

FISIOLOGÍA REPRODUCTIVA Y CONTROL DE LOS CICLOS ESTRALES EN LA GATA DOMÉSTICA

F Giménez¹, MC Stornelli¹, CA Savignone²,
CM Tittarelli³, RL de la Sota¹, MA Stornelli¹

¹Instituto de Teriogenología, ²Cátedra de Fisiología, ³Cátedra de Histología y Embriología
Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional de La Plata.

Resumen: La gata doméstica es poliéstrica estacional, con ovulación inducida por el coito. Sin embargo, la ovulación espontánea puede ocurrir en algunas hembras. El celo ocurre con un intervalo de 14 a 19 días en aquellas gatas expuestas a un fotoperíodo largo (14 horas luz diarias). El ciclo estral felino se divide en cuatro períodos: proestro, estro, interestro y anestro. Cada etapa presenta ciertas particularidades que diferencian una de otra. Existen diferentes métodos para prevenir tanto la ocurrencia temporal como permanente de los ciclos estrales en la gata doméstica. Si bien en general permiten un adecuado control de la reproducción, la mayoría de ellos presentan efectos colaterales indeseables. En este trabajo se describen las particularidades del ciclo estral felino y se analizan y discuten los diferentes métodos para el control de la reproducción utilizados en la gata doméstica.

Palabras clave: gata, ciclo estral, anticoncepción

REPRODUCTIVE PHYSIOLOGY AND CONTRACEPTION IN QUEEN

Abstract: The queen is described as a seasonally, polyestrous, with ovulation induced by coitus. Spontaneous ovulation may, however, occur in some queens. Feline estrous cycles occur at 14 to 19 day intervals in queen exposed to a constant daylength (14 hours bright light per day). Stages of the estrous cycle of the queen include proestrus, estrus, interestrous, and anestrus. Each stage has some characteristics that differentiate one from the other. There are different methods to prevent estrus cycles in queen. They can suppress fertility in a permanent or a temporal way. Although they can prevent pregnancy the most have side effects. Reproductive features of the queen likewise prevent pregnancy are reviewed.

Key words: queen, estrous cycle, contraception

Fecha de recepción: 22/02/06

Fecha de aprobación: 04/07/06

Dirección para correspondencia: M.Alejandra Stornelli. Instituto de Teriogenología. Facultad de Ciencias Veterinarias. Calle 60 y 118. B1900 La Plata. Argentina. 54-221-4236663/4, ext 457ax: +54-221-4257980
E-mail: astornel@fcv.unlp.edu.ar

Fisiología reproductiva

La gata doméstica al igual que otros mamíferos domésticos tales como el equino, cabra y oveja, comparte la particularidad de ser poliéstrica estacional, es decir que ciclará de manera repetida durante una estación reproductiva a menos que el ciclo sea interrumpido por preñez, pseudopreñez o enfermedad (1). Los ciclos estrales felinos ocurren con un intervalo de 14 a 19 días promedio en aquellas hembras que están expuestas a un promedio de 14 horas luz diaria (2). En nuestro hemisferio el período reproductivo de la gata comprende las estaciones de primavera y verano, sin embargo bajo un régimen lumínico artificial de 14 horas de luz diarias ciclan durante todo el año (3). Por el contrario, si las gatas son expuestas a un régimen lumínico diario corto, (8 h luz/diarias), la actividad ovárica cesa y consecuentemente la hembra entra en anestro (4).

La mayoría de las hembras felinas alcanzan la pubertad entre los 6 y 9 meses de edad (5, 6). Esto varía debido a la influencia de varios factores, entre ellos la época del año en que la hembra nace. Se ha informado que aquellas hembras que nacen en invierno comienzan su actividad sexual más tempranamente que aquellas que nacen en verano (7). Por otro lado, la madurez sexual presenta cierta heredabilidad; es así que razas de pelo corto como el Siames o Burmes son más precoces que las razas de pelo largo como la Persa (8). Otro factor a considerar es el peso, ya que las hembras necesitan un peso mínimo de 2,3 a 2,5 kg para llegar a la pubertad (9)

