

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y
ZOOTECNIA
ESCUELA DE MEDICINA VETERINARIA

DIAGNÓSTICO DEL ESTRO POR MEDIO DE CITOLOGÍA
VAGINAL EN PERRAS



WILMER SERVANDO ESCOBEDO HERRERA

GUATEMALA NOVIEMBRE DEL 2008

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y
ZOOTECNIA
ESCUELA DE MEDICINA VETERINARIA

DIAGNÓSTICO DEL ESTRO POR MEDIO DE CITOLOGÍA
VAGINAL EN PERRAS

TESIS

PRESENTADA A LA JUNTA DIRECTIVA DE LA FACULTAD DE
MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA DE LA UNIVERSIDAD DE
SAN CARLOS DE GUATEMALA

POR

WILMER SERVANDO ESCOBEDO HERRERA

AL CONFERIRSELE EL GRADO ACADÉMICO DE

MÉDICO VETERINARIO

GUATEMALA NOVIEMBRE DEL 2008

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y
ZOOTECNIA
JUNTA DIRECTIVA

DECANO: Lic. Zoot. Marco Vinicio de la Rosa Montepeque.
SECRETARIO: Med. Vet. Marco Vinicio García Urbina.
VOCAL I: Med. Vet. Yeri Edgardo Véliz Porras.
VOCAL II: Mag. Sc. M.V. Fredy Rolando González Guerrero.
VOCAL III: Med. Vet. Mario Antonio Motta González.
VOCAL IV: Br. David Granados Dieseldorff.
VOCAL V: Br. Luis Guillermo Guerra Bone.

ASESORES

Dra. M.V. GRIZELDA ARIZANDIETA DE GARCÍA

Dra. M.V. LIGIA GONZÁLEZ

Dr. ORLANDO ARIZANDIETA

HONORABLE TRIBUNAL EXAMINADOR

En cumplimiento a lo establecido por los Estatutos de la Universidad de San Carlos de Guatemala, presento a consideración de ustedes el trabajo titulado:

“DIAGNÓSTICO DEL ESTRO POR CITOLOGÍA VAGINAL EN PERRAS”

Que fuera aprobado por junta directiva de la Facultad de Medicina Veterinaria
y Zootecnia

Como requisito previo a optar al título profesional de

MÉDICO VETERINARIO

DEDICATORIA

A DIOS:

Por permitirme dar un paso más en mi vida.

A LA VÍRGEN DE CANDELARIA:

Por protegerme con su manto sagrado.

A MIS PADRES:

Servando Escobedo.

Angélica Herrera de Escobedo.

Por darme la vida y todo el apoyo incondicional.

A MIS HERMANAS:

Erika Rossina Escobedo Herrera.

Saide Kenelma Escobedo Herrera.

Por los consejos y ayuda a lo largo de mi carrera.

A MIS SOBRINOS:

Jheancarlos Emmanuel Villatoro Escobedo.

Edvin Josué David Villatoro Escobedo.

Jonathan Carlos Estuardo Rodas Escobedo.

A MIS CATEDRÁTICOS:

Una gratitud eterna por compartir sus sabios conocimientos.

AGRADECIMIENTO

A:

Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia.

A:

Hospital de Veterinaria, en especial al área del Laboratorio Clínico.

A:

Mis asesores de tesis:

Dra. Grizelda Arizandieta de García.

Dra. Ligia González.

Dr. Orlando Arizandieta.

A:

Mi revisora de tesis:

Dra. Andrea Portillo.

A:

Amigos y estudiantes de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia que colaboraron con la elaboración de esta tesis.

A:

Personal profesional que colaboró a la realización de esta tesis:

Dr. Carlos Alfaro

Dr. Gustavo Taracena

Dr. Federico Villatoro.

Citohistotecnóloga Vilma Ramírez Cervantes.

A:

Criadero canino “Casta Alta” por su colaboración, especialmente al Dr. German Castañeda.

A:

Laboratorio Clínico de Diagnóstico Patológico ARIOLAB
Dr. Orlando Arizandieta.

A:

Personas y amigos que me brindaron su apoyo, especialmente a:
Orbil Morales, Antonio Rios, Otto Rios, Mercedes López de Rios,
Leonel Herrera, Patrocinia Herrera.

A:

Mis amigos que estuvieron en mi vida estudiantil, compartiendo momentos inolvidables y gratas experiencias, en especial a: Marlen Álvarez, Silvia Mejicanos, Ángel Velásquez, Karina Gutiérrez, Vilma Cruz, Ingrid Marroquín, Ronny Hernández, Roni Espino, Luz García, Sulma del Valle, Damaris Menchu, Caroll Cartagena, Daniel Chajon, Debora Jerez, Vilma Calderón, Javier Motta, Antonio Motta, Marta Iglesias, Carlos del Valle, Josué del Valle, Emerson del Valle, Víctor Velásquez, José Maria Velásquez, Jorge Iutín, Jorge Mansilla, Lorena Monroy, Wendy Burgos, Primor Arriola, y otros amigos y compañeros que me brindaron su amistad.

ÍNDICE

I.	INTRODUCCIÓN	1
II.	HIPÒTESIS	3
III.	OBJETIVOS	4
3.1	Objetivo general	4
3.2	Objetivos específicos	4
IV.	REVISIÓN DE LITERATURA	5
4.1	Anatomía del aparato reproductor de la hembra canina	5
4.1.1	Ovarios	5
4.1.2	Oviductos o trompas de Falopio	7
4.1.2.1	Infundíbulo	7
4.1.2.2	Ampolla	8
4.1.2.3	Istmo	8
4.1.3	Útero	8
4.1.3.1	Cambios del útero de la perra durante las etapas del ciclo estral	9
4.1.3.1.1	Prepubertad	9
4.1.3.1.2	Proestro	9
4.1.3.1.3	Estro	9
4.1.3.1.4	Metaestro	9
4.1.3.1.5	Anestro	9
4.1.3.2	Estructura histológica del útero	10
4.1.3.2.1	Endometrio	10
4.1.3.2.2	Miometrio	11
4.1.3.2.3	Perimetrio	11
4.1.3.3	Cuello del útero	11
4.1.4	Vagina	12
4.1.4.1	Estructura histológica de la vagina	13

4.1.4.1.1	La mucosa vaginal	13
4.1.4.1.2	La túnica muscular	13
4.1.4.1.3	La túnica adventicia	13
4.1.5	Vestíbulo	13
4.1.6	Vulva	14
4.2	Ciclo estral	15
4.2.1	Pubertad	15
4.2.2	El celo	16
4.3	Fases del ciclo estral	17
4.3.1	Proestro	17
4.3.1.1	Características clínicas y de comportamiento	17
4.3.1.2	Duración del proestro	18
4.3.1.3	Características anatómicas y hormonales	18
4.3.1.4	Cambios hormonales	19
4.3.2	Estro	20
4.3.2.1	Características clínicas y de comportamiento	20
4.3.2.2	Duración del estro	20
4.3.2.3	Características anatómicas y hormonales	20
4.3.2.4	Cambios hormonales	22
4.3.3	Diestro	23
4.3.3.1	Características clínicas y de comportamiento	23
4.3.3.2	Duración del diestro	23
4.3.3.3	Características anatómicas y hormonales	23
4.3.3.4	Cambios hormonales	24
4.3.3.5	Sucesos que pueden pasar en el diestro	24
4.3.3.5.1	Que no se cruce y no quede gestante	24
4.3.3.5.2	Que se cruce y quede preñada	24
4.3.3.5.3	Que se cruce o no y tenga una gestación psicológica	25
4.3.4	Anestro	25

4.3.4.1	Características clínicas y de comportamiento	25
4.3.4.2	Duración del anestro	26
4.3.4.3	Características anatómicas y hormonales	26
4.3.4.4	Cambios hormonales	26
4.4	Modificaciones de los órganos genitales	26
4.5	Número del estro por año en algunas razas	28
4.6	Intervalo del estro en meses en algunas razas	28
4.7	Citología vaginal en la perra	29
4.7.1	Aplicaciones clínicas de la citología vaginal	30
4.7.1.1	Asesoramiento con respecto al momento de los servicio	30
4.7.1.2	Identificación de estros silentes	31
4.7.1.3	Ayuda en el diagnóstico de estro prolongado	31
4.7.1.4	Retención de feto no viable	31
4.7.1.5	Puesta en evidencia de la administración exógena de estrógenos	31
4.7.1.6	Ayuda en el diagnóstico del estro fragmentado	31
4.7.1.7	Diagnóstico de procesos infecciosos vaginales o uterinos	32
4.7.1.8	Diagnósticos de neoplasias genito-urinarias	32
4.7.1.9	Determinación de la ocurrencia de servicio	32
4.7.1.10	Determinación del momento de aplicación de estrógenos como inhibidores de la implantación	32
4.7.1.11	Determinación del momento de iniciación del tratamiento con progestágenos a fin de interrumpir los ciclos estrales	33
4.7.1.12	Aproximación diagnóstica de procesos traumáticos vaginales	33
4.7.1.13	Ayuda en el diagnóstico de la subinvolución de sitios de inserción placentaria	33
4.7.1.14	Determinación de la fecha de parto	33
4.7.1.15	Ayuda en el diagnóstico del edema (hiperplasia) vaginal del proestro	33
4.7.1.16	Ayuda en el diagnóstico del síndrome del ovario remanente	34

4.7.2	Fundamento, base endocrinológica e histológica de la citología vaginal	34
4.7.3	Obtención de la muestra	36
4.7.3.1	Materiales a emplear	36
4.7.3.2	Procedimiento	37
4.7.4	Clasificación celular de los frotis vaginales	38
4.7.4.1	Células basales	38
4.7.4.2	Células parabasales	38
4.7.4.3	Células intermedias	39
4.7.4.4	Células superficiales nucleadas	39
4.7.4.5	Células superficiales anucleadas	40
4.7.5	Otro tipos celulares del epitelio vaginal de la hembra canina con ciclo estral normal	40
4.7.5.1	Células metaestrales	40
4.7.5.2	Células espumosas	40
4.7.5.3	Células epiteliales conteniendo melanina	41
4.7.5.4	Células de la fosa del clítoris	41
4.7.6	Interpretación de los cambios celulares en las diferentes etapas del ciclo estral de perras	41
4.7.6.1	Proestro	41
4.7.6.2	Estro	42
4.7.6.3	Diestro	42
4.7.6.4	Anestro	43
4.7.7	Tinciones utilizadas en la citología vaginal canina	43
4.7.7.1	Nuevo azul de metileno	44
4.7.7.2	Azul de metileno	44
4.7.7.3	Wright	44
4.7.7.4	May grünwald-giemsa	44
4.7.7.5	Tinción-15 Biopur	44
4.7.7.6	Técnica de Harris Schorr	44
4.7.7.7	Diff-Quik	44

4.7.7.8	Giemsa	46
4.7.7.9	Papanicolau	46
V.	MATERIALES Y MÉTODOS	47
5.1	Materiales	47
5.1.1	Recursos humanos	47
5.1.2	De laboratorio	47
5.1.3	De tipo biológico	47
5.2.	Métodos	48
5.2.1	Metodología de campo	48
5.2.1.1	Descripción de la muestra	48
5.2.1.2	Obtención de la muestra	48
5.2.1.3	Procedimiento de prueba de campo	48
5.2.2	Metodología de laboratorio	49
5.2.2.1	Tinción de Giemsa	49
5.2.2.2	Tinción de Papanicolau	49
5.2.3	Método estadístico	50
5.2.3.1	Diseño del estudio	50
5.2.3.2	Análisis estadístico	50
VI.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	51
VII.	CONCLUSIONES	53
VIII.	RECOMENDACIONES	54
IX.	RESUMEN	56
X.	BIBLIOGRAFÍAS	57
XI.	ANEXOS	61

I. INTRODUCCIÓN

En la actualidad la especie canina está tomando mayor interés, no solo como mascota de compañía, sino también como actividad económica en la reproducción de razas puras, por lo cual el Médico Veterinario debe estar a la vanguardia en diversos temas de reproducción animal, con el fin de prestar un servicio profesional.

