

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
ESCOLA DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

**AVALIAÇÃO LABORATORIAL E DO CORTISOL MATERNO E FETAL EM
CADELAS PARTURIENTES COM DIFERENTES TAMANHOS DE NINHADAS**

Aluno: Vinícius Alves Bastos

Orientador: Prof. Dr. Marcelo Rezende Luz

Belo Horizonte

2021

VINICIUS ALVES BASTOS

**AVALIAÇÃO LABORATORIAL E DO CORTISOL MATERNO E FETAL EM
CADELAS PARTURIENTES COM DIFERENTES TAMANHOS DE NINHADAS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciência Animal.

Área de concentração: Reprodução Animal

Orientador: Prof. Dr. Marcelo Rezende Luz

Belo Horizonte

2021

B327a Bastos, Vinicius Alves ,1994 -
Avaliação laboratorial e do cortisol materno e fetal em cadelas parturientes com diferentes
Tamanhos de ninhadas/ Vinicius Alves Bastos. –2021.

73 f.:il.

Orientador: Marcelo Rezende Luz
Dissertação (Mestrado) apresentado à Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas
Gerais, como requisito para obtenção do grau de Mestre em Ciência Animal.
Área de concentração: Reprodução Animal.
Bibliografia: f.56 a 68.

1. Cadela - Teses – 2. Parto animal - Teses - 3. Fisiologia - Teses - I. Luz, Marcelo Rezende -
II. Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Veterinária – III. Título.

CDD – 636. 089 26

Bibliotecária responsável Cristiane Patrícia Gomes – CRB2569
Biblioteca da Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
ESCOLA DE VETERINÁRIA
COLEGIADO DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

FOLHA DE APROVAÇÃO

VINÍCIUS ALVES BASTOS

Dissertação submetida à banca examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em CIÊNCIA ANIMAL, como requisito para obtenção do grau de MESTRE em CIÊNCIA ANIMAL, área de concentração Reprodução Animal.

Aprovado(a) em 31 de agosto de 2021, pela banca constituída pelos membros:

Dr.(a). Marcelo Rezende Luz - Presidente - Orientador(a)

Dr.(a). Maria Isabel Mello Martins

Dr.(a). Fernanda Radicchi Campos Lobato de Almeida

Dr.(a). Fabíola de Oliveira Paes Leme



Documento assinado eletronicamente por **Marcelo Rezende Luz, Professor do Magistério Superior**, em 31/08/2021, às 18:45, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Fabiola de Oliveira Paes Leme, Professora do Magistério Superior**, em 31/08/2021, às 19:20, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Maria Isabel Mello Martins, Usuário Externo**, em 01/09/2021, às 15:07, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Fernanda Radicchi Campos Lobato de Almeida, Coordenador(a)**, em 02/09/2021, às 11:34, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufmg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **0918267** e o código CRC **31AEE486**.

AGRADECIMENTOS

Ao Professor Dr. Marcelo Rezende Luz, pela transmissão de conhecimentos e por toda ajuda, confiança, apoio, incentivo e disponibilidade ao longo da minha formação na Faculdade de Medicina Veterinária e por ser um excelente orientador durante o mestrado, pela simpatia, serenidade e disponibilidade constantes ao longo destes anos.

A Dra. Patrícia Ramos Xavier, Dra. Rebeca Marques Mascarenhas, Médicos Veterinários, Plantonistas e a toda equipe da Clínica Veterinária ProVitta. Meu muito obrigado pelo acolhimento, por todo apoio, incentivo e disponibilidade. Por toda contribuição para o meu aprendizado na clínica reprodutiva de cães e gatos, e por terem sido fundamentais para completar os partos do meu experimento.

As Médicas Veterinárias da Clínica Núcleo Veterinário por gentilmente terem cedido o *pool* de líquido amniótico tornando viável a realização das análises laboratoriais do experimento.

Aos canis que aceitaram participar desse projeto abrindo suas portas e permitindo o acompanhamento do parto das matrizes, tornando possível o desenvolvimento desse trabalho, eu agradeço a parceria, ajuda e companheirismo nesses dois anos de mestrado.

Aos técnicos, residentes e professores da escola de veterinária da UFMG que durante o meu mestrado auxiliaram com o possível, sempre muitos solícitos e colaborativos, foram essenciais para realização desse experimento.

Ao Professor Dr. Raphael Rocha Wenceslau pelas análises estatísticas e auxílio na interpretação e correção dos resultados apresentados nessa dissertação.

A Professora Dra. Fabíola de Oliveira Paes Leme, por disponibilizar o Laboratório de Patologia Clínica do Hospital Veterinário da EV/UFMG para realização dos exames hematológicos e bioquímicos.

Aos meus amigos do ensino médio, do intercâmbio e da Escola de Veterinária, o meu muito obrigado pela força, apoio e confiança constantes. Aos colegas do mestrado, principalmente à Andrine Souza e Isabela Ferreira que estiveram mais próximas durante todo esse período, e aos demais colegas, muito obrigados pela ajuda durante essa longa caminhada que foi o mestrado.

Ao meu querido amigo Lucas Braga por toda ajuda na realização dos testes hematológicos e auxílio na compreensão e discussão desses dados.

A toda a equipe do Projeto Brumadinho, pela amizade, simpatia e por todo aprendizado que podemos compartilhar durante os meses do projeto.

Aos meus avós, pais, irmã e restante da família, pela compreensão, carinho, incentivo e confiança constantes e incondicionais, vocês foram essenciais para a conclusão de mais uma etapa importante da minha vida.

Ao Guilherme Augusto Medeiros de Freitas, por me apoiar e compartilhar intensamente cada momento da realização do experimento e confecção da dissertação. Sou muito grato por todo amor, carinho, apoio, força, confiança, compreensão ao longo destes dois anos. Muito Obrigado!

Aos meus animais de estimação: Lily, Robin, Odete, Salem, Theodora e Bril o meu muito obrigado por serem o incentivo para que eu seja um profissional melhor, e por me ensinarem tanto a cada chiado, miado e ronronar.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

“The whole purpose of education is to turn mirrors into windows.”

Sydney J. Harris

RESUMO

Conhecer a fisiologia e endocrinologia do parto ajuda a melhorar e a otimizar os resultados no pós-parto. Entretanto, na espécie canina, ainda pouco se conhece sobre os hormônios envolvidos no seu desencadeamento, assim como as alterações hematológicas e bioquímicas e suas relações com o tamanho da ninhada. Objetivou-se avaliar as concentrações séricas de cortisol materno e do líquido amniótico fetal e os parâmetros hematológicos e bioquímicos de cadelas parturientes com diferentes tamanhos de ninhadas. Foram avaliadas 50 cadelas, no momento da expulsão do primeiro feto, e o líquido amniótico de 23 neonatos. A concentração média de cortisol sérico foi de $81,0 \pm 41,8$ ng/mL, e de líquido amniótico $11,34 \pm 5,61$ ng/mL. Os parâmetros hematológicos e bioquímicos encontrados foram VG ($41,35 \pm 4,55\%$), hemácias ($5,75 \pm 0,94 \times 10^6$ cels/ uL), hemoglobina ($13,29 \pm 1,50$ g/dL), leucócitos totais ($19.220 \pm 4.517,05$ céls/mL), plaquetas ($448.550 \pm 201.254,1$ céls/uL), proteína total ($7,81 \pm 1,18$ g/dL), cálcio ($10,7 \pm 2,62$ mg/dL), magnésio ($2,54 \pm 0,57$ mg/dL) e glicose ($101,31 \pm 26,42$ mg/dL). Não houve correlação significativa entre cortisol sérico e tamanho da ninhada ($p > 0,05$) porém as parturientes de grande porte apresentaram cortisol sérico menor que as de pequeno porte ($p = 0,0075$), e animais da raça Pug apresentaram menores concentrações de cortisol sérico quando comparados com animais da raça Yorkshire ($p = 0,0214$). Foi observada correlação entre cortisol sérico e cortisol do líquido amniótico ($p = 0,02$). Não houve correlação entre tamanho de ninhada com as variáveis hematológicas e bioquímicas ($p > 0,05$). As cadelas primíparas apresentaram mais eosinófilos que as múltíparas ($p = 0,03$), e animais de grande porte apresentaram menos linfócitos quando comparados com animais de pequeno porte ($p = 0,02$). Também foi observado que animais de grande porte apresentam maiores concentrações de proteína total do que animais de pequeno porte ($p = 0,04$). Quanto a raça, animais da raça Shih Tzu apresentaram mais linfócitos que as demais raças ($p = 0,006$), sendo que essa mesma raça apresentou mais plaquetas que as fêmeas Pug ($p = 0,006$). Animais da raça Golden Retriever apresentaram maiores concentrações de Mg quando comparado às da raça Pug ($p = 0,04$), e as cadelas da raça Pug apresentaram menores concentração de glicose sérica em relação as outras raças ($p = 0,0050$). Também foi observada influência do peso da placenta no peso ao nascimento, sendo que a cada 1,0g de placenta há aumento de 2,5g no peso do neonato ($p = 0,0002$). Conclui-se que o tamanho da ninhada não interfere nas concentrações do cortisol sérico, porém variáveis como porte e raça foram importantes para explicar a diferença de cortisol sérico entre as fêmeas. Ordem de parto, porte da fêmea e raça influenciam nas concentrações de eosinófilos, linfócitos e plaquetas, bem como de proteína total, magnésio e glicose das parturientes. O peso ao nascimento é influenciado pelo peso da placenta.

Palavras-chave: Cadelas, parto, tamanho de ninhada, cortisol, hematimetria.

ABSTRACT

The knowledge of physiology and endocrinology of bitch's parturition helps to improve and optimize postpartum outcomes. However, in the canine species, it is still not known about the hormones involved in triggering parturition, as well as the hematological and biochemical changes and their relationships with the size of the litter. The objective of this study was to evaluate the serum concentrations of maternal cortisol and fetal amniotic fluid cortisol, and blood and biochemical parameters of parturient bitches with different litter sizes. Blood samples were collected from fifty bitches at the time of the expulsion of the first fetus, and amniotic fluid from 23 newborns. The mean concentration of serum cortisol was 81.0 ± 41.8 ng/mL, and of amniotic fluid 11.34 ± 5.61 ng/mL. The hematological and biochemical parameters were VG ($41.35 \pm 4.55\%$), RBC ($5.75 \pm 0.94 \times 10^6$ cells/uL), hemoglobin (13.29 ± 1.50 g/dL), WBC ($19,220 \pm 4,517.05$ cells/mL), platelets ($448,550 \pm 201,254.1$ cells/uL), total protein (7.81 ± 1.18 g/dL), calcium (10.7 ± 2.62 mg/uL), magnesium (2.54 ± 0.57 mg/dL) and glucose (101.31 ± 26.42 mg/dL). There was no significant correlation between serum cortisol and litter size ($p > 0.05$) but large breeds had lower mean serum cortisol than small ones ($p = 0.0075$), and Pug bitches had lower concentrations of serum cortisol when compared to Yorkshire bitches ($p = 0.0214$). It was observed correlation between serum cortisol and amniotic fluid cortisol ($p = 0.02$). There was no correlation between litter size and hematological and biochemical variables ($p > 0.05$). Primiparous bitches presented more eosinophils when compared to multiparous bitches ($p = 0.03$) and large breeds had fewer lymphocytes when compared to small breeds ($p = 0.02$). It was also observed that large breeds had more total protein than small breeds ($p = 0.04$). As for breed, it was observed that Shih Tzu had more lymphocytes when compared to other breeds ($p = 0.006$), and this same breed had more platelets when compared to Pug ($p = 0.006$). Golden Retriever had higher Mg concentrations when compared to Pug ($p = 0.04$), and Pug had lower serum glucose concentration compared to other breeds ($p = 0.0050$). The influence of placental weight on neonatal weight was also observed, with every 1.0g of placenta increasing by 2.5g in the newborn's weight ($p = 0.0002$). It was concluded that litter size did not affect serum cortisol concentrations, but size and breed were important to explain the difference in serum cortisol among females. Parity order, breed size and breed influenced the concentrations of eosinophils, lymphocytes and platelets, as well as total protein, magnesium and glucose in parturients. Neonatal weight was influenced by placental weight.

Key Words: Bitches, parturition, litter size, cortisol, hematology.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Distribuição percentual das raças das cadelas parturientes acompanhadas durante o trabalho de parto.....	30
Figura 2 - Distribuição percentual do horário de início da segunda fase do parto nas cadelas.....	31

LISTA DE QUADROS E TABELAS

Quadro 1 - Escore de condição corporal dos cães (ECC) utilizado para classificação das cadelas.....	27
Quadro 2 – Relação de autores e método utilizado para dosagem de cortisol no momento do parto.....	48
Tabela 1 - Média, desvio padrão e peso mínimo e máximo dos neonatos e suas placentas nas diferentes raças caninas.....	32
Tabela 2 - Média, desvio padrão e concentração mínima e máxima de cortisol sérico nos diferentes portes de cadelas parturientes.....	33
Tabela 3 – Média, desvio padrão, concentração mínima e máxima de cortisol sérico nas diferentes raças de cadelas parturientes.....	33
Tabela 4 - Média, desvio padrão e concentração mínima e máxima de cortisol sérico nas diferentes ordens de parto das cadelas parturientes.....	34
Tabela 5 - Média, desvio padrão e concentração mínima e máxima de cortisol sérico relacionados ao número de filhotes por ninhada das cadelas parturientes.....	34
Tabela 6 - Média, desvio padrão e valores mínimo e máximo dos índices hematológicos das cadelas parturientes.....	35
Tabela 7 - Média, desvio padrão e valores mínimo e máximo do leucograma e da concentração de plaquetas nas cadelas parturientes.....	36
Tabela 8 - Média, desvio padrão e valores mínimo e máximo da concentração de eosinófilos em cadelas parturientes primíparas e múltíparas.....	37
Tabela 9 - Média, desvio padrão e valores mínimo e máximo da concentração de linfócitos em cadelas parturientes de diferentes portes.....	37
Tabela 10 - Média, desvio padrão e valores mínimo e máximo da Bioquímica sanguínea das cadelas parturientes.....	38
Tabela 11 - Média, desvio padrão e valores mínimo e máximo dos analitos bioquímicos nas diferentes raças das cadelas parturientes.....	39
Tabela 12 - Média, desvio padrão e valores mínimo e máximo dos analitos bioquímicos nos diferentes portes das cadelas parturientes.....	41
Tabela 13 - Correlações entre cortisol sérico, cortisol do líquido amniótico e das variáveis hematológicas e bioquímicas das cadelas parturientes.....	43

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACTH - Hormônio adrenocorticotrófico
ALT - Alanina aminotransferase
AST - Aspartato aminotransferase
Ca - Cálcio
Céls – Células
CHCM - Concentração de hemoglobina corpuscular média
dL - Decilitro
ECC - Escore de condição corporal
EDTA - Ácido etilenodiamino tetra-acético
FA - Fosfatase alcalina
g - Grama
GGT - Gama glutamiltransferase
GH - Hormônio do crescimento
HCM - Hemoglobina corpuscular média
L – Litro
LH - Hormônio luteinizante
Mg - Magnésio
mL – Mililitro
ng - Nanogramas
°C - Graus centígrados
P – Fósforo
P4 - Progesterona
PGF2 α - Prostaglandina F2 alfa
PT- Proteína total
SRD - Sem raça definida
VCM - Volume corpuscular médio
VG - Volume globular
VPM - Volume plaquetário médio
 μ L – microlitro

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	14
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	16
2.1. Fisiologia e endocrinologia do parto	16
2.1.1. Fase prodrômica ou de preparação do parto	17
2.1.2. Fase de expulsão fetal.....	17
2.1.3. Fase de expulsão das membranas fetais.....	18
2.2. Cortisol.....	18
2.3. Alterações hematológicas das parturientes.....	19
2.4. Neonatos	22
2.5. Placenta.....	23
3. OBJETIVOS	24
3.1. Objetivos específicos	24
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	25
4.1. Animais.....	25
4.2. Acompanhamento clínico-reprodutivo dos animais	25
4.3. Coleta de dados obstétricos	26
4.4. Obtenção das amostras de soro materno para a dosagem do cortisol	27
4.5. Radioimunoensaios de cortisol materno e do líquido amniótico.....	28
4.6. Exames hematológicos e de bioquímica sérica	28
4.7. Análise estatística	29
5. RESULTADOS.....	30

5.1. Dados obstétricos.....	30
5.2. Neonatos	32
5.3. Cortisol.....	33
5.4. Hematologia	35
5.5. Bioquímica sanguínea	37
6. DISCUSSÃO	44
6.1. Dados obstétricos.....	44
6.2. Neonatos	46
6.2.1. Tamanho da ninhada.....	47
6.3. Cortisol.....	47
6.4. Hematologia	50
6.5. Bioquímica sérica	52
7. CONCLUSÕES.....	55
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	56
9. ANEXOS	69
9.1. Anexo 1: Termo de compromisso	69
9.2. Anexo 2: Fichas de acompanhamento das gestantes e neonatos	71

1. INTRODUÇÃO

A ocorrência de um parto vaginal e sem complicações é a etapa final do ciclo reprodutivo dos mamíferos. Entretanto, em várias espécies animais, como na espécie canina, por exemplo, as perdas perinatais ainda são grandes. Nas décadas de 1960 e 1970, vários estudos foram conduzidos buscando compreender melhor o controle hormonal do parto, em função do desenvolvimento de técnicas de mensuração hormonal, mas principalmente em ovinos, caprinos, bovinos, equinos e suínos (TAVERNE; VAN DER WEIJDEN, 2008). Os mecanismos exatos responsáveis pela indução do parto nas cadelas ainda não são bem elucidados assim como as mudanças fisiológicas ocorridas durante todo o processo de gestação, parto e pós-parto.

O parto é frequentemente sugerido como um dos eventos mais estressantes da vida, tanto para a parturiente quanto para o neonato (PADBURY *et al.*, 1988; MAINAU; MANTECA, 2011). O cortisol, um dos principais hormônios circulantes em situação de estresse, é o hormônio considerado responsável por desencadear o parto em diversas espécies animais (KINDAHL; KORNMATITSUK; GUSTAFSSON, 2004). Sua influência no parto das cadelas foi analisada em diversos estudos (CONCANNON *et al.*, 1977; CONCANNON *et al.*, 1978; CONCANNON *et al.*, 1988; HOFFMANN *et al.*, 1994; VERONESI *et al.*, 2002; OLSSON *et al.*, 2003; BAAN *et al.*, 2008; BERGSTRÖM *et al.*, 2010), nos quais, provavelmente pelos diferentes métodos de coleta e mensuração, se observaram muitas divergências em relação ao hormônio avaliado. Tais divergências não permitem uma análise fiel ao processo pré-, trans e pós-parto. Além disso, não há relatos de análises utilizando os resultados dos diferentes estudos, na tentativa de propor um padrão endócrino do pré-parto/parto nas cadelas. Outro ponto importante, está no fato de que em nenhum desses estudos foi realizado um modelo de regressão para avaliar se há relação entre o número de filhotes nascidos, de placentas presentes no útero, e as variações na concentração de cortisol. Onde possivelmente o número de filhotes poderia ser considerado um fator importante para explicar a grande variação de cortisol encontrado nas cadelas no momento do parto.

Sabe-se que o tamanho da ninhada pode interferir na duração da gestação (EILTS *et al.*, 2005; COSTA, 2010; SMITH, 2012). Porém pouco se sabe sobre as alterações fisiológicas e endócrinas estão relacionadas a variação do número de neonatos. Acredita-se que o número de filhotes poderia interferir no estresse da parturiente em final de gestação podendo ser considerado um fator importante para explicar a grande variação de cortisol encontrado nas cadelas no momento do parto.

Durante a gestação, alguns parâmetros hematológicos e de bioquímica sérica estão sujeitos a alterações, que podem ou não se estender até o momento do parto, confundindo a correta interpretação dos parâmetros sanguíneos em doenças ou distúrbios que podem ocorrer durante este período (AWODU *et al.*, 2002). Assim, a compreensão da endocrinologia e da fisiologia do parto é importante pois permite o diagnóstico de distúrbios e alterações no desencadeamento normal do parto eutócico, bem como a assistência imediata por parte do médico veterinário, visando

minimizar as perdas. Óbitos neonatais na espécie canina resultam em prejuízos financeiros, genéticos e emocionais para os tutores e para suas criações (SOUZA *et al.*, 2017).

Este trabalho teve como objetivo avaliar as concentrações séricas de cortisol no sangue materno e no líquido amniótico, bem como os parâmetros hematológicos e bioquímicos de cadelas parturientes com diferentes tamanhos de ninhadas.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Fisiologia e endocrinologia do parto

A gestação na cadela possui duração de aproximadamente 63 ± 1 dia após as ovulações, e 65 ± 1 dia após o pico de hormônio luteinizante (LH) (CONCANNON *et al.*, 1983), com variação de 56 a 72 dias a partir da data do primeiro acasalamento conhecido (SMITH, 2012). Esta duração pode variar também de acordo com a raça e o tamanho da ninhada (EILTS *et al.*, 2005; JOHNSON, 2008), sendo que ninhadas grandes tendem a ter um menor tempo de gestação enquanto ninhadas com menos filhotes (menos que 4) tendem a ter uma gestação mais prolongada (EILTS *et al.*, 2005; SMITH, 2012; COSTA, 2010). Mir *et al.* (2011) não observaram o efeito do tamanho da ninhada prolongando ou reduzindo a data do parto em cadelas de pequeno porte, o mesmos relacionaram esse achado ao número de ninhadas que tendem a ser menores e gestações mais curtas. Okkens *et al.* (1993) e Mir *et al.* (2011) também observaram variação do tempo de gestação entre diferentes raças onde cães da raça pastor alemão foi observado período mais curto de gestação quando comparado com cadelas da raça Rottweilers. Em 2008 Gavrilovic *et al.* demonstraram em um estudo retrospectivo que há um aumento ou diminuição de 0,25 dias na duração da gestação de cadelas da raça Drever com um tamanho da ninhada menor ou maior do que o número médio de filhotes (6–8 filhotes / ninhada).