Ciclo estral

El ciclo estral felino se divide en cuatro períodos; proestro, estro, interestro y anestro (10). El proestro, es el período del ciclo estral cuya duración puede ser tan breve (24 h) que pasa inadvertido o durar 1 a 2 días (11). Es el momento de actividad folicular (síntesis y secreción de estrógenos), cambios en la citología vaginal y preparación para el apareamiento y preñez (1). El folículo ovárico desarrolla desde un diámetro aproximado de 0,5 mm a 1,5 mm durante este período (6). Los estrógenos, llegan a concentraciones superiores a 20 pg/ml, siendo los niveles plasmáticos de esta hormona en anestro o interestro inferiores a 15 pg/ml (1). El aumento de las concentraciones séricas de estrógeno se relaciona con el comportamiento afectuoso de la hembra, y las características conductuales (fricciones, pisoteo con los miembros posteriores, vocalizaciones y menor hostilidad hacia el macho) presentes en esta etapa del ciclo estral. En este período si bien la hembra atrae al macho, no permite la monta (11).

El estro es el momento en que la hembra acepta el servicio, y la síntesis y concentración sérica de estrógenos llega a los niveles más altos,

40 a 80 pg/ml (9). La duración promedio de este período es de 6 a 10 días (6). Debido a las altas concentraciones de estrógeno plasmático, la gata aumenta las vocalizaciones, presenta lordosis, mantiene la cola hacia un lado y acepta la cópula (11). Este aumento de estrógeno, no solo produce un cambio del comportamiento, sino que también actúa sobre el epitelio vaginal produciendo la cornificación del mismo (10). En consecuencia, la citología vaginal de la fase folicular (proestro y estro) presentará células superficiales nucleadas y anucleadas. Las células superficiales son grandes, de bordes irregulares, núcleo oval y picnótico o sin núcleo (6).

Una particularidad de las hembras felinas es que la ovulación es inducida por el coito (5). La estimulación vaginal durante la cópula produce un aumento de las señales neurales hacia la zona medio ventral del hipotálamo con la consecuente liberación de GnRH. Esta última estimula la liberación de LH (9). La probabilidad de que ocurra ovulación esta directamente relacionada con la amplitud de la onda de LH, la que a su vez está asociada al número e intervalo entre las cópulas. Se ha informado que muchas cópulas en un breve período de tiempo se correlacionan con mayor probabilidad de ovulación (12). La onda de LH óptima se observa cuando se produce un máximo de apareamientos durante un período de 2 a 4 horas. Un estímulo coital adicional más allá de este período de tiempo puede no incrementar de manera significativa la onda de LH. Los valores de esta hormona van desde 10 ng/ml antes del apareamiento a más de 100 ng/ml después de la estimulación máxima (9).

Se ha observado que 35 % de las hembras felinas pueden presentar ovulación espontánea (11). Esto ocurre en aquellas colonias de gatos en que las hembras están confinadas en el mismo ambiente que los machos, a pesar de que no haya contacto físico ni visual. Esta observación se puede atribuir al efecto de las feromonas tal como en otras especies (5).

En ausencia de apareamiento u ovulación espontánea comienza la etapa llamada interestro, la cual es definida como la etapa que le sigue a un estro y precede al estro siguiente. La duración de este período varía de 8 a 10 días promedio (10). Mediante citología vaginal puede observarse un predominio de células intermedias, células superficiales en menor proporción y ocasionalmente pueden visualizarse neutrófilos. Las células intermedias son más pequeñas que las células superficiales, con contornos celulares regulares y núcleo redondo u oval, el cual puede estar picnótico (6).

Si ocurre ovulación pero los ovocitos no son fertilizados, los folículos se luteinizan y se forman cuerpos lúteos que secretan progesterona. La fase luteal es más corta que la gestación,

y se denomina pseudogestación (5). En esta etapa, la concentración de progesterona sérica llega a niveles de más de 20 ng/ml (13, 14). La vida media de los cuerpos lúteos es de 25 a 35 días y al final de esta fase un período breve de interestro precede al siguiente estro, siempre y cuando las gatas estén en etapa reproductiva (5). En consecuencia la duración del período de pseudogestación es aproximadamente de 40 días (13, 14). En esta fase la citología vaginal presenta las mismas características que la citología de interestro.