En la práctica clínica veterinaria es importante el estudio de los diferentes estadios del ciclo estral en la perra para determinar la fase óptima de la fertilización. Los cambios hormonales que presenta la vagina durante el ciclo, se reflejan en la morfología de sus células epiteliales, con lo cual define la maduración del folículo, ovulación y formación del cuerpo amarillo, teniendo en cuenta que estos cambios forman parte de un proceso dinámico y variable en cada hembra.

Son diversos los estudios y métodos que se presentan para la determinación del ciclo estral en la especie canina, siendo así, que en nuestro medio el diagnóstico del estro en perras, regularmente se basa en la detección de signos clínicos propios de este período, que son de carácter subjetivo y cuando se realiza citología exfoliativa se utiliza generalmente colorantes derivados del azul de metileno y ocasionalmente visión del frote en fresco.

La presente investigación se realizó en perras con signos clínicos subjetivos de celo, utilizando citología exfoliativa vaginal, verificando en forma porcentual el índice de maduración celular y comparando la coloración de Giemsa con la de Papanicolau para proporcionar una mejor correlación clínico-citológica en

el diagnóstico del estro, con el fin de añadir datos objetivos, para aumentar la sensibilidad en la determinación del período óptimo de la fecundación y reproducción de la especie, fortaleciendo de ésta forma el diagnóstico clínico reproductivo en nuestro medio.

II. HIPÓTESIS

No existe diferencia en el diagnóstico del estro por citología vaginal mediante las coloraciones de Giemsa y Papanicolau.

III. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GENERAL:

Contribuir con la Medicina Veterinaria de especies menores, al utilizar la citología vaginal como diagnóstico del estro en perras.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

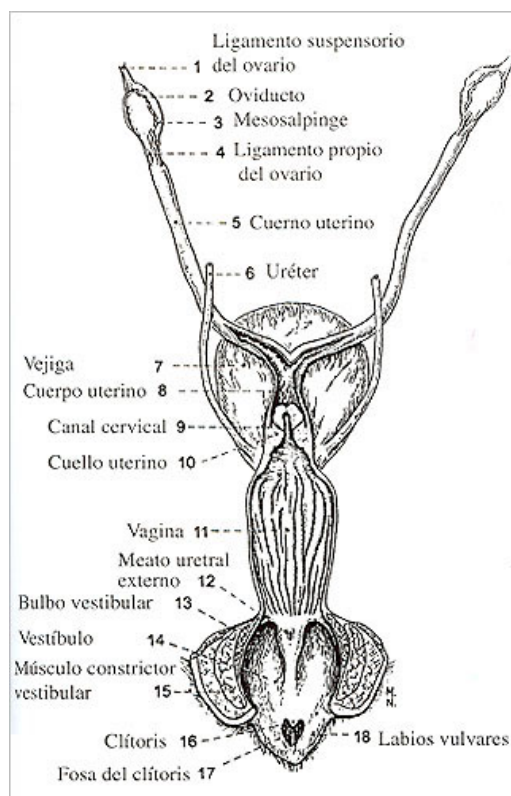
- Determinar la presencia del estro por citología vaginal en perras.
- Determinar si existe diferencia significativa entre el diagnóstico citológico por medio de la coloración de Giemsa y la coloración de Papanicolau para la detección del estro en perras.

V. REVISIÓN DE LITERATURA

4.1 ANATOMÍA DEL APARATO REPRODUCTOR DE LA HEMBRA CANINA

El aparato reproductor de la perra, está formado por las siguientes estructuras: las gónadas, representadas por los ovarios; los oviductos o trompas de Falopio, cuya función es captar los ovocitos al momento de la ovulación y transportarlos al útero. El útero es el órgano donde se produce la nidación de los óvulos y la posterior gestación de ellos y se encuentra dividido en cuernos, cuerpo y cuello, la vagina que es el conducto de la copulación y el canal del parto y finalmente la vulva, que es común al sistema urinario y reproductor (31).

El aparato reproductor está situado en la cavidad abdominal y pelviana. Los órganos alojados en la primera de estas cavidades están envueltos con el peritoneo que envía una doble lámina desde la región sublumbar para cubrir y fijar los órganos. Por esta doble hoja mesentérica, denominada ligamento ancho del útero, discurren los vasos y los nervios correspondientes a los referidos órganos (30).



Vista dorsal.

Imagen tomada de: <http://www.tecnovet.uchile.cl>

4.1.1. OVARIOS

Los ovarios son pequeños, aplanados y de contorno oval elongado. Se encuentran localizados a una corta distancia del polo caudal del riñón correspondiente, a nivel de las vértebras lumbares 3ra o 4ta, aproximadamente a la mitad de la distancia entre la última

costilla y la cresta ilíaca; siendo el ovario derecho más craneal que el izquierdo. Cada ovario está encerrado en un delgado saco peritoneal, la bolsa ovárica, formada por el mesoovario y la mesosalpinge, abierta ventralmente a la cavidad peritoneal por medio de una hendidura (31, 35,19).

Se hallan unidos por el ligamento propio del ovario al útero y por el ligamento suspensorio del ovario a la última costilla. Su tamaño varía según la raza, y el aspecto de su superficie cambia según el estado del ciclo estral en que se encuentre la hembra (35, 19, 3).

El ovario izquierdo está situado un poco más caudal que su homólogo derecho. El ovario derecho se encuentra dorsolateralmente al colon ascendente y el izquierdo se encuentra ante el extremo dorsal del bazo y el colon descendente (19).

En los ovarios se producen los óvulos, que pasan al oviducto tras la eclosión folicular, donde son fecundados. Están cubiertos por epitelio germinativo, de forma que la ovulación puede producirse en cualquier parte de su superficie. Raras veces son iguales los ovarios, en general, es mayor el derecho que el izquierdo (3, 30).

La parte craneal del sistema reproductor femenino es difícil de visualizar por que es de tamaño pequeño, lo cual oculta en gran medida la presencia y localización del ovario (1, 19).

La bolsa ovárica es un espacio de peritoneo que contiene el ovario. Una pequeña hendidura en la cara medial de la bolsa la conecta con la cavidad peritoneal (1, 3).

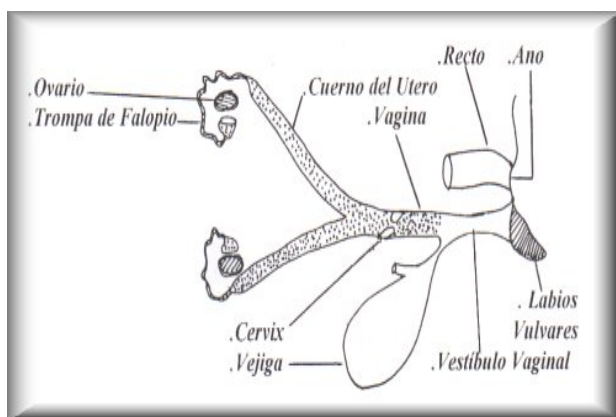
La corteza es una ancha zona periférica que contiene los folículos y los cuerpos lúteos, cubierta por un epitelio de superficie de tipo cuboidal bajo. El estroma cortical está compuesto por un tejido conjuntivo laxo. La túnica albugínea es una gruesa capa de tejido conjuntivo situada inmediatamente por debajo del epitelio de superficie e interrumpida por el crecimiento de los folículos ováricos y los cuerpos lúteos, siendo apenas visible durante los incrementos en la actividad ovárica (15)

La médula es el área interior en la que están contenidos los nervios, un gran número de vasos sanguíneos grandes y los vasos linfáticos (15).

4.1.2. OVIDUCTOS O TROMPAS DE FALOPIO

Son estructuras bilaterales y tortuosas que se extienden desde la región del ovario hasta los cuernos uterinos y conducen a los ovocitos, los espermatozoides y los cigotos. En la trompa uterina se pueden distinguir tres segmentos: el infundíbulo que es una porción en forma de embudo, la ampolla, una porción de pared delgada que se extiende caudalmente al infundíbulo y el istmo, un segmento muscular estrecho que se une al útero (15, 35, 3).

Las trompas son cortas (4-7cm. de longitud), delgadas y presentan un orificio abdominal grande, al contrario del orificio uterino que es muy pequeño. Normalmente dentro de



ellas se produce la fertilización de los ovocitos. Su mucosa ostenta multitud de pliegues en la porción superior para prolongar, sin duda, el paso del ovocito por ese laberinto durante un tiempo prudencial (30, 31).

Imagen tomada de: <http://www.tecnovet.uchile.cl>

4.1.2.1. INFUNDÍBULO: recoge los ovocitos que son expulsados del ovario. Se halla rodeado por la bolsa ovárica. Tiene unas proyecciones digitiformes llamadas fimbrias, que son extremadamente pequeñas y se localizan en el extremo libre del infundíbulo. Éstas hacen protrusion parcial desde la bolsa hacia la cavidad peritoneal (1, 15).

En el momento de la ovulación, los vasos sanguíneos de las fimbrias están repletos y las fimbrias turgentes se mueven por encima de la superficie del ovario como resultado de contracciones rítmicas de las células musculares lisas. Al mismo tiempo, los cilios de las células epiteliales infundibulares transportan el ovocito hacia la ampolla (15).

4.1.2.2. AMPOLLA: es lugar de la fecundación. En la ampolla la fuerza principal que empuja al huevo hacia el istmo es la actividad ciliar, pero en algunas especies también interviene la contractilidad muscular (15).

4.1.2.3. ISTMO: la fuerza principal que empuja al cigoto hacia el útero es la contractibilidad muscular, con cierta actividad ciliar implicada en algunas especies. En la fase folicular, la direccionalidad de las contracciones antiperistálticas tienden a mover los contenidos luminales hacia la ampolla, mientras que en la fase lútea las contracciones segmentales mueven gradualmente el cigoto hacia el útero. El cigoto necesita de 4 a 5 días para atravesar el istmo. Este período de tiempo no depende de la longitud del istmo o del tiempo de gestación de las diferentes especies (15).