O final da gestação nas cadelas é marcado pelo rápido declínio da progesterona (P4), que ocorre em resposta à luteólise causada pelo aumento das concentrações séricas de prostaglandina F2 alfa (PGF2 α) (CONCANNON *et al.*, 1988; LUZ *et al.*, 2006). O aumento pré-parto de PGF2 α parece originar-se predominantemente no trofoblasto, porção fetal da placenta, no qual a maquinaria de síntese de prostaglandina é fortemente expressa durante a luteólise pré-parto (KOWALEWSKI *et al.*, 2011; GRAM *et al.*, 2013; GRAM, BOOS, KOWALEWSKI, 2014). A redução de P4, hormônio termogênico, favorece indiretamente a redução da temperatura retal nas gestantes (LUZ, 2004; LINDE-FORSBERG, 2010), podendo variar por porte, sendo que em raças pequenas, a temperatura pode chegar a 35°C, em raças de médio porte a 36°C e em raças de grande porte, 37°C (LINDE-FORSBERG; KINDAHL; MADEJ, 1992). Dessa forma a variação na temperatura pode ser um indício de que o parto está próximo a acontecer.

Assim como em outras espécies, observa-se o aumento de glicocorticoides na circulação materna antes do parto. No entanto, as elevadas concentrações de cortisol sérico materno pré-parto em cadelas estariam relacionadas ao estresse materno, e não à indução ativa do parto (HOFFMANN *et al.*, 1994). Diferentemente das outras espécies em que o cortisol estimula o aumento da produção e circulação do estrógeno, na cadela este estímulo é questionado, sendo que o seu aumento não foi observado em alguns trabalhos, como os realizados por Concannon (1986) e Hoffman *et al.* (1994). Nas demais espécies animais, o aumento dos estrógenos contribui para a síntese e liberação de prostaglandinas e aumento dos receptores de ocitocina no miométrio.

Também o aumento das concentrações de PGF2 α contribui para o declínio da P4 circulante, o que desinibe a contração do miométrio, mediando assim os efeitos da ocitocina no útero (TAVERNE; VAN DER WEIJDEN, 2008).

O início da liberação da ocitocina pelo hipotálamo materno é gerado por estímulos aferentes vindos de receptores de pressão presentes na cérvix e vagina (GENDLER; BROURMAN; GRAF, 2007). A relaxina, um hormônio que promove o relaxamento da via fetal, é produzido pela placenta, auxiliando na passagem do feto, causando relaxamento dos ligamentos pélvicos e assim, dilatação do canal do parto (LINDE-FORSBERG; ENEROTH, 2005).

2.1.1. Fase prodrômica ou de preparação do parto

A primeira fase do parto tem duração de 6 a 12 horas (LINDE-FORSBERG; ENEROTH, 2005) podendo prolongar-se de 24 (DE CRAMER; NÖTHLING, 2017) a 36 horas (SMITH, 2012), sendo esse período ainda mais longo em cadelas primíparas (LINDE-FORSBERG; ENEROTH, 2005; DE CRAMER; NÖTHLING, 2017). Esta fase é caracterizada pelo relaxamento vaginal, pela dilatação cervical e por contrações uterinas intermitentes, geralmente sem sinais de tensão abdominal. A nível comportamental, as cadelas podem se esconder, mostrar sinais de inquietação, apreensão, taquipnéia, comportamento de fazer ninho e anorexia (LINDE-FORSBERG; ENEROTH, 2005; SMITH, 2012), sendo que algumas não demonstram quaisquer mudanças comportamentais (LINDE-FORSBERG; ENEROTH, 2005; COSTA, 2010). Nessa fase também ocorre a redução da concentração da progesterona sérica resultando na diminuição da temperatura retal de forma abrupta e/ou transitória em pelo menos 1 °C (CONCANNON *et al.*, 1977). Algumas cadelas podem prolongar essa fase quando estão em um ambiente desconhecido e movimentado, na presença de fatores estressantes (SMITH, 2012).

2.1.2. Fase de expulsão fetal

A segunda fase do parto é caracterizada por fortes contrações abdominais, secreção vaginal e posterior expulsão fetal pela cérvix dilatada (SMITH, 2012; DE CRAMER; NÖTHLING, 2017) Nesta fase, a temperatura retal retorna a valores normais, podendo até sofrer um ligeiro aumento (CONCANNON *et al.*, 1977; LINDE-FORSBERG; ENEROTH, 2005). Devido às contrações uterinas ocorre uma distribuição do sangue restrito ao útero para a circulação geral (CHAMCHAD *et al.*, 2007).

O primeiro feto normalmente é expulso 30 minutos após o início das contrações abdominais (DE CRAMER; NÖTHLING, 2017), mas isso pode variar em até 4 horas (LINDE-FORSBERG; ENEROTH, 2005). O segundo estágio normalmente dura de três a 12 horas (LINDE-FORSBERG; ENEROTH, 2005; SMITH, 2012) podendo estender-se até 24 horas, com os intervalos entre nascimento dos filhotes variando de 30 minutos a quatro horas (DE CRAMER; NÖTHLING, 2017), cinco minutos a duas horas (LINDE-FORSBERG; ENEROTH, 2005;

KUTZLER, 2009), com média de um filhote por hora (SMITH, 2012), mas podendo prolongar-se em ninhadas muito numerosas (MÜNNICH; KÜCHENMEISTER, 2009). Cornelius *et al.* (2019) observaram intervalo entre nascimentos de 32 a 47 minutos, e relataram que filhotes nascidos com intervalos superiores a 60 minutos tinham 3,7 vezes mais chances de nascerem mortos. Intervalo excessivamente longo entre filhotes viáveis de 34 horas já foi relatado (ROMAGNOLI *et al.*, 2004) mas devem ser considerados exceções (DE CRAMER, AND NÖTHLING, 2017). Além disso, Smith (2012) considerou como anormal partos com duração acima de 42 horas, podendo ocasionar aumento na mortalidade neonatal e possíveis complicações para as parturientes.

2.1.3. Fase de expulsão das membranas fetais

A terceira fase do parto é caracterizada pelo momento em que as placentas são expelidas (OLSSON *et al.*, 2003; LINDE-FORSBERG; ENEROTH, 2005). As placentas encontram-se ligadas ao feto pelo cordão umbilical, e podem ser expulsas juntamente ou depois do nascimento de cada feto (RIQUELME; RUIZ, 2017). Placentas retidas no ambiente uterino da cadela podem ser expulsas entre 15 minutos (SMITH, 2012) e várias horas após o nascimento dos fetos (COSTA, 2010). Também, várias placentas podem ser liberadas de uma única vez (SMITH, 2012). As cadelas comumente abrem as membranas amniótica e alantóide, cortam o cordão umbilical e ingerem a placenta após o parto (SCHWEIZER; MEYERS-WALLEN, 2000; OLSSON *et al.*, 2003). No entanto, não é indicado a ingestão de placentas, já que podem levar à ocorrência de vômitos e diarreia nas parturientes (COSTA, 2010).

2.2. Cortisol

Ao final da gestação, a condição estressante vivenciada pela parturiente provoca a ativação do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal, que permite o aumento sérico de glicocorticoides (VERMOREL *et al.*, 1983; ALONGE; MELANDRI, 2019). Esses glicocorticoides formam um sistema chave que regula vários processos fisiológicos, sendo a maturação final dos órgãos fetais um dos principais (BOLT *et al.*, 2001). O cortisol, que em condições de estresse atravessa a barreira placentária, chega ao feto e mantém sua concentração elevada durante todo o processo de parto e imediatamente após o nascimento (HUNTER *et al.*, 1977; ALONGE; MELANDRI, 2019).

Considerado o hormônio “chave” para desencadear o parto em diversas espécies animais, o cortisol foi estudado por diversos autores. Concannon *et al.* (1977) descreveram aumento plasmático de corticóides no pré-parto de cadelas. Os valores encontrados foram 19, 19, 37, 15 e 14 (± 3) ng/mL nos dias -3, -2, -1, 0 e 1 em relação ao parto (parto = dia 0), respectivamente. No ano seguinte, Concannon *et al.* (1978) demonstraram que em 6 de 7 cadelas estudadas, a concentração plasmática de cortisol estava acima da média das concentrações pré-parto de 23 ± 1 ng/mL, atingindo 63 ± 7 ng/mL oito a 24 horas antes do parto, diminuindo para 19 ± 4 ng/mL no pós-parto. Já Hoffmann *et al.* (1994) verificaram aumento de cortisol no momento da expulsão do

1° ao 6° feto, atingindo $18,36 \pm 0,40$ ng/mL, com posterior declínio a concentrações basais ($5,97 \pm 0,47$ ng/mL) no momento do último nascimento. Baan *et al.* (2008) encontraram média de 123 ng/mL em cadelas com partos eutócicos, e Bergstrom *et al.* (2010) detectaram média de 31,44 ng/mL de cortisol em cadelas parturientes com partos eutócicos e com inércia uterina, sem diferença estatística entre os grupos. Em outro estudo, Veronesi *et al.* (2002) verificaram aumento no cortisol plasmático de $14,15 \pm 4,08$ ng/mL 48 horas antes do parto para $28,42 \pm 13,17$ ng/mL no momento do parto, e até 12 horas do início desse. Já Olsson *et al.* (2003) verificaram aumento do cortisol plasmático de $15,40 \pm 2,83$ ng/mL no anestro, para $76,10 \pm 11,00$ ng/mL durante a expulsão do primeiro feto, $65,72 \pm 15,40$ ng/mL durante a expulsão do segundo feto, com posterior declínio. Em 2021, Milani *et al.* encontraram diferença estatística no número de ninhadas com a variação do cortisol em um experimento que avaliou o parto de 25 cadelas.

Em relação ao cortisol presente nos anexos fetais, poucos trabalhos descreveram sua concentração no líquido amniótico de cadelas (GROPETTI *et al.*, 2015; BOLIS *et al.*, 2017; ALONGE; MELANDRI, 2019; FUSI *et al.*, 2021a). Em humanos, as concentrações de cortisol no líquido amniótico estão associadas à maturidade pulmonar fetal (FENCL; TULCHINSKY, 1975) e observa-se aumento em sua concentração nas últimas semanas de gravidez (FENCL; TULCHINSKY, 1975; DIVERS *et al.*, 1982). Murphy *et al.* (1975) sugeriram que o cortisol do líquido amniótico era prioritariamente de origem fetal, pois havia melhor correlação entre o cortisol do líquido amniótico e o cortisol sérico neonatal coletado por punção do cordão umbilical, quando comparado com o cortisol sérico materno.

Em cães, Bolis *et al.* (2017) forneceram embasamentos tanto a favor da teoria que defendia a origem do cortisol presente no líquido amniótico ser fetal, como também apoiaram uma provável origem materna. A primeira teoria se defendeu pela significativa correlação entre as concentrações de cortisol sérico com o cortisol encontrado no líquido alantóide, que é prioritariamente produzido pelas excretas do feto. Já a segunda teoria, de que trata-se de origem materna, foi defendida pela variação da concentração de cortisol em ambos os fluidos fetais (líquido amniótico e líquido alantóide) quando comparado aos diferentes tamanhos de ninhadas. Possivelmente o cortisol materno passaria pelo compartimento materno ou pela interface feto-materna placentária, que corroborava com o aumento da concentração de cortisol fetal em ambos os fluidos fetais.

2.3. Alterações hematológicas das parturientes

Ao longo da gestação canina ocorre um declínio gradual no hematócrito, devido à hemodiluição resultante de um aumento do volume plasmático sanguíneo (LINDE-FORSBERG; ENEROTH, 2005; KUTZLER, 2009; SMITH, 2012). Por volta do dia 35 da gestação pode-se observar hematócrito abaixo de 20 a 40% do seu valor anterior a gestação, enquanto no momento do parto esses valores podem variar entre 29 e 35% (CONCANNON, 2002). Além disso, foi descrito haver redução do hematócrito de 0,14% e 1,1%, respectivamente, para cada filhote na ninhada (AL-BASSAM; THOMSON; O'DONNELL, 1981; DE CRAMER; NÖTHLING, 2019).

O volume sanguíneo total aumenta concomitante ao peso corporal, de 20 para 55% ao longo da gestação (CONCANNON; LEIN, 1989). Também foi descrito que a diminuição no hematócrito poderia ocorrer por uma redução no tempo de vida dos eritrócitos nas gestantes (DIMÇO *et al.*, 2013). Recentemente, em 2020, Arlt observou hematócrito médio de 30,6% próximo ao parto (dias 60 a 62 da gestação), porém valores bem superiores já foram descritos por outros pesquisadores, também no pré-parto: 38,7% (HAYASHI, 1974), 41% (DIMÇO *et al.*, 2013) e 44,2% (DE CRAMER; NÖTHLING, 2019).

Kimura e Kotami (2018) encontraram poucas alterações hematológicas nos primeiros 30 dias de gestação em cadelas da raça Beagle. Após esse período, os valores eritrocitários como hemácias, hemoglobina e hematócrito se apresentaram moderadamente inferiores em comparação ao início da gestação. Em contrapartida, alguns autores sugerem que o hematócrito deve permanecer no intervalo de referência normal e que cadelas com qualquer grau de anemia devem ser examinadas para possíveis doenças concomitantes (HAYASHI, 1974; DIMÇO *et al.*, 2013).

Durante a gestação pode ocorrer uma diminuição da concentração de leucócitos circulantes associada à imunossupressão (MSHELIA; AMIN; CHAUDHARI, 2005). Após 50 dias de gestação, há um pico na concentração de leucócitos, que aumentam significativamente para aproximadamente duas vezes o nível antes da gestação (KIMURA e KOTANI, 2018), tornando-se mais pronunciado no momento do parto (FELICIANO *et al.*, 2017). As catecolaminas e os glicocorticoides presentes no momento do parto promovem diversas alterações nas concentrações dos leucócitos. Uma delas é redistribuição dos neutrófilos do *pool* marginal para o *pool* circulante ocasionado pela adrenalina (STOCKHAM; KEETON; SZLADOVITS, 2003). Em cães, o *pool* marginal costuma ter a mesma concentração que o circulante, por isso a concentração tende a dobrar em momentos de estresse (RADISAVLJEVIĆ *et al.*, 2017).

O aumento na concentração sérica de glicocorticoides no momento do parto leva a liberação de neutrófilos maduros para a circulação e reduz a diapedese (REBAR *et al.*, 2003). A leucocitose no momento do parto é principalmente constituída por polimorfonucleares, com diferencial variável de basófilos e eosinófilos (VASCONCELLOS; SABINO; PETROIANU, 2005; CORREIA *et al.*, 2012) e neutrófilos (DIMÇO *et al.*, 2013; FREHNER *et al.*, 2017). O que também pode ser observado é uma ligeira redução de linfócitos devido ao estresse ocasionado pelo parto (DIMÇO *et al.*, 2013). Essas alterações peri-parto podem estar associadas aos fatores estressantes que levam a um leucograma típico de estresse, caracterizado por neutrofilia, linfopenia, eosinopenia e monocitose (VAN KAMPEN; MALLARD, 1997). A linfopenia pode ocorrer devido linfólise (BUSH, 2004). e por redução do tempo de meia-vida e redistribuição dos linfócitos aos órgãos linfoides, e a eosinopenia pelo sequestro medular de eosinófilos (HERNÁNDEZ-AVALOS *et al.*, 2021) e a redução de quimiotaxia pela diminuição de histamina (CRIADO *et al.*, 2010).

Em alguns casos também pode ser observada trombocitose (COSTA, 2010; COBUCCI, 2015; FREHNER *et al.*, 2017; KIMURA; KOTANI, 2018; MARTINS, 2018; NUNES; PAULA *et al.*, 2018), já que algumas cadelas podem apresentar alterações da função plaquetária (SMITH, 2007). Também ocorre aumento significativo do fibrinogênio plasmático antes do parto, assim

como o aumento da atividade biológica dos fatores de coagulação (VII, VIII, IX, e XI) (GENTRY; LIPTRAP, 1988; FELDMAN; NELSON, 2003; KUTZLER, 2009; COSTA, 2010).

As proteínas são responsáveis por diversas funções como manutenção da pressão oncótica, composição estrutural das células, órgãos e tecidos, regulação hormonal, tampões no equilíbrio ácido-básico, atuantes no processo de coagulação sanguínea e nos mecanismos de defesa, assim como o transporte muitos constituintes pelo plasma (KANEKO, 1997). Kimura e Kotami (2018) e Dourado (2018) observaram redução acentuada das proteínas totais no final da gestação. As concentrações de albumina diminuíram gradualmente ao longo da gestação, mantendo-se baixas inclusive após o parto, o que conseqüentemente favorece uma diminuição gradual da relação albumina/globulina. Além disso, esta diminuição da albumina pode levar à diminuição do cálcio sérico (JOHNSTON *et al.*, 2001). Os níveis de eletrólitos séricos, como cálcio (Ca), magnésio (Mg) e Fósforo (P), podem alterar-se no momento do parto. Foi observado que os níveis de Mg sistêmico tem um aumento em fêmeas com inércia uterina comparado com cadelas de parto normal (FREHNER *et al.*, 2017). Quanto ao Ca sistêmico, observou-se diminuição um dia antes do momento do parto (KRAUS; SCHWAB, 1990), e aumento no pós-parto, juntamente com a diminuição do P (HAYASHI, 1974). Porém, Kimura e Kotami (2018) observaram que os níveis de eletrólitos séricos, incluindo o Ca, permaneceram dentro dos valores de referência no decorrer da gestação e no momento do parto, em cadelas da raça Beagle bem nutridas e com boas condições corpóreas.

Poucas alterações nas funções hepática e renal ocorrem durante a gestação (MATSUBARA, 2004). Kimura e Kotami (2018) observaram que das enzimas aspartato aminotransferase (AST), alanina aminotransferase (ALT) e fosfatase alcalina (FA), apenas a FA aumenta acentuadamente até os 30 dias de gestação, sendo observado aumento de 2 a 3 vezes maiores no momento do parto. Esse aumento foi relacionado à hematogênese hepática dos fetos caninos. O fluxo sanguíneo renal e a taxa de filtração glomerular aumentam em aproximadamente 60%, resultando em menores concentrações de ureia e creatinina (THURMON *et al.*, 1996). E Kimura e Kotami (2018) citaram ainda que a ureia e a creatinina sofrem alterações concomitantes ao aumento do metabolismo de proteínas no final da gestação.

De acordo com Concannon (2002), a gestação pode levar a uma hiperglicemia clínica ou subclínica, devido à resistência à insulina associada ao aumento da produção de hormônio do crescimento (GH) estimulado pela elevada concentração de P4 (DOURADO, 2018). Porém, outros autores observaram pouca interferência da gestação na glicose sistêmica (KIMURA; KOTANI, 2018). Frehner (2018) demonstrou que de 26 cadelas avaliadas, apenas uma apresentou hipoglicemia e nove apresentaram hiperglicemia, sem observar influência significativa entre porte dos animais e tamanho da ninhada.

2.4. Neonatos

O período neonatal representa um desafio para a sobrevivência do recém-nascido, dependendo de sua capacidade de adaptação ao ambiente extrauterino (VERONESI; CASTAGNETTI; TAVERNE, 2013; ALONGE; MELANDRI, 2019). A mortalidade neonatal canina é estimada em 20% dos filhotes com até 8 semanas de vida, sendo que 75% a 90% das mortes ocorrem nas primeiras três semanas (INDREBØ; TRANGERUD; MOE, 2007).

A membrana corioalantóide frequentemente se rompe durante o nascimento dos filhotes e geralmente as cadelas abrem as membranas amniótica e alantóide, cortam o cordão umbilical e ingerem a placenta após o parto (SCHWEIZER; MEYERS-WALLEN, 2000; OLSSON *et al.*, 2003; LINDE-FORSBERG; ENEROTH, 2005). As parturientes removem o âmnio ao lambe os neonatos, estimulando também a sua respiração (COSTA, 2010). Os primeiros estímulos respiratórios ocorrem durante a passagem do feto pelo canal do parto, o desprendimento do cordão umbilical leva à necessidade do primeiro ato respiratório pelo filhote que infla o pulmão pela primeira vez, levando assim a uma série de outras alterações nos sistemas respiratório e circulatório (VERONESI, 2016). Os filhotes caninos nascem extremamente vulneráveis, sendo necessárias mudanças fisiológicas para as primeiras adaptações neonatais ao ambiente extra-uterino, favorecendo assim sua viabilidade e sobrevivência (GRUNDY, 2006).

Para identificar recém-nascidos mais suscetíveis a óbito neonatal, foi criado na década de 1950, o Score Apgar, proposto por Virginia Apgar para avaliação rápida da viabilidade neonatal em humanos e em 2009, Veronesi e co-autores propuseram um score Apgar adaptado para avaliação de viabilidade neonatal em cães, modificando os parâmetros propostos pela Dra. Virginia Apgar de acordo com a fisiologia neonatal canina. Na adaptação veterinária, o índice de Apgar inclui a medição da frequência cardíaca, esforços respiratórios, movimentos (tônus muscular), cor das mucosas e vocalização (reflexo de irritabilidade) (MOON *et al.*, 2000). Dados disponíveis a partir dos poucos estudos realizados em cães destacam que o escore de Apgar é um método barato, simples e prático para avaliar as condições de um filhote recém-nascido (VERONESI *et al.*, 2009; VASSALO *et al.*, 2015). O escore de Apgar se tornou um método considerado adequado para avaliar a vitalidade neonatal em filhotes e o uso desse sistema de avaliação permitiu a identificação imediata de filhotes que requerem cuidados neonatais. Ele permite escolher a reanimação mais adequada e a intensidade do procedimento em relação ao grau de viabilidade do filhote, minimizando as perdas neonatais (VERONESI *et al.*, 2009).

