CITOLOGIA VAGINAL COMO FERRAMENTA NA DETECÇÃO DA FASE DO CICLO ESTRAL DE CADELAS

JULIANA MAGALHÃES COBUCCI; MARIA CLARA ALVES MOREIRA SPINELLI DE AZEVEDO; GABRIELA CRISTINA CARVALHO FLAUSINO; CLEBER JONAS DE PAULA; ISABEL CRISTINA VIDAL SIQUEIRA DE CASTRO

RESUMO

O ciclo reprodutivo das cadelas compreende quatro fases: proestro, estro, diestro e anestro, desencadeadas por processos endócrinos e neuroendócrinos, e sendo distinguidas a partir de exames citológicos ou hormonais. Objetivou-se verificar a fase do ciclo estral por meio da análise da citologia vaginal de cadelas atendidas na rotina de duas clínicas veterinárias de Barbacena, MG. Amostras do material cervico-vaginal de 100 fêmeas caninas foram colhidas na região cranial da vagina por meio de swab estéril, sendo depositado em lâminas previamente identificadas, e após secagem, fixadas em álcool 95% e coradas com o Kit Panótico Rápido, para a identificação dos tipos celulares (células superficiais, intermediárias, parabasais e basais), além de outras células presentes no material. Análise quantitativa foi realizada em microscópio óptico, utilizando objetiva de 400x, totalizando contagem de 100 células distribuídas de forma randomizada ao longo da lâmina. Os resultados das análises citológicas demonstraram que 23% das fêmeas estavam na fase de proestro, 17% na fase estro, 31% em diestro e 29% em anestro. Dessa forma, demonstrou que o emprego da citologia vaginal foi fundamental para o reconhecimento da fase do ciclo estral, detecção de possíveis patologias reprodutivas, prevenção da transmissão de agentes infecciosos, processos de inseminação artificial e monta programada.

Palavras-chave: Ciclo estral; Diagnóstico; Exame citológico; Fêmeas caninas.

1 INTRODUÇÃO

Ao longo da sua vida, os animais exibem um padrão de crescimento, de comportamento e de reprodução que demandam de variações na fisiologia do organismo. O animal em fase não reprodutiva reserva nutrientes para o seu crescimento e manutenção, e quando entra em período reprodutivo suas prioridades fisiológicas são a formação de tecidos gametogênicos e a preparação para a reprodução (OLIVEIRA, 2018). Na maioria das espécies de mamíferos, a ovulação e a cópula são coordenadas por hormônios que regulam a ovulação, induzem demonstrações externas e comportamentais que anunciam que as fêmeas estão receptivas à cópula (MOYSES; SCHULTE, 2010). Em especial, os cães (*Canis lupus familiaris*) são mamíferos monoestricos que possuem ciclo reprodutivo variável com a idade, raça, predisposição e tamanho corporal (KOWALEWSKI, 2018).

O ciclo estral da cadela é compreendido pelo intervalo entre o período de desenvolvimento folicular seguido pela ovulação, sendo regulado por mecanismos endócrinos e neuroendócrinos, e se divide em diferentes e sucessivas fases, sendo elas: proestro, estro,

diestro e anestro (NOGUEIRA et al., 2019; OLIVEIRA et al., 2021). Estas fases podem ser diferenciadas por exames hormonais ou citológicos, o que permite estimar o período de fertilidade, distúrbios do ciclo estral e inatividade sexual (SILVA, 2016). 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).

A fase de proestro é caracterizada pelo desenvolvimento folicular com aumento da concentração de estrógeno, sintetizado pelas células da granulosa dos folículos, e que ocasiona a proliferação do epitélio vaginal, com duração média de nove dias (SOLANO-GALLEGOS; MASSERDOTTI, 2016). O estro se caracteriza por ser o período de receptividade sexual, onde ocorre a ovulação, a vulva apresenta-se edemaciada e essa fase tem duração média de 10 dias. Na citologia vaginal, observa-se predominância de células superficiais, além de intermediárias e bactérias. Nessa fase os valores de progesterona são elevados e de estrógeno mais baixos, enquanto na fase subsequente, o diestro ou fase lútea, o nível de progesterona é alto, há presença de células parabasais e intermediárias arredondadas com reduzida quantidade de bactérias e neutrófilos (NOGUEIRA et al., 2019). A última fase do ciclo estral, o anestro, se caracteriza por inatividade sexual, tem duração média de 120 dias (ALVES et al., 2002). Nessa fase o corpo lúteo do ciclo anterior é visível e inativo e os níveis de estrógeno e progesterona encontram-se com valores basais. Há predomínio de células parabasais e intermediárias, e raramente neutrófilos e bactérias (OLIVEIRA, 2012).