4.1.3. ÚTERO

Es de forma tubular, bicorne y se comunica con el exterior a través de un cervix único y la vagina. Está situado fundamentalmente en una posición dorsal al intestino delgado, el cuerpo mide de 2 a 3 centímetros, a partir del cual divergen dos cuernos largos y más delgados con una medida aproximada de 10 a 14 centímetros de longitud. El cuello mide de 1.5 a 2 centímetros, siendo ésta la porción más caudal de útero (12, 19, 31, 35).

El útero tiene forma de Y. El cuerpo se conecta caudalmente con el cuello del útero y los extremos de los cuernos se comunican con las trompas de Falopio cranealmente (3).

La longitud y el ancho del útero dependen de cambios tanto patológicos como fisiológicos, los cambios normales en el útero no gestante son regulados por las hormonas

circulantes. Los ligamentos anchos suspenden al útero de la región sub-lumbar; el ligamento intercornual une a ambos cuernos cerca del cuerpo del útero (3, 35).

La función del útero es transporte de los óvulos y espermatozoides; alojamiento y nidación de los huevos o cigotos y portador de la gestación (35).

4.1.3.1. CAMBIOS DEL ÚTERO DE LA PERRA DURANTE LAS ETAPAS DEL CICLO ESTRAL

4.1.3.1.1. PREPUBERTAD: La luz uterina tiene forma de X en sección transversa y las glándulas del endometrio son simples.

4.1.3.1.2. PROESTRO: el endometrio aparece más grueso y más edematoso. Las glándulas del endometrio son más tortuosas, y se produce extravasación de eritrocitos hacia la luz (3).

4.1.3.1.3. ESTRO: endometrio con menos edema. Las glándulas son más numerosas y tortuosas. Prosigue la extravasación de eritrocitos (3).

4.1.3.1.4. DIESTRO: el útero presenta un aspecto retorcido, continúa la proliferación glandular hasta el día 30. Hacia el final del diestro la capa glandular es más simple aunque suele contener dilataciones quísticas; el útero ya no aparece retorcido; aparecen leucocitos en la mucosa y en la luz se descubre tejido epitelial necrosante (3).

4.1.3.1.5. ANESTRO: el útero es similar al útero en etapa de prepubertad, aunque no tan pequeño (3).

La mucosa uterina es gruesa y posee un epitelio prismático relativamente alto. Tiene muchas glándulas tubulosas que la conservan húmeda y que son de gran importancia para alojar al embrión (3).

El estrato muscular del útero es muy potente, pues le incumbe la misión de contener al feto y de expulsarlo después en el momento del parto. Sus fibras

circulares son muy gruesas, especialmente en el cuello del útero, donde existen además numerosas fibras elásticas. El cuello del útero se encuentra cerrado normalmente y abierto en el período de celo o cuando se va a producir el parto (30).

4.1.3.2 ESTRUCTURA HISTOLÓGICA DEL ÚTERO

Las envolturas del útero experimentan una definida sucesión de cambios durante el estro y los ciclos reproductivos.

La pared uterina consta de tres capas:

1. la mucosa – submucosa o endometrio
2. la muscular o miometrio
3. la serosa o perimetrio (15).

4.1.3.2.1. ENDOMETRIO

Se compone de dos zonas que difieren tanto en estructura como en función:

1 La capa superficial, o zona funcional, que degenera total o parcialmente durante un ciclo reproductor, estral o menstrual y puede ser perdida por algunas especies.

2 La capa profunda o zona basal, es delgada y persiste durante todo el ciclo. Cuando se pierde la zona funcional, se regenera a partir de esta capa (15).

La altura y la estructura de las células epiteliales están relacionadas con la secreción de hormonas ováricas a lo largo del ciclo. La capa superficial del subepitelio de la zona funcional consta de un tejido conjuntivo laxo altamente vascularizado con muchos fibroblastos, macrófagos y mastocitos. Los

neutrófilos, eosinófilos, linfocitos y células plasmáticas entran desde la corriente sanguínea. La capa profunda de la zona funcional consta de tejido conjuntivo laxo que es menos celular que el de la capa superficial (15).

En el endometrio de la mayoría de las especies, tanto en la zona basal como en la funcional, se localizan glándulas tubulares ramificadas arrolladas, recubiertas por un epitelio cilíndrico simple tanto ciliado como no ciliado. Los altos niveles de estrógenos estimulan el crecimiento y las ramificaciones de las glándulas pero el arrollamiento y la producción de una copiosa secreción no ocurre generalmente hasta que existe un estímulo mediado por la progesterona (15).

4.1.3.2.2. MIOMETRIO

Consta de una gruesa capa interna que es mayoritariamente circular y una capa longitudinal externa de células musculares lisas que aumentan en número y tamaño durante la gestación. Entre las dos capas, o profundamente en la capa interna, hay una capa vascular que consta de grandes arterias, venas y vasos linfáticos. Estos vasos irrigan el endometrio (15).

4.1.3.2.3. PERIMETRIO

El perimetrio, o túnica serosa, consta de tejido conjuntivo laxo recubierto de mesotelio peritoneal. En el perimetrio se pueden observar células musculares lisas, numerosos vasos sanguíneos y linfáticos y fibras nerviosas. Tanto el perimetrio, como la capa longitudinal de miometrio y la capa vascular del miometrio se continúan con las estructuras correspondientes del ligamento ancho del útero (15).

4.1.3.3 CUELLO DEL ÚTERO

Es un órgano corto, de gruesas paredes, con una luz estrecha que conecta la vagina con el útero, se abre dorsalmente sobre la vagina craneal.

El canal cervical aparece abierto durante el final del proestro, estro, parto y período post partum; en otros momentos suele estar cerrado (3).

4.1.4. VAGINA

Dirigida cranealmente desde la unión vestíbulo–vaginal hasta el cuello uterino, más o menos a la altura de la cuarta o quinta vértebra lumbar. Es un conducto potencial recubierto por un epitelio estratificado que es influenciado por cambios hormonales. Este conducto se estrecha cranealmente debido a un pliegue longitudinal dorsomedial de la mucosa; el extremo caudal de este pliegue suele confundirse con el cuello del útero (3).

La vagina es un órgano cilíndrico, musculoso, provisto de una mucosa tegumentaria, ausente de glándulas. La musculatura de su parte posterior es estriada. Entre la vagina y su vestíbulo baja un pliegue mucoso desde la pared superior, llamado himen (30).

La vagina es larga y de longitud muy variable, dependiendo de la raza, (10–14 centímetros) se extiende horizontalmente por el interior de la pelvis antes de inclinarse hacia abajo más allá de la arcada isquiática para unirse al vestíbulo. Aparte del destacado pliegue dorsal medio que continúa a partir del cervix en una corta distancia, la luz interior del órgano, cuando no está distendido, está casi obstruida o al menos ocupada por una serie de pliegues irregulares formados en las paredes del órgano. Dichos pliegues terminan entre la unión de la vagina y el vestíbulo. La mucosa presenta pliegues longitudinales con pequeños pliegues transversales. El meato uretral externo señala el límite entre la vagina y la vulva. La gran cantidad de moco vaginal que aparece durante el estro se origina principalmente en el cuello uterino, la vagina es llamada órgano de la cópula (15, 19, 31, 35).

En la túnica serosa o adventicia y en el tejido conjuntivo que une la vagina con las estructuras cercanas están presentes extensos plexos venosos y linfáticos. En la túnica serosa o adventicia también existen numerosos haces y ganglios nerviosos. La inervación es fundamentalmente simpática y deriva del plexo pélvico (15).

4.1.4.1. ESTRUCTURA HISTOLÓGICA DE LA VAGINA

La pared vaginal consta de tres capas: túnica mucosa–submucosa, túnica muscular y túnica adventicia o serosa.

4.1.4.1.1. La mucosa vaginal sustenta principalmente un epitelio escamoso estratificado que incrementa su grosor durante el proestro y el estro. La propia–submucosa consta de tejido conjuntivo irregular laxo o denso. En la propia de la zona caudal de la vagina existen ganglios linfáticos (15).

4.1.4.1.2. La túnica muscular consta de dos o tres capas. Una gruesa capa interna de músculo circular liso está separado en haces por tejido conjuntivo y se halla rodeada por una delgada capa externa de músculo longitudinal liso. En la perra existe además una capa delgada de músculo longitudinal liso que es interior a la capa circular (15).

4.1.4.1.3. La túnica adventicia o, cranealmente, la túnica serosa, consta de tejido conjuntivo laxo y contiene grandes vasos sanguíneos, nervios y ganglios nerviosos. La delgada capa muscular exterior de músculo liso puede ser considerada una parte de la túnica serosa y es llamada la serosa muscular (15).

4.1.5. VESTÍBULO:

Conducto que conecta la abertura de la vulva con la vagina. Sobre la pared ventral, en posición craneal a la comisura vulvar ventral, se encuentra el clítoris suspendido en un pliegue transversal de la mucosa. La luz vestibular asciende en un ángulo de 60 grados hacia arriba desde la horizontal y posteriormente recorre una corta distancia hacia delante en la pelvis hasta su unión con la vagina (3).

La forma y disposición debe tenerse en cuenta cuando se tienen que introducir un espéculo vaginal u otro instrumento. Estos instrumentos deben introducirse en una dirección craneodorsal para superar la arcada isquiática antes de tomar una dirección horizontal. Durante las exploraciones con instrumentos de este tipo hay que tener en cuenta que el pliegue dorsal se combina con las paredes laterales y ventrales de la vagina para simular una estructura semejante al cervix (pseudocervix) (19).

La uretra se abre en la cresta uretral en el piso de la región craneal del vestíbulo vaginal. La pared del vestíbulo es similar a la de la zona caudal de la vagina a excepción de que hay más ganglios linfáticos subepiteliales en la pared del vestíbulo, especialmente en la región del clítoris. En la pared vestibular son abundantes los vasos sanguíneos, el tejido cavernoso, los plexos venosos y pequeños vasos linfáticos que se congestionan de manera considerable durante el estro. Existe, por debajo de la mucosa vestibular en la yegua y la perra, un cuerpo eréctil cavernoso llamado el bulbus vestibuli, que recuerda al cuerpo cavernoso del pene del macho (15, 35).

4.1.6 VULVA

Es el orificio urogenital externo de la perra ubicada craneoventralmente al arco isquiático. Se extiende desde la vagina a los labios vulvares (5 centímetros de longitud). Los labios de la vulva son gruesos y se encuentran en una comisura dorsal redondeada y en la comisura ventral puntiaguda, llamado rima pudendi, que es la abertura común de los sistemas urinario y genital. Unos pliegues cutáneos más laterales, que a veces están presentes, se consideran homólogos de los labios mayores de la vulva de la anatomía humana. Los pilares y el cuerpo del clítoris contienen una cierta cantidad de tejido eréctil; el glande está compuesto por tejido fibroso infiltrado por tejido adiposo, pero, a veces, contienen un pequeño hueso, el os clitoridis (1, 19, 31, 35).

La vulva está formada por los labios vulvares, que están cubiertos por piel muy rica en glándulas apócrinas sebáceas. En la hipodermis se pueden observar fibras musculares

estriadas del músculo constrictor de la vulva. Los labios están bien provistos de pequeños vasos sanguíneos y linfáticos que se congestionan durante el estro (15).