Alguns fatores estão intrinsecamente relacionados à sobrevivência do filhote. Um deles é o tempo de duração do parto, já que o prolongamento para a expulsão dos fetos é comumente considerado o parâmetro mais importante que afeta a viabilidade neonatal (GROPETTI *et al.*, 2010; DE CRAMER; NÖTHLING, 2017). Outro fator importante é o peso ao nascer, pois além de ser um parâmetro facilmente mensurável, pode ser confrontado com outros sinais clínicos que fornecem informações sobre a saúde e o bem-estar do neonato (SCHRANK *et al.*, 2020). Os recém-nascidos com baixo peso corporal ao nascimento têm risco doze vezes maior de irem a óbito

quando comparados aos filhotes com peso normal (GROPETTI *et al.*, 2015; MILA *et al.*, 2015). Filhotes com baixo peso têm maior relação de área de superfície corpórea por massa, reduzindo assim a capacidade de manter a temperatura corporal estável, e esses filhotes têm menor capacidade de manter a homeostase da glicose em comparação com seus irmãos da mesma ninhada (GRUNDY, 2006).

Pouco se sabe sobre as diferenças raciais no peso ao nascimento e nos padrões de crescimento normal (SCHRANK *et al.*, 2020). Estudos anteriores realizados em cães focaram em uma ou duas raças e poucas análises foram realizadas a nível de tamanho específico de cada raça (NIELEN; JANSS; KNOL, 2001; INDREBØ; TRANGERUD; MOE, 2007; FISZDON; KOWALCZYK, 2009; MILA *et al.*, 2015). Porém, o peso ao nascimento deve ser analisado de acordo com a raça devido à grande variação de peso corporal dentro da espécie canina (MUGNIER *et al.*, 2019).

2.5.Placenta

Em cães, a placenta é macroscopicamente classificada como zonária; consistindo em uma área central denominado labirinto endoteliocorial da cinta placentária, a zona de transferência, e duas faixas laterais, os hematomas marginais (ARALLA *et al.*, 2013). E histologicamente a placenta é denominada como endoteliocorial, onde o trofoblasto circunda diretamente o endotélio dos vasos sanguíneos maternos (FURUKAWA; KURODA; SUGIYAMA, 2014). A placenta é responsável por manter o feto viável durante toda a gestação por ser capaz de realizar transporte de nutrientes e gases para o embrião além de eliminar produtos de metabolismo fetal no sangue materno e produzir hormônios responsáveis pela adaptação do organismo materno nas diferentes fases do período gestacional (BROLIO *et al.*, 2010). Segundo Ambrósio (2009), as trocas de nutrientes, ocorrem por uma rede capilar onde retorno venoso ocorre paralelamente a rede capilar arterial, via arteríolas e artérias de menor calibre e que o fluxo sanguíneo placentário dos cães é de corrente cruzada, simples ou de via única, não havendo contato direto do sangue materno e fetal.

Na espécie canina, poucas informações estão disponíveis sobre os determinantes do baixo peso ao nascimento. Porém em humanos, é conhecido que a espessura e área de superfície da placenta influenciam o peso da placenta que é responsável pela variação do peso ao nascimento em 36,6% dos neonatos (SALAFIA; *et al.*, 2008). Na espécie canina, a placenta pode estar associada ao baixo desenvolvimento fetal (TESI *et al.*, 2020). Em 2020, Tesi *et al.* relataram relação entre o menor peso da placenta em filhotes com menor peso ao nascimento.

3. OBJETIVOS

Este trabalho teve como objetivo geral avaliar as concentrações séricas de cortisol no sangue materno e no líquido amniótico, bem como os parâmetros hematológicos e bioquímicos de cadelas parturientes com diferentes tamanhos de ninhadas.

3.1. Objetivos específicos

- Avaliar dados obstétricos como número de filhotes nascidos e peso dos neonatos, peso de placentas expulsas, duração do intervalo entre nascimentos e o sexo dos neonatos, além de informações como ordem de parição e escore de condição corporal (ECC);
- Avaliar se há influência do peso das placentas no peso dos neonatos;
- Utilizar um modelo de regressão para avaliar se há relação entre o número de filhotes nascidos com o número de placentas presentes no útero, e as variações na concentração de cortisol;
- Correlacionar as concentrações de cortisol materno com as concentrações de cortisol do líquido amniótico fetal;
- Utilizar um modelo de regressão para avaliar se há relação entre o número de filhotes nascidos com o número de placentas presentes no útero, e as variações na concentração de cortisol no líquido amniótico;
- Avaliar se há relação entre a variação do cortisol do líquido amniótico em neonatos da mesma ninhada;
- Correlacionar as concentrações de cortisol materno com os parâmetros hematológicos;
- Avaliar parâmetros hematológicos de cadelas no momento do parto e se há relação dos mesmos com o tamanho da ninhada;
- Avaliar se os parâmetros hematológicos se relacionam com os dados obstétricos como ordem de parição, raça e porte dos animais.

4. MATERIAL E MÉTODOS

O presente estudo foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), protocolo nº 267/2019. As fêmeas parturientes e os seus respectivos neonatos foram provenientes de proprietários particulares ou criadores, e todos consentiram com o plano experimental e procedimentos deste estudo, conforme Termo de Compromisso Anexo 1.

4.1. Animais

Foram utilizadas 50 cadelas adultas, parturientes, sendo 33 animais de raças pequenas (até 10 kg), uma cadela de porte médio (11 a 25kg) e 16 de grande porte (acima de 25 kg), entre um e sete anos de idade, clinicamente saudáveis. Sendo esses animais de 14 raças distintas ou sem-raça-definida (SRD): American Pitbull Terrier (n=3), Bulldogue Francês (n=3), Cane Corso Italiano (n=1), Chihuahua (n=1), Cocker Spaniel Inglês (n=1), Dobermann (n=2), Dogue Alemão (n=1), Golden Retriever (n=7), Rottweiler (n=1), Pequinês (n=2), Pug (n=9), Shih Tzu (n=8), Spitz Alemão (n=3), SRD (n=3) e Yorkshire Terrier (n=5). Os animais foram oriundos de tutores particulares (animais de companhia) ou de canis, e eram alimentados com ração comercial *Premium* (38%) e *Super Premium* (46%), e 18% não sabiam a marca da ração fornecida. Além disso, 22% dos animais recebiam dorso de frango como complemento à dieta. Todos os animais receberam água *ad libitum*.

4.2. Acompanhamento clínico-reprodutivo dos animais

Foram acompanhadas cadelas sabidamente gestantes. Em alguns animais foram realizados exames ultrassonográficos e/ou radiográficos com aproximadamente 55 dias de gestação para avaliar a saúde dos animais e quantificar o número de fetos. O início do acompanhamento do parto ocorreu quando a cadela apresentava redução da temperatura retal, mensurada pelo menos 2 vezes ao dia, ou quando se observava sinais de proximidade do parto, como edema e relaxamento de vulva, inquietude, isolamento, hiporexia, comportamento de ninho, ato de cavar e arranhar o chão, eliminação de tampão mucoso liquefeito, anorexia, agitação e dispneia, como descreveram LINDE-FORSBERG e ENEROTH (2005) e LUZ e MARTINS (2019). Somente cadelas que iniciaram o parto eutócico foram utilizadas para as análises estatísticas. Cadelas que não iniciaram a segunda fase do parto de forma eutócica, foram submetidas a drogas para auxiliar no trabalho de parto (como ocitocina) e até mesmo necessitaram de cesariana foram excluídas do projeto.

No momento da expulsão do primeiro feto, considerado como início da fase 2 do parto, os animais foram levemente contidos pelos tutores, o local selecionado para a coleta (veia cefálica, jugular ou safena) foi previamente higienizado com álcool a 70 % e realizado garroteamento por meio de torniquete elástico para melhor visualização da veia. Foram coletados o total de 5,0 mL de sangue por seringa de 5,0 ml (agulha 25x07) para realização da dosagem de cortisol, exames hematológicos e bioquímicos.

4.3. Coleta de dados obstétricos

A habilidade materna foi classificada em “ruim” quando a cadela não tinha interesse pelo filhote, não abria os envoltórios fetais e não permitia amamentação dos filhotes, era fêmea agressiva com os neonatos e que não permanecia no ninho; “boa” quando a cadela realizava a abertura dos envoltórios fetais, realizava a limpeza dos filhotes, se matinha no ninho para amamentação e cuidado dos mesmos; e “exagerada” quando a fêmea além de realizar todos os cuidados com os filhotes citados acima, protegia o ninho impedindo o contato com os humanos. Outros dados obstétricos coletados foram número de filhotes nascidos e peso dos neonatos, peso de placentas expulsas, duração do intervalo entre nascimentos e o sexo dos neonatos, além de outras informações como ordem de parição, alimentação, histórico de vacinação e vermifugação, e escore de condição corporal (ECC) segundo a escala adaptada proposta por FEDIAF (2019) (Quadro 1) e escore APGAR sugerido por VERONESI (2009).

Eventuais anormalidades no transcorrer do parto também foram registradas. Cada neonato e cada placenta foram pesados em balança digital para gramas, e os partos foram acompanhados até o nascimento do último filhote. Para a dosagem do cortisol do líquido amniótico, logo após a expulsão de cada feto foi realizado a abertura do saco amniótico e coleta do líquido amniótico por seringa de 5,0 mL. (quantidades variáveis: mínimo de 2,0 mL e máximo de 5,0 mL). O líquido amniótico foi imediatamente centrifugado (centrífuga Clay Adams® modelo 0011/6) por 15 minutos a 1976xG (4200 rpm), e o sobrenadante foi separado e acondicionado em microtubos de 2,0 mL, e armazenado em freezer a -20oC até a mensuração hormonal.

Quadro 1. Escore de condição corporal (ECC) utilizado para classificação das cadelas gestantes e parturientes do presente estudo.

Escore	Características
1	Costelas e proeminências ósseas visíveis e facilmente palpáveis, ausência de gordura corporal perceptível. Reentrância abdominal extremamente perceptível quando vista de lado e um formato de ampulheta exagerado quando vista de cima
2	Costelas e proeminências ósseas facilmente palpáveis com cobertura de gordura mínima. Reentrância abdominal marcada quando vistas de lado e ossos pélvicos facilmente visualizado quando visto de cima.
3	Costelas e proeminências ósseas palpáveis sem excessiva cobertura de gordura. A curvatura abdominal está levemente presente quando vista de lado, e o quadril bem alinhando quando vista de cima.
4	Costelas e proeminências ósseas podem ser sentidas sob uma camada moderada de gordura. Deposito de gordura evidente sobre a área lombar e a base da cauda. Ausência de cintura ou pouco visível. Abaulamento do abdômen.
5	Não é possível palpar as costelas e as proeminências ósseas. Presença de camada espessa de gordura. Distensão abdominal quando vista de lado e ausência de cintura. quando visto de cima. Depósitos de gordura ao redor do rosto, pescoço, membros e base da cauda.

FEDIAF 2019 - Fédération européenne de l'industrie des aliments pour animaux familiers. Nutritional Guidelines for Complete and Complementary Pet Food for Cats and Dogs.

4.4. Obtenção das amostras de soro materno para a dosagem do cortisol

Para as dosagens hormonais, somente amostras de animais sem alterações hematológicas e de bioquímica sanguínea foram usadas para análise. As amostras de sangue foram colhidas por meio de venopunção da veia cefálica, jugular ou safena no momento de expulsão do primeiro feto ou poucos minutos após o nascimento. Após cada coleta de sangue, as amostras foram imediatamente centrifugadas (centrífuga Clay Adams® modelo 0011/6) por 15 minutos a 1976xG (4200 rpm), o soro foi retirado com auxílio de pipeta de Pasteur, aliqotado em microtubos de 2,0 mL e congelado a -20°C para posterior dosagem hormonal por radioimunoensaio (RIE).

4.5. Radioimunoensaios de cortisol materno e do líquido amniótico

Os ensaios para dosagens de cortisol sérico materno foram realizados no “Laboratório “Pesquisas hormonais”, localizado em São Paulo-SP, sob coordenação da Dra. Priscila Viau. A partir do soro materno foram determinadas as concentrações de cortisol, em duplicata, utilizando-se a técnica de Radioimunoensaio (RIE). As análises foram realizadas por meio de kit comercial (Cortisol Coat-A-Count; Genese®, São Paulo, Brasil), previamente validado para uso em amostras caninas. Os resultados foram expressos em ng/mL, após a conversão de acordo com uma curva de calibração preparada simultaneamente. A sensibilidade do ensaio de cortisol na ligação de 97% foi de 0,7 ng/mL, e os coeficientes de variação intra-ensaio baixo e alto foram 3,56% e 2,10%, respectivamente.

A concentração de cortisol no líquido amniótico foi avaliada de 14 cadelas das quais foi possível coletar líquido amniótico de 23 filhotes, sendo que em 7 cadelas foi possível coletar em mais de um filhote (em 5 cadelas a coleta foi realizada em 2 filhotes e em 2 cadelas foi possível a coleta do líquido amniótico de 3 filhotes). Foram coletadas amostras do líquido amniótico do interior da vesícula amniótica, quando esta apresentava-se íntegra após passagem pelo canal vaginal, sem ruptura. Aspirou-se o volume de 5,0 mL com auxílio de seringa, sendo a amostra imediatamente centrifugada (centrífuga Clay Adams® modelo 0011/6) por 15 minutos a 1976xG (4200 rpm). A partir do líquido amniótico foram determinadas as concentrações de cortisol em duplicata, utilizando-se a mesma técnica e kit descritos anteriormente. Os resultados foram expressos em ng/mL.

4.6. Exames hematológicos e de bioquímica sérica

Os exames hematológicos e de bioquímica sérica foram realizados no Laboratório de Patologia Clínica do Hospital Veterinário da EV/UFMG, sob coordenação da Profa. Dra. Fabiola de Oliveira Paes Leme. Para a realização de hemograma, sangue venoso de 20 cadelas no momento do nascimento do primeiro filhote, foi acondicionado em micro tubos de 0,5 mL contendo ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA-10%). Em até 24 horas após a coleta o sangue foi processado em aparelho automático (ICounter Vet®) utilizando os métodos de impedância para determinar a concentração de leucócitos, eritrócitos e plaquetas; e determinação do volume corpuscular médio (VCM), concentração de hemoglobina corpuscular média, índice de distribuição de eritrócitos (RDW) e volume plaquetário médio (VPM). Para determinar a dosagem de hemoglobina, foi utilizado o método de Absorbância de Luz em reação de cianometahemoglobina (DIAGNO, 2021). Também foram confeccionados esfregaços sanguíneos para contagem celular diferencial e avaliação morfológica.

Para os exames bioquímicos, o sangue foi centrifugado (centrífuga Clay Adams® modelo 0011/6) por 15 minutos a 1976xG (4200rpm), e o soro foi separado e acondicionado em microtubos

de 1,5 mL, sendo armazenados em freezer a -20°C. O soro foi processado em espectrofotômetro (Cobas Mira Plus® - Roche) utilizando-se kits comerciais (Biotecnica®) seguindo o protocolo operacional padrão do laboratório. Foram realizadas determinações das atividades de ALT (U/L), AST (U/L), gama glutamiltransferase (GGT U/L), concentrações de ureia (mg/dl), creatinina (mg/dl), proteínas totais (g/dl), albumina (g/dl), Mg (mg/dl), glicose (mg/dl) e Cálcio (mg/dl).

4.7. Análise estatística

As variáveis quantitativas são descritas com médias e desvios-padrão, já para as variáveis qualitativas foram obtidas as frequências absolutas e relativas. O efeito de variáveis relativas ao animal (ordem de parto, número de filhotes nascidos, porte e raça) sobre a variação do cortisol sérico foi estudado por meio de regressão múltipla. Análises de regressão múltipla também foram realizadas para avaliar o efeito das características dos animais sobre as variáveis hematológicas e bioquímicas. O modelo utilizado foi o *stepwise* de seleção de variáveis considerando o coeficiente de determinação e o fator de inflação da variância.

As médias das variáveis respostas entre os grupos foram comparadas por meio do teste de *Tukey*. O coeficiente de correlação foi obtido para conhecimento da associação entre o cortisol sérico e as variáveis de hemograma, bioquímicas e cortisol do líquido amniótico. O coeficiente de correlação de Pearson também foi obtido para entender as relações entre as características obstétricas avaliadas, peso do filhote, total de filhotes, número de filhotes nascidos vivos, duração do parto e peso da placenta.

A alteração do cortisol no líquido amniótico entre diferentes filhotes no mesmo momento do parto foi investigada por meio do teste T pareado e do coeficiente de correlação. O peso ao nascimento foi investigado por meio de um modelo de regressão linear mista considerando os efeitos fixos de ordem de parto, idade da cadela, porte, peso da cadela, total de filhotes nascidos, sexo do filhote e peso da placenta como efeito fixos. O efeito da cadela foi considerado como aleatório para acomodar as diferentes observações de filhotes para um mesmo animal.

O modelo final contendo os efeitos de raça, ordem de parto, peso da placenta, total de filhotes e porte, além do efeito da cadela foi escolhido com base no AIC e teste de razão de verossimilhança. Em todos os testes de hipótese foi considerado o nível de significância de 5%. As análises foram realizadas por meio do software R 4.0.2 (R CORE TEAM, 2020).

5. RESULTADOS

5.1. Dados obstétricos

As raças mais prevalentes foram descritas na Figura 1. Do total de fêmeas, 30 (60%) eram múltiparas e 20 (40%) primíparas. Os animais eram prioritariamente alimentados com ração *Super premium* (46%), *Premium* (38%) e 22% recebiam suplemento com dorso de frango. 96% dos animais apresentaram a vacinação múltipla canina e antirrábica em dia e 92% foram vermifugados antes do acasalamento. O ECC médio foi de $3,35 \pm 0,65$ (mínimo e máximo de 2,5 e 5,0 respectivamente). A idade média das 50 cadelas incluídas no estudo foi de 3 anos (de 1 a 7 anos) e o número médio de filhotes nascidos por ninhada foi de 6 (de 1 a 11 filhotes).

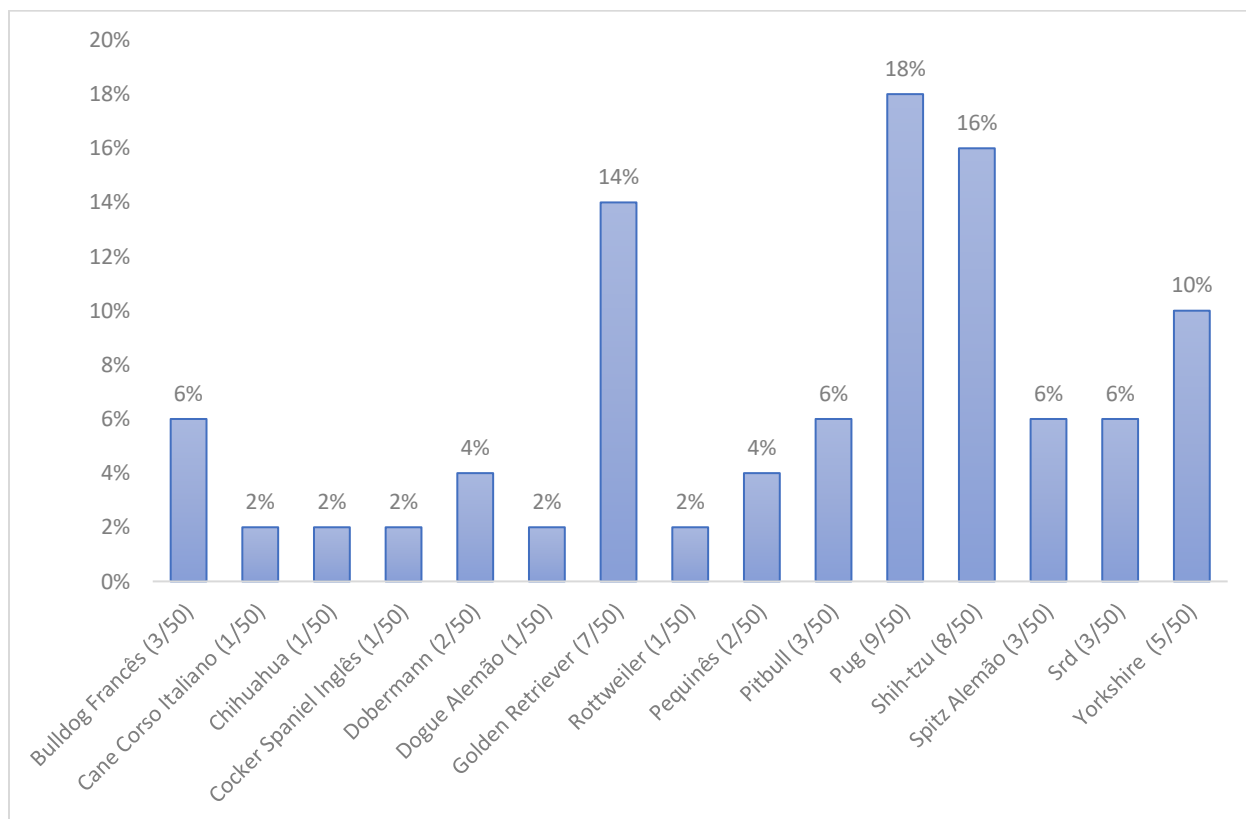


Figura 1. Distribuição percentual das raças das cadelas parturientes acompanhadas durante o trabalho de parto.

As principais manifestações observadas pelos tutores no pré-parto foram: 6% agitação (3/50), 62% anorexia (31/50), 78% cavar ou raspar o solo (39/50), 2% se esconder (1/50), 72% presença de leite nas mamas (36/50), 2% mímica de defecação (1/50), 26% taquipneia (13/50), 2%

pouca responsividade aos tutores (1/50), 2% tremores (1/50), 24% eliminação de tampão mucoso (12/50), 86% diminuição de temperatura corporal em até 1,0°C (43/50), 18% fezes pastosas ou diarreicas (9/50), e 6% presença de secreção esverdeada vulvar (3/50). Apenas duas cadelas (4%) não apresentaram sinal de parto aparente, o qual só foi observado o nascimento do primeiro filhote.

O início da segunda fase do parto (expulsão do primeiro feto) ocorreu em todos os horários do dia (Fig. 2), sendo pela manhã (06-12 horas) 5 animais, a tarde (12-18 horas) 19 animais, a noite (18-24h) 17 animais, e de madrugada (00-06 horas) 9 animais. O intervalo médio entre nascimentos das cadelas que iniciaram e finalizaram o parto eutócico, sem nenhuma interferência (n=33), foi de 42 minutos \pm 0,02 (mínimo de 1 minuto e máximo de 3 horas). Nas raças de pequeno porte (n=24), esse intervalo foi de 41 minutos \pm 0,02, na de porte médio (n=1) 36 minutos \pm 0,01, e nas de grande porte (n=8) 44 minutos \pm 0,02.

