann et al., 2004). A apoptose desempenha um papel importante na vida útil do seu corpo lúteo e o nível de atividade apoptótica pode ser aumentado pela prostaglandina F2 $\alpha$  (PGF2 $\alpha$ ) (Aiudi et al., 2006). Assim, esta espécie não possui nenhum sinal endócrino anti-luteolítico como encontrado em outras espécies que modulam a função uterina durante o período crítico do estabelecimento da gestação. No entanto, alguma comunicação embrião-materna deve ocorrer a fim de evitar a rejeição embrionária (Graubner et al., 2017).

Dentre os animais domésticos, a cadela é a única com uma fase lútea cuja duração em animais não gestantes excede a observada durante a gestação. Isto não é apenas único, mas também implica em mecanismos distintos que regulam a função do corpo lúteo em ambas as situações. Em animais não gestantes, o corpo lúteo completa seu tempo de vida útil, passando lentamente por mudanças morfológicas e funcionais que, desprovidas de um princípio luteolítico ativo, parecem estar mais relacionadas ao envelhecimento do corpo lúteo. Isto é evidenciado pela degeneração gordurosa progressiva das estruturas luteais. Em contraste, em animais gestantes, a regressão lútea inicialmente lenta é interrompida pela luteólise pré-parto súbita, associada a níveis periféricos fortemente aumentados de PGF2 $\alpha$ , destruindo ativamente o corpo lúteo (Kowalewski, 2014).

A regulação hormonal do diestro de cadelas gestantes e não gestantes é similar, exceto pela produção de PGF2 $\alpha$  antes do parto. Nas gestantes, a PGF2 $\alpha$  é responsável pela luteólise e é produzida pela unidade útero-placentária antes do parto (Kowalewski et al., 2010), no entanto, não é produzida no endométrio de cadelas não gestantes e o corpo lúteo regride lentamente nesses animais. Essa regressão lenta ocorre apesar da presença de diversos fatores luteotrópicos, tais como a prolactina e o LH que suportam a função do corpo lúteo durante o terço médio do diestro nas cadelas não gestantes (Concannon et al., 1987; Kowalewski et al., 2010).

Um estudo recente tentou elucidar esse complexo mecanismo envolvido no processo de luteólise e de regressão do corpo lúteo da cadela. Os autores verificaram que injeções repetidas de baixas doses de PGF2 $\alpha$  podem induzir mecanismos luteolíticos em cadelas não gestantes e que alguns aspectos da regulação molecular da luteólise em cadelas não gestantes são semelhantes à de outros animais domésticos (Ucar et al., 2018).

No diestro, o corpo lúteo deve estar visível à ultrassonografia, sendo comum encontrar um número maior de corpos lúteos do que de filhotes (Marinellia et al., 2009).

Diferentemente de que ocorre em outras espécies como a porca, a mulher e a rata, a relaxina na cadela é detectável apenas durante a gestação (Steinetz et al., 1989), o que torna este hormônio um marcador diagnóstico da gestação nesta espécie. A relaxina torna-se detectável no sangue por volta do dia 20-25 da gestação; tem um pico 2-3 semanas antes do parto e permanece elevada até o termo (Steinetz et al., 1987). Origina-se predominantemente da placenta (Tsutsui e Stewart, 1991). Sua principal fonte parece ser o citotrofoblasto (Nowak et al., 2017). Nesse



estudo, a síntese de relaxina foi confirmada ocorrer no endométrio e miométrio (Nowak et al., 2017). Embora a expressão lútea de mRNA da relaxina e proteína de relaxina já tivesse sido previamente relatada na cadela (Tsutsui e Stewart, 1991; Tamada et al., 2010), o corpo lúteo parece ser uma fonte secundária de relaxina nessa espécie, já que a ovariectomia realizada durante a gestação não afeta a relaxina circulante (Tsutsui e Stewart, 1991).

### *Anestro*

Por fim, o anestro que é uma fase obrigatória no ciclo estral da cadela e é a fase de maior duração. O anestro é definido como ausência de sinais externos, havendo nessa fase concentrações séricas basais de progesterona (Concannon et al., 1989). Os ovários estão pequenos e o útero encontra-se pequeno e difícil de ser visualizado à ultrassonografia (Marinellia et al., 2009).