4.2. CICLO ESTRAL

4.2.1. PUBERTAD

La edad de la perra en la cual empieza a ciclar es variable. Está influenciada por diversos factores como: edad, peso, estado nutricional y sanitario (7).

La pubertad se manifiesta entre los 6, 12 y hasta 24 meses, más precozmente las razas pequeñas que en las razas pesadas y factores tales como el clima y la nutrición apenas tienen efecto sobre su desencadenamiento (3, 16, 17, 23, 29).

La edad en la que el macho empieza a ser fértil, se sitúa entre los 6 meses para las razas más pequeñas, 8 y 10 meses para razas de tamaño mediano y alrededor de los 15 meses para los ejemplares de las razas gigantes (5).

Los perros llegan a su madurez sexual a los 2 ó 3 meses de haber alcanzado su peso de adultos. La pubertad puede depender en cierto modo del medio ambiente, ya que los animales callejeros que vagan libremente llegan antes a su madurez sexual que los caseros, que permanecen confinados (12, 29).

Lo que es común en todas las razas es que el primer celo puede ser bastante irregular, tanto en duración como en intensidad. A veces no se llega a percibir la aparición de éste por la falta de los típicos signos externos, (celo silencioso). Se recomienda que las perras tengan su primer cruzamiento al segundo o tercer celo (5, 29).

4.2.2. EL CELO

Lo podemos definir como una serie de cambios a nivel hormonal, físico y de comportamiento que tienen como objeto preparar a la perra para la cópula, fecundación y posterior gestación. Comprende las diferentes etapas que suceden a lo largo de la vida reproductiva de la perra (5, 7).

En general las perras entran en celo dos veces al año. De hecho, no es infrecuente la aparición de tres celos, aunque, incluso cuando esto ocurre, la mayor parte del año la perra está en anestro. En las perras de raza pequeña se pueden observar algunos ciclos por estación sexual (5, 16, 17, 19).

La perra doméstica es una especie monoéstrica estacionaria, (un estro por cada temporada reproductiva), se diferencia de otras especies en el hecho de que las diversas fases del ciclo son de duración mucho más largas; que el ciclo puede ser partido ya sea por una gestación o pseudogestación de 2 meses aproximadamente, porque no parece que intervenga un factor luteolítico para poner fin a la actividad del cuerpo lúteo cuando no ha habido fecundación (16, 17, 32).

La perra presenta un celo al que le sigue un largo período de inactividad sexual, a lo que se le llama período interestral (33, 36).

Las perras presentan celos durante toda su vida, no presentando parada reproductiva o menopausia, excepto que se presente una patología (quistes ováricos, piometras, etc.) que altere el ciclo. Un error común es pensar que las perras viejas no pueden quedar preñadas (5).

Cuando la perra supera los 6 a 8 años de edad se presentan diferentes modificaciones que comprenden el aumento progresivo del intervalo interestral, reducción del tamaño de camada, problemas durante el parto e incremento de las pariciones con defectos congénitos. La edad ideal de reproducción está entre los 2 y los 6 años (23).

4.3. FASES DEL CICLO ESTRAL

4.3.1 PROESTRO

4.3.1.1. CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS Y DE COMPORTAMIENTO

El proestro se caracteriza por inflamación de los labios de la vulva y congestión de todo el tracto genital con emisiones sanguíneas de origen uterino; estas pérdidas sanguíneas recuerdan la menstruación de los primates, pero son fisiológicamente muy diferentes; no corresponden a una descamación del endometrio sino al aumento considerable de la vascularización y a la permeabilidad capilar bajo acción de los estrógenos. El flujo puede no ser visible en algunas perras porque lo eliminan lamiéndose (3, 16, 17, 32, 34).

Fotografía de una perra en proestro que muestra agrandamiento edematoso del perineo y de la vulva. La descarga vaginal de fluido serosanguinolento conteniendo células sanguíneas de origen uterino es visible en la superficie ventro-caudal del labio vulvar.



Imagen tomada de: <http://www.ivis.com>

Imagen de una perra en proestro que muestra agrandamiento edematoso del perineo y de la vulva. La descarga vaginal de fluido serosanguinolento que contiene células sanguíneas de origen uterino no es evidente externamente, debido al lamido constante de la vulva por la perra, pero es evidente en la inspección del vestíbulo vaginal.

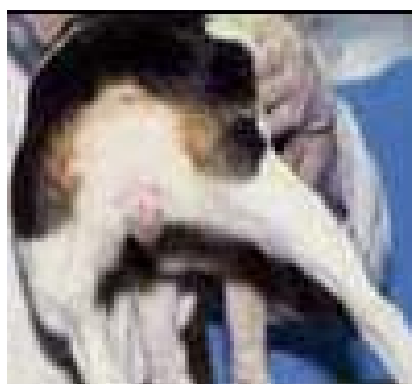


Imagen tomada de: <http://www.ivis.com>

La emisión de orina es más frecuente para diseminar feromonas producidas por la mucosa vestibular, con lo cual la perra resulta atrayente para el macho, aunque generalmente no permanece quieta, se encuentra excitable, y desobedece fácilmente. Comienza a existir al final de esta fase un reflejo de inmovilidad y la hembra aparta el rabo cuando se presiona con la mano la zona lumbar, aunque no permite el coito con el macho. Efectúa gruñidos, muestra los dientes, tira mordiscos, mantiene la cola pegada al perineo intentando cubrir la vulva. La ovulación puede producirse hacia el final de esta fase (3, 5, 16, 23, 34).

Los machos comienzan a seguir y acosar a la hembra, se plantan fuera de las casas o patios, debido a la producción de feromonas que son atrayentes para los machos (32).

4.3.1.2. DURACIÓN DEL PROESTRO

El proestro cuya duración es aproximadamente de 9 a 10 días, pudiendo variar entre 1 a 25 días, con un promedio de 9 días, va de la primera pérdida de sangre hasta el comienzo de aceptación del macho (3, 5, 16, 17, 23, 32).

4.3.1.3. CARACTERÍSTICAS ANATÓMICAS Y HORMONALES

Se presenta un cambio de forma y de tamaño en los ovarios, desarrollo de los folículos ováricos y aumento en la irrigación del aparato genital. También se presenta congestión uterina y desarrollo de las glándulas uterinas (35).

El endometrio del útero cambia y se vasculariza mucho, lo que permite la salida de sangre por diapédesis. Por eso la secreción sanguinolenta que sale por la vulva de las perras durante esta etapa, es una metrorragia que pasa a través del cuello del útero ligeramente relajado y penetra en la vagina (el sangrado se origina en el útero) (23, 32).

En un estudio ecográfico de una perra en fase de proestro, se observó que el ovario izquierdo es más fácilmente observable que el ovario derecho, éste está ubicado inmediatamente caudal al riñón izquierdo, midiendo 21,5 milímetros de largo por 11,5 milímetros de ancho. En él se observa gran actividad folicular encontrándose folículos con centros anecoicos y pared delgada con aspecto mesoecoico. También se visualizan folículos de mayor diámetro con centros hipo y mesoecoicos (10).

La perra en el proestro está bajo influencia estrogénica, los estrógenos son sintetizados y secretados por los folículos en desarrollo. Los estrógenos son responsables por los cambios de conducta, secreción vaginal, atracción de los machos y de la preparación uterina para la gestación. Al final del proestro, comienza la producción de la hormona folículo estimulante para el desarrollo de los folículos y maduración de los óvulos, se comienza a producir la hormona luteinizante, y hay poca producción de progesterona. Se producen estrógenos que actúan sobre el aparato genital y sobre el Sistema Nervioso Central, lo que produce los cambios en la hembra. Al final del proestro (últimas 12 a 48 horas) la progesterona se eleva y los estrógenos disminuyen (23, 32).

4.3.1.4. CAMBIOS HORMONALES

FSH: alcanza su máxima concentración.

LH: alta concentración al final de la fase.

ESTRÓGENOS: alcanza su máxima concentración al final de esta fase.

PROGESTERONA: ligero aumento al final de esta fase.

FERORMONAS: aumento creciente en esta fase (35).

(Ver tabla 7, gráfica 1).

4.3.2. ESTRO

Corresponde al período de aceptación del macho, es propiamente la fase del celo. Deriva de la palabra griega Oistros que significa deseo impetuoso. Esta es la única fase durante la cual la hembra permite ser montada (5, 17, 23).

4.3.2.1. CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS Y DE COMPORTAMIENTO

La hembra sigue atrayendo la atención de los machos. La vulva se vuelve blanda, hay mayor edematización, se torna flácida para favorecer la penetración. El sangrado vaginal por lo general ha disminuido o cesado y la secreción es de color pajizo o rosado. Con menor frecuencia el flujo sigue siendo hemorrágico. La hembra modifica su conducta con una creciente receptividad al macho, lateralización de la cola, tensión del tren posterior para sostener el peso del macho, y elevación de los labios vulvares, pueden agacharse y elevar el periné para liberar feromonas potentes en el ambiente. Estas posturas son características de la aceptación e indican el comienzo del período fértil (13, 23, 28, 32, 35).

La mayoría de las hembras aceptan al macho durante la fase del estro (máxima fertilidad), sin embargo algunas perras normales comienzan a aceptar ya en el proestro (período infértil) y en menor proporción cuando el estro finalizó (período infértil) (13).

4.3.2.2. DURACIÓN DEL ESTRO

Su duración media es de 5 a 10 días, puede ir de 1–20 días. La ovulación tiene lugar en los tres primeros días y el porcentaje de fecundación es elevado si la unión sexual tiene lugar en este período. Se inicia con el primer día que la hembra permite la cópula y finaliza cuando ella ya no acepta más ser servida (6, 17, 23).

4.3.2.3. CARACTERÍSTICAS ANATÓMICAS Y HORMONALES

En el útero se produce proliferación endometrial y en la vagina edematización y formación de pliegues profundos (35).

Todos los cambios morfológicos y de conducta son debidos a la acción de hormonas, secretadas por los ovarios, siendo éstas los estrógenos y progesterona. Durante el proestro crecen en los ovarios, folículos (estructuras que contienen los óvulos) cuanto más crecen, más estrógenos producen, los cuales son responsables de la secreción vaginal, aumento del tamaño de la vulva y cambio en la conducta, lo cual es un reflejo del final de maduración de los folículos, días antes de la ovulación. Llegando al final del proestro, la hembra comienza a exhibir signos de aceptación solo cuando los estrógenos comienzan a declinar (el pico estrogénico se produce 1 ó 2 días antes del comienzo del estro). Las células foliculares ováricas comienzan a luteinizarse y secretar progesterona. La disminución de los estrógenos y el aumento de la progesterona producen el cambio de la conducta de la perra y se torna receptiva a los machos. Este descenso junto con el ascenso de la progesterona permite la liberación de otra hormona que es la hormona luteinizante (LH) la cual es secretada por la glándula hipófisis ubicada en la cavidad craneana. Al comienzo del estro la LH va a permitir la liberación del óvulo del folículo (ovulación) aproximadamente 48 horas posteriores a la secreción. Los folículos ovulados se rompen con escasa diferencia de tiempo entre sí lo que asegura que los cachorros nazcan sin diferencias significativas de edad (si se realiza el apareamiento). Ocurrida la ovulación se forma en el ovario el cuerpo lúteo productor de grandes cantidades de progesterona. Los folículos una vez rotos, se luteinizan con rapidez. Los sitios de ruptura se reorganizan con la producción del cuerpo lúteo capaz de mantener la síntesis y secreción de progesterona durante 2 meses. El útero continúa su preparación para la implantación (9, 23,28).