Tanto en caninos como en felinos la síntesis de progesterona por parte del cuerpo lúteo es necesaria durante toda la gestación, de esta manera las concentraciones séricas de esta hormona se mantienen estables en valores de 15 a 30 ng/ml, hasta aproximadamente el día 60, momento en que la concentración de progesterona disminuye abruptamente, coincidiendo con el día del parto (5). A diferencia de los cuerpos lúteos de la pseudogestación, los cuerpos lúteos de la gestación pueden mantenerse más allá de 25 días gracias a factores luteotróficos específicos como los de la pituitaria (5).

El anestro es el período caracterizado por la ausencia de ciclos estrales. Esta fase ocurre cuando disminuyen las horas luz con el consiguiente aumento de melatonina y prolactina (15). Las concentraciones séricas de melatonina y prolactina son sincrónicas, se elevan durante los períodos de oscuridad y disminuyen durante los períodos de gran intensidad lumínica (16). Por lo tanto, el anestro felino se caracteriza por niveles elevados de prolactina y melatonina, y niveles basales de estrógeno y progesterona (5). En esta etapa, la citología vaginal presenta contenido mucoso, predominio de células parabasales y una escasa cantidad de células intermedias y leucocitos (17). Las células parabasales se caracterizan por ser redondas, con bordes celulares regulares y poseer una relación núcleo citoplasma disminuida (6).

Estacionalidad reproductiva

Como puede observarse al estudiar el ciclo estral felino, la estacionalidad reproductiva de la gata doméstica está íntimamente relacionada con el fotoperíodo y la concentración de melatonina sérica. Esta última, es una hormona derivada de la serotonina y es sintetizada y secretada principalmente por la glándula pineal. La liberación de melatonina sigue un ritmo circadiano; es liberada en períodos de oscuridad, momento en que se sintetiza (18). Por el contrario, durante períodos de luz al estar inhibida la síntesis no hay secreción de melatonina (18). En el caso de la gata, al ser una especie fotoperíodo positivo, la secuencia de eventos que sigue a un cambio de estación es la siguiente: en verano las noches son cortas

y la duración de la secreción de melatonina es igualmente corta y por lo tanto la concentración de melatonina sérica es baja ($0,53 \pm 0,1$ ng/ml). Como consecuencia de esto, se producen pulsos de GnRH. La liberación pulsátil de GnRH provoca una liberación pulsátil de la gonadotropina hipofisiaria especialmente de la hormona luteinizante, la que produce en la hembra el comienzo del período reproductivo. Por el contrario en invierno, las noches son largas y la duración de la secreción de melatonina durante la noche es igualmente larga y por lo tanto la concentración de melatonina sérica es alta ($8,94 \pm 2,6$ ng/ml). Como consecuencia del cambio en la duración de la liberación de melatonina durante la noche desde el verano al invierno, en esta última estación no ocurren pulsos de GnRH y el eje gonadal hipofisiario está quiescente. De esta manera la melatonina regula el estado funcional de las gónadas y controla la capacidad reproductiva de un animal según la estación del año (19).

El completo conocimiento y comprensión de la fisiología reproductiva de la gata así como la función de las hormonas que participan en el ciclo reproductivo felino, son necesarios para realizar una adecuada prevención de los ciclos estrales. La observación de los signos clínicos conductuales y cambios en la imagen citológica vaginal presentes en las distintas fases del ciclo estral permiten caracterizar al mismo así como realizar una aproximación diagnóstica racional. Del mismo modo el conocimiento del mecanismo de acción y función de las hormonas hipofisiarias y gonadales, nos permitirá una mejor comprensión de las variaciones hormonales del ciclo estral felino así como de las posibilidades de manejo del mismo.