O intervalo interestro é extremamente variável. Herdabilidade, gestação, raça e idade são fatores que podem influenciar esse intervalo. Cadelas que estiveram gestantes podem exibir intervalos interestrais significativamente mais longos do que as que não estiveram gestantes, conforme foi demonstrado nas raças Beagle (230 vs. 202 dias; Concannon et al., 1975) e Kunming (220 dias vs. 180 dias; Wei et al., 2018).

Apesar da cadela ser considerada uma espécie não estacional, um padrão estacional já foi demonstrado na raça Basenji (Fuller, 1956). Foi igualmente observado em um estudo em que se avaliaram 210 ciclos em 67 cadelas ao longo de quatro anos consecutivos, uma maior frequência de ciclos ocorrendo durante o inverno e o verão. No entanto, a probabilidade de ocorrer um estro em qualquer mês do ano foi a mesma para cada mês quando a distribuição acumulada ao longo dos anos foi analisada (Bouchard et al., 1991).

### **Exames complementares**

Os exames complementares são utilizados para acompanhar a ciclicidade e identificar a ovulação e, conseqüentemente, o momento ideal da monta ou da inseminação artificial. Os exames empregados em reprodução canina são: citologia vaginal (Bell et al., 1973); endoscopia vaginal (Moxon et al., 2012); ultrassonografia de útero e de ovários (Barbosa et al., 2013; Bergeron et al., 2013); análise das concentrações séricas ou plasmáticas de progesterona (Brugger et al., 2011) e termografia (Olğaç et al., 2017). Esses métodos foram otimizados graças a numerosos estudos e eles podem revelar resultados bem-sucedidos. A eficácia deles, no entanto, depende de alguns fatores, tais como frequência de utilização, habilidade do profissional, qualidade do equipamento utilizado, dentre outros.

### **Considerações finais**

A fisiologia básica de uma espécie pode até sofrer modificações em milhares de anos, mas ela não se modifica em cem anos, muito menos em meio século. O que mudou nesse intervalo de meio século foi o aumento do conhecimento e da velocidade de troca de informações; as formas de investigação e o aprimoramento dos equipamentos e dos meios de diagnóstico. Enfim, uma série de fatores que contribuíram para que hoje o conhecimento acerca da fisiologia reprodutiva da cadela esteja um pouco mais avançado do que estava há alguns anos.

No entanto, como todo processo investigativo na seara da pesquisa, deve-se sempre ter a mente aberta e livre de preconceitos para o novo, quer seja para complementar, quer seja para quebrar informações e conceitos já conhecidos e estabelecidos e, ainda, aprender que nem tudo era exatamente como se pensava. No caso da fisiologia reprodutiva da cadela, por muito tempo, acreditou-se que o ciclo estral dessa espécie era similar ao da vaca. Para sair do equívoco, houve a necessidade de estudos e da quebra de paradigmas.

Ainda há um longo caminho a ser percorrido para que toda a fisiologia reprodutiva da cadela seja desvendada. Mas o tempo não deve ser uma preocupação do homem, posto que a humanidade tem a eternidade para trabalhar. Muito já foi elucidado graças à dedicação e empenho de diversos grupos de pesquisas em diferentes partes do mundo que se debruçam sobre a reprodução da cadela. Certamente, muito mais ainda será descortinado diante de nossos olhos nos próximos 50 anos.

### **Referências**

- Aiudi G, Albrizio M, Caira M, Cinone M.** Apoptosis in canine corpus luteum during spontaneous and prostaglandin-induced luteal regression. *Theriogenology*, v.66, n.6-7, p.1454-1461, 2006.
- Barbosa CC, Souza MB, Scalercio SRRA, Silva TFP, Domingues SFS, Silva LDM.** Ovarian and uterine periovulatory Doppler ultrasonography in bitches. *Pesq Vet Bras*, v.33, n.9, p.1144-1150, 2013.
- Barstow C, Wilborn RR, Johnson AK.** Breeding soundness examination of the bitch. *Vet Clin North Am Small Anim Pract*, v.48, n.4, p.547-566, 2018.
- Bell ET, Bailey JB, Christie DW.** Studies on vaginal cytology during the canine oestrus cycle. *Res Vet Sci*, v.14, n.2, p.173-9, 1973.