La hembra debe ser llevada al territorio del macho para tener mayores posibilidades de mostrar sumisión y recepción. Se ha considerado que la perra solo se aparee con los machos dominantes y rechaza a los sumisos (23).

El aclaramiento de las secreciones vulvares indica generalmente el fin del proestro, debido a que el flujo sanguíneo ha disminuido ostensiblemente e incluso ha cesado en algunas perras. Aunque no es un marcador fiable de la ovulación, en

efecto, algunas perras como las Chow Chow pueden presentar sangrado hasta la finalización del estro (16, 18).

La ovulación tiene lugar generalmente hacia el inicio del estro; sin embargo, como las respuestas del comportamiento no son constantes en la perra y puede variar mucho el tiempo que tardan los folículos en desarrollarse, puede suceder lo siguiente:

1. La ovulación puede producirse durante un proestro de duración normal (tan pronto como 7 días tras su inicio).
2. La ovulación puede presentarse tan tarde como 23 días tras el inicio del proestro; la perra sigue siendo receptiva hasta este momento.
3. El momento de la ovulación puede no ser constante durante los celos sucesivos en la misma perra (3).

4.3.2.4. CAMBIOS HORMONALES

FSH: se encuentran en concentración basal.

LH: decrece su concentración.

ESTRÓGENOS: decrecen en concentración.

PROGESTERONA: aumenta considerablemente.

FERORMONAS: van decreciendo lentamente hacia el final de esta fase (35)

(Ver tabla 7, gráfica 1).

La posible duración de supervivencia del ovocito antes de la fecundación se atenúa en 4 días o incluso más (17).

La duración del proestro y del estro varía generalmente en sentido inverso, de tal forma que si uno se acorta el otro se alarga, pero la duración media de las dos fases asociadas es aproximadamente de 18 a 21 días (16).

4.3.3. DIESTRO

Es la fase posterior al estro se caracteriza porque la perra deja de aceptar al macho (5).

La palabra metaestro se utiliza tradicionalmente para describir la mayor parte de la fase luteínica de la perra; existen pocas razones lógicas para esto, y es más exacta la palabra diestro, ya que la fase de metaestro se ve ocultada por la fase del estro (3).

4.3.3.1. CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS Y DE COMPORTAMIENTO

La vulva aparece gradualmente menos tumefacta y suele cesar el flujo hemorrágico, puede desarrollarse un flujo vulvar mucoide, como en la gestación. Al final del diestro se presenta una pseudogestación si no se ha producido la fecundación, o una nidación, gestación y lactación en caso de ser apareada (3, 35).

4.3.3.2. DURACIÓN DEL DIESTRO

El metaestro es de duración relativamente corta (4 días) va seguido inmediatamente del diestro. El conjunto de estas dos fases cubre todo el período de actividad del cuerpo lúteo que es de 50 a 80 días en promedio (17).

En la perra preñada es de 56 a 63 días y en la no preñada es de 60 a 80 días. Comienza cuando la perra rechaza el coito por vez primera, y termina cuando son mínimas las concentraciones de progesterona circulante (60 días); no existen manifestaciones clínicas que señalen el final del diestro (3).

4.3.3.3. CARACTERÍSTICAS ANATÓMICAS Y HORMONALES

En términos clásicos este período corresponde a la formación del cuerpo lúteo y al establecimiento de su funcionamiento en la perra, los altos niveles de progesterona es una de las características de esta fase, independientemente de si la perra haya sido fecundada o no (5, 17).

La mucosa vaginal se encuentra rosada y con pliegues poco profundos (35).

4.3.3.4. CAMBIOS HORMONALES

FSH: concentración basal.

LH: concentración basal.

ESTRÓGENOS: concentración basal.

FERORMONAS: concentración basal.

PROGESTERONA: sube hasta llegar al pico más alto y empieza a descender (35).

(Ver tabla 7, gráfica 1).

4.3.3.5. SUCESOS QUE PUEDEN PASAR EN EL DIESTRO

4.3.3.5.1. **Que no se cruce y no quede gestante**

Este suceso puede tardar hasta 100 días, en el cual no hay fecundación y pasa a la siguiente fase de anestro, desaparece la inflamación de la vulva y la hembra vuelve poco a poco a la normalidad. En este suceso se engrosa el endometrio del útero, persiste el cuerpo lúteo y hay niveles normales de progesterona presente en la sangre (32).

4.3.3.5.2. **Que se cruce y quede preñada**

La preñez dura de 56 a 70 días con un promedio de 63 días. El comportamiento de la hembra cambia a un estado de tranquilidad, puede haber presencia de vómito, somnolencia, afectuosa, a veces caprichosa y más sensible a su entorno. La mucosa del útero se engrosa para recibir al óvulo fecundado a partir del día 11 de iniciado el diestro. Se forma la placenta que nutre a los cachorros y en los cuernos uterinos éstos se desarrollan hasta su nacimiento. A partir del día 30 aumenta su apetito. Se

desarrollan las glándulas mamarias, los pezones se enrojecen y se ponen duros, lo que le produce comezón en el área del vientre, esto alrededor del día 28 a 35 de la gestación. El volumen abdominal aumenta y el vientre desciende alrededor del día 42. Del día 45 en adelante se inicia la producción de leche y al final de la gestación aparece una secreción mucosa en la vulva esto al final del día 50. Se mantienen altos los niveles de progesterona hasta que se presenta el parto (32).

4.3.3.5.3. Que se cruce o no y tenga una pseudogestación

Esto no es una enfermedad de las perras, es un evento normal de supervivencia en la especie canina. Dura de 30 a 55 días. Las perras adoptan el mismo comportamiento que una perra gestante, es decir, la conducta maternal que manifiesta hacia juguetes, aumento del apetito, desarrollo de las glándulas mamarias y puede o no haber producción de leche. Aproximadamente en los días 42 y 49 de la supuesta gestación, hay una secreción mucosa de la vulva y puede hasta llegar a presentar conducta de parto. Esto sucede por la persistencia del cuerpo lúteo, el cual produce la progesterona en la perra (7, 32).

Básicamente si se compara una perra no preñada en el diestro con una en anestro prácticamente no hay diferencias clínicas (23).

4.3.4. ANESTRO

4.3.4.1. CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS Y DE COMPORTAMIENTO

Corresponde al período de inactividad ovárica y al reposo del aparato genital (17).

La hembra no presenta síntomas particulares en esta fase, ni tampoco alteraciones en el comportamiento (35).

4.3.4.2. DURACIÓN DEL ANESTRO

Su duración es de unos 3 meses (17).

4.3.4.3. CARACTERÍSTICAS ANATÓMICAS Y HORMONALES

En el ovario se observa un crecimiento folicular lento al final de esta fase que no altera la forma del ovario como sucede con otros estadios del ciclo. El útero, la vagina y la vulva no presentan modificaciones ante la ausencia casi total de cambios hormonales (35).

Este es el período óptimo para la ovariectomía destinada al control de la fertilidad (35).

4.3.4.4. CAMBIOS HORMONALES

FSH: lento crecimiento aumentando al final de esta fase.

LH: a nivel basal.

ESTRÓGENOS: lento crecimiento, aumentando al final de esta fase.

PROGESTERONA: niveles basales (35).

(Ver tabla 7, gráfica 1).

4.4. MODIFICACIONES DE LOS ÓRGANOS GENITALES

Los ovarios situados a nivel de la región lumbar, aumentan de volumen en el curso del proestro y estro; un cierto número de folículos maduran en la superficie y van seguidos de la formación de cuerpos lúteos. Su número puede variar de un ovario a otro y no corresponde necesariamente al

número de fetos encontrados en cada cuerno pues la migración de los embriones es un fenómeno corriente en la perra (17).

El útero aumenta de longitud y grosor al inicio de cada ciclo; su endometrio prolifera y todo el tracto reproductivo se vuelve hiperémico. La involución uterina tiene una larga duración y es un elemento favorecedor de la hiperplasia endometrial glándulo–quística y una de las razones por la que los progestágenos deben ser empleados con cuidado en el control del celo (17, 19).

La vagina presenta modificaciones interesantes que permiten situar exactamente el período sexual del animal. El epitelio vaginal reducido a 2 ó 3 capas durante el anestro, prolifera progresivamente para alcanzar 6 a 8 capas en el proestro y 12 a 20 capas en el estro; en este período las capas más superficiales se queratinizan y descaman (17).

4.5 . NÚMERO DE ESTROS POR AÑO EN ALGUNAS RAZAS

Basenji	1,0	
Basset Hound	2,0	
Beagle	1,5	
Boston Terrier	1,5	
Cocker Spaniel	2,0	
Pastor Alemán	2,4	
Poodle Toy	1,5	(29).

4.6. INTERVALO DE ESTRO EN MESES EN ALGUNAS RAZAS

Basset Hound	5,8	
Beagle	7,4	
Boston Terrier	8,1	
Boxer	8,0	
Chihuahua	7,2	
Cocker Spaniel	6,0	
Pastor Alemán	5,0	
Scotch Terrier	6,5	
Poodle Toy	8,8	(29).

4.7 CITOLOGÍA VAGINAL EN LA PERRA

El citodiagnóstico se ha convertido hoy día en un método de rutina dentro de la clínica, si embargo se cree que como ciencia joven, no se ha conseguido su máxima eficacia práctica (26).

La citología vaginal es un método complementario económico y de simple realización, sirve para determinar en qué etapa del ciclo estral se encuentra una perra. Esto permite el empleo de la



inseminación artificial, precisando el momento más adecuado para llevar a cabo dicha técnica ya que la ovulación ocurre al inicio del estro y por lo tanto, es importante identificar esta etapa. También ayuda a detectar patologías del aparato reproductor femenino (25).

Imagen tomada de: <http://www.cfmv.org.br>

Tradicionalmente los días más indicados para el apareamiento de las perras son del noveno al decimosegundo día posteriores al inicio del sangrado e inflamación vaginal, sin embargo, los resultados de esta creencia, pueden resumirse en tasas de concepción bajas, camadas pequeñas en número y pérdidas económicas para el criador. Por medio de la observación de los cambios de la citología vaginal exfoliativa durante el ciclo estral, se puede lograr una eficiencia tope en los programas de cría, existan o no enfermedades o problemas funcionales en el pie de cría. Se recomienda servir a la perra al menos 2 ó 3 veces ya sea por método natural o inseminación artificial una vez que el estro en base a su citología ha sido identificado (14).

La citología vaginal se considera un método complementario indicativo para determinar los diversos estadios del ciclo estral de la hembra canina. Si bien no permite conocer la fecha de ovulación, se utiliza para conocer el mejor momento par realizar las determinaciones hormonales de progesterona y de la hormona luteinizante, las cuales aportan precisión en la determinación del

momento del servicio. La citología vaginal no solo es de utilidad para el asesoramiento del servicio, sino también para el diagnóstico presuntivo de diversas entidades patológicas tanto vaginales como uterinas y, a veces, sirve cuando se tiene la incertidumbre de la ocurrencia o no de un servicio (11).