Control de la reproducción

En la actualidad el control de la reproducción en pequeños animales se puede lograr en forma permanente mediante técnicas quirúrgicas [ovariectomía (OV), ovariectomía (OVH), ligadura tubaria] o bien en forma temporal mediante administración de drogas anticonceptivas (20). La remoción quirúrgica de las gónadas mediante OV u OVH evita la ocurrencia de ciclos estrales, apareamiento, gestaciones indeseadas y comportamiento reproductivo. Si la OV u OVH se realiza antes del primer celo, disminuye significativamente la aparición de tumores mamarios. Si se realiza luego de que han ocurrido uno o más ciclos estrales la incidencia de las afecciones mamarias no varía, sin embargo la implementación de OVH hará posible reducir la incidencia de afecciones uterinas. La OVH y la OV evitan la modificación del comportamiento durante el ciclo estral lo cual puede complicar la relación dueño-mascota (21). Los efectos colaterales indeseables de este método anticonceptivo son infrecuentes e incluyen las

complicaciones directamente relacionadas con la cirugía (reacciones inflamatorias, adherencias, abscesos), el síndrome del ovario remanente y la obesidad. Si los animales son gonadectomizados antes de la pubertad ocurre retardo del cierre de núcleos de crecimiento. Aunque la incontinenia urinaria hipoestrogénica ha sido descrita como una complicación frecuente de la esterilización, su incidencia es baja en felinos (21).

Otra técnica quirúrgica poco utilizada es la ligadura de trompas, pero no controla la aparición de signos externos ni previene enfermedades del tracto reproductivo (22).

Para el control temporal de la reproducción en la hembra felina se han utilizado progestágenos, andrógenos, análogos de la de GnRH y métodos inmunológicos que todavía se encuentran en desarrollo. No obstante, no existe en la actualidad ningún protocolo seguro y reversible para prevenir la ciclicidad sexual en esta especie (20).

Los progestágenos son las drogas usadas más frecuentemente para prevenir o interrumpir el estro en las hembras felinas. El acetato de megestrol es el progestágeno que posee menos efectos colaterales (1). La prevención del estro se logra con la administración de 2,5 mg/gata vía oral una vez por semana o 5 mg/gata vía oral cada 2 semanas por varios meses (23). Para la interrupción del estro está indicado administrar 2,5 mg/gata por dos semanas. Si se suspende la medicación la gata entra en estro nuevamente pocos días o varias semanas después (23).

Acetato de medroxiprogesterona es otro progestágeno utilizado para suprimir el estro. Es efectivo a una dosis de 25 a 100 mg intramuscular (IM) cada 6 a 12 semanas (23). El acetato de megestrol tiene vida media más corta que el acetato de medroxiprogesterona lo cual se relaciona con una menor producción de efectos colaterales indeseables de la primera droga (20). Se han informado numerosos efectos colaterales asociados al uso de estas drogas, entre estos pueden mencionarse: hiperplasia endometrial quística, fibroadenomatosis mamaria y neoplasia mamaria (20). Así mismo hiperglucemia, glucosuria, poli-dipsia, y poliuria pueden ocurrir dentro de las dos semanas de administrado el acetato de megestrol (20). La administración de progesterona se asocia con la estimulación en la secreción de la hormona del crecimiento con signos resultantes de acromegalia y resistencia insulínica en gatas (1). Algunas hembras felinas tratadas con acetato de megestrol han desarrollado diabetes mellitus, que suele ser transitoria y se resuelve cuando se interrumpe la administración del fármaco. Sin embargo el estado diabético es permanente en algunos gatos (1). Se ha demostrado que los gatos que han recibido tratamiento con dosis frecuentes de acetato de megestrol padecen supresión adrenocortical pronunciada sin signos clínicos de

insuficiencia de glucocorticoides (24). A pesar de ser los progestágenos efectivos para la prevención o interrupción del estro no se recomienda su uso debido a sus numerosos efectos colaterales indeseables (25).