O presente estudo teve como objetivo verificar a fase do ciclo estral por meio da análise da citologia vaginal de cadelas atendidas na rotina de clínicas veterinárias do município de Barbacena, MG.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

O presente projeto foi submetido à Comissão de Ética em Uso de Animais (CEUA UNIPAC), obtendo registro nº2022.01.23 e termos de consentimento foram encaminhados às Clínicas Veterinárias, assim como aos tutores dos animais utilizados nessa pesquisa. Um total de 100 fêmeas caninas, com raças e idades variadas, atendidas em duas Clínicas Veterinárias situadas no município de Barbacena – Minas Gerais (21° 13 '33" S. 43° 46' 25" W.), foram utilizadas no presente estudo. Para a coleta das amostras do material vaginal, primeiramente a vulva foi limpa com Clorexidina degermante para desinfecção local, e em seguida, utilizando-se swab umedecido com soro fisiológico estéril foi introduzido em ângulos de 45° e após 180° para obtenção do material mais cranial da vagina. O material colhido foi depositado na extensão da lâmina de vidro previamente identificada, sendo fixado em álcool 95% e corado com o Kit Panótico Rápido. O material foi encaminhado para leitura e análises no Laboratório de Microscopia – UNIPAC Barbacena, sendo examinado em microscópio óptico para identificação dos tipos celulares (Basais, Parabasais, Intermediárias e Superficiais). Análise quantitativa foi realizada em microscópio óptico, utilizando objetiva de 400x, totalizando contagem de 100 células distribuídas de forma randomizada ao longo da lâmina, de acordo com Rezende (2006).

Os dados quantitativos da citologia vaginal foram tabulados no software Microsoft® Excel 2007 e realizada estatística descritiva.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A partir dos dados obtidos durante o estudo, foram observados na análise citológica vaginal que: (i) 23% cadelas apresentavam citologia com predominância de células intermediárias (Fig. 1A), caracterizando a fase de Proestro, (ii) 17% estavam na fase de Estro, com predomínio de células superficiais (Fig. 1B); (iii) 31% no Diestro com predomínio de células parabasais (Fig. 1C) e (iv) 29% das fêmeas estavam em Anestro, devido à prevalência

de células parabasais e intermediárias. A classificação da fase do ciclo estral foi realizada conforme descrito por Da Costa et al. (2009), determinando a correlação entre tipos celulares e fases do ciclo estral em cadelas.

Figura 1 – Esfregaços cérvico-vaginais evidenciando células do epitélio vaginal: intermediárias (A); superficiais (B); parabasais (C); superficial e intermediária (D).

O proestro é determinado pelo aumento da vulva e secreção sanguinolenta com duração média de nove dias, ocorre aumento da produção e secreção de estradiol folicular na corrente sanguínea, gerando diapedese eritrocitária e ruptura de capilares vaginais (ZOPPEI et al., 2022). Entre os animais que apresentaram hemácias na avaliação microscópica na citologia vaginal, três (13,63%) cadelas estavam no período reprodutivo de anestro, duas (9,09%) no diestro, uma (4,54%) no estro e 16 (72,72%) fêmeas estavam no período de proestro (Figura 2). De acordo com Feldman e Nelson (2004), no tecido vaginal ocorre uma queratinização das células epiteliais, aumento de intermediárias e superficiais, além da presença de hemácias e neutrófilos, características evidenciadas durante as análises deste estudo.

Figura 2 – Citologia vaginal de cadela apresentando neutrófilos e hemácias na fase de Proestro.

Feldman e Nelson (2004) relataram que a fase do estro se caracteriza cerca de 80% por células superficiais anucleadas, podendo atingir até 100% da celularidade, sendo estas predominantemente encontradas nas citologias vaginais das 17 fêmeas detectadas nesta fase estral.

A fase do Diestro consiste na intensa secreção de progesterona, em média 65 dias de duração, com rejeição da fêmea pelo macho (ZOPEI, 2019). Segundo Nogueira et al (2019), nessa fase a citologia vaginal se caracteriza por células parabasais, intermediárias, neutrófilos e bactérias. Durante a avaliação citológica observou-se aumento das células de defesa nas fêmeas nesta fase.