Los frotis vaginales permiten, según las coloraciones utilizadas, visualizar de manera directa el cambio de aspecto de las células vaginales, relacionado con las variaciones hormonales, particularmente las de los estrógenos. Estos cambios son un proceso dinámico y variable en cada hembra, por lo tanto es aconsejable hacer un estudio citológico vaginal cada 48 horas a partir del tercer o cuarto día del ciclo. Esta técnica, simple y económica, es empleada actualmente de rutina por Médicos Veterinarios y criadores para efectuar una primera estimación de la fase del ciclo estral (18,20).

4.7.1. APLICACIONES CLÍNICAS DE LA CITOLOGÍA VAGINAL

4.7.1.1. ASESORAMIENTO CON RESPECTO AL MOMENTO DE LOS SERVICIOS

En términos generales el período de máxima fertilidad en la perra coincide con la presencia de > 80% de células superficiales queratinizadas, indicándose servicios cada 48- 72 horas durante todo el tiempo que persista este cuadro citológico. Es importante realizar frotis seriados con un mínimo de 2-3 frotis en un lapso de 4-7 días. Sin embargo, siempre que el número de células superficiales constituya el 80% o más del total de células vaginales, la hembra debe presentarse para el servicio. Si la cópula no ocurre en 1-2 días debe obtenerse un segundo frotis. Si este frotis no sugiere diestro debe intentarse otro apareamiento o la inseminación artificial. El servicio (natural o artificial) debe ser intentado durante todo el período en que la citología vaginal está compuesta por más del 80% de células superficiales (11).

4.7.1.2. IDENTIFICACIÓN DE ESTROS SILENTES

La realización de estudios citológicos semanales permite detectar los ciclos en aquellas perras que no manifiestan signos de estro y así descartar el estado de anestro (11).

4.7.1.3. AYUDA EN EL DIAGNÓSTICO DE ESTRO PROLONGADO

Este puede deberse, entre otras causas, a la presencia de tumores ováricos de las células granulosas, quistes foliculares o hipotiroidismo; la respuesta de la mucosa vaginal es igual a la que se produce con la elevación fisiológica de los niveles estrogénicos durante el ciclo estral (11).

4.7.1.4. RETENCIÓN DE FETO NO VIABLE

La presencia de fibras musculares en proceso de degeneración en la muestra de una hembra posparto sugiere feto retenido no viable (8).

4.7.1.5. PUESTA EN EVIDENCIA DE LA ADMINISTRACIÓN EXÓGENA DE ESTRÓGENOS

Los estrógenos exógenos, frecuentemente usados en la inhibición de la implantación suelen ser causa de iatrogenia. Nuevamente, la mucosa vaginal responde de igual manera que con los endógenos. También puede verse esta misma respuesta luego de la administración de clomifeno, por su efecto estrogénico a determinadas dosis en el perro (11).

4.7.1.6. AYUDA EN EL DIAGNÓSTICO DEL ESTRO FRAGMENTADO

El estro fragmentado es frecuente motivo de consulta en hembras jóvenes las cuales suelen presentar ciclos monofásicos, separados por 3 a 6 semanas (11).

4.7.1.7. DIAGNÓSTICO DE PROCESOS INFECCIOSOS VAGINALES O UTERINOS

En los cuadros infecciosos agudos hay un predominio de neutrófilos degenerados con bacterias en su citoplasma, mientras que en los crónicos predominan los macrófagos y los linfocitos en los extendidos vaginales. La citología vaginal comúnmente no orienta con respecto a la localización anatómica de la infección (11).

La presencia de un gran número de neutrófilos degenerados con bacterias intracelulares y extracelulares es indicativa de vaginitis, enfermedad del tracto urinario, infección o inflamación uterina (8).

4.7.1.8. DIAGNÓSTICOS DE NEOPLASIAS GENITO-URINARIAS

La citología, es de utilidad en el diagnóstico de aquellos tumores que se exfolian con facilidad como por ejemplo el tumor venéreo transmisible y el carcinoma de células de transición del aparato urinario. La lectura y el diagnóstico de estos frotis requieren, generalmente, la participación de un Médico Veterinario patólogo (8,11).

4.7.1.9. DETERMINACIÓN DE LA OCURRENCIA DE SERVICIO

Generalmente se hallan espermatozoides en las primeras 24- 48 horas después de un servicio, no obstante, la ausencia de éstos en un extendido no descarta la posibilidad que haya ocurrido el coito, este examen proporciona información valiosa para evaluar a una perra sospechosa de haberse apareado inadvertidamente (8,11).

4.7.1.10. DETERMINACIÓN DEL MOMENTO DE APLICACIÓN DE ESTRÓGENOS COMO INHIBIDORES DE LA IMPLANTACIÓN

Si bien la aplicación de estrógenos en un servicio no deseado es desaconsejable, en caso de usarse deben únicamente ser aplicados durante el estro citológico a fin de evitar problemas ováricos o uterinos (11).

4.7.1.11. DETERMINACIÓN DEL MOMENTO DE INICIACIÓN DEL TRATAMIENTO CON PROGESTÁGENOS A FIN DE INTERRUMPIR LOS CICLOS ESTRALES

La interrupción de los ciclos se logra mediante la administración de progestágenos en proestro temprano, dicho momento debe ser corroborado citológicamente, ya que los datos de anamnesis rara vez resultan plenamente confiables y la administración tardía no inhibe la ovulación (11).

4.7.1.12. APROXIMACIÓN DIAGNÓSTICA DE PROCESOS TRAUMÁTICOS VAGINALES

Una gran cantidad de glóbulos rojos no acompañados de células superficiales puede indicar, entre otras cosas, un trauma vaginal (11).

4.7.1.13. AYUDA EN EL DIAGNÓSTICO DE LA SUBINVOLUCIÓN DE SITIOS DE INSERCIÓN PLACENTARIA

Dicha entidad patológica cursa con el hallazgo de células tipo trofoblasto características. En términos generales, el diagnóstico de entidades patológicas uterinas requiere la presencia de la cervix abierta, hecho que se produce solo en determinados momentos del ciclo estral y un entrenamiento en el reconocimiento e interpretación de las células uterinas encontradas (11).

4.7.1.14. DETERMINACIÓN DE LA FECHA DE PARTO

El parto se produce 57 +/- 1 día después del primer día del diestro citológico en un 75% de las perras (11).

4.7.1.15. AYUDA EN EL DIAGNÓSTICO DEL EDEMA (HIPERPLASIA) VAGINAL DEL PROESTRO

La aparición típica del piso de la mucosa vaginal a través de los labios vulvares sumada a un cuadro citológico característico de proestro confirma esta entidad (11).

4.7.1.16. AYUDA EN EL DIAGNÓSTICO DEL SÍNDROME DEL OVARIO REMANENTE

La aparición cíclica post castración de una descarga vulvar sanguinolenta en adición al cuadro citológico característico de proestro y estro en una perra “castrada” sugiere la permanencia de tejido ovárico (11).

4.7.2. FUNDAMENTO, BASE ENDOCRINOLÓGICA E HISTOLÓGICA DE LA CITOLOGÍA VAGINAL

La mucosa vaginal es un tejido blanco de los estrógenos ováricos. Los cambios característicos en las células del epitelio vaginal exfoliado resultan del cambiante patrón de secreción de dichas hormonas ováricas. Debido a esto, la evaluación diaria de las células del epitelio vaginal exfoliado es de ayuda para identificar los diversos estadios del ciclo estral canino y determinar el momento en que se debe comenzar a presentar la hembra al macho para servicio. Los términos cornificadas y no cornificadas, utilizados frecuentemente para describir las células presentes en un frotis vaginal, son inadecuados para describir todos los tipos celulares. Por consiguiente, la clasificación sistemática describe los diversos tipos celulares presentes en el epitelio según su morfología, comenzando con la capa vaginal más profunda, y llegando hasta la capa cercana al lumen, estos cambios son un proceso variable en cada hembra, por lo tanto es aconsejable hacer un estudio citológico vaginal cada 48 horas a partir del tercer o cuarto día del ciclo (4,11).

El cuadro celular de un frotis vaginal depende de la actividad estrogénica de los folículos de Graaf. Durante la fase folicular del ciclo estral canino el epitelio vaginal sufre cambios hiperplásicos. Los creciente niveles estrogénicos preparan el revestimiento vaginal para el mantenimiento del servicio. En anestro el epitelio vaginal es bajo con no más de 3 ó 4 capas celulares. La capa basal o germinal está ordenada y las células subyacentes se encuentran desordenadas. Durante el proestro, y a medida que los folículos maduran, empiezan a producir estrógenos y comienza la proliferación del epitelio vaginal. El aumento de las capas celulares ocasiona que las células se alejen cada vez más de la irrigación sanguínea lo cual da como resultado su muerte. La falta de viabilidad de las

células vaginales se aprecia fácilmente en la citología vaginal. Cuando las células vaginales redondas normales mueren se vuelven más grandes y de forma más irregular. Estas células contienen núcleos progresivamente picnóticos antes de la desintegración final, convirtiéndose en una célula anucleada. Estas células muertas actúan como un tejido menos sensible y frágil. La máxima queratinización (estro citológico) no es simultánea al pico estrogénico del proestro sino que ocurre aproximadamente una semana después. Cuando los estrógenos alcanzan nuevamente niveles basales (diestro) ocurre la descamación rápida del estrato córneo y la regresión progresiva del resto de las capas. Al mismo tiempo comienzan a aparecer en la luz vaginal neutrófilos provenientes de la submucosa. Los cambios presentes en la mucosa vaginal durante el ciclo estral se reflejan en la apariencia de las células exfoliadas (11).