La clormadinona, es un progestágeno que ha sido administrado vía oral, vía subcutánea, vía intramuscular y en forma de implante subcutáneo. Se ha informado que una dosis de 2 mg totales, vía oral, 1 vez a la semana ha sido suficiente para prevenir la ocurrencia del estro por 10 a 14 meses sin ningún efecto indeseable, a excepción de aumento de peso solo durante el primer año de tratamiento (26). Sin embargo se demostró que a largo plazo, la administración de clormadinona, se relaciona con la aparición de neoformaciones mamarias, hiperplasia endometrial quística y piómetra (26). A fin de reducir los efectos colaterales indeseables y lograr protocolos seguros para uso clínico se han evaluado diferentes protocolos en los cuales se trabajó disminuyendo la dosis efectiva, alargando el intervalo entre administraciones, o combinando ambas acciones (26).

Deslorelina es un análogo de la GnRH. Actúa por disminución del número de receptores de GnRH en la pituitaria causando supresión de la liberación de la hormona FSH y LH. En todos los casos, el tratamiento en anestro provoca la inducción de proestro debido a la estimulación ovárica producida por la liberación inicial de FSH y LH por el efecto agonista (27). La administración conjunta con progestágenos durante los primeros días previene la aparición de este efecto estimulante inicial (28). El uso de un implante subcutáneo de 6 mg de deslorelina, suprimió la actividad ovárica en hembras felinas. No se han detectado efectos colaterales en las hembras tras su administración; sin embargo la duración de la supresión de ciclos estrales mostró una alta variabilidad individual. Por tal motivo el implante subcutáneo de deslorelina no representaría un método seguro para la prevención de ciclos estrales en la clínica reproductiva diaria (29).

Mibolerona es un esteroide androgénico anabólico, cuyo uso en la gata no ha sido autorizado, pero evita los ciclos estrales en un gran porcentaje de éstas. Ejerce retroalimentación negativa sobre la glándula pituitaria disminuyendo la secreción de hormonas gonadotróficas. Debe administrarse a una dosis de 50 mg vía oral, 1 vez por día, 30 días antes de la ocurrencia del próximo proestro, de lo contrario no suprimirá el próximo estro (20). Entre los efectos colaterales de este andrógeno se ha informado que puede ocasionar agrandamiento del clítoris, y cambios en el comportamiento de la hembra. Se ha prohibido el uso de la mibolerona en gatos debido a su potencial hepatotoxicidad y tirotoxicosis (30).

Se han estudiado métodos inmunológicos

para prevenir gestaciones no deseadas utilizando vacunas para generar anticuerpos contra la zona pelúcida del ovocito (ZP). La ZP es una matriz extracelular de glicoproteínas secretados por los ovocitos durante la foliculogénesis, es importante en la diferenciación de las células foliculares y regula la adhesión y penetración de los espermatozoides (31). Estas glicoproteínas presentan reacción cruzada entre especies (31). Es esperable que tras la aplicación de las vacunas mencionadas anteriormente desarrollen altos títulos de anticuerpos en las hembras felinas, y que estos anticuerpos cubran la superficie de la ZP de los ovocitos ovulados previniendo la fertilización de los mismos por los espermatozoides (20). Spay Vac es una vacuna que incorporó antígenos porcinos de ZP, cuya particularidad es inducir infertilidad por largo tiempo tras una sola aplicación (32). Se han realizado pruebas de campo en ciervos y en focas con buenos resultados. En gatas lo resultados obtenidos no fueron alentadores; a pesar de la presencia prolongada de anticuerpos y alto título de los mismos en sangre, las gatas quedaron preñadas. Estudios inmunohistoquímicos indicaron que los anticuerpos producidos por las gatas tratadas con pZP reconocieron pZP, pero no la zona pelúcida felina fZP. Además estudios previos demostraron que pZP no tenían reacción cruzada con fZP. Se experimentó entonces con animales diferentes al porcino para formular una vacuna anticonceptiva para felinos, entre ellos hurones feZP, perros cZP, ratones mZP y felinos mismos fZP. Los resultados mostraron que estas vacunas, inclusive la formulada a partir de antígenos fZP, producían reacciones inmunogénicas en las hembras felinas, pero los anticuerpos ZP fracasaban en unirse a fZP, por lo que no impedían la fertilidad (32).