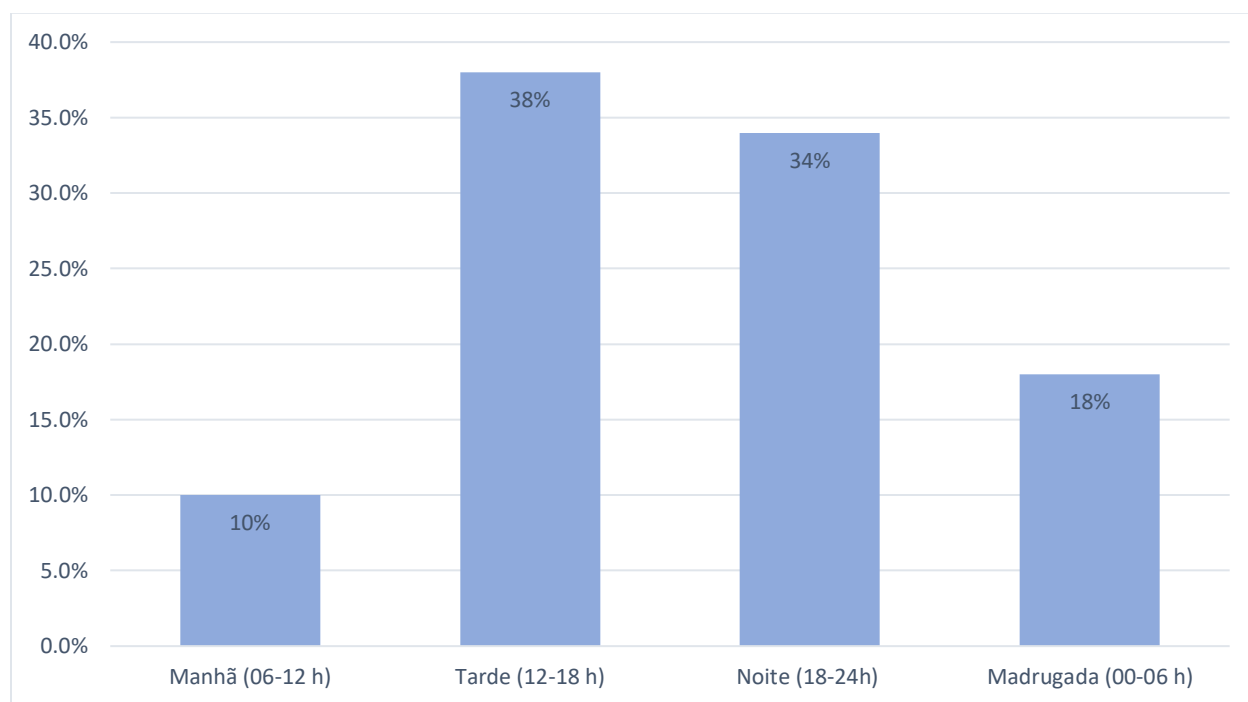


Figura 2. Distribuição percentual do horário de início da segunda fase do parto nas cadelas.

A duração total média do parto eutócico (n=33) foi 4 horas e 20 minutos \pm 0,09 (mínimo de 17 minutos e máximo de 9 horas e 30 minutos). Nas cadelas de porte pequeno (n=24), a duração do parto foi de 3 horas 15 minutos \pm 0,06 (mínimo de 17 minutos e máximo de 8 horas 46 minutos), na cadela de porte médio (n=1), foi de 2 horas 54 minutos, e nas cadelas de porte grande (n=8) foi de 5 horas 35 minutos \pm 0,11 (mínimo de 1 hora e 48 minutos e máximo de 9 horas e 30min.).

5.2. Neonatos

Das 33 cadelas com parto eutócico, nasceram 191 filhotes, sendo que 106 (55,49%) nasceram em apresentação longitudinal anterior e 56 (29,31%) em apresentação longitudinal posterior. O total de cadelas com habilidades maternas ruim, boa e exagerada foi de 14,28%, 79,59% e 6,12%, respectivamente.

Do total de 278 filhotes nascidos, 246 nasceram vivos (88,48%), 32 foram natimortos (11,51%) e 12 filhotes foram a óbito até os 30 dias pós-parto (4,31%). Dos 246 filhotes nascidos vivos 115 eram machos (46,74%) e 131 fêmeas (53,25%). Foi possível coletar o escore APGAR de 232 neonatos onde foi observado uma variação de 1 a 10 com média de $7,39 \pm 2,87$. O peso médio ao nascer variou de 24g a 540 g, sendo que nas cadelas de pequeno porte (n=151) foi de $152g \pm 42,16$ (mínimo 64g e máximo 280g), médio porte (n=6) $259g \pm 21,70$ (mínimo 225g e máximo 285g), e grande porte (n=121) $359g \pm 79,70$ (mínimo 20g e máximo 540g).

O peso médio das placentas das cadelas de pequeno porte (31 cadelas e 151 filhotes) foi $15g \pm 3,57$ (mínimo 6 g e máximo 24g), médio porte (1 cadela e 6 filhotes) $22g \pm 3,21$ (mínimo 18g e máximo 24g), e grande porte (15 cadelas e 121 filhotes) $33g \pm 9,82$ (mínimo 18g e máximo 61g). Os resultados das principais raças estão descritos na Tabela 1.

Tabela 1. Valores médios, desvio padrão e peso mínimo e máximo dos neonatos e suas placentas nas diferentes raças caninas avaliadas neste estudo.

Raça	N	Média \pm DP de filhotes	Peso do Neonato			Peso da placenta			
			Média \pm DP	Mínimo	Máximo	N	Média \pm DP	Mínimo	Máximo
Golden Retriever	7	$5,0 \pm 2,64$	$355g \pm 78,71$	154g	540g	39	$35g \pm 9,74$	20g	53g
Pug	9	$6,08 \pm 1,31$	$144g \pm 35,63$	64g	245g	46	$15g \pm 3,84$	8g	24g
Shih tzu	8	$4,35 \pm 1,43$	$161g \pm 30,16$	95g	202g	24	$16g \pm 2,98$	11g	23g
Yorkshire	5	$3,71 \pm 1,05$	$109g \pm 24,99$	73g	152g	12	$12g \pm 3,70$	6g	18g
Outros	21	$7,17 \pm 2,6$	$273g \pm 113,76$	20g	518g	63	$22g \pm 10,42$	8g	61g

Foram apresentados o número de cadelas parturientes, as médias e DP do número de filhotes nascidos por raça e médias, DP, valores mínimos e máximos para o peso dos filhotes o numero de placentas pesadas por raça e de suas respectivas médias, DP, valores mínimos e máximos.

5.3.Cortisol

Na análise sérica de cortisol das 46 cadelas, observou-se média de $81,0 \pm 41,8$ ng/mL com valores mínimos e máximos de 36,4 ng/mL e 196,5 ng/mL respectivamente. Trinta e nove cadelas (84,78%), apresentaram valores acima da referência para a espécie (cortisol basal: 10,00 – 46,00 ng/mL). Fêmeas de grande porte apresentaram média de cortisol menor que as de pequeno porte ($p=0,0075$), $61,2 \pm 28,1$ ng/mL e $87,4 \pm 44,2$ ng/mL, respectivamente (Tab. 2).

Tabela 2. Média, desvio padrão e concentração mínima e máxima de cortisol sérico nos diferentes portes de cadelas parturientes

Portes	N	Média (ng/mL)±DP	Mínimo (ng/mL)	Máximo (ng/mL)
>25 kg	15	61,2 ^a ±28,1	36,4	144,8
<10kg	28	87,4 ^b ±44,2	36,9	196,5

Letras diferentes na coluna correspondem a médias significativamente diferentes segundo o teste de Tukey ($p < 0,05$).

As médias de cortisol nas raças mais prevalentes no estudo estão descritas na Tabela 3. Foi observado diferença entre as raças Pug e Yorkshire ($p = 0,0214$), mas não houve diferença destas duas para as demais.

Tabela 3. Média, desvio padrão e concentração mínima e máxima de cortisol sérico nas diferentes raças de cadelas parturientes

Raças	N	Média (ng/mL) DP	Mínimo (ng/mL)	Máximo (ng/mL)
Golden Retriever	7	65,7 ^{ab} ±36,6	36,4	144,8
Pug	8	52,7 ^a ±10,3	36,9	67,1
Shih Tzu	8	104,6 ^{ab} ±51,9	37,7	196,5
Yorkshire Terrier	5	92,5 ^b ±54,4	11,4	143,0
Outros	19	82,0 ^{ab} ±41,5	39,4	193,0

Letras diferentes na coluna correspondem a médias significativamente diferentes segundo o teste de Tukey ($p < 0,05$).

Não foram identificadas diferenças nas médias para cortisol quando comparados animais de diferentes ordens do parto ($p > 0,05$) (Tab. 4).

Tabela 4. Média, desvio padrão e concentração mínima e máxima de cortisol sérico nas diferentes ordens de parto das cadelas parturientes.

Ordem de parto	N	Média (ng/mL) \pm DP	Mínimo (ng/mL)	Máximo (ng/mL)
1º	18	91,4 \pm 45,7	36,4	196,5
2º	10	65,1 \pm 30,7	40,9	142,1
3º	10	85,0 \pm 54,5	36,9	193,0
\geq 4º	5	76,9 \pm 18,5	47,6	95,3

O número total de filhotes não influenciou na variação do cortisol sérico materno no momento do parto ($p > 0,05$) como demonstrado na Tabela 5.

Tabela 5. Média, desvio padrão e concentração mínima e máxima de cortisol sérico relacionados ao número de filhotes por ninhada das cadelas parturientes

N de filhotes	N (cadelas)	Média (ng/mL) \pm DP	Mínimo (ng/mL)	Máximo (ng/mL)
\leq 2	5	87,3 \pm 45,5	47,6	142,6
3	7	113,4 \pm 56,0	74,0	196,5
4	6	75,8 \pm 39,3	36,9	143,0
5	3	73,8 \pm 29,5	40,9	98,0
6	9	80,0 \pm 45,0	37,7	154,1
7	4	82,7 \pm 42,2	55,4	144,8
8	6	68,0 \pm 38,0	36,4	141,8
\geq 9	6	60,3 \pm 20,1	39,4	93,6

A concentração de cortisol no líquido amniótico foi avaliada de 14 cadelas das quais foi possível coletar líquido amniótico de 23 filhotes, com média de 11,34 ng/mL \pm 5,61. Com valores máximo e mínimos de 21,7 ng/mL e 5,5 ng/mL respectivamente. Em 5 cadelas foi possível coletar líquido amniótico de dois filhotes distintos e em duas cadelas foi possível coletar de três filhotes.

Não foram encontradas associação significativa entre os valores de cortisol do líquido amniótico mensurado entre filhotes da mesma ninhada ($r = -0.20$; $p > 0,05$).

5.4. Hematologia

Na Tab. 6 estão descritas as médias, desvios, máximas e mínimas dos parâmetros hematológicos de 20 das cadelas. Considerando os valores de referência para espécie (FREHNER *et al.*, 2017), notou-se que 15% (3/20) dos animais apresentaram anemia discreta, sendo 5% anemia normocítica e hiperocrômica (VG = 34% VCM=76,06 CHCM=32,64), 5% anemia macrocítica e hiperocrômica (VG = 33% VCM=86,74 CHCM=31,11), e 5% anemia normocítica e normocrômica (VG = 32% VCM=75,65 CHCM=31,87).

Tabela 6. Média, desvio padrão e valores mínimo e máximo dos índices hematológicos das cadelas parturientes

	Média±DP	Mínimo	Máximo	Referência
Hemácias (x 10 ⁶ cels/ uL)	5,753±0,94	4,15	7,98	5,5-8,5**
Hemoglobina (g/dL)	13,29±1,50	10,20	16,20	13,9–21,1*
VG (%)	41,35±4,55	32,00	50,00	37,0–61,0*
VCM (fL)	72,93±8,46	46,37	86,75	60-77**
CHCM (g/dL)	32,15±0,94	30,91	34,19	32-36**
HCM (g/dL)	23,42±2,55	15,04	26,99	19,5-24,5**
RDW (%)	13,56±1,13	12,00	16,02	12,0-15,0**

VG: Volume Globular; VCM: Volume corpuscular médio; CHCM: Concentração de hemoglobina corpuscular médio; HCM: Hemoglobina corpuscular média; RDW: Amplitude de distribuição dos glóbulos vermelhos.

*Referência em (FREHNER *et al.*, 2017)

** Referência em (HARVEY *et al.*, 2012)

Em 100% dos animais foi observada leucocitose como descrito na Tabela 7. O leucograma revelou 100% de cadelas com neutrofilia ($16.189,1 \pm 4.337,3$ céls/mL), 30% com eosinopenia ($00,0 \pm 0,0$ céls/mL), 70% com linfopenia ($651,57 \pm 276,67$ céls/mL) e 65% com monocitose

(1.521,15 ± 502,26 céls/mL). 45% dos animais apresentaram aumento de bastonetes (913,51 ± 723,71 céls/mL) e apenas 5% das fêmeas apresentaram aumento de metamielócitos (302,00 ± 0,0 céls/mL), caracterizando um desvio de neutrófilos à esquerda. A trombocitose foi identificada em 55% dos casos e o valor médio do número de plaquetas foi 448.550 céls/uL ± 201.254,1.

Tabela 7. Média, desvio padrão e valores mínimo e máximo do leucograma e da concentração de plaquetas nas cadelas parturientes

	Média±DP	Mínimo	Máximo	Referência
Leucócitos Totais (céls/ μ l)	19.220,0±4.517,05	16.500,0	30.200,0	4.700,0–11.300,0*
Metamielócitos (céls/mL)	302,00±0,0	0,0	302,00	0**
Bastonetes (céls/mL)	473,45±627,81	0,0	2.445,00	0**
Segmentados (céls/mL)	16.189,1±4.337,347	10.804,00	25.944,00	2.500,0–7.440,0*
Linfócitos (céls/mL)	1.058,2±756,86	326,0	2.718,0	1.150,0–3.400,0*
Monócitos (céls/mL)	1.182,5±635,11	255,0	2.475,0	200,0–920,0*
Eosinófilos (céls/mL)	300,25±269,569	0,0	880,00	120,0–1.290,0*
Basófilos (céls/mL)	0,0±0,0	0,0	0,0	0–80,0*
Plaquetas (céls/uL)	448.550,0±201.254,1	157.000,0	828.000,0	130.000–394.000*

*Referência em (FREHNER *et al.*, 2017)

** Referência em (HARVEY *et al.*, 2012)

A concentrações de cortisol sérico materno e o número de filhotes não influenciaram nas alterações hematológicas ($p > 0,05$) quando correlacionadas, porém, foi observado efeito significativo entre porte e ordem de parto. As cadelas Shih Tzu ($n=3$) apresentaram mais linfócitos quando comparadas às outras raças ($n=9$), ($p = 0,006$), sendo que essa mesma raça apresentou mais plaquetas quando comparado com os animais da raça Pug ($n=4$) ($p = 0,006$).

A ordem de parto influenciou na concentração dos eosinófilos ($p = 0,03$), sendo identificado que animais múltiparos apresentaram menor concentração dessa célula de defesa comparadas com cadelas de primeiro parto (Tab. 8).

Tabela 8. Média, desvio padrão e valores mínimo e máximo da concentração de eosinófilos em cadelas parturientes primíparas e multíparas

	N	Média ± DP (cél/s/mL)	Mínimo	Máximo
Primíparas	10	437,7 ^b ±298,65	0,0	880,0
Multíparas	8	168,25 ^a ±150,8	0,0	340,0

Letras diferentes na linha correspondem a médias significativamente diferentes segundo o teste de *Tukey* ($p < 0,05$).

As alterações na concentração de linfócitos sofreram interferência do porte ($p = 0,02$) sendo que animais de grande porte apresentaram mais linfócitos quando comparados com animais de pequeno porte no momento do nascimento do primeiro filhote (Tab. 9). Foi observada linfopenia em 50% dos animais de pequeno porte e 20% dos animais de grande porte, respectivamente.

Tabela 9. Média, desvio padrão e valores mínimo e máximo da concentração de linfócitos em cadelas parturientes de diferentes portes

	N	Média ± DP (cél/s/mL)	Mínimo	Máximo
>25 kg	6	940 ^a ±835,94	356,0	2550,0
<10 kg	14	1108,86 ^b ±747,83	326,0	2718,0

Letras diferentes na linha correspondem a médias significativamente diferentes segundo o teste de *Tukey* ($p < 0,05$).

5.5. Bioquímica sanguínea

Nas análises bioquímicas (Tab. 10), 100% dos animais (50/50) apresentaram atividades de ALT e AST dentro do intervalo proposto por Kaneko *et al.* (2008), enquanto hiperglicemia foi encontrada em 33,3% das cadelas (13/39) e hipoglicemia em 15,3% (6/39) de acordo com os parâmetros estabelecidos para espécie (68 a 117 mg/dL - KIMURA; KOTAMI, 2018). Para a ureia, 11,76% (2/17) das cadelas apresentaram resultados abaixo dos valores de referência para espécie (17 a 48 mg/dL - KIMURA e KOTAMI, 2018). Para creatinina, 100% (13/13) dos animais apresentavam resultados acima do valor de referência (0,2 a 0,7 mg/dL - KIMURA; KOTAMI, 2018). Foi observado que as proteínas totais em 67,64% (23/34) das cadelas estavam acima do valor de referência (4,60 a 7,00 g/dL - KIMURA; KOTAMI, 2018), sendo observado valores acima da referência para albumina (1,80 a 3,00 g/dL - KIMURA; KOTAMI, 2018) em 40% (14/35) dos animais.

Também foram identificados valores de cálcio acima em 31,4% (11/35) e abaixo em 22,9% (8/35) do valor da referência (9,0 a 11,3 mg/dL - KANEKO *et al.*, 2008), e o magnésio apresentou-se acima em 51% (18/35) e abaixo em 5,6% (2/35) quando comparados com os valores de referência definidos para espécie (1,8 a 2,4 mg/dL - KANEKO *et al.*, 2008).

Tabela 10. Média, desvio padrão e valores mínimo e máximo da Bioquímica sanguínea das cadelas parturientes.

	N	Média±DP	Mínimo	Máximo	Intervalo de Referência
Magnésio (mg/dl)	35	2,54 ± 0,57	1,21	3,85	1,80-2,40*
Glicose (mg/dl)	39	101,31 ± 26,42	55,50	146,60	68,00-117,00**
Proteína Total (g/dl)	34	7,81 ± 1,18	6,01	10,60	4,60-7,00**
Albumina (g/dl)	35	2,9 ± 0,47	1,96	4,28	1,80-3,00**
Cálcio (mg/dl)	34	10,7 ± 2,62	6,10	19,80	9,00-11,30*
ALT (U/L)	12	27,08 ± 12,95	15,01	48,40	0-110*
AST (U/L)	12	37,25 ± 17,77	13,40	70,00	0-100*
Uréia (mg/dl)	17	22,72 ± 5,61	13,02	32,34	17,00-48,00**
Creatinina (mg/dl)	13	0,73 ± 0,24	0,47	1,23	0,20-0,70**
GGT (U/L)	4	4,29 ± 3,54	0,78	8,06	1,20-6,40*

*Referência em (KANEKO *et al.*, 2008)

** Referência em (KIMURA; KOTAMI., 2018)

A Tabela 11 apresenta as médias, desvios, mínimo e máximo para cada variável. Foi identificado que o magnésio sérico para a raça Golden Retriever foi maior quando comparado à

raça Pug ($p = 0,04$). A raça Pug apresentou maiores valores de glicose quando comparada com as outras raças ($p = 0,0050$). Não foi observado efeito de raça para as demais variáveis.