Al final del período de fertilización, los estrógenos del plasma han descendido a niveles bajos en la semana previa y las concentraciones de progesterona del plasma continúan aumentando a altos valores. Como resultado, mucho del epitelio vaginal se descama y se pierde. El número de capas celulares disminuye, se desprenden células más profundas y el porcentaje de células grandes, irregulares y cornificadas y anucleadas decrece. Los leucocitos polimorfonucleares están ausentes en el frotis vaginal durante el período fértil porque la mucosa engrosada es una barrera para su migración a la superficie. Estas reaparecen, a menudo en números grandes, al final del período de la fertilización debido a la descamación de la mucosa pues las concentraciones de la progesterona del plasma son altas y las del estrógeno son reducidas. En este tiempo, el frotis vaginal muestra un aumento en las células epiteliales intermedias pequeñas y grandes, células parabasales, y leucocitos polimorfonucleares. Este momento se ha referido como el fin del estro vaginal, inicio del diestro. El servicio natural o la inseminación vaginal es raramente fértil cuando se realiza después de que una perra alcanza esta etapa, típicamente en 7-8 días después del pico de la hormona luteínica (y 5-8 días después de la ovulación). Sin embargo se ha informado que apareamientos tardíos pueden dar lugar a preñeces y a camadas pequeñas en algunos casos. Idealmente, las inseminaciones tienen que ocurrir de 2 a 4 días antes del final del estro vaginal. En un estudio el mayor éxito de la inseminación artificial con semen congelado fue cuando la inseminación se realizó 3 días antes del inicio del diestro. El índice de células superficiales con los núcleos tenues o picnóticos declina

drásticamente durante los días siguientes y las células parabasales se convierten en la célula epitelial predominante. El frotis entonces progresivamente cambia rápidamente para convertirse en un frotis de una perra en anestro. La mucosa cambia de un epitelio bajo, cuboidal a un epitelio estratificado, queratinizado escamoso. Durante esta transición, las células superficiales cambian de forma, tamaño y caracteres de tinción, llegando a ser más grandes, de forma irregular, y con células nucleadas planas y en última instancia llegan a ser células escamosas anucleadas cornificadas. Las últimas se caracterizan por no tener ningún núcleo visible o un remanente nuclear picnótico débil o pequeño. Las proporciones relativas de los diversos tipos de células epiteliales recogidos de la superficie y vistos en frotis vaginales durante el proestro se pueden utilizar como marcadores de los cambios en el ambiente endocrino, es decir, concentraciones crecientes de estrógenos. Se han utilizado varios índices de cornificación y de queratinización; en general, el período fértil puede ser crudamente predecido calculando el porcentaje de células epiteliales que corresponde a células superficiales. El servicio debe realizarse durante el período en que más del 80% de las células epiteliales son células superficiales pues éste típicamente coincide con el período fértil. Sin embargo, hay gran variación y el porcentaje de las células cornificadas puede sobrepasar el 80 a 90% y alcanzar casi el 100% tan temprano como 9 días antes de la ovulación o tan tarde como 2 días después de la ovulación. Por lo tanto, los cambios en la citología vaginal no se pueden utilizar para predecir prospectivamente el momento exacto de la ovulación. Sin embargo, la citología vaginal permite la supervisión de la progresión normal del proestro y esperar el valor de cornificación del 80% permite evitar pruebas innecesarias, el transporte o apareamientos hasta que el pico de estrógenos del proestro sea casi completo (20).

4.7.3. OBTENCIÓN DE LA MUESTRA

4.7.3.1. MATERIALES A EMPLEAR

1. Solución salina isotónica.
2. Hisopos estériles.
3. Lubricante.

4. Portaobjetos.
5. Tinciones a utilizar.
6. Antiséptico (clorhexidina).
7. Guantes estériles (14).

4.7.3.2. PROCEDIMIENTO

1. Colocar a la perra en cuadrípedación sobre la mesa de exploración.
2. El ayudante debe mantener a la perra en esta posición, manteniendo la cola elevada y lo más alejada de la vulva.
3. Limpiar el área perineal y los labios de la vulva con una solución antiséptica suave y después enjuagar con abundante agua tibia. Cortar el pelo largo.
4. Insertar un hisopo dentro de la vagina hacia craneal humedecido con solución salina estéril bacteriostática y hacer una ligera rotación para obtener la muestra.
5. Retirar el hisopo con la muestra obtenida de la vagina.
6. Girar el hisopo sobre un portaobjetos de vidrio y fijar con alcohol.
7. Secar al aire.
8. Teñir con un colorante tipo Romanowsky, como Diff-Quik, nuevo azul de metileno, Giemsa, Wright, y otras como Papanicolau (4, 8,14).



Imagen tomada de: <http://www.cfmv.org.br>

Al usar el método del hisopo es muy importante no permitir el contacto del hisopo con el vestíbulo, puesto que la colecta de estas células puede dar resultados variables sino erróneos (20).

Con la misma técnica se extrae una muestra para análisis microbiológico. Esto debe realizarse rutinariamente una vez por ciclo y coincidiendo con el primer frotis (4).

4.7.4. CLASIFICACIÓN CELULAR DE LOS FROTIS VAGINALES

En los extendidos de la mucosa vaginal se distinguen los siguientes tipos de células normales comenzando de la capa vaginal más profunda hacia el lumen vaginal (11).

4.7.4.1. CÉLULAS BASALES

Son células que se encuentran sobre la membrana basal, no se exfolian y por lo tanto rara vez se observan en los frotis. Son células pequeñas, redondeadas y con escaso citoplasma (11).

4.7.4.2. CÉLULAS PARABASALES

Son las células menores, entre las células vaginales, son redondas o ligeramente

ovaladas, presentan un núcleo grande y relativamente poca cantidad de citoplasma.

Esta célula se desprende de la capa de células germinales cercana a los vasos sanguíneos y predomina en el anestro y principios del proestro. (25,29).



Imagen tomada de: <http://www.redevet.com.br>

4.7.4.3. CÉLULAS INTERMEDIAS

Varían en tamaño pudiendo ser clasificadas en células intermedias pequeñas y grandes. Regularmente son células grandes, presentan bordes irregulares y núcleos generalmente menores que las células parabasales, con mayor cantidad de citoplasma. La presencia de esta célula indica la etapa anterior a su transformación a superficial, predomina en la mitad del proestro. Estas células reflejan el primer paso de la muerte celular (11, 25, 29).



Imagen tomada de: <http://www.redevet.com.br>

4.7.4.4. CÉLULAS SUPERFICIALES NUCLEADAS

Son las células más grandes encontradas en una citología vaginal, son achatadas y con los bordes angulados, se colorean pobremente. Los núcleos son pequeños y picnóticos. Es característica del final del proestro y todo el estro, que es cuando la vagina se encuentra bajo la influencia del pico estrogénico (25, 29).

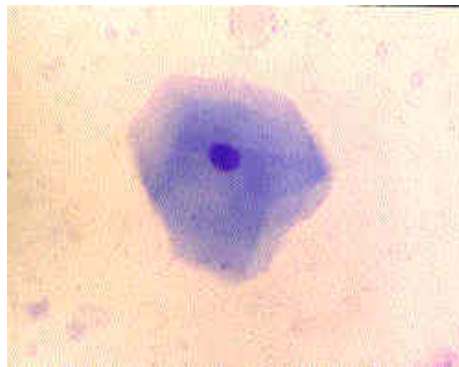


Imagen tomada de: <http://www.redevet.com.br>

4.7.4.5. CÉLULAS SUPERFICIALES ANUCLEADAS

Son llamadas células anucleadas, o escamas, son células grandes e irregulares, sin núcleo, predominan durante el estro, estas representan el fin del proceso de descamación que inicia con las células parabasales (25,29).



Imagen tomada de: <http://www.redevet.com.br>

4.7.5. OTROS TIPOS CELULARES DEL EPITELIO VAGINAL DE LA HEMBRA CANINA CON CICLO ESTRAL NORMAL

4.7.5.1. CÉLULAS METAESTRALES

Se diferencian de las células parabasales en que aparecen conteniendo neutrófilos en su citoplasma. Pueden observarse durante la fase lútea del ciclo estral canino (11).

4.7.5.2. CÉLULAS ESPUMOSAS

Son células parabasales que contienen vacuolas citoplasmáticas. Su significado se desconoce.

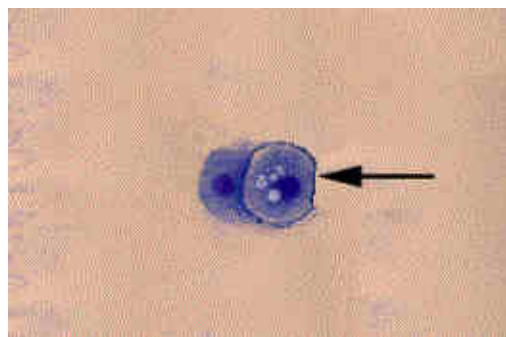


Imagen tomada de: <http://www.redevet.com.br>

4.7.5.3. CÉLULAS EPITELIALES CONTENIENDO MELANINA

Se ha observado en frotis vaginales de perras normales de piel oscura, como por ejemplo Labrador Retrievers. No deben confundirse con células de melanoma.

4.7.5.4. CÉLULAS DE LA FOSA DEL CLÍTORIS

Son células queratinizadas, anucleadas y fusiformes (11).

4.7.6. INTERPRETACIÓN DE LOS CAMBIOS CELULARES EN LAS DIFERENTES ETAPAS DEL CICLO ESTRAL DE PERRAS

Se debe evaluar el portaobjetos teñido para determinar números relativos de células epiteliales superficiales, intermedias y parabasales, así como restos celulares, moco, leucocitos y eritrocitos (8).

La interpretación de los extendidos vaginales se hace de acuerdo al predominio de los distintos tipos celulares, los cuales son orientativos de los diferentes momentos del ciclo estral. No obstante es imprescindible hacer un seguimiento de la evolución del cuadro celular a través del ciclo estral, ya que un preparado aislado podría resultar compatible con distintos momentos del ciclo (11).

4.7.6.1. PROESTRO

Durante esta etapa la concentración de estradiol en plasma se incrementa, este incremento es el responsable de la proliferación del epitelio vaginal y diapédesis de las células rojas a través de los capilares uterinos, lo cual explica los tipos celulares observados en un frotis en proestro. El proestro marca el inicio de la fase activa del ciclo estral y su duración puede variar de 4 a 20 días o más. Un frotis obtenido a principios y a mitad del proestro se caracteriza por la presencia de neutrófilos, abundantes glóbulos rojos, células intermedias grandes y pequeñas y escasas células superficiales. Hacia el final del proestro disminuye el número de neutrófilos y predominan las células intermedias y superficiales. Los eritrocitos

pueden ser abundantes o estar marcadamente disminuidos en el frotis vaginal. Frecuentemente se observan bacterias, las que pueden ser abundantes durante el proestro, aunque también pueden encontrarse en frotis vaginales a lo largo de todo el ciclo estral. Durante este período se observa descarga vaginal sanguinolenta e inflamación vulvar. Es también durante este período cuando la hembra atrae a los machos pero no acepta la copulación (11,14).

4.7.6.2. ESTRO

Esta fase del ciclo puede durar de 3 a 14 días o más (iniciándose usualmente de 8-11 días después del inicio de la descarga vaginal) y se caracteriza por una disminución marcada en el número de los eritrocitos encontrados, aunque en algunas perras pueden observarse glóbulos rojos durante todo el estro y aún a principios del diestro. Más del 90% de las células observadas en un frotis de una hembra en estro son células superficiales anucleadas (queratinizadas) o con núcleo picnótico. Si bien pueden observarse en el fondo del frotis bacterias, la respuesta leucocitaria está ausente. El fondo del frotis de una perra en estro es limpio y libre de detritus celulares. Cuando se realizan frotis seriados durante el estro, un cambio abrupto en el número relativo del tipo de células epiteliales marca el comienzo del metaestro. Un frotis obtenido en esta fase no contiene neutrófilos. Es durante este período que la hembra acepta al macho (11, 14, 25).