- Bergeron LH, Nykamp SG, Brisson BA, Madan P, Gartley CJ.** An evaluation of B-mode and color Doppler ultrasonography for detecting periovulatory events in the bitch. *Theriogenology*, v.79, n.2, p.274-283, 2013.
- Bergeron LH, Nykamp SG, Brisson BA, Madan P, Sears W, Gartley CJ.** Vaginal impedometry for detection of optimal breeding time in bitches. *J Am Vet Med Assoc*, v.245, n.12, p.1360-1366, 2014.
- Bouchard G, Youngquist RS, Vaillancourt D, Krause GF, Guay P, Paradis M.** Seasonality and variability of the interestrus interval in the bitch. *Theriogenology*, v.36, n.1, p.41-50, 1991.
- Brugger N, Otzdorff C, Walter B, Hoffmann B, Braun L.** Quantitative determination of progesterone (P4) in canine blood serum using an enzyme-linked fluorescence assay. *Reprod Domest Anim*, v.46, n.5, p.870-873, 2011.
- Concannon PW, Hansel W, Visek WJ.** The ovarian cycle of the bitch: plasma estrogen, LH and progesterone. *Biol Reprod*, v.13, n.1, p.112-121, 1975.
- Concannon PW, Powers ME, Holder W, Hansel W.** Pregnancy and parturition in the bitch. *Biol Reprod*, v.19, p.517-526, 1977.
- Concannon P, Weinstein P, Whaley S, Frank D.** Suppression of luteal function in dogs by luteinizing hormone antiserum and by bromocriptine. *J Reprod Fertil*, v.81, n.1, p.175-180, 1987.
- Concannon PW, McCann JP, Temple M.** Biology and endocrinology of ovulation, pregnancy and parturition in the dog. *J Reprod Fertil Suppl*, v.39, p.3-25, 1989.
- Concannon PW.** Canine pregnancy and parturition. *Vet Clin North Am Small Anim Pract*, v.16, p.453-475, 1986.
- Concannon PW.** Reproductive cycles of the domestic bitch. *Anim Reprod Sci*, v.124, n.3-4, p.200-210, 2011.
- Feliciano MAR, Vicente WRR, Silva MA.** Conventional and Doppler ultrasound for the differentiation of benign and malignant canine mammary tumours. *J Small Anim Pract*, v.53, n.6, p.332-337, 2012.
- Forsberg M, Linde-Forsberg C, Karlsson A, Carlsson MA.** Progesterone and oestradiol in canine plasma monitored by enhanced luminescence immunoassays. *J Reprod Fertil Suppl*, v.47, p.127-132, 1993.
- Fuller JL.** Photoperiodic control of estrus in the Basenji. *J Hered*, v.47, n.4, p.179-180, 1956.
- Graubner FR, Gram A, Kautz E, Bauersachs S, Aslanz S, Agaoglu AR, Boos A, Kowalewski MP.** Uterine responses to early pre-attachment embryos in the domestic dog and comparisons with other domestic animal species. *Biol Reprod*, v.97, n.2, p.197-216, 2017.
- Günzel-Apel AR, Höftmann T, Nottorf S, Politt E, Meyer-Lindenberg A, Hoppen HO, Einspanier A, Knijn HM, Mischke R.** Influence of progesterone withdrawal on pregnancy-related parameters during post-implantation early pregnancy loss. *Reprod Domest Anim Suppl*, v.44, p.174-181, 2009.
- Hoffmann B, Busges F, Engel E, Kowalewski MP, Papa P.** Regulation of corpus luteum-function in the bitch. *Reprod Domest Anim*, v.39, p.232-240, 2004.
- Jeffcoate IA, Lindsay FEF.** Ovulation detection and timing of insemination based on hormone concentrations, vaginal cytology and the endoscopic appearance of the vagina in domestic bitches. *J Reprod Fertil Suppl*, v.39, p.277-287, 1989.
- Klose P, Weise C, Bondzio A, Multhaup G, Einspanier R, Gruber AD, Klopffleisch R.** Is there a malignant progression associated with a linear change in protein expression levels from normal canine mammary gland to metastatic mammary tumors? *J Proteome Res*, v.10, n.10, p.4405-4415, 2011.
- Knauf Y, Bostedt H, Failing K, Bostedt H, Failing K, Knauf S, Wehrend A.** Gross pathology and endocrinology of ovarian cysts in bitches. *Reprod Domest Anim*, v.49, n.3, p.463-468, 2014.
- Kowalewski MP, Beceriklisoy HB, Pfarrer C, Aslan S, Kindahl H, Kücükaslan I, Hoffmann B.** Canine placenta: a source of prepartal prostaglandins during normal and antiprogestin-induced parturition. *Reproduction*, v.139, n.3, p.655-664, 2010.
- Kowalewski MP.** Luteal regression vs. prepartum luteolysis: Regulatory mechanisms governing canine corpus luteum function. *Reprod Biol*, v.14, n.2, p.89-102, 2014.
- Linde C, Karlsson I.** The correlation between the cytology of the vaginal smear and the time of ovulation in the bitch. *J Small Anim Pract*, v.25, n.2, p.77-82, 1984.
- Lindsay FEF.** The normal endoscopic appearance of the caudal reproductive tract of the cyclic and non-cyclic bitch: post-uterine endoscopy. *J Small Anim Pract*, v.24, n.1, p.1-15, 1983.
- Marinellia L, Rotab A, Carniere P, Da Dalt L, Gabai G.** Factors affecting progesterone production in corpora lutea from pregnant and diestrus bitches. *Anim Reprod Sci*, v.114, n.1-3, p.289-300, 2009.
- Morris JS, Dobson JM, Bostock DE, O'Farrell E.** Effect of ovariohysterectomy in bitches with mammary neoplasms. *Vet Rec*, v.142, n.24, p.656-658, 1998.
- Moxon R, Batty H, Irons G, England GCW.** Periovulatory changes in the endoscopic appearance of the reproductive tract and teasing behavior in the bitch. *Theriogenology*, v.78, n.9, p.1907-1916, 2012.
- Nowak M, Gram A, Boos A, Aslan S, Ay SS, Önyay F, Kowalewski MP.** Functional implications of the utero-placental relaxin (RLN) system in the dog throughout pregnancy and at term. *Reproduction*, v.154, n.4, p.415-431, 2017.
- Olğaç KT, Akçay E, Çil B, Uçar BM, Daşkın A.** The use of infrared thermography to detect the stages of estrus cycle and ovulation time in anatolian shepherd dogs. *J Anim Sci Technol*, v.59, n.21, p.1-6, 2017.
- Phemister RD, Holst PA, Spano JS, Hopwood ML.** Time of ovulation in the Beagle bitch. *Biol Reprod*, v.8, n.1, p.74-82, 1973.
- Post K.** Canine vaginal cytology during the estrous cycle. *Practitioner Review. Can Vet J*, v.26, p.101-104, 1985.