Tabela 11. Média, desvio padrão e valores mínimo e máximo dos analitos bioquímicos nas diferentes raças das cadelas parturientes

Magnésio 1,80-2,40 (mg/dl)	Golden Retriever (n=5)		Pug (n=8)		Shih Tzu (n=4)		Yorkshire Terrier (n=3)		Outros (n=15)	
	2,73 ^b ±0,43		2,47 ^a ±0,76		2,47 ^{ab} ±0,47		2,33 ^{ab} ±0,33		2,58 ^{ab} ±0,59	
	Min 2,26	Max 3,2	Min 1,21	Max 3,85	Min 1,93	Max 3,08	Min 2,05	Max 2,69	Min 1,59	Max 3,73
Glicose 68,00- 117,00 (mg/dl)	Golden Retriever (n=6)		Pug (n=7)		Shih Tzu (n=5)		Yorkshire Terrier (n=3)		Outros (n=18)	
	104,42 ^{ab} ±14,4		78,61 ^a ±23,73		98,24 ^{ab} ±26,6		80,53 ^{ab} ±31,3		113,42 ^b ±23,84	
	Min 95,1	Max 132,9	Min 58,0	Max 128,8	Min 55,5	Max 119,1	Min 56,4	Max 115,9	Min 56,8	Max 146,6
Proteína Total 4,60-7,00 (g/dl)	Golden Retriever (n=5)		Pug (n=6)		Shih Tzu (n=5)		Yorkshire Terrier (n=3)		Outros (n=15)	
	7,91±0,67		7,69±1,0		6,87±0,66		6,75±0,77		8,34±1,32	
	Min 6,91	Max 8,49	Min 6,64	Max 9,41	Min 6,52	Max 8,04	Min 6,01	Max 7,55	Min 6,69	Max 10,6
Albumina 1,80-3,00 (g/dl)	Golden Retriever (n=6)		Pug (n=7)		Shih Tzu (n=5)		Yorkshire Terrier (n=3)		Outros (n=14)	
	2,9±0,23		2,67±0,28		2,88±0,59		2,53±0,49		3,09±0,53	
	Min 2,58	Max 3,08	Min 2,37	Max 3,14	Min 2,25	Max 3,81	Min 1,96	Max 2,85	Min 2,33	Max 4,28
Cálcio 9,00-11,30 (mg/dl)	Golden Retriever (N=5)		Pug (N=6)		Shih Tzu (N=5)		Yorkshire Terrier (N=3)		Outros (N=15)	

	10,92±1,46		10,45±1,55		12,94±5,57		9,0±0,9		10,31±1,77	
	Min 9,8	Max 13,4	Min 8,2	Max 11,9	Min 8,5	Max 19,8	Min 8,1	Max 9,9	Min 6,1	Max 13,0
ALT 0-110 (U/L)	Golden Retriever (N=4)		Pug (N=1)		Shih Tzu (N=1)		Yorkshire Terrier (N=1)		Outros (N=5)	
	20,73±7,41		18,4		47,0		44,3		26,46±13,67	
	Min 15,0	Max 31,1	Min 18,4	Max 18,4	Min 47,0	Max 47,0	Min 44,3	Max 44,3	Min 15,6	Max 48,4
AST 0-100 (U/L)	Golden Retriever (N=4)		Pug (N=1)		Shih Tzu (N=1)		Yorkshire Terrier (N=0)		Outros (N=6)	
	42,95±12,97		23,5		55,0		N/A		32,78±21,04	
	Min 29,4	Max 55,4	Min 23,5	Max 23,5	Min 55,0	Max 55,0	N/A	N/A	Min 13,4	Max 70,0
Uréia 17,00- 48,00 (mg/dl)	Golden Retriever (N=4)		Pug (N=3)		Shih Tzu (N=2)		Yorkshire Terrier (N=0)		Outros (N=8)	
	23,18±3,7		20,44±7,98		19,62±8,85		N/A		24,11±5,41	
	Min 19,8	Max 28,21	Min 13,02	Max 28,88	Min 13,37	Max 25,88	N/A	N/A	Min 17,96	Max 32,34
Creatinina 0,20-0,70 (mg/dl)	Golden Retriever (N=2)		Pug (N=1)		Shih Tzu (N=0)		Yorkshire Terrier (N=1)		Outros (N=9)	
	0,64±0,13		0,73		N/A		0,57		0,77±0,27	
	Min 0,55	Max 0,74	Min 0,73	Max 0,73	N/A	N/A	Min 0,57	Max 0,57	Min 0,47	Max 1,23
GGT 1,20-6,40 (U/L)	Golden Retriever (N=3)		Pug (N=0)		Shih Tzu (N=0)		Yorkshire Terrier (N=0)		Outros (N=1)	

	3,55±3,94		N/A		N/A		N/A		6,5	
	Min 0,78	Max 8,06	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	Min 6,5	Max 6,5

Letras diferentes na linha correspondem a médias significativamente diferentes segundo o teste de *Tukey* ($p < 0,05$).

O porte dos animais influenciou o valor da proteína total. Animais de grande porte apresentaram maior concentração de proteína total que os animais de pequeno porte ($p = 0,04$). No entanto, não houve influência do porte dos cães para as outras variáveis bioquímicas (Tab. 12).

Tabela 12. Média, desvio padrão e valores mínimo e máximo dos analitos bioquímicos nos diferentes portes das cadelas parturientes

Magnésio (mg/dl)	>25KG (n=11)		<10KG (n=21)	
	2,56±0,48		2,47±0,59	
	Min 1,59	Max 3,2	Min 1,21	Max 3,85
Glicose (mg/dl)	>25KG (N=14)		<10KG (N=22)	
	109,44±21,15		96,14±27,45	
	Min 71,1	Max 146,6	Min 55,5	Max 139,8
Proteína Total (g/dl)	>25KG (N=11)		<10KG (N=20)	
	8,46 ^b ±1,38		7,46 ^a ±0,98	
	Min 6,69	Max 10,6	Min 6,01	Max 9,68
Albumina (g/dl)	>25KG (N=12)		<10KG (N=20)	
	2,91±0,38		2,89±0,54	
	Min 2,33	Max 3,83	Min 1,96	Max 4,28
	>25KG (N=11)		<10KG (N=20)	

Cálcio (mg/dl)	10,92±1,38		10,85±3,05	
	Min 9,00	Max 13,40	Min 8,10	Max 19,80
ALT (U/L)	>25KG (N=6)		<10KG (N=5)	
	20,0±5,85		31,3±14,39	
	Min 15,01	Max 31,10	Min 15,60	Max 47,00
AST (U/L)	>25KG (N=6)		<10KG (N=5)	
	35,78±15,29		37,76±23,72	
	Min 16,6	Max 55,4	Min 13,4	Max 70,0
Uréia (mg/dl)	>25KG (N=8)		<10KG (N=6)	
	22,54±4,2		20,32±6,44	
	Min 17,96	Max 29,45	Min 13,02	Max 28,88
Creatinina (mg/dl)	>25KG (N=6)		<10KG (N=4)	
	0,75±0,23		0,65±0,16	
	Min 0,55	Max 1,19	Min 0,47	Max 0,83
GGT (U/L)	>25KG (N=3)		<10KG (N=1)	
	3,55±3,94		6,5	
	Min 0,78	Max 8,06	Min 6,5	Max 6,5

Letras diferentes na linha correspondem a médias significativamente diferentes segundo o teste de *Tukey* (p valor <0,05).

Foi observada correlação positiva e de moderada magnitude entre o cortisol sérico e cortisol no líquido amniótico e cortisol sérico e ALT (Tab. 13).

TABELA 13. Correlações entre cortisol sérico, cortisol do líquido amniótico e das variáveis hematológicas e bioquímicas das cadelas parturientes

	Cortisol sérico (ng/mL)
Cortisol do líquido amniótico (ng/mL)	0,61*
Hemácias (x 10 ⁶ cels/ uL)	0,08 ^{ns}
Hemoglobina (g/dL)	0,09 ^{ns}
VG (%)	-0,00 ^{ns}
VCM (fL)	-0,13 ^{ns}
CHCM (g/dL)	0,42 ^{ns}
HCM (g/dL)	-0,05 ^{ns}
RDW (%)	0,00 ^{ns}
Leucócitos Totais (cél/s/μl)	0,42 ^{ns}
Metamielócitos (cél/s/mL)	0,18 ^{ns}
Bastonetes (cél/s/mL)	0,21 ^{ns}
Segmentados (cél/s/mL)	0,44 ^{ns}
Linfócitos (cél/s/mL)	0,03 ^{ns}
Monócitos (cél/s/mL)	-0,20 ^{ns}
Eosinófilos (cél/s/mL)	-0,23 ^{ns}
Plaquetas (cél/s/uL)	0,39 ^{ns}
Mg (mg/dl)	-0,00 ^{ns}
Glicose (mg/dl)	-0,16 ^{ns}
Proteína Total (g/dl)	-0,34 ^{ns}
Albumina (g/dl)	-0,02 ^{ns}
Ca (mg/dl)	-0,31 ^{ns}
ALT (U/L)	0,64*
AST (U/L)	0,15 ^{ns}
Uréia (mg/dl)	0,13 ^{ns}
Creatinina (mg/dl)	-0,35 ^{ns}

ns=correlação igual a 0 por meio do teste T (p valor > 0,05);

*=correlação diferente de 0 por meio do teste T (p valor < 0,05).

6. DISCUSSÃO

6.1. Dados obstétricos

Em geral, as cadelas apresentaram comportamentos pré-parto já observados em outros estudos (LINDE-FORSBERG; KINDAHL; MADEJ, 1992; JUTKOWITZ, 2005; KUTZLER, 2009; SMITH, 2012), como comportamentos de se isolar, sinais de inquietação como raspar o solo (o mais frequente entre os animais), taquipneia, anorexia, construção de ninho, como rasgar jornal, papel e cobertores na tentativa de construir um ninho. Somente 2% dos tutores relataram diminuição da responsividade quando chamavam pelos animais. Ferrari e Monteiro-Filho (2004) observaram que aproximadamente 50% das cadelas no pré-parto apresentaram mudanças no comportamento como relatado por seus tutores. Udell; Dorey e Wynne (2010) relataram que a manifestação de comportamentos específicos no final da gestação estaria relacionada a fatores individuais, ambientais e níveis de contato com o tutor. No presente estudo, apenas 4% das cadelas não demonstram quaisquer mudanças comportamentais, o mesmo observado por Costa (2010).

Foi observado ECC de $3,35 \pm 0,65$ sendo considerado o ideal para cadelas parturientes (FEDIAF, 2019). Durante a gestação, o peso da cadela tende a aumentar de 15–25% quando comparado ao peso corporal inicial, aumentando assim o ECC (SCHROEDER; SMITH, 1995; MÜNNICH, 2016). 23% das cadelas apresentaram escore superior a 4, porém não foram identificados problemas no momento do parto, German (2006) relatou aumento de quadros de distocia em cadelas com ECC altos, provavelmente devido ao excesso de tecido adiposo em torno do canal do parto.

No presente estudo, a segunda fase do parto (considerada como a 1ª expulsão) nas cadelas ocorreu em horários distintos, sendo o horário da tarde o mais prevalente (38%), seguindo pela noite (34%), e os menos prevalente o horário da tarde (18%) e o da manhã (10%). Porém o início da segunda fase do parto é mais relatado na parte da noite ou madrugada, sendo indicado manter um veterinário sob aviso para essas horas (SMITH, 2012). Essa variação de horário pode estar relacionada a diversos fatores como iluminação e estresse ambiental, como já descrito para outras espécies (EDWARDS, 1979; YAMIN; PAYNE; BLACKSHAW, 1995; HEIDLER *et al.*, 2004; GLEESON; O'BRIEN; MEE, 2007). Olcese (2012) apresentou em sua revisão que animais podem ser divididos entre noturnos e diurnos e a oscilação circadiana de melatonina e glicocorticoides podem de certa forma interferir no momento do parto nas diferentes espécies de mamíferos. Em cadelas, Palazzolo e Quadri (1987) e Ohmori *et al.* (2013) demonstraram haver ritmo circadiano nas concentrações de cortisol sérico em cães adultos, com pico entre 10 e 12 horas da manhã. Se relacionarmos o horário do pico do cortisol das cadelas, observa-se que pode coincidir com a primeira fase do parto de algumas parturientes deste estudo, culminando na maior prevalência do início da segunda fase do parto na parte da tarde e a noite. Pouco se sabe sobre os fatores que influenciam o momento em que ocorre o desencadeamento do parto nas cadelas.

Acredita-se que as parturientes somente iniciam o trabalho de parto quando encontram-se em ambientes seguros, evitando assim agentes estressores que podem inibir o início do parto (NAGEL *et al.*, 2019).

O segundo estágio do parto teve duração média de 4 horas e 20 minutos $\pm 0,09$, como descrito por Munnich; Küchenmeister (2009); Smith (2012); Riquelme; Ruiz (2017), que demonstraram que normalmente o parto pode durar de 3 a 12 horas, podendo se estender até 24 horas. Apenas três animais do experimento estenderam o parto para mais de 24 horas e todos foram encaminhados para acompanhamento do parto em clínicas particulares de preferência dos tutores. Em nenhum dos três casos foi realizada cesariana, porém foi aplicado tratamento uterotônico com ocitocina e soro glicosado.

Foi observado que o intervalo médio entre nascimento dos filhotes de 42 minutos $\pm 0,02$ (mínimo de 1 minuto e máximo de 3 horas) estando de acordo com os autores Munnich; Küchenmeister (2009) e De Cramer; Nöthling (2017), que observaram variação de cinco minutos a quatro horas de intervalo entre nascimentos dos filhotes. Com média de um filhote por hora (SMITH, 2012). Apenas um animal da raça Dogue Alemão apresentou intervalo entre nascimentos excessivamente longo, com um filhote viável após 17 horas e 36 minutos da expulsão do penúltimo filhote a nascer. Esse foi o último filhote a nascer, mas o animal já estava sob efeito de medicamentos como ocitocina, glicose e cálcio. Smith (2012) considerou anormal partos com intervalos entre nascimentos acima de 3 horas, em que observou quadro de distocia nas cadelas, mas Munnich; Küchenmeister (2009) relataram que cadelas de porte grande em geral apresentam maior duração total do parto, como o descrito acima. Também Johnson (2008) observou que partos mais duradouros têm menor taxa de sobrevivência de todos os filhotes, já que a mortalidade neonatal está diretamente relacionada com a duração total do parto.

Ao nascimento, 55% dos filhotes estavam em apresentação longitudinal anterior, assim como o encontrado pelos autores Gendler; Brouman; Graf (2007) e Lopate (2012). Foi observado que 29,31% nasceram em apresentação longitudinal posterior, e todos terminaram o parto de forma eutócica, assim como descrito por Lopate (2012), em que ambas as apresentações propiciam parto eutócico na espécie canina.

Concordando com Fayed (2009) e Santos; Beck; Fontbonne (2020), 79,59 % das cadelas apresentaram habilidade materna boa, demonstrando sinais de interesse para romper as membranas amniótica e alantoideana, lamber o filhote com o intuito de secá-lo e mastigar o cordão umbilical. Além disso, observou-se tentativa de ingestão das placentas após o parto, porém as parturientes não tiveram possibilidade de ingeri-las devido a fermentação ocasionado pela digestão das placentas que podem resultar em vômitos e diarreia (COSTA, 2010). A boa habilidade materna associado com as condições de criação desses cães pode ter influenciado a baixa taxa de mortalidade neonatal aos 30 dias encontrada neste trabalho.

6.2. Neonatos

A taxa de mortalidade neonatal aos 30 dias observada neste estudo (4,31%) foi inferior ao encontrado por Mugnier *et al.* (2019) (9% aos 21 dias, n=6.694), Chastant-Maillard *et al.* (2017) (6,5% aos 60 dias, n=204.537) e Indrebø; Trangerud; Moe (2007) (6,9% aos 60 dias, n=744). Os valores reduzidos na morte neonatal podem ter ocorrido por diferença do objetivo de criação dos cães, já que neste estudo 68% dos partos foram realizados em canis, onde na sua maioria apresentava-se um funcionário que ficava responsável para os cuidados neonatais, reduzindo assim as chances de acidentes que culminem com a morte neonatal. Neste estudo, apenas um canil apresentou a perda de todos os filhotes da ninhada no período de 30 dias, e o mesmo canil não apresentava um funcionário responsável pela maternidade, o que culminou na morte de todos os filhotes no período de até 30 dias. Mugnier *et al.* (2019) encontraram taxas de mortalidade neonatal nos primeiros dias de vida que diferiam entre os canis de grande e pequeno porte. Em canis de porte pequeno a maior taxa de mortalidade pode estar relacionada ao menor nível técnico do criador, que normalmente tem uma abordagem menos profissional justificando as perdas encontradas no estudo. Mugnier *et al.* (2019) também observaram que durante o período neonatal inicial, a mortalidade dos filhotes foi influenciada apenas pelo peso ao nascer e pela heterogeneidade da ninhada. Os recém-nascidos com baixo peso corporal ao nascer têm risco doze vezes maior de irem a óbito quando comparados aos filhotes com peso normal (GROPETTI *et al.*, 2015; MILA *et al.*, 2015).

Mesmo que coletado após o parto, 4 % (10/232) dos neonatos apresentara escore APGAR abaixo de 7, dentre os sinais observados a dificuldade respiratória foi o mais frequente. Os neonatos que apresentaram escore abaixo de 7 foram encaminhados para uma clínica com maternidade para melhor observação e manutenção do estado do neonato assim como indicado por VERONESI, (2016). Desses animais apenas dois foram a óbito no período de 30 dias, os demais se recuperaram e se mantiveram bem. Alguns autores associaram o monitoramento da lactatemia nas primeiras 24 horas de vida, com a avaliação do score Apgar ao nascer, encontrando assim uma suposta ferramenta prognóstica útil, para auxiliar na identificação de filhotes com maior sofrimento e, portanto, favorecendo o fornecimento de suporte adequado a esses animais evitando assim as perdas neonatais (Castagnetti, 2017).

Assim como Tesi *et al.* (2020) que relataram relação entre o peso da placenta com o peso dos filhotes ao nascimento, nesse estudo foi observada correlação positiva entre peso da placenta e o peso ao nascimento, sendo esperado filhotes mais pesados quando o peso da placenta for maior. Também foi observado que a cada aumento em 1 g no peso da placenta é esperado que o filhote pese 2,5 g a mais ao nascimento ($p = 0,0002$). Assim, o peso ao nascimento pode estar diretamente relacionado ao peso das placentas, já que placenta é responsável por manter o feto viável durante toda a gestação e por realizar suas principais funções de fornecer nutrientes e oxigênio ao feto (ZHANG *et al.*, 2015).

6.2.1. Tamanho da ninhada

Esperava-se que o tamanho da ninhada pudesse influenciar no estresse apresentado pelas cadelas no final da gestação, assim influenciando na grande variação do cortisol sérico descrita na literatura, porém não foi observada interferência do número de fetos sobre a concentração sérica de cortisol no momento do nascimento do primeiro filhote ($p > 0,05$) assim como para o cortisol do líquido amniótico, hematócrito e bioquímica sérica. Para o cortisol do líquido amniótico Bolis *et al.* (2017), também não identificaram correlação significativa entre cortisol do líquido amniótico e o tamanho da ninhada enquanto para parte hematológica De Cramer *et al.* (2016) descreveram haver correlação significativa negativa entre tamanho da ninhada e hematócrito de cadelas no momento do parto.

6.3. Cortisol

Foram observados altos valores de cortisol no momento do nascimento do primeiro filhote neste estudo, $81,0 \pm 41,8$ ng/mL. Altas concentrações de cortisol também foram descritas por Olsson *et al.* (2003), que realizaram dosagem no momento do nascimento do primeiro filhote, encontrando em média $76,0 \pm 11,0$ ng/mL. Baan *et al.* (2008) encontraram concentração média de 123 ng/mL em cadelas com partos eutócicos, e o máximo encontrado no presente estudo foi 196,5 ng/mL. Entretanto, outros autores já descreveram concentrações inferiores de cortisol no parto. Concannon *et al.* (1977) detectaram apenas $15,0 \pm 3,0$ ng/mL de corticoides séricos no dia do parto, e Hoffmann *et al.* (1994) verificaram aumento de cortisol no momento da expulsão do 1° ao 6° feto, atingindo $18,36 \pm 0,40$ ng/mL, com posterior declínio a concentrações basais ($5,97 \pm 0,47$ ng/mL) no momento do último nascimento. Veronesi *et al.* (2002) descreveram concentração média de $28,4 \pm 13,0$ ng/mL no momento do nascimento do primeiro filhote. Dessa forma, os valores encontrados neste estudo foram similares a alguns autores, porém superiores a outros.

De acordo com Concannon *et al.* (1978), a concentração de cortisol sérico aumenta momentos antes do parto, devido às condições de estresse relacionadas ao final da gestação. Apesar de todos estes estudos descritos, observa-se muita divergência de dados entre os trabalhos para vários hormônios, como o cortisol, possivelmente devido aos diferentes momentos de coleta das amostras, e pelas diferentes técnicas de mensuração utilizadas nas diferentes pesquisas (Quadro 3). Entretanto, das 46 cadelas estudadas para esta variável, todas apresentaram parto eutócico, apesar da grande variação individual do cortisol sérico, entre 36,4 ng/mL e 196,5 ng/mL. Embora os fetos sejam frequentemente considerados os “iniciadores do parto”, como ocorre em ruminantes (KINDAHL; KORNMATITSUK; GUSTAFSSON, 2004), ainda não há relatos na literatura demonstrando alterações nas concentrações de cortisol fetal plasmático no período pré-parto (TAVERNE; VAN DER WEIJDEN, 2008) para comprovar que este também seria o caso na cadela, embora ocorra aumento de cortisol materno plasmático (OLSSON *et al.*, 2003; KLARENBEK *et al.*, 2007; BERGSTRÖM *et al.*, 2010).

Quadro 2: Relação de autores e métodos utilizados para dosagem de cortisol no momento do parto

Autor	Momento da coleta	Cortisol	Material	Método utilizado
Concannon et al. (1977)	No dia do parto	15,0 ± 3,0 ng/mL	Plasma	Radioimunoensaio
Concannon et al. (1978)	8-24 h pré-parto	63,0 ± 7,0 ng/mL	Soro	Radioimunoensaio
Hoffmann et al. (1994)	Nascimento do primeiro ao sexto filhote	18,36 ± 0,40 ng/mL	Plasma	Radioimunoensaio
Veronesi et al. (2002)	Nascimento do primeiro filhote	28,4 ± 13,0 ng/mL	Plasma	Radioimunoensaio
Olsson et al. (2003)	Nascimento do primeiro filhote	76,0 ± 11,0 ng/mL	Plasma	Radioimunoensaio
Baan et al. (2008)	Durante a fase de expulsão	123 ± 29 ng/mL	Plasma	Radioimunoensaio

Não foi observada interferência do número de fetos sobre a concentração sérica de cortisol no momento do nascimento do primeiro filhote. Portanto, o número de filhotes não foi determinante para o valor de cortisol sérico materno ($p > 0,05$). Dessa forma, a grande variação individual nas concentrações séricas de cortisol poderia estar relacionada ao estresse advindo do ambiente em que as parturientes se encontravam, já que se trata de um hormônio reativo ao estresse produzido pelas alterações de ambientais (FUSI *et al.*, 2021a). Durante o parto cada animal lidou de maneira diferente com o local em que estavam alocados. Algumas cadelas pariram em canis tranquilos e confortáveis, já outras pariram em quarto de tutores ou até mesmo em clínica veterinária. Sandri *et al.* (2015) demonstraram variações nas concentrações de cortisol salivar entre cães amostrados em diferentes ambientes, como abrigos, propriedades privadas ou canis, sendo que os cães em abrigo apresentaram as maiores concentrações de cortisol salivar entre os cães avaliados, o que também demonstra a interferência do ambiente no aumento de produção de cortisol. Para o presente estudo, não foi possível delinear experimento utilizando animais de apenas uma origem, assim como também descrito em outros estudos (VERONESI *et al.*, 2002; BAAN *et al.*, 2008; MILANI *et al.*, 2021).