Conclusiones

El conocimiento de las diversas hormonas que participan en la reproducción así como las características peculiares del ciclo reproductivo felino son de suma utilidad en la práctica diaria para realizar un adecuado manejo del ciclo estral. Sin embargo, solo algunos investigadores se han abocado al estudio del ciclo estral felino así como de las hormonas que participan en el mismo. En la última década poco ha avanzado el conocimiento en la prevención de ciclos estrales mediante protocolos terapéuticos con escasos efectos colaterales.

Los métodos anticonceptivos hasta ahora utilizados en la práctica veterinaria producen efectos colaterales indeseables, entre ellos problemas reproductivos, patologías endocrinológicas y cambios de comportamiento. Si bien la OV u OVH son métodos cuyos efectos indeseables son de baja incidencia, tienen la desventaja de prevenir la ocurrencia de ciclos estrales de manera irrever-

sible. Sin embargo estudios realizados muestran que sería posible implementar protocolos, para el control de la reproducción en felinos, que posean escasos efectos colaterales indeseables. Algunos de estos protocolos incluirían métodos inmunológicos e implantes subcutáneos de deslorelina aunque se encuentran aún en investigación.

Bibliografía

1. Feldman CE, Nelson RW. Reproducción de gatos. In: Feldman CE, Nelson RW, editores. Endocrinología y reproducción en perros y gatos. Segunda edición. México: Mc Graw-Hill Interamericana; 2000. p.806-36.
2. Wildt DE, Guthrie SC, Seager SWJ. Ovarian and cyclicity of the laboratory maintained cat. *Horm Behav* 1978; 10:251-257.
3. Robledo MAM, Carneiro MP, Raratella-Evêncio L, Evêncio-Neto J. Avaliação do fotoperíodo na indução do estro em gatas domésticas. *Rev Bras Reprod Anim* 2003; 27(2): 274-75.
4. Leyva H, Madley T, Stabenfeldt GH. Effect of light manipulation on ovarian activity and melatonin and prolactin secretion in the domestic cat. *J Reprod Fertil Suppl* 1989; 39:125-133.
5. Verstegen JP. Physiology and Endocrinology of Reproduction in female cats. In: Simpson GM, England GCW, Harvey M, editores. Manual of small animal reproduction and neonatology. First edition. United Kindom: British Small Animal Veterinary Association ; 1998. p.11-16.
6. Esteve Prats A. Frottis vaginaux chez la chatte. In : Dumon C, Fontobonne A, editores. Les indispensables de L'animal de compagnie. First edition. Paris : P.M.C.A.C.; 1992. p.59-65.
7. Tsutsui T, Nakagawa K, Hirano T, Nagakubo K, Shinomiya M, Yamamoto K, Hori T. Breeding season in female cats acclimated under a natural photoperiod and interval until puberty. *J Vet Med Sci* 2004; 66:1129-1132.
8. Povey RC. Reproduction in the pedigree female cat. A survey of breeders. *Can Vet J* 1978; 19:207-213.
9. Verstegen J. Reproducción felina. In: Ettinger SJ, Feldman EC, editores. Tratado de medicina interna veterinaria. Quinta edición. Buenos Aires: Inter-Médica; 2002. p.1764-1780.
10. Jhonston SD, Kustritz MVR, Olson PNS. The feline estrous cycle. In: Jhonston SD, Kustritz MVR, Olson PNS, editores. Canine and feline theriogenology. First edition. Philadelphia: W.B. Saunders Company; 2001. p.396-405.
11. Jhonson CA. Anormalidades del ciclo estral. In: Nelson RW, Coutto GC, editores. Medicina interna de animales pequeños. Segunda edición. Buenos Aires: Inter.-Médica; 2000.p.891-917.
12. Wildt DE, Seager SW, Chakraborty PK. Effect of copulatory stimuli on incidence of ovulation and on serum luteinizing hormone in the cat. *Endocrinology* 1980; 107:1212-1217.
13. Wildt DE, Chan SY, Seager SW, Chakraborty PK. Ovarian activity, circulating hormones, and sexual