- Skoglund P, Ersmark E, Palkopoulou E, Dalén L.** Ancient wolf genome reveals an early divergence of domestic dog ancestors and admixture into high-latitude breeds. *Curr Biol*, v.25, n.11, p.1515-1519, 2015.
- 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, n.1, p.68-71, 1989.
- Steinetz BG, Goldsmith LT, Lust G.** Plasma relaxin in pregnant and lactating dogs. *Biol Reprod*, v.37, n.3, p.719-725, 1987.
- Tamada H, Kawate N, Kawata N, Inaba T, Kida K, Hatoya S, Akune A, Nakama K, Kohsaka T, Sawada T.** Detection of relaxin mRNA in the corpus luteum, uterus, and uterine cervix in the bitch. *J Vet Med Sci*, v.72, n.10, p.1383-1386, 2010.
- Tsutsui T, Stewart DR.** Determination of the source of relaxin immunoreactivity during pregnancy in the dog. *J Vet Med Sci*, v.53, n.6, p.1025-1029, 1991.
- Ucar EH, Cetin H, Atli MO.** Effect of multiple low-dose PGF<sub>2</sub> $\alpha$  injections on the mature corpus luteum in non-pregnant bitches. *Theriogenology*, v.113, p.34-43, 2018.
- Wei YF, Wan JS, Chen FL, Chen C, Li J, Cheng LG, Mao AG, Li FX, Wang B, Huang QG, Tang SS, Wei HJ.** A retrospective study of female reproductive parameters in the Kunming dog. *Anim Sci J*, v.89, n.1, p.52-59, 2018.
- Wilborn R, Maxwell H.** Clinical approaches to infertility in the bitch. *Vet Clin North Am Small Anim Pract*, v.42, p.457-468, 2012.
- Zoran D.** Obesity in dogs and cats: a metabolic and endocrine disorder. *Vet Clin North Am Small Anim Pract*, v.40, n.2, p.221-239, 2010.
-