Outro fator que pode ter influenciado a variação individual do cortisol sérico é o porte dos animais estudados. No presente estudo a concentração sérica de cortisol das fêmeas de grande porte foram inferiores às das cadelas de pequeno porte ($p = 0,0075$). É possível que a genética, raça e porte sejam fatores que afetem a capacidade de resposta dos cães aos estímulos estressantes do ambiente (HOUP, 2007; SPADY; OSTRANDER, 2008). Sandri *et al.* (2015) também observaram que a concentração média de cortisol salivar era significativamente mais baixa em cães gigantes e de grande porte quando comparado com cães de pequeno porte. Arhant *et al.* (2010) demonstraram em um estudo que animais de raças pequenas são mais agressivos, ansiosos,

excitados e medrosos quando comparados com animais de grande porte, o que poderia justificar a variação de cortisol entre esses animais. Similarmente ao observado por Sandri *et al.* (2015).

Um achado interessante foi a diferença estatística encontrada entre o cortisol sérico na raça Pug (média de 5,7 filhotes), que apresentou concentrações menores de cortisol sérico ($52,7 \pm 10,3$ ng/mL) quando comparada com a raça Yorkshire Terrier ($92,5 \pm 54,4$ ng/mL) (média de 3,4 filhotes) ($p = 0,0214$), pois em outros estudos não foram encontradas variações do cortisol em cães de raças diferentes (COPPOLA; GRANDIN; ENNS, 2006; BENNETT; HAYSSSEN, 2010). Possivelmente essa diferença pode estar relacionada ao fato de que 77% das cadelas da raça Pug pertenciam ao mesmo canil, e esses animais pariram em condições semelhantes de ambiente, já os cães da raça Yorkshire Terrier eram de diferentes tutores/canis, parindo em locais variados e até mesmo em consultório clínico, o que pode ter influenciado na variação de cortisol ao se comparar essas duas raças.

O aumento do cortisol sérico na segunda fase do parto favorece a passagem do cortisol pela barreira placentária chegando ao feto, onde sua concentração permanece elevada durante todo o parto (HUNTER *et al.*, 1977; ALONGE; MELANDRI, 2019). De fato, foi encontrada correlação entre cortisol sérico e cortisol do líquido amniótico ($p < 0,05$). Mesmo sendo questionada a origem do cortisol amniótico, acredita-se que o mesmo possa ser resultado de uma possível concorrência da contraparte materna e da produção fetal (DALL'ARA *et al.*, 2015). Bolis *et al.* (2017) observaram efeito significativo da ninhada sobre as concentrações de cortisol amniótico e alantoideano, esses autores suspeitaram que a ampla variação entre as ninhadas parecia apoiar um papel importante desempenhado pelo compartimento materno ou a interface feto-materna da placenta em ambos os compartimentos para as concentrações de cortisol. A comparação do cortisol sérico materno, do líquido amniótico e do cortisol sérico fetal coletados no momento do parto, poderia ser uma forma de pesquisa futura para melhor elucidar a real origem do cortisol presente no líquido amniótico canino.

No presente estudo, as concentrações médias de cortisol no líquido amniótico encontradas ($11,34 \pm 5,61$ ng/mL) foram superiores do que a concentração média de cortisol relatada por Groppetti *et al.*, (2010) ($6,5 \pm 6,4$ ng/mL em partos eutócicos, $3,5 \pm 1,4$ ng/mL em cesáreas emergenciais e $4,7 \pm 3,4$ ng/mL em casarias eletivas), por Fusi *et al.*, (2021b) ($5,9 \pm 3,0$ ng/mL em cesáreas eletivas e $10,7 \pm 4,2$ ng/mL em cesáreas emergenciais) e por Melandri *et al.*, 2019 ($7,0 \pm 2,4$ ng / mL cesariana eletiva). Vários estudos mostraram que o parto vaginal espontâneo é mais estressante para neonatos humanos do que partos de cesarianas (GITAU *et al.*, 2001). O que pode se estender para espécie canina já que os resultados observados de parto eutócico foram superiores aos autores que realizaram dosagens hormonais em cadelas encaminhadas para cesáreas emergenciais e eletivas.

Similarmente ao descrito por Bolis *et al.* (2017), não foi encontrada correlação significativa entre cortisol do líquido amniótico e o tamanho da ninhada. Também não foram encontradas associação significativa entre os valores de cortisol do líquido amniótico mensurado entre filhotes da mesma ninhada ($r = -0,20$; $p > 0,05$). Durante o parto não foi possível coletar líquido amniótico de muitos filhotes já que muitas das vezes a bolsa amniótica se rompia no momento da expulsão

fetal assim inviabilizado sua coleta. Com o N amostral reduzido observou-se pouca variação no número de filhotes o que pode ter colaborado para falta de correlação significativa, sendo assim necessário mais estudos com cadelas de diferentes números de ninhada.

6.4. Hematologia

Estudos publicados desde a década de 1970 (HAYASHI, 1974; CONCANNON *et al.*, 1977; KANEKO *et al.*, 1993), e livros-texto utilizados na atualidade (JOHNSTON *et al.*, 2001; PETERSON; KUTZLER, 2011), sempre descreveram que a cadela apresenta anemia normocítica normocrômica ao longo da gestação. Em 1977, Concannon *et al.* descreveram que, em decorrência do aumento de peso na gestação, associado ao aumento de volume plasmático, ocorreria diminuição progressiva do hematócrito ao longo das semanas da gestação. No presente estudo, o valor de hematócrito observado no momento da expulsão do primeiro feto (2ª fase do parto) foi de $41,35 \pm 4,56$, estando no limite inferior do valor de normalidade da espécie (MORITZ *et al.*, 2004). Esse achado assemelhou-se aos valores descritos por Dimçõ *et al.* (2013) de $41 \pm 4,9\%$, e aos achados de De Cramer *et al.* (2016), com 44,2% em cadelas submetidas a cesariana (43,8%–44,6%) num estudo de larga-escala com 324 cadelas estudadas, de diversas raças, em que apenas 10 animais apresentaram VG inferior a 37%. Os valores mínimos e máximos de VG encontrados, 32% e 50%, respectivamente, também se assemelham a margem de variação encontrada por outros autores (CONCANNON, 2002; DE CRAMER *et al.*, 2016; ARLT, 2020). Diferentes metodologias de análise e o perfil dos animais poderiam estar relacionados a estas diferenças nos valores de hematócrito, em especial com relação aos trabalhos mais antigos. Apenas três animais (15%), similar ao observado por Frehner *et al.* (2017) apresentaram anemia discreta, com hematócrito entre 32-34%, porém sem apresentar nenhuma significância clínica e estatística. Essas alterações podem ser alterações pontuais ou podem estar relacionadas a deficiências nutricionais de Ferro por aumento de demanda do organismo no final da gestação (BIRCHARD; SHERDING, 1998; GAMBLING *et al.*, 2002).

Neste estudo, o tamanho da ninhada não influenciou o valor do hematócrito dos animais (não houve correlação significativa), mas esse resultado pode ter sido decorrente do N amostral ($n=20$) menor do que o de outros autores, além de não haver uma padronização da raça e porte. Por outro lado, De Cramer *et al.* (2016) descreveram haver correlação significativa negativa entre tamanho da ninhada e hematócrito a termo, em que se espera redução de 0,15% no hematócrito para cada um (01) unidade de filhote a mais na ninhada, porém sem significância clínica.

A leucocitose encontrada em 100% dos animais condiz com o aumento de leucócitos apresentados nos trabalhos de Feliciano; Vicente; Silva (2012) e Kimura e Kotani (2018). Da mesma forma, Kimura e Kotani (2018) observaram aumento significativo de leucócitos a aproximadamente 2 vezes o valor anterior e aos 30 dias da gestação, em cadelas Beagle. Essa leucocitose foi principalmente constituída por neutrófilos segmentados como descrito em Dimçõ *et al.* (2013) e Frehner *et al.* (2017). A neutrofilia, linfopenia, eosinopenia e monocitose

encontradas estão diretamente relacionados aos fatores estressantes que levam a um leucograma típico de estresse, já descrito por Van Kampen; Mallard (1997).

Não foi encontrada diferença estatística relacionada ao cortisol na variação celular, porém quando avaliada a ordem de parto, observou-se que cadelas multíparas apresentaram uma resposta menor de eosinófilos comparadas as cadelas de primeiro parto ($p = 0,03$). Em vacas saudáveis, há diminuição acentuada no número de eosinófilos circulantes em resposta à injeção de hormônio adrenocorticotrófico (ACTH), epinefrina, insulina e aos demais estímulos estressantes (SAYERS, 1950; THORN *et al.*, 1953). Em cadelas, em momentos de estresse ocorre o decréscimo no número de eosinófilos circulantes (BUSH, 2004), que segundo Meyer; Coles; Rich (1995) poderia estar associado ao sequestro da medula óssea e inibição da liberação de eosinófilos. Isso sugere que cadelas de primeiro parto poderiam sofrer mais com estímulos externos, aumentando a liberação de adrenalina, que favoreceu a liberação do *pool* marginal aumentando todos os tipos celulares, inclusive os eosinófilos. Segundo Luescher (2011) a adrenalina está relacionada a mudanças no ambiente em que o animal está inserido, como a presença de pessoas estranhas, que podem causar atrasos na expulsão do próximo filhote de uma a seis horas. Esse atraso pode ocorrer durante o repouso, trabalho de parto ativo ou parto ativo com um filhote já no canal do parto. A excitação produz adrenalina, que inibe a atividade uterina, o que pode ocorrer com menor frequência em cadelas multíparas, as quais já passaram pela experiência de parir pelo menos uma vez. Um outro fator que pode ter influenciado é a idade dos animais, já que 71% das cadelas primíparas tinham até 2 anos e as multíparas tinham em média $3 \pm 1,2$ anos. Em 2013, Lawrence *et al.* indicaram que com o passar da idade os eosinófilos tendem a reduzir e relacionaram o aumento dessas células nos anos iniciais de vida com as possíveis cargas parasitárias dos animais.

Foi observado que cadelas de raças de grande porte apresentaram menos linfócitos quando comparadas com as de raças de pequeno porte ($p = 0,02$) no momento do nascimento do primeiro filhote. A linfopenia ocorre como resultado do aumento da atividade adrenocortical que favorece a redistribuição dos linfócitos aos órgãos linfoides (WHITE; DOUGHERTY, 1946). Da mesma maneira, os animais de raças de porte grande também apresentaram menos cortisol sérico no momento do parto quando comparados com animais de raças de pequeno porte ($p = 0,0075$). O que pode estar relacionado ao aumento da migração dos linfócitos para o sítio de ação, reduzindo os seus valores na corrente sanguínea, já que as concentrações aumentadas de corticoides influenciam na resposta imune, inibindo a resposta inflamatória, além de diminuir a diapedese (STOCKHAM; KEETON; SZLADOVITS, 2003). O fator racial também pode ter influenciado nas alterações do porte, mesmo que apenas animais da raça Shih Tzu apresentaram mais linfócitos quando comparadas às outras raças ($p = 0,006$), o pequeno número de animais desta raça pode ter influenciado esse achado. Porém em 2013, LAWRENCE *et al.* demonstraram que animais de diferentes raças, dentre eles os Shih tzu, apresentaram variação na concentração de linfócitos sendo a concentração relativamente alta em cães da raça Husky Siberiano.

O estresse do momento do parto provoca um estímulo nervoso que ao atingir o hipotálamo, libera o hormônio liberador de corticotropina (CRH). O CRH atua na adenohipófise estimulando a produção e secreção do ACTH e de β -endorfinas, e o ACTH estimula a secreção de

glicocorticoides, principalmente o cortisol nos córtex da adrenal. O sistema nervoso simpático também é ativado, adrenalina e noradrenalina são formadas e armazenadas nas células da camada medular da suprarrenal (CORCORAN, 2003). Essas catecolaminas levam à contração esplênica, o aumento do volume globular e das plaquetas na circulação (GARCIA-NAVARRO; PACHALY, 1998; GONZÁLEZ; SILVA, 2006) e os corticosteroides reduzem a fagocitose das plaquetas pelos macrófagos levando ao aumento na contagem de plaquetas (MANDELL, 2000). Não foi possível observar se houve aumento individual da contagem das plaquetas nas parturientes, já que apenas uma coleta de sangue foi realizada na expulsão do primeiro filhote. Porém, os fatores estressantes do parto poderiam justificar a trombocitose encontrada neste estudo, e que também foi observada por Costa (2010), Frehner *et al.* (2018) e Kimura; Kotami (2018). De acordo com Fehner *et al.* (2018), trombocitose, leucocitose e neutrofilia sem desvio a esquerda seriam provavelmente decorrentes do estado inflamatório no momento do parto, mesmo em cadelas distócicas saudáveis. Também foi possível observar variação racial na concentração das plaquetas, sendo que animais da raça Shih Tzu apresentaram mais plaquetas quando comparados com os animais da raça Pug ($p = 0,006$), entretanto o pequeno número de animais destas raças pode ter influenciado esse achado, já que podem ocorrer variações individuais entre os cães. Porém, LAWRENCE *et al.* (2013) observaram a concentração relativamente alta de plaquetas em animais da raça Pug, o que poderia estar relacionado a fatores genéticos da raça.

6.5. Bioquímica sérica

Ao observar os dados de PT, 67,6% dos animais apresentaram acima do valor de referência para espécie (KIMURA e KOTAMI, 2018) sendo 40% destes causados pelo aumento de albumina, diferente do que foi encontrado pelos autores Dourado (2018) e Kimura e Kotami (2018) que observaram uma redução acentuada das PT no final da gestação. Neste estudo não foi possível observar a variação de PT durante a gestação até o momento do parto para determinar se houve redução ou aumento das proteínas, assim como os demais eletrólitos. Nos estágios finais da gestação, ocorre o movimento da concentração das proteínas plasmáticas para a glândula mamária, particularmente para a formação do colostro (JAIN, 1986), o que justifica a redução das mesmas na corrente sanguínea. A albumina é responsável por fazer transporte de substâncias além de ser peça fundamental para a manutenção da pressão oncótica e do fluido intravascular. A síntese de albumina é realizada pelo fígado onde observa-se dependência de padrões hormonais, estado nutricional, condições hepáticas gerais, estresse e concentrações extravasculares (JAIN, 1993). A albumina é considerada proteína negativa de fase aguda da inflamação, ou seja, ocorre desvio em sua síntese quando o fígado é requisitado para a produção seletiva de outras proteínas, tais como as proteínas de fase aguda ou em decorrência de enfermidades hepáticas (JAIN, 1986; SEVELIUS; ANDERSSON, 1995).

Vannucchi *et al.* (2016) também observaram aumento significativo dos valores de PT na fase final da gestação, sugerindo ação anabólica ocasionada pelo estresse. O estímulo para síntese

proteica pode ser decorrente de ação hormonal, principalmente de estrógenos e corticosteroides (HARVEY; WEST, 1987). De fato, sabe-se que as concentrações de cortisol se elevam ao final da gestação em cadelas (CONCANNON, 2009), porém a elevação de estrógenos no pré-parto de cadelas é controversa na literatura (TAVERNE e WEIDJEN, 2008). Desta maneira, o aumento de PT poderia estar relacionado ao reflexo indireto da ação do cortisol, que estava aumentado nas cadelas deste estudo, ou por estímulo ao anabolismo hepático, mesmo não se observando diferença estatística da relação entre cortisol e PT realizado neste estudo.

Com relação ao Ca, 31,4% das cadelas apresentaram resultados acima e 22,9% abaixo dos valores de referência (KANEKO *et al.*, 2008). Kraus e Schwab (1990) observaram redução da concentração do Ca sérico um dia antes do momento do parto; Johnston *et al.* (2001) também encontraram uma redução na concentração do Ca no final da gestação e associaram sua redução com a diminuição da concentração da albumina. A redução do Ca sérico no momento do parto é fisiológica em várias espécies como vacas leiteiras (KINCAID, 2008), gatas (LIESEGANG; WICHERT, 2012), cabras e ovelhas (WILKENS *et al.*, 2014), égua (MARIELLA *et al.*, 2014), estando sempre relacionado com o aumento da demanda energética para produção de leite e lactação.

O aumento do Ca no momento da expulsão do primeiro feto pode estar relacionado ao efeito de compensação pelo aumento da demanda de cálcio para a produção de leite, o que levaria a aumento na concentração de cálcio no sangue, por meio do aumento de reabsorção óssea causado pelo aumento da síntese do paratormônio (PTH). O mesmo efeito foi observado em vacas no pré-parto por Littledike (1976). A glândula paratireoide responde mesmo à pequena diminuição na concentração de Ca secretando PTH para o sangue com o intuito de manter a concentração plasmática do Ca sérico (CARDOSO *et al.*, 2007). Inicialmente, o PTH atua sobre o rim para aumentar a reabsorção tubular renal de Ca do filtrado glomerular. Em déficits prolongados de Ca aumenta-se a secreção de PTH o que estimula a reabsorção osteoclástica nos ossos e a produção renal de 1,25-dihidroxitamina D que irá aumentar a absorção intestinal de Ca (MARQUES *et al.*, 2010).

Diferentemente do que foi encontrado por Frehner *et al.* (2017) a concentração do Mg em 51% (18/35) dos animais esteve acima do valor de referência para espécie (KANEKO *et al.*, 2008), porém as cadelas não apresentaram inércia uterina primária, sem intercorrência para esses animais, que iniciaram e terminaram o parto de forma eutócica. Durante o parto de vacas leiteiras, há aumento da reabsorção renal de Mg induzida por PTH, assim desempenhando um papel significativo para manter os valores de Mg dentro dos valores de referência ou até um pouco mais elevado (RIOND *et al.*, 1995). Nizifi e Sami (1997), observaram aumento na concentração de Mg durante o parto de vacas Hostein e associaram essa hipermagnesemia de grau leve com sintomas típicos de hipocalcemia, o que não foi observado no presente trabalho. Mariella *et al.* em 2014 observaram um aumento de Mg em éguas parturientes e associaram esse aumento a passagem do Mg intracelular para a corrente sanguínea, provavelmente mediado pela liberação de catecolaminas e estimulação de receptores beta-adrenérgicos, advindo do estresse gerado pelo parto o que pode ter ocorrido com as parturientes desse estudo. Foi observado que as cadelas da

raça Golden Retriever apresentaram maiores concentrações de Mg quando comparado às da raça Pug ($P = 0,04$). Essa diferença pode estar associada aos fatores ambientais, como dieta e estresse, que podem ter influenciado a variação do Mg entre essas raças, ou o fator racial, pois os animais da raça Golden Retriever apresentaram maiores concentrações para os demais analitos bioquímicos (glicose, ALT, AST, Ca, PT, albumina e ureia) quando comparados com a raça Pug.

Poucas alterações nas funções hepática e renal foram encontradas, corroborando com dados de outros trabalhos publicados anteriormente (MATSUBARA, 2004; KIMURA; KOTANI, 2018). Kimura e Kotami (2018) citam que a uréia e a creatinina sofrem alterações concomitantes ao aumento do metabolismo de proteínas no final da gestação. Em 2018, Marchese *et al.* relacionaram o aumento moderado da ALT com as alterações metabólicas, que podem ocorrer no final da gestação, onde os animais tendem a estar mais estressados com a proximidade do parto e com o que culmina com redução do consumo de alimento, o que poderia justificar a correlação significativa entre ALT e cortisol encontrada neste estudo. Todos os animais do experimento eram saudáveis sendo que 100 % dos animais apresentaram valores de ALT e AST dentro do intervalo de referência para a espécie.

De 39 cadelas avaliadas, apenas 13 (33,3%) apresentaram hiperglicemia e 6 (15,3%) se apresentaram hipoglicêmicas, sendo que todas terminaram o parto de forma eutócica. Observou-se assim, como alguns autores, pouca interferência do parto na variação da glicose sérica (KIMURA; KOTANI, 2018). Frehner *et al.* (2017) demonstraram que de 26 cadelas avaliadas, apenas uma apresentava hipoglicemia e nove apresentavam hiperglicemia, e não havia influência significativa entre porte dos animais e tamanho da ninhada, o mesmo encontrado no presente estudo. Os glicocorticoides, juntamente com as catecolaminas levam a alterações metabólicas que objetivam em mobilizar e fornecer energia para o organismo, por meio da lipólise, glicogenólise e da degradação de proteínas, dando subsídios para que o corpo possa restabelecer o equilíbrio (GONZÁLEZ; SILVA, 2006), o que pode justificar a hiperglicemia em 33,3% dos animais, porém não foi observada correlação significativa entre cortisol sérico e a variação da glicemia dos animais avaliados.

7. CONCLUSÕES

Na avaliação obstétrica observou-se que, interessante, os animais nasceram em horários variados, com partos não se concentrando no período noite/madrugada. Também foi observada correlação significativa entre peso do neonato com peso da placenta, sendo que a cada 1 g no peso da placenta é esperado que o filhote pese 2,5 g a mais ao nascimento.

Não há correlação significativa entre cortisol sérico materno com o tamanho da ninhada, assim como entre cortisol do líquido amniótico fetal com o tamanho da ninhada. Porém, existe correlação significativa entre cortisol sérico materno com cortisol do líquido amniótico. Não foi observada relação entre o cortisol do líquido amniótico nos diferentes neonatos de mesma ninhada.

Quanto aos testes hematológicos encontrou-se correlação das concentrações de cortisol sérico materno com a enzima ALT. Não foram encontradas diferenças significativas entre os parâmetros hematológicos e o tamanho de ninhada. Porém, ordem de parto, porte e raça foram fatores estatisticamente significantes para variação de eosinófilos, linfócitos, plaquetas, glicose, proteína total e magnésio.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AL-BASSAM, M. A.; THOMSON, R. G.; O'DONNELL, L. Normal postpartum involution of the uterus in the dog. *Canadian Journal of Comparative Medicine*, v. 45, n. 3, p. 217–232, 1981.

ALONGE, S.; MELANDRI, M. Effect of delivery management on first-week neonatal outcome: How to improve it in Great Danes. *Theriogenology*, v. 125, p. 310–316, 2019.

AMBRÓSIO, C. E.; MARTINS, D. S.; MIGLINO, M. A. Biologia do desenvolvimento em cães: comportamento do embrião/feto em relação a placenta. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, v. 6, p. 133, 2009

ARALLA, M. et al. Morphological evaluation of the placenta and fetal membranes during canine pregnancy from early implantation to term. *Research in veterinary science*, v. 95, n. 1, p. 15–22, 2013.