- behavior in the cat. I. Relationships during the coitus-induced luteal phase and the estrous period without mating. *Biol Reprod* 1981; 25:15-28.
14. Schmidt PM, Chakraborty PK, Wildt DE. Ovarian activity, circulating hormones and sexual behavior in the cat. II. Relationships during pregnancy, parturition, lactation and the postpartum estrus *Biol Reprod* 1983; 28:657-671.
15. Banks DR, Stabenfeldt GH. Prolactin in the cat: II Diurnal patterns and photoperiod effects. *Biol Reprod* 1983; 28:933-939.
16. Leyva H, Addiego L, Stabenfeldt G. The effect of different photoperiods on plasma concentrations of melatonin, prolactin, and cortisol in the domestic cat. *Endocrinology* 1984; 115:1729-1736.
17. Colby ED. The estrous cycle and pregnancy. In: Morrow DA, editor. *Current therapy in theriogenology*. First edition. Philadelphia: W.B. Saunders Co; 1980. p. 832-839..
18. Scheer FA, Czeisler CA. Melatonin, sleep, and circadian rhythms. *Sleep Med Rev* 2005; 9:5-9..
19. Vieytes MR. La glándula pineal. In: García Sacristán A, editor. *Fisiología veterinaria*. Primera edición. Nueva York: Interamericana McGraw-Hill; 1995. p.696-706.
20. Johnston SD, Kustritz MVR, Olson PNS. Prevention and termination of feline pregnancy. In: Johnston SD, Kustritz MVR, Olson PNS, editores. *Canine and feline theriogenology*. First edition. Philadelphia: W.B. Saunders Company; 2001. p.447-452.
21. Verstegen, J. Contracepción y terminación de la gestación. En: Ettinger SJ, Feldman EC, editores. *Tratado de Medicina Interna Veterinaria*. Quinta edición. Buenos Aires: Inter-Médica; 2002. p.1716-23.
22. Wildt DE, Lawler DF. Laparoscopic sterilization of the bitch and queen by uterine horn occlusion. *Am J Vet Res* 1985; 46: 864-869.
23. Verstegen JP. Pharmacological control of Reproduction in the cat. In: Simpson GM, England GCW, Harvey M, editores. *Manual of small animal reproduction and neonatology*. First edition. United Kindom : British Small Animal Veterinary Association ; 1998. p.219-226.
24. Chastain C. Adrenocortical suppression in cats given megestrol acetate. *Am J Vet Res* 1981; 42:20-29.
25. Romantowsky J. Use of megestrol acetate in cats. *JAVMA* 1989; 194:700.
26. Tamada H, Kawate N, Inaba T, Sawada T. Long-term prevention of estrus in the bitch and queen using chlormadinone acetate. *Can Vet J* 2003; 44:416-417.
27. Munson L, Bauman JE, Asa CS, Jochle W, Trigg TE. Efficacy of the GnRH analogue deslorelin for suppression of oestrus cycles in cats. *J Reprod Fertil Suppl* 2001; 57:269-273.
28. Wright PJ, Verstegen JP, Onclin K, Jochle WJ, Armour AF, Martin GB, Trigg TE. The suppression by progestin of oestrus responses of the bitch to the GnRH analogue deslorelin. *J Rprod Fertil* 2001; 57:263-268.
29. Munson L, Bauman JE, Asa CS, Jochle W, Trigg TE. Efficacy of the GnRH analogue deslorelin for suppression of oestrus cycles in cats. *J Reprod Fertil Suppl* 2001; 57:269-273.
30. Shille VM, Sojka NJ. Feline reproduction. In: Ettinger SJ, Feldman EC, editores. *Textbook of Veterinary Internal Medicine*. Forth edition. Philadelphia: WB Saunders Co; 1995. p.1690.
31. Dunbar BS, Schwoebel E. Fertility studies for the benefit of animals and human beings: Development of improved sterilization and contraceptive methods. *J Am Vet Med Assoc* 1988; 193:1165-1170.
32. Levy JK, Mansour M, Crawford PC, Pohajdak B, Brown RG. Survey of zona pellucida antigens for immunocontraception of cats. *Theriogenology*. 2005; 63:1334-1341.