4.7.6.3. DIESTRO

El diestro representa la fase lútea (regresiva) del ciclo y su duración oscila entre los 80 ó 90 días. El examen de la citología vaginal en esta fase del ciclo revela para el segundo o tercer día de su inicio una caída dramática en el número de células epiteliales cornificadas, en los 7-10 días iniciales del diestro reaparecen los neutrófilos en números variables y usualmente coincide con el incremento en el número de células parabasales e intermedias. Es importante reconocer como normal esta aparición de neutrófilos en los extendidos del diestro temprano a fin de diferenciarlo de posibles cuadros infecciosos. En algunas perras pueden no observarse los neutrófilos en el frotis del diestro. Puesto que los glóbulos rojos

pueden presentarse en extendidos vaginales obtenidos durante principios del diestro, es imposible diferenciar el proestro del diestro basándose exclusivamente en la citología vaginal. Desde el punto de vista de la conducta, el comienzo del diestro se define como el primer día luego del estro en que la hembra rechaza aparearse con el macho. El comienzo del comportamiento diestral usualmente corresponde con el comienzo del diestro citológico con 1–3 días de diferencia. (4, 11, 14).

Los frotis vaginales son similares durante el diestro y la gestación (3).

4.7.6.4. ANESTRO

Esta fase del ciclo estral, es una etapa de reposo y dura de dos a tres meses. Abarcando desde el fin de los cambios regresivos en el metaestro hasta el inicio de la actividad en la fase de proestro, esta fase está marcada por la aparición de varios tipos de células epiteliales en un número limitado (14).

Las células epiteliales aparecen redondas, con núcleos activos y mucho citoplasma. Las células más pequeñas (células parabasales) proceden de las cercanías de la membrana basal de la mucosa; las células mayores son producidas mediante división celular y se denominan células intermedias. Los neutrofilos aparecen en número reducido, tanto las bacterias como los eritrocitos generalmente se encuentran ausentes en los frotis vaginales. (3, 11, 25).

4.7.7. TINCIONES UTILIZADAS EN LA CITOLOGÍA VAGINAL CANINA

La selección de la tinción a emplear depende si ésta se desea realizar para un diagnóstico rápido en el consultorio o no. En el primer caso se utilizan las tinciones más sencillas, como por ejemplo azul de metileno, nuevo azul de metileno o la Tinción 15. Las marcadas diferencias morfológicas celulares no justifican el uso de tinciones más complejas, las que se reservan para los casos en que se desean conservar los preparados, o bien remitirlos a otro profesional para fines diagnósticos. Entre las tinciones más empleadas para citología vaginal se mencionan: (11).

4.7.7.1. NUEVO AZUL DE METILENO

Preparación: Nuevo azul de metileno: 500 mg; agua destilada: 100 ml; formol puro: 1 ml. Procedimiento: se coloca una pequeña gota de la solución colorante sobre un cubreobjetos, se monta sobre el preparado y ya está listo para su observación. Evitar excesos de colorante. La aplicación del nuevo azul de metileno, permite la observación inmediata del material, lo que hace que esta tinción sea muy útil para su uso rutinario en el consultorio; si bien no colorea los eritrocitos el resto de los elementos celulares y las bacterias pueden visualizarse satisfactoriamente. Con esta tinción los preparados se decoloran al cabo de unas pocas horas, por lo que es aconsejable reservar uno o dos extendidos para su posterior procesamiento con otra tinción en los casos de particular interés (11).

4.7.7.2. AZUL DE METILENO

Preparación: 1g de azul de metileno en 100 ml de agua destilada. Procedimiento: cubrir el preparado con la solución durante 1 minuto. Lavar por agitación en un pequeño recipiente con agua destilada y luego dejar secar. Coloración duradera al igual que la solución (11).

4.7.7.3. WRIGHT

Solución colorante ya preparada. Procedimiento: cubrir el preparado con 30 gotas de la solución durante 1 minuto. Sin volcar agregar igual cantidad de gotas de agua destilada. Dejar actuar durante 10-15 minutos. Lavar por agitación en un pequeño recipiente con agua destilada y secar al aire o cerca de una llama. Si se desea, se puede montar con bálsamo. Coloración permanente (11).

4.7.7.4. MAY GRÜN WALD-GIEMSA

Preparación: Solución de May Grünwald, viene lista para usar. Se debe filtrar. La solución de Giemsa se prepara mezclando la solución “stock” y el “buffer”: se mezclan en la siguiente relación: 1 gota de Giemsa por cada ml de buffer. Se filtra. Se prepara antes de usar. Procedimiento: se coloca el preparado sobre una grilla y se cubre con solución de May Grünwald durante 3 minutos. Sin volcar el May

Grünwald se agregan 25 gotas de buffer y se dejan actuar durante 2 minutos. Se vuelca y se cubre el preparado con solución de Giemsa. Se deja actuar durante 25 minutos. Se lava por agitación con agua destilada o buffer. Se seca al aire o cerca de una llama. Coloración de duración limitada si no se monta (11).

4.7.7.5. TINCIÓN-15 BIOPUR

Tres líquidos (fijador, solución 1 y solución 2) en los que se sumerge y extrae el frotis secado al aire, 5 veces (5 segundos) en cada uno. Se completa la tinción en menos de 1 minuto (11).

4.7.7.6. TÉCNICA DE HARRIS SCHORR

El preparado se sumerge en la solución de Schorr durante 1 a 3 minutos. Luego se sumerge en alcohol 80, alcohol 96, alcohol 100 y xilol. En cada uno 4 a 5 veces, un segundo cada vez. Luego se monta con bálsamo. Variación con un contraste con hematoxilina:

- 1) Alcohol 70, sumergir 4-5 veces en 4-5 segundos (S45).
- 2) Agua destilada, S45.
- 3) Hematoxilina (por ej. la de Gill), 2 minutos.
- 4) Viraje en agua corriente 5 minutos.
- 5) Agua destilada S45.
- 6) Alcohol 80 S45.
- 7) Alcohol 96 S45.
- 8) Solución colorante de Shorr 4 a 6 minutos.
- 9) Alcohol 96 S45.
- 10) Alcohol 100 S45.
- 11) Xilol S45.
- 12) Montar con bálsamo (11).

4.7.7.7. DIFF-QUIK

Es un colorante de Wright-Giemsa modificado de fácil uso. Es recomendable para uso clínico rutinario. Los preparados deben ser sumergidos en metanol y dos

soluciones colorantes. Se ha recomendado que los frotis vaginales sean sumergidos en las dos soluciones colorantes más tiempo que el período normalmente necesario para la tinción de los frotis de sangre periférica. Los preparados así procesados pueden ser guardados durante varios días si se desea una serie de muestras de referencia. Si se monta el preparado puede conservarse de manera indefinida (11).

4.7.7.8. GIEMSA:

Preparación: La solución colorante se debe preparar en el momento de usar. De la solución “stock” se filtran 20 gotas agregándoselas a 100 ml de buffer ph 7. Procedimiento: los preparados fijados se cubren con la solución colorante y se la deja actuar durante 15-30 minutos. Lavar por agitación en un pequeño recipiente con buffer o agua destilada. Dejar secar al aire o cerca de una llama. Coloración de duración limitada si no se monta (11).

4.7.7.9. PAPANICOLAU:

Para este método se utilizan varios colorantes. La hematoxilina de Harris (hematoxilina–mercurio) tiñe bien el núcleo, aún en sus estructuras más delicadas; el citoplasma, muy transparente, se tiñe con orange G y una solución alcohólica de verde luz, pardo Nismarck y eosina (colorante policromo); no se produce superposición de color. Este método parece ser el mejor, y ha sido modificado varias veces en el transcurso del tiempo, alternando ligeramente las proporciones de los colorantes que entran en la solución E.A. (E.A. 25, 31, 36, 50, 65). Cuanto más alto es el número de E.A. existe mayor proporción de verde luz (26).

V. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1. MATERIALES

5.1.1. RECURSOS HUMANOS

- Asesores
- Estudiante
- Personal de laboratorio
- Criadores de perros

5.1.2. DE LABORATORIO

- Guantes de látex
- Hisopos estériles
- Solución salina fisiológica
- Gasa estéril
- Clorhexidina
- Jabón
- Alcohol metílico
- Porta objetos
- Microscopio
- Coloración de Giemsa
- Coloración de Papanicolau

5.1.2. DE TIPO BIOLÓGICO

- Perras de diversas razas y edad en fase de estro clínico.

5.2. MÉTODOS

5.2.1. METODOLOGÍA DE CAMPO

5.2.1.1. DESCRIPCIÓN DE LA MUESTRA:

Se tomaron 2 muestras de la mucosa vaginal de 60 hembras de la especie canina de diferente raza, peso y edad con presencia clínica del estro.

5.2.1.2. OBTENCIÓN DE LA MUESTRA:

Las muestras se obtuvieron de perras aparentemente sanas con presencia clínica de estro examinadas en clínicas veterinarias, criaderos y casas particulares. No se tomó en cuenta la raza de la perra ni la edad.

5.2.1.3. PROCEDIMIENTO DE PRUEBA DE CAMPO

Se realizaron dos hisopados vaginales de cada perra utilizando guantes estériles de la siguiente forma:

- Se limpió la vulva de la perra con gasas estériles con clorhexidina.
- Se abrieron los labios vulvares de la perra.
- Se introdujo el hisopo estéril en la comisura dorsal de los labios vulvares.
- Se obtuvo la muestra del tercio medio superior, rotando el hisopo por las paredes de la vagina para la obtención de la muestra.
- De cada hisopado se realizó un frotis, en portaobjetos libres de impurezas.
- Se fijaron las muestras con alcohol metílico.

5.2.2. METODOLOGÍA DE LABORATORIO

5.2.2.1. TINCIÓN CON GIEMSA

1. Preparación de la solución de trabajo

1 ml. del colorante de Giemsa (solución madre).

9 ml. de agua destilada (buffer).

Homogenizar.

2. Coloración del frotis.

Se prehidrató el frotis con metanol durante 5 minutos.

Se agregó el colorante de Giemsa (solución de trabajo) durante 10 minutos.

Se lavó la lámina.

Se secó al ambiente.

Se observó la muestra al microscopio en 10X.

5.2.2.2. TINCIÓN CON PAPANICOLAU

- Se introdujo la muestra en Hematoxilina de Harris, durante 5 minutos.
- Se sumergió 5 veces en agua.
- Se sumergió 5 veces en alcohol isopropílico al 95%.
- Se introdujo la muestra en orange II, durante 5 minutos.
- Se sumergió en alcohol isopropílico al 95%, 5 veces.
- Se introdujo la muestra en E.A. 31, durante 5 minutos.
- Se sumergió en alcohol isopropílico al 95%, 5 veces.
- Se sumergió en alcohol absoluto, 5 veces.
- Se sumergió en alcohol xilol, 5 veces.
- Se secó la muestra con papel filtro.
- Se observó la muestra al microscopio.

5.2.3. MÉTODO ESTADÍSTICO

5.2.3.1. DISEÑO DEL ESTUDIO:

Se realizó un diseño completamente al azar.

5.2.3.2. ANÁLISIS ESTADÍSTICO:

La variable a medir es el diagnóstico del estro en perras mediante frotis vaginal con coloración de Giemsa y coloración de Papanicolau.

Se analizaron los datos con la prueba de Mac Nemar para determinar si existe concordancia entre el método de coloración de Giemsa y el método de coloración de Papanicolau para el diagnóstico del estro mediante citología vaginal en perras.

VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

De 60 hembras (100%) que presentaron signos clínicos subjetivos