ARHANT, C.; BUBNA-LITTITZ, H.; BARTELS, A.; FUTSCHIK, A.; TROXLER, J.. Behaviour of smaller and larger dogs: Effects of training methods, inconsistency of owner behaviour and level of engagement in activities with the dog. *Applied Animal Behaviour Science*, v. 123, n. 3–4, p. 131–142, 2010.

ARLT, S.P. The bitch around parturition. *Theriogenology*, v. 150, p. 452–457, 2020.

AWODU, O.A.; ENOSOLEASE, M. E.; UBARU, A. G.; FAMODU, A. A. Leukocyte counts in pregnant nigerian woman with sickle cell train. *African Journal of Reproductive Health*, v. 6, n. 3, p. 112–116, 2002.

BAAN, M.; TAVERNE, M. A. M.; DE GIER, J.; KOOISTRA, H. S.; KINDAHL, H.; DIELEMAN, S. J.; OKKENS, A. C. Hormonal changes in spontaneous and aglépristone-induced parturition in dogs. *Theriogenology*, v. 69, n. 4, p. 399–407, 2008.

BENNETT, A.; HAYSEN, V. Measuring cortisol in hair and saliva from dogs: coat color and pigment differences. *Domestic Animal Endocrinology*, v. 39, p. 171–80, 2010.

BERGSTRÖM, A.; FRANSSON, B.; LAGERSTEDT, A. S.; KINDAHL, H.; OLSSON, U.; OLSSON, K. Hormonal concentrations in bitches with primary uterine inertia. *Theriogenology*, v. 73, n. 8, p. 1068–1075, 2010.

BIOTÉCNICA (Brasil). Linha Veterinária: Bioquímica Vet. Disponível em: <<https://biotecnica.ind.br/produtos/linha-veterinaria/reagentes-vet/>>. Acesso em: 8 jul. 2021.

BIRCHARD, S. J.; SHERDING, B. Saunders Manual of Small Animal Practice. 3. ed. Philadelphia: W.B. Saunders, 1998.

BOLIS, B.; PRANDI, A.; ROTA, A.; FAUSTINI, M.; VERONESI, M. C. Cortisol fetal fluid concentrations in term pregnancy of small-sized purebred dogs and its preliminary relation to first

24 hours survival of newborns. *Theriogenology*, v. 88, p. 264–269, 2017.

BOLT, R. J.; VAN WEISSENBRUCH, M. M.; LAFEBER, H. N.; DELEMARRE-VAN DE WAAL, H. A. Glucocorticoids and lung development in the fetus and preterm infant. *Pediatric Pulmonology*, v. 32, n. 1, p. 76–91, 2001.

BROLIO, M. P. . et al. Barreira placentária e sua função de transferência nutricional. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, v. 34, p. 222–232, 2010.

BUSH, B. M. Interpretação de resultados laboratoriais para clínicos de pequenos animais. 1. 1. ed. São Paulo: GARCIA-NAVARRO, 2004.

CARDOSO, M. J. L.; MUNIZ, L. M. R.; GASPARINI, T. J.; MELUSSI, M. Homeostase do cálcio e marcadores do metabolismo ósseo no hipertireoidismo felino-Revisão. *Archives of Veterinary Science*, v. 12, n. 1, p. 17–27, 2007.

CHAMCHAD, D.; HORROW, J. C.; NAKHAMCHIK, L.; ARKOOSH, V. A. Heart rate variability changes during pregnancy: an observational study. *International Journal of Obstetric Anesthesia*, v. 16, n. 2, p. 106–109, 2007.

CHASTANT-MAILLARD, S.; GUILLEMOT, C.; FEUGIER, A.; MARIANI, C.; GRELLET, A.; MILA, H. Reproductive performance and pre-weaning mortality: Preliminary analysis of 27,221 purebred female dogs and 204,537 puppies in France. *Reproduction in Domestic Animals*, v. 52, p. 158–162, 2017.

CONCANNON, P. W. Endocrinologic control of normal canine ovarian function. *Reproduction in Domestic Animals*, v. 44, p. 3–15, 2009.

CONCANNON, P. W. Physiology and clinical parameters of pregnancy in dogs. Proc World Small Anim Vet Assoc Granada Spain <http://www.vin.com/proceedings>., 2002.

CONCANNON, P. W.; WHALEY, S.; LEIN, D.; WISSLER, R. Canine gestation length: variation related to time of mating and fertile life of sperm. *American Journal of Veterinary Research*, v. 44, n. 10, p. 1819–1821, 1983.

CONCANNON, P.W. Canine pregnancy and parturition. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, v. 16, n. 3, p. 453–475, 1986.

CONCANNON, P.W.; BUTLER, W. R.; HANSEL, W.; KNIGHT, P. J.; HAMILTON, J. M. Parturition and lactation in the bitch: serum progesterone, cortisol and prolactin. *Biology of Reproduction*, v. 19, p. 1113–1118, 1978.

CONCANNON, P.W.; ISAMAN, L.; FRANK, D. A.; MICHEL, F. J.; CURRIE, W. B. Elevated concentrations of 13,14-dihydro-15-keto-prostaglandin F-2 α in maternal plasma during prepartum luteolysis and parturition in dogs (*Canis familiaris*). *Journal of Reproduction and Fertility*, v. 84, p. 71–77, 1988.

CONCANNON, P.W.; LEIN, O.H. Hormonal and clinical correlates of ovarian cycles, ovulation,

pseudopregnancy and pregnancy in dogs. In: *Current Veterinary Therapy: Small Animal Practice*, Philadelphia: W.B. SAUNDERS, 1989. p. 1269–1282.

CONCANNON, P.W.; POWERS, M.E. Pregnancy and parturition in the bitch. *Biology of Reproduction*, v. 16, p. 517–526, 1977.

COPPOLA, C. L.; GRANDIN, T.; ENNS, R. M. Human interaction and cortisol: can human contact reduce stress for shelter dogs? *Physiology & Behavior*, v. 87, n. 3, p. 537–541, 2006.

CORCORAN, M. D. A case of hypoadrenocorticism (Addison's disease) in a dog. In *Senior Seminar*. Cornell University, Ithaca, 2003.

CORNELIUS, A. J.; MOXON, R.; RUSSENBERGER, J.; HAVLENA, B.; CHEONG, S. H. Identifying risk factors for canine dystocia and stillbirths. *Theriogenology*, 128, 201-206, 2019.

CORREIA, V. J.; FELICIANO, M. A. R.; MELO, D. G.; LEITE, C. A. L.; NEVES, C. C.; VICENTE, W. R. R. Ultrassonografia gestacional em cadelas - revisão de literatura. *Nucleus Animalium*, v. 4, n. 2, p. 51–60, 2012.

COSTA, T. I. R. Urgências reprodutivas na cadela. 2010. 88 f. Universidade Técnica de Lisboa, 2010. Disponível em: <<https://www.repository.utl.pt/handle/10400.5/2267>>.

DALL'ARA, P.; MELONI, T.; ROTA, A.; SERVIDA, F.; FILIPE, J.; VERONESI, M. C. Immunoglobulin G and lysozyme concentrations in canine fetal fluids at term pregnancy. *Theriogenology*, v. 83, n. 4, p. 766–771, 2015.

DE CRAMER, K.G.M. Preparturient caesarean section in the bitch: justification, timing, execution and outcome evaluation. 2017. 414 f. University of Pretoria, 2017.

DE CRAMER, K.G.M.; NÖTHLING, J.O. Curtailing parturition observation and performing preparturient cesarean section in bitches. *Theriogenology*, v. 124, p. 57–64, 2019.

DE CRAMER, K.G.M.; NÖTHLING, J.O. The precision of peri-oestrus predictors of date of onset of parturition in the bitch. *Theriogenology*, v. 96, p. 153–157, 2017.

DEBRAEKELEER, J.; GROSS, K.L.; ZICKER, S.C. Feeding Reproducing Dogs. *Small Animal Clinical Nutrition*. 4. ed. Kansas: Mark Morris Institute: Topeka, Kansas, 2010. p. 281–294.

DIAGNO (Brasil). Analisador Hematologico Icounter Vet. Disponível em: <<https://diagno.ind.br/analizador-hematologico-icounter-vet/>> Acesso em: 8 jul. 2021.

DIMÇO, E.; ABESHI, J.; LIKA, E.; DHAMO, G. Effect of pregnancy in hematological profile of dogs. *Albanian Journal of Agricultural Sciences*, v. 12, n. 2, p. 159–162, 2013.

DIVERS, W. A.; BABAKNIA, A.; HOPPER, B. R.; WILKES, M. M.; YEN, S. S. Fetal lung maturation: amniotic fluid catecholamines, phospholipids, and cortisol. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, v. 142, n. 4, p. 440–444, 1982.

DOURADO, R.F. C. Gestação em cadelas da raça retriever do labrador: alterações hematológicas, perfil de progesterona e métodos de previsão da data do parto. *Journal of Materials Processing Technology*, v. 1, n. 1, p. 1–8, 2018.

EDWARDS, S.A. The timing of parturition in dairy cattle. *Journal of Agriculture Science*, v. 93, p. 359–363, 1979.

EILTS, B. E.; DAVIDSON, A. P.; HOSGOOD, G.; PACCAMONTI, D. L.; BAKER, D. G. Factors affecting gestation duration in the bitch. *Theriogenology*, v. 64, n. 2, p. 242–251, 2005.

FAYED, R. H. Maternal behavior in animals. *Veterinary Medical Journal Giza*, v. 57, n. 2, p. 203–209, 2009.

FEDIAF. Nutritional Guidelines for Complete and Complementary Pet Food for Cats and Dogs. Fédération Européenne de l'Industrie des Aliments pour Animaux Familiers. P.23-24. 2019.

FELDMAN, E.C.; NELSON, R.W. Canine and feline endocrinology and reproduction. 3. ed. Philadelphia: Elsevier, 2003.

FELICIANO, M. A. R.; AQUINO, A. A.; COUTINHO, L. N.; VICENTE, W. R. R. Imunologia na gestação de cadelas: revisão de literatura. *Revista Brasileira de Reprodução animal*, v. 36, n. 3, p. 158–162, 2017.

FELICIANO, M.A.R.; VICENTE, W.R.R.; SILVA, M.A. Conventional and Doppler ultrasound for the differentiation of benign and malignant canine mammary tumours. *Journal of Small Animal Practice*, v. 53, n. 6, p. 332–337, 2012.

FENCL, M. D.; TULCHINSKY, D. Total cortisol in amniotic fluid and fetal lung maturation. *New England Journal of Medicine*, v. 292, n. 3, p. 133–136, 1975.

FERRARI, J. B.; MONTEIRO-FILHO, E. L. A. Análise comparativa dos padrões comportamentais pré e pós parto de Canis familiaris. 2004. 37 f. Universidade Federal do Paraná, 2004.

FISZDON, K.; KOWALCZYK, I. Litter size, puppy weight at birth and growth rates in different breeds of dogs. *Annals of Warsaw University of Life Sciences – Animal Science*, v. 46, p. 161–168, 2009.

FREHNER, B. L.; REICHLER, I. M.; KELLER, S.; GOERICKE-PESCH, S.; BALOGH, O. Blood calcium, glucose and haematology profiles of parturient bitches diagnosed with uterine inertia or obstructive dystocia. *Reproduction in Domestic Animals*, v. 53, n. 3, p. 680–687, 2017.

FURUKAWA, S.; KURODA, Y.; SUGIYAMA, A. A comparison of the histological structure of the placenta in experimental animals. *Journal of toxicologic pathology*, v. 27, n. 1, p. 11–18, 2014.

FUSI, J.; CARLUCCIO, A.; PERIC, T.; FAUSTINI, M.; PRANDI, A.; VERONESI, M. C. Effect of delivery by emergency or elective cesarean section on nitric oxide metabolites and cortisol amniotic concentrations in at term normal newborn dogs: Preliminary results. *Animals*, v. 11, n. 3,

p. 1–10, 2021.

FUSI, J.; PERIC, T.; PROBO, M.; COTTICELLI, A.; FAUSTINI, M.; VERONESI, M. C. How Stressful Is Maternity? Study about Cortisol and Dehydroepiandrosterone-Sulfate Coat and Claws Concentrations in Female Dogs from Mating to 60 Days Post-Partum. *Animals*, v. 11, n.6, p. 1632, 2021.

GAMBLING, L.; CHARANIA, Z.; HANNAH, L.; ANTIPATIS, C.; LEA, R. G.; MCARDLE, H. J. Effect of iron deficiency on placental cytokine expression and fetal growth in the pregnant rat. *Biology of Reproduction*, v. 66, n. 2, p. 516- 523., 2002.

GARCIA-NAVARRO, E.K.; PACHALY, J.R. Manual de Hematologia Veterinária. 2. ed. São Paulo, 1998.

GAVRILOVIC, B. B. .; ANDERSSON, K. .; FORSBERG, C. L. Reproductive patterns in the domestic dog—A retrospective study of the Drever breed. *Theriogenology*, v. 70, p. 783–794, 2008.

GAVRILOVIC, B. B. .; ANDERSSON, K. .; FORSBERG, C. L. Reproductive patterns in the domestic dog—A retrospective study of the Drever breed. *Theriogenology*, v. 70, p. 783–794, 2008.

GENDLER, A.; BROURMAN, J. D.; GRAF, K. E. Canine dystocia: medical and surgical management. *Compendium: Continuing Education For Veterinarians*, v. 29, n. 9, p. 551–562, 2007.

GERMAN, A. J. The growing problem of obesity in dogs and cats. *Journal of Nutrition*, v. 136, p. 1940–1946, 2006.

GITAU, R.; MENSON, E.; PICKLES, V.; FISK, N. M.; GLOVER, V.; MACLACHLAN, N. Umbilical cortisol levels as an indicator of the fetal stress response to assisted vaginal delivery. *European Journal of Obstetrics and Gynecology and Reproductive Biology*, v. 98, p. 14–17, 2001.

GLEESON, D.E.; O'BRIEN, B.; MEE, J.F. Effect of restricting silage feeding prepartum on time of calving, dystocia and stillbirth in Holstein-Friesian cows. *Irish Veterinary Journal*, v. 60, p. 667–671, 2007.

GONZÁLEZ, F. H. D.; SILVA, S. C. Introdução a bioquímica clínica veterinária. 2. ed. Porto Alegre: Unillanos, 2006.

GRAM, A.; BÜCHLER, U.; BOOS, A.; HOFFMANN, B.; KOWALEWSKI, M. P. Biosynthesis and degradation of canine placental prostaglandins: prepartum changes in expression and function of prostaglandin F₂α-synthase (PGFS, AKR1C3) and 15-hydroxyprostaglandin dehydrogenase (HPGD). *Biology of Reproduction*, v. 89, n. 1, p. 2–1, 2013.

GRAM, A.; BÜCHLER, U.; BOOS, A.; HOFFMANN, B.; KOWALEWSKI, M. P. Uterine and placental expression of canine oxytocin receptor during pregnancy and normal and induced parturition. *Reproduction in Domestic Animals*, v. 49, n. (Suppl 2), p. 41–49, 2014.

GROPPELTI, D.; PECILE, A.; DEL CARRO, A. P.; COPLEY, K.; MINERO, M.; CREMONESI, F. Evaluation of newborn canine viability by means of umbilical vein lactate measurement, apgar score and uterine tocodynamometry. *Theriogenology*, v. 74, p. 1187–1196, 2010.

GROPPELTI, D.; RAVASIO, G.; BRONZO, V.; PECILE, A. The role of birth weight on litter size and mortality within 24h of life in purebred dogs: What aspects are involved? *Animal Reproduction Science*, v. 163, p. 112–119, 2015.

GRUNDY, S. A. Clinically relevant physiology of the neonate. *Veterinary Clinics: Small Animal Practice*, v. 36, n. 3, p. 443–459, 2006.

HART, B. L. Maternal behavior in the twentieth century. *Canine Practice* 6. [S.l: s.n.], 1979. p. 18–21.

HARVEY, J. W.; STEVENS, A.; LOWE, J. S.; SCOTT, I. *Veterinary hematology*. 1. ed. St. Louis: Elsevier Saunders, 2012.

HARVEY, J.W.; WEST, C.L. Prednisone-induced increases in serum alpha-2-globulin and haptoglobin concentrations in dogs. *Veterinary Pathology*, v. 24, p. 90–92, 1987.

HAYASHI, M. Composition of the blood of adult Beagle bitches during the estrous cycle, pregnancy and postpartum period. *Japanese Journal of Animal Reproduction*, v. 11, p. 89–94, 1974.

HEIDLER, B.; AURICH, J. E.; POHL, W.; AURICH, C. Body weight of mares and foals, estrous cycles and plasma glucose concentration in lactating and non-lactating Lipizzaner mares. *Theriogenology*, v. 61, p. 883–893, 2004.

HERNÁNDEZ-AVALOS, I.; FLORES-GASCA, E.; MOTA-ROJAS, D.; CASAS-ALVARADO, A.; MIRANDA-CORTÉS, A. E.; DOMÍNGUEZ-OLIVA, A. Neurobiology of anesthetic-surgical stress and induced behavioral changes in dogs and cats: A review. *Veterinary World*, v. 14, n. 2, p. 393, 2021.

HOFFMANN, B.; HÖVELER, R.; NOHR, B.; HASAN, S. H. Investigations on hormonal changes around parturition in the dog and the occurrence of pregnancy-specific non conjugated oestrogens. *Experimental and Clinical Endocrinology & Diabetes*, v. 102, n. 03, p. 185–189, 1994.

HOUPT, K.A. Genetics of canine behavior. *Acta Veterinaria Brasilica*, v. 76, p. 431–444, 2007.

HUNTER, J. T.; FAIRCLOUGH, R. J.; PETERSON, A. J.; WELCH, R. A. S. Foetal and maternal hormonal changes preceding normal bovine parturition. *European Journal of Endocrinology*, v. E84, n. 3, p. 653–662, 1977.

INDREBØ, A.; TRANGERUD, C.; MOE, L. Canine neonatal mortality in four large breeds. *Acta Veterinaria Scandinavica*, v. 49, n. Suppl. 1, p. 1–5, 2007.

JAIN, N.C. The plasma proteins, dysproteinemias and immune deficiency. *Schalm's Veterinary Hematology*. Lea and Febiger, Philadelphia, 1986. p. 940–1039.

JAIN, N.C. The plasma proteins, dysproteinemias, and immune deficiency disorders. *Essentials of Veterinary Hematology*. W.B. Saunders, Philadelphia, 1993. p. 349–380.

JOHNSON, C. A. Pregnancy management in the bitch. *Theriogenology*, v. 70, n. 9, p. 1412–1417, 2008.

JOHNSTON, S. D.; ROOT KUSTRITZ, M. V.; OLSON, P. S. Canine and feline theriogenology. Saunders, 2001.

JUTKOWITZ, L. A. Reproductive emergencies. *Veterinary Clinics: Small Animal Practice*, v. 35, n. 2, p. 397–420, 2005.

KANEKO, J. J. Serum protein and dysproteinemias. In: KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. *Clinical biochemistry of domestic animal*. 5. ed. London: Academic Press, 1997. p. 117–139.

KANEKO, M.; NAKAYAMA, H.; IGARASHI, N.; HIROSE, H. Relationship between the number of fetuses and the blood constituents of beagles in late pregnancy. *The Journal of Veterinary Medical Science/The Japanese Society of Veterinary Science*, v. 55, p. 681–682, 1993.

KIMURA, T.; KOTANI, K. Perinatal veterinary medicine-related evaluation in hematological and serum biochemical profiles of experimental beagles throughout pregnancy and parturition. *Animal Models and Experimental Medicine*, v. 1, n. 4, p. 282–294, 2018.

KINCAID, R. Changes in the concentration of minerals in blood of peripartum cows. Mid-South Ruminant Nutrition Conference, p. 1–8, 2008.

KINDAHL, H.; KORNMATITSUK, B.; GUSTAFSSON, H. The cow in endocrine focus before and after calving. *Reproduction in Domestic Animals*, v. 39, n. 4, p. 217–221, 2004.

KLARENBEEK, M.; OKKENS, A. C.; KOOISTRA, H. S.; MOL, J. A.; BEVERS, M. M.; TAVERNE, M. A. M. Plasma oxytocin concentrations during late pregnancy and parturition in the dog. *Theriogenology*, v. 68, n. 8, p. 1169–1176, 2007.

KOWALEWSKI, M. P.; MEYER, A.; HOFFMANN, B.; ASLAN, S.; BOOS, A. Expression and functional implications of Peroxisome Proliferator—Activated Receptor Gamma (PPAR γ) in canine reproductive tissues during normal pregnancy and parturition and at antiprogestin induced abortion. *Theriogenology*, v. 75, n. 5, p. 877–886, 2011.

KRAUS, A.; SCHWAB, A. The concentration of ionized and total calcium in the blood of female dogs with uterine inertia. *Tierärztliche Praxis*, v. 18, n. 6, p. 641–643, 1990.

KUTZLER, M. Dystocia and obstetric crises. In: *Small animal critical care medicine*. Harvard: SAUNDERS, WB, 2009. p. 611–615.

LAWRENCE, J.; CHANG, Y. M. R.; SZLADOVITS, B.; DAVISON, L. J.; GARDEN, O. A. Breed-specific hematological phenotypes in the dog: A natural resource for the genetic dissection of hematological parameters in a mammalian species. *PLoS ONE*, v. 8, n. 11, p. 1–13, 2013.

LIESEGANG, A.; WICHERT, B. Calcium metabolism during gestation and lactation in queen. 16th Congress of the European Society of Veterinary and Comparative Nutrition. In Proceedings of the 16th Congress of the ESVCN, Bydgoszcz (Vol. 61), 2012.

LINDE-FORSBERG, C. Pregnancy diagnosis, normal pregnancy and parturition in the bitch. BSAVA Manual of canine and feline reproduction and neonatology. 2010. p. 89–97.

LINDE-FORSBERG, C.; ENEROTH, A. Abnormalities in pregnancy, parturition and the periparturient period. In: ETTINGER, S.J.; FELDMAN, E.C. Textbook of Veterinary Internal Medicine,. 6. ed. Elsevier Saunders, 2005. p. 1655–1667.