No anestro foi observada pouca celularidade na lâmina, havendo células intermediárias, parabasais e neutrófilos em número reduzido, corroborando com os achados de OLIVEIRA (2021).

4 CONCLUSÃO

O emprego da citologia vaginal tem se mostrado fundamental para o controle e acompanhamento do ciclo reprodutivo de cadelas na rotina clínica, tornando-se um exame laboratorial complementar, de baixo custo, simples e rápido, auxiliando no diagnóstico precoce de diversas patologias, prevenção de gestações indesejáveis e cruzamentos programados. Destaca-se a importância da realização de mais estudos complementares acerca da influência de outros fatores, como a sazonalidade sobre a citologia e detecção das fases do ciclo estral de cadelas.

REFERÊNCIAS

ALVES, I.; MATEUS, M.; LOPES, L. C. (2002). Monitorização do ciclo éstrico da cadela para inseminação artificial ou cruzamento. In: **Congresso de ciências veterinárias**. Lisboa: CIISA/Faculdade de Medicina Veterinária, 2002. p. 177-182.

CONCANNON, P.W. Reproductive cycles of the domestic bitch. **Animal Reproduction Science** 124: 200–210, 2011.

DA COSTA, Elaine Cristina Ferreira; PALAZZO, Elzylene Léga; NEVES, Leticia. Estimativa da fase do ciclo estral por citologia vaginal em cadelas (*canis familiaris*, linnaeus, 1758) da região de ituverava-SP. **Nucleus Animalium**, v. 1, n. 2, p. 1-10, 2009.

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

KOWALEWSKI MP. Selected Comparative Aspects of Canine Female Reproductive Physiology. **Encyclopedia of Reproduction**. 2018; 682–91.

MOYSES, C.D., SCHULTE, P.M. **Princípios de Fisiologia Animal**. 2^a edição. Porto Alegre: ArtMed, 2010.

NOGUEIRA, C. S.; FERREIRA, M. H.; SILVA, W. C.; SILVA, L. K. X.; BATISTA, H. R.; ARAUJO, L. J. S.; SERRUYA, F.J.D. Determinação da fase do ciclo estral através da anamnese e citologia vaginal associada à dosagens hormonais. **Brazilian Journal Of Animal And Environmental Research**, 2(3), 1037-1045, 2019.

OLIVEIRA, A. F. F. Determinação do período fértil em cadelas por meio de citologia vaginal

e dosagem sérica de progesterona. 42 f. TCC (Graduação) - Curso de Medicina Veterinária, **Medicina Veterinária**, Centro Universitário de Formiga – Unifor, Formiga, 2018.

OLIVEIRA, G. P.; SOUZA, H. F. F.; BATISTA, D. P.; SILVA, A.; SILVA, W. C.; SILVA, L. K. X. Emprego da citologia vaginal na detecção da fase do ciclo estral de cadelas e sua relação com a idade e escore de condição corporal, Belém, Pará. **Research, Society and Development**, 10 (9), 2021.

REZENDE, Lorena Cardoso. Perfil citológico vaginal e dinâmica folicular durante o ciclo estral em novilha Nelore. 2006.

SILVA, G. F. Alterações dermatológicas decorrentes da fase folicular do ciclo estral ou associadas a cistos foliculares ovarianos em cadelas jovens. In: VII Congresso de iniciação científica da FEPI, Itajuba. **Pesquisa científica, oportunidade e desafios**. Itajuba, p. 1-5, 2016.

SOLANO-GALLEGO, Laia; MASSERDOTTI, Carlo. Reproductive system. **Canine and Feline Cytology**, p. 313, 2016.

WATTS, J.L; WRIGHT, P.J; LEE, C.S. Endometrial cytology of the normal bitch through the reproductive cycle. **Journal of small animal practice**, Oxford, n. 39, p. 2-9, 1998.

ZOPPEI, Ana; ADALGIZA NETO; OLIVEIRA, William; MARTINEZ, Antônio. Morfofisiologia ovariana das cadelas. **Enciclopédia Biosfera**, Goiânia, v. 16, n. 29, p. 1102-1118, 30 jun. 2019. Disponível em: http://dx.doi.org/10.18677/encibio_2019a92.