LINDE-FORSBERG, C.; KINDAHL, H.; MADEJ, A. Termination of mid-term pregnancy in the dog with oral RU 486. *Journal of Small Animal Practice*, v. 33, n. 7, p. 331–336, 1992.

LITTLEDIKE, E. T. Relationship of milk secretion to hypocalcemia in the dairy cow. *Journal of Dairy Science*, v. 59, n. 11, p. 1947–1953, 1976.

LOPATE, C. Dystocia in the bitch. *NAVJ Clinician's Brief*, n.12, p. 26-28, 2012.

LUESCHER, U.A. Canine Behavioral Development. *Small Animal Pediatrics*, v. 12, n. 3, p. 97–103, 2011.

LUZ, M. R. Parto en perras y gatas. In: GOBELLO C. Temas de reproducción de caninos y felinos por autores latinoamericanos. La Plata: Gráfica Latina, 2004. p. 237–248.

LUZ, M.R.; BERTAN, C. M.; BINELLI, M.; LOPES, M. D. 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.

LUZ, M.R.; MARTINS, M. I.M. Parto: o momento esperado. In: Reprodução de cães. 1. ed. Barueri: Manoli , 2019. p. 147–169.

MAINAU, E.; MANTECA, X. Pain and discomfort caused by parturition in cows and sows. *Applied Animal Behaviour Science*, v. 135, p. 241–251, 2011.

MANDELL, C.P. Essential Thrombocythemia and Reactive Thrombocytosis. Schalm's Veterinary Hematology. 5. ed. 2000. p. 501–508.

MARCHESE, G. M.; FEIER, A. P.; JACQUES, G.; BEHLING, J. A. K.; BUFFON, L. B.; SILVEIRA, N. P. V.; KUPSKI, C. Transaminases elevadas em um paciente assintomático: o que fazer? *Acta Medica*, v. 39, n. 1, p. 141- 154., 2018.

MARIELLA, J.; PIRRONE, A.; GENTILINI, F.; CASTAGNETTI, C. Hematologic and biochemical profiles in Standardbred mares during peripartum. *Theriogenology*, v. 81, n. 4, p. 526–534, 2014.

MARQUES, C. D. L.; DANTAS, A. T.; FRAGOSO, T. S.; DUARTE, Â. L. B. P. The importance of vitamin D levels in autoimmune diseases. *Revista Brasileira de Reumatologia*, v. 50, n. 1, p.

67–80, 2010.

MARTINS, F. S. D. M. Estudos de casos em série e proposta de um índice diagnóstico para hiperadrenocorticismo canino. Dissertação de Mestrado (Ciências Veterinárias) Universidade Federal do Rio Grande do Sul, p. 86. 2018.

MATSUBARA, L. M. Estudo cardiorrespiratório comparativo da anestesia geral inalatória com o sevoflurano em cadela não-gestantes e no terço final da gestação, pré-tratados com acepromazina e propofol. Dissertação de Mestrado (Medicina Veterinária). Universidade Estadual Paulista, p 25–27. 2004.

MELANDRI, M.; ALONGE, S.; PERIC, T.; BOLIS, B.; VERONESI, M. C. Effects of alfaxalone or propofol on giant-breed dog neonates viability during elective caesarean sections. *Animals*, v. 9, n. 11, p. 962, 2019.

MEYER, D. J.; COLES, E. H.; RICH, L. J. Medicina de Laboratório Veterinária Interpretação e Diagnóstico. 1. ed. São Paulo, 1995.

MILA, H.; GRELLET, A.; FEUGIER, A.; CHASTANT-MAILLARD, S. Differential impact of birth weight and early growth on neonatal mortality in puppies. *Journal of Animal Science*, v. 93, n. 9, p. 4436–4442, 2015.

MILANI, C.; ROTA, A.; OLSSON, U.; PAGANOTTO, A.; HOLST, B. S. Serum concentration of mineralocorticoids, glucocorticoids, and sex steroids in peripartum bitches. *Domestic Animal Endocrinology*, v. 74, p. 106558, 2021.

MOON, P. F. et al. Perioperative risk factors for puppies delivered by cesarean section in the United States and Canada. *Journal of the American Animal Hospital Association*, v. 36, n. 4, p. 359–368, 2000.

MORITZ, A.; FICKENSCHER, Y.; MEYER, K.; FAILING, K.; WEISS, D. J. Canine and feline hematology reference values for the ADVIA 120 hematology system. *Veterinary Clinical Pathology*, v. 33, n. 1, p. 32–38, 2004.

MSHELIA, G D; AMIN, J D; CHAUDHARI, S U R. Haemogram of nigerian mongrel bitch at different stages of the reproductive cycle. *Pakistan Veterinary Journal*, v. 25, n. 1, p. 22–24, 2005.

MUGNIER, A.; MILA, H.; GUIRAUD, F.; BRÉVAUX, J.; LECARPENTIER, M.; MARTINEZ, C.; GRELLET, A. Birth weight as a risk factor for neonatal mortality: Breed-specific approach to identify at-risk puppies. *Preventive Veterinary Medicine*, v. 171, n. February, p. 104746, 2019.

MÜNNICH, A. Gesundheitsprophylaxe für das gravide Muttertier und Welpen. Reproduktionsmedizin und Neonatologie von Hund und Katze., 2016. p. 248–255.

MÜNNICH, A.; KÜCHENMEISTER, U. Dystocia in numbers - Evidence-based parameters for intervention in the dog: Causes for dystocia and treatment recommendations. *Reproduction in Domestic Animals*, v. 44, n. SUPPL. 2, p. 141–147, 2009.

MURPHY, B. E. P.; PATRICK, J.; DENTON, R. L.; CLARK, S. J.; MARVIN, M.; HAÏDAR, R. Cortisol in amniotic fluid during human gestation. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, v. 40, n. 1, p. 164- 167, 1975.

NIELEN, A. L. J.; JANSS, L. L. G.; KNOL, B. W. Heritability estimations for diseases, coat color, body weight, and height in a birth cohort of Boxers. *American Journal of Veterinary Research*, v. 62, p. 1198– 1206, 2001.

NUNES, M. F.; COBUCCI, G. C. Hiperadrenocorticismo hipófise dependente em cão- relato de caso. *Anais VII SIMPAC*, p. 114–119, 2015.

OHMORI, K.; NISHIKAWA, S.; OKU, K.; OIDA, K.; AMAGAI, Y.; KAJIWARA, N.; MATSUDA, H. Circadian rhythms and the effect of glucocorticoids on expression of the clock gene *period1* in canine peripheral blood mononuclear cells. *Veterinary Journal*, v. 196, n. 3, p. 402–407, 2013.

OLCESE, J. Circadian aspects of mammalian parturition: a review. *Molecular and Cellular Endocrinology*, v. 349, n. 1, p. 62-67. 2012.

OLSSON, K.; BERGSTRÖM, A.; KINDAHL, H.; LAGERSTEDT, A. S. Increased plasma concentrations of vasopressin, oxytocin, cortisol and the prostaglandin F2alpha metabolite during labour in the dog. *Acta Physiologica Scandinavica*, v. 179, n. 3, p. 281–287, 2003.

PADBURY, J.F.; AGATA, Y.; POLK, D. H.; WANG, D. L.; LAM, R. W.; CALLEGARI, C. C. Catecholamine and endorphin responses to delivery in term and preterm lambs. *Developmental Pharmacology and Therapeutics*, v. 11, p. 44–50, 1988.

PAULA, L. V.; ROMANI, A. F.; SANTOS, G.; AMARAL, A.; ATAÍDE, W. Hiperadrenocorticismo canino: revisão de literatura. *Enciclopedia Biosfera*, p. 595- 618, 2018.

PETERSON, M. E.; KUTZLER, M. A. *Small animal pediatrics*. 1. ed. St. Louis: Saunders, W.B., 2011.

R CORE TEAM. *A language and environment for statistical computing*. . Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing. 2020.

REBAR, A.H.; MACWILLIAMS, P. S.; FELDMAN, B. F.; METZGER, F. L.; POLLOCK, R. V.; ROCHE, J. *Guia de hematologia para cães e gatos*. 1. ed. Sao Paulo: Roca, 2003.

RIOND, J. L.; KOCABAGLI, N.; SPICHIGER, U. E.; WANNER, M. The concentration of ionized magnesium in serum during the periparturient period of non-paretic dairy cows. *Veterinary Research Communications*, v. 19, n. 3, p. 195–203, 1995.

RIQUELME, A. S.; RUIZ, F. A. Biología gestacional y predicción del parto en la perra. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, v. 28, n. 4, p. 771–783, 2017.

ROMAGNOLI, S.; DE SOUZA, F. F.; ROTA, A.; VANNOZZI, I. Prolonged interval between parturition of normal live pups in a bitch. *Journal of Small Animal Practice*, v. 45, n. 5, p. 249–

253, 2004.

SANDRI, M.; COLUSSI, A., PERROTTA, M. G., STEFANON, B. Salivary cortisol concentration in healthy dogs is affected by size, sex, and housing context. *Journal of Veterinary Behavior: Clinical Applications and Research*, v. 10, n. 4, p. 302–306, 2015.

SANTOS, N. R.; BECK, A.; FONTBONNE, A. A review of maternal behaviour in dogs and potential areas for further research. *Journal of Small Animal Practice*, v. 61, n. 2, p. 85–92, 2020.

SAYERS, G. The adrenal cortex and homeostasis. *Physiological Reviews*, v. 30, n. 3, p. 241–320, 1950.

SCHRANK, M.; MOLLO, A.; CONTIERO, B.; ROMAGNOLI, S. Bodyweight at birth and growth rate during the neonatal period in three canine breeds. *Animals*, v. 10, n. 1, p. 1–11, 2020.

SCHROEDER, G.E.; SMITH, G.A. Bodyweight and feed intake of German Shepherd bitches during pregnancy and lactation. *Journal of Small Animal Practice*, v. 36, p. 7–10, 1995.

SCHWEIZER, C. M.; MEYERS-WALLEN, V. N. Medical management of dystocia and indications for cesarean section in the bitch. *Kirks current veterinary therapy*, v. 13, p. 933–939, 2000.

SEVELIUS, E.; ANDERSSON, M. Serum protein electrophoresis as a prognostic. *The Veterinary Record*, v. 137, n. 26, p. 663–667, 1995.

SMITH, F. O. Challenges in small animal parturition—Timing elective and emergency cesarian sections. *Theriogenology*, v. 68, n. 3, p. 348–353, 2007.

SMITH, F. O. Guide to emergency interception during parturition in the dog and cat. *Veterinary Clinics: Small Animal Practice*, v. 42, n. 3, p. 489–499, 2012.

SOUZA, T.D.; SILVA MOL, J. P.; DA PAIXÃO, T. A.; DE LIMA SANTOS, R. Mortalidade fetal e neonatal canina: Etiologia e diagnóstico. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, v.40, n.2, p.639-649. 2017.

SPADY, T.C.; OSTRANDER, E.A. Canine behavioral genetics: pointing out the phenotypes and herding up the genes. *The American Journal of Human Genetics*, v. 82, n. 1, p. 10–18, 2008.

STOCKHAM, S. L.; KEETON, K. S.; SZLADOVITS, B. Clinical assessment of leukocytosis: distinguishing leukocytoses caused by inflammatory, glucocorticoid, physiologic, and leukemic disorders or conditions. *Veterinary Clinics: Small Animal Practice*, v. 33, n. 6, p. 1335–1357, 2003.

STOCKHAM, S. L.; SCOTT, M. A. *Fundamentals of Veterinary Clinical Patology*. 1. ed. Ames: Iowa State University Press, 2002.

TAVERNE, M.A.M.; VAN DER WEIJDEN, G.C. Parturition in domestic animals: Targets for future research. *Reproduction in Domestic Animals*, v. 43, p. 36–42, 2008.

TESI, M.; MIRAGLIOTTA, V.; SCALA, L.; ARONICA, E.; LAZZARINI, G.; FANELLI, D.; ROTA, A. Relationship between placental characteristics and puppies' birth weight in toy and small sized dog breeds. *Theriogenology*, v. 141, p. 1–8, 2020.

THORN, G. W.; GOETZ, F. C.; STREETEN, D. H.; DINGMAN, J. F.; ARONS, W. L. Use of the intravenous ACTH test in clinical practice. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, v. 13, n. 5, p. 604–613, 1953.

THURMON, J. C.; TRANQUILLI, W. J.; BENSON, G. J.; LUMB, W. V. Lumb & Jones' veterinary anesthesia. 3. ed. Baltimore: Williams & Wilkins, 1996.

UDELL, M. A.; DOREY, N. R.; WYNNE, C. D. L. What did domestication do to dogs? A new account of dogs' sensitivity to human actions. *Biological Reviews of the Cambridge Philosophical Society*, v. 85, p. 327–345, 2010.

VAN KAMPEN, C.; MALLARD, B. A. Effects of peripartum stress and health on circulating bovine lymphocyte subsets. *Veterinary Immunological Immunopathology*, v. 59, n. 1, p. 79- 91, 1997.

VANNUCCHI, C. I.; LÚCIO, C. F.; REGAZZI, F. M.; SR ANGRIMANI, D.; BRITO, M. M.; ABREU, R. A. Perfil de proteínas plasmáticas em cadelas gestantes e não gestantes. *Pesquisa Veterinaria Brasileira*, v. 36, n. 8, p. 781–786, 2016.

VASCONCELLOS, L.S.; SABINO, K.R.; PETROIANU, A. Influência da ooforectomia e da gravidez na função fagocitária do sistema mononuclear fagocitário em modelo experimental. *Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial*, v. 41, p. 153–158, 2005.

VASSALO, F. G. et al. Topics in the routine assessment of newborn puppy viability. *Topics in companion animal medicine*, v. 30, n. 1, p. 16–21, 2015.

VERMOREL, M. C.; DARDILLAT, C.; VERNET, J.; RENSEIGNÉ, N.; DEMIGNE, C. Energy metabolism and thermoregulation in the newborn calf. *Annales de Recherches Vétérinaires*, v. 14, n. 4, p. 382–389, 1983.

VERONESI, M. C. Assessment of canine neonatal viability—the Apgar score. *Reproduction in Domestic Animals*, v. 51, p. 46–50, 2016.

VERONESI, M. C., PANZANI, S., FAUSTINI, M., ROTA, A. Apgar scoring system for routine assessment of newborn puppy viability and short-term survival prognosis. *Theriogenology*, v. 72, n. 3, p. 401- 407, 2009.

VERONESI, M. C.; BATTOCCHIO, M.; MARINELLI, L.; FAUSTINI, M.; KINDAHL, H.; CAIROLI, F. Correlations among body temperature, plasma progesterone, cortisol and prostaglandin F_{2α} of the periparturient bitch. *Journal of Veterinary Medicine Series A: Physiology Pathology Clinical Medicine*, v. 49, n. 5, p. 264–268, 2002.

VERONESI, M.C.; CASTAGNETTI, C.; TAVERNE, M.A.M. Neonatologia del cane e del gatto: patologie neonatali. In: VERONESI, M.C.; CASTAGNETTI, C.; TAVERNE, M.A.M. (Org.). .

Neonatalogia Veterinaria. 1. ed. Naples: EdiSES, 2013. p. 93–140.

WHITE, A.; DOUGHERTY, T. F. The role of lymphocytes in normal and immune globulin production, and the mode of release of globulin from lymphocytes. *Annals of the New York Academy of Sciences*, v. 46, n. 8, p. 859–882, 1946.

WILKENS, M. R.; LIESEGANG, A.; RICHTER, J.; FRASER, D. R.; BREVES, G.; SCHRÖDER, B. Differences in peripartal plasma parameters related to calcium homeostasis of dairy sheep and goats in comparison with cows. *Journal of Dairy Research*, v. 81, n. 3, p. 325–332, 2014.

YAMIN, M.; PAYNE, G.; BLACKSHAW, J.K. The time of birth and the choice of birth sites Booroola Merino ewes and Angora goats. *Animal Behavior Science*, v. 45, p. 89–96, 1995.

ZHANG, S.; Regnault, T. R.; Barker, P. L.; Botting, K. J.; McMillen, I. C.; McMillan, C. M.; Morrison, J. L. Placental adaptations in growth restriction. *Nutrients*, v. 7, n. 1, p. 360–389, 2015.

9. ANEXOS

9.1. Anexo 1: Termo de compromisso

Universidade Federal de Minas Gerais
Comitê de Ética no Uso de Animais – CEUA

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE)

Venho por meio deste convidá-lo (a) a participar de uma pesquisa que será realizada pelo Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Escola de Veterinária da UFMG, sob orientação do Prof. Dr. Marcelo Rezende Luz, cujo objetivo é comparar as concentrações plasmáticas de PGFM, cortisol materno e de líquido amniótico fetal, e de progesterona no momento do início do parto de cadelas para melhor elucidar a endocrinologia do parto nessa espécie. O proprietário declara ter recebido esclarecimentos antes e durante a pesquisa sobre a metodologia ao qual o animal será submetido, bem como total liberdade em se recusar de participar do estudo ou retirar o seu consentimento em qualquer fase da pesquisa sem penalização ou prejuízo ao seu animal. Sua autorização para a inclusão do (s) seu (s) animal (is) nesse estudo é voluntária. A confidencialidade dos seus dados pessoais será preservada. Ressalva-se que o projeto não será realizado nas dependências do Hospital Veterinário da UFMG, e que se em algum momento o proprietário vier a utilizar o Hospital Veterinário, o tutor deverá arcar com os custos relacionados às diárias, consultas, medicações, internações, procedimentos cirúrgicos, de acompanhamento gestacional ou materiais de consumo caso necessários. O Médico Veterinário responsável pelo (s) seu (s) animal (is) será o (a) Dr (a) Vinícius Alves Bastos, inscrito (a) no CRMV-MG sob o n. 20144. Além dele, a equipe do Pesquisador Principal Marcelo Rezende Luz também se responsabilizará pelo bem-estar do (s) seu (s) animal (is) durante todo o estudo e ao final dele. Quando for necessário, durante ou após o período do estudo, você poderá entrar em contato com o Pesquisador Principal ou com a sua equipe:

Telefones de emergência: 31- 99263-6970; 31-99798-3503.

Equipe: Marcelo Rezende Luz; Vinícius Alves Bastos; Patricia Maria Coletto Freitas.

Endereço: R. Pedro Moreira de Abreu, 92 – Ouro Preto – CEP: 31.310-550 – Belo Horizonte – MG.

Cronograma: Será mantido contato telefônico entre a equipe e o tutor até que o animal apresente-se gestante. Após, o tutor será contactado pessoalmente e o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) deverá ser assinado, para se dar início ao acompanhamento do parto. Será coletado uma amostra de sangue para realização de exames hematológicos e de bioquímica; uma amostra de sangue no momento do nascimento do primeiro filhote para dosagens hormonais; serão colhidas amostras dos líquidos amniótico e alantoideano, após o nascimento, para dosagens hormonais. Cada animal será acompanhado até o final do parto.

Os membros da CEUA ou as autoridades regulatórias poderão solicitar suas informações, e nesse caso, elas serão dirigidas especificamente para fins de inspeções regulares.

Declaração de Consentimento

Fui devidamente esclarecido (a) sobre todos os procedimentos deste estudo, seus riscos e benefícios ao (s) animal (is) pelo (s) qual (is) sou responsável. Fui também informado que posso retirar meu (s) animal (is) do estudo a qualquer momento. Ao assinar este Termo de Consentimento, declaro que autorizo a participação do (s) meu (s) animal (is) identificado (s), a seguir, neste projeto.

Belo Horizonte, / / .

Assinatura do Pesquisador Responsável:

Assinatura do Responsável

Nome:

Documento de Identidade: (quando aplicável):

Identificação do (s) animal (is) (repetir tantas vezes quantos foram os animais)

Nome:

Número de identificação:

Espécie:

Raça:

Eu, _____, carteira de identidade _____, CPF _____, proprietário(a) do cão _____, da raça _____, com a idade de _____, pelagem _____, peso _____, autorizo sua inclusão no Projeto de Pesquisa "***Concentrações plasmáticas de 13,14 Diidro-15 Ceto-Prostaglandina F2 α (PGFM), cortisol materno e do líquido amniótico fetal, e de progesterona de cadelas parturientes com diferentes tamanhos de ninhada***", no qual o animal será acompanhado durante todo o trabalho de parto até o nascimento do último filhote. Todos os animais serão submetidos ao acompanhamento clínico-reprodutivo padronizado (se necessário). Caso necessário intervenção cirúrgica e internação, os custos serão por conta do proprietário de forma integral.

Benefícios: Este projeto ajudará a compreender melhor a endocrinologia do parto da espécie canina, e os resultados permitirão evoluir com pesquisas para melhor tratamento dos problemas no parto, como distocias. Assim, este e outros animais poderão vir a se beneficiar de novos protocolos terapêuticos desenvolvidos.

Belo Horizonte, ____ de _____ de _____

Assinatura do proprietário

Universidade Federal de Minas Gerais
Avenida Antônio Carlos, 6627 – Campus Pampulha
Unidade Administrativa II- 2 andar, Sala 2005
31270-901 – Belo Horizonte – MG – Brasil

9.2. Anexo 2: Fichas de acompanhamento das gestantes e neonatos

Acompanhamento da Gestante								DATA: __/__/__	
Nome do animal		Canil/Tutor:			Idade do animal/ n de copulas				
Raça do animal		Data da copula:			Peso antes da gestação				
Data prevista para o parto:		Data do parto:			Nº de Filhotes:				
Termometria									
Data/ hrs	T°C retal	Data/ hrs	T°C retal	Data/ hrs	T°C retal	Data/ hrs	T°C retal	Data/ hrs	T°C retal
Exames de imagem:									
Data do exame:									
Vermifugo						Vacinação			
Alimentação						Historico clinico			
Obs.:									
Exame clinico/Intercorrências durante o parto/Demais observações:									
__/__/__ FC: _____ FR: _____ TR: _____ TPC: _____ Mucosas: _____ EC _____									
__/__/__ FC: _____ FR: _____ TR: _____ TPC: _____ Mucosas: _____ EC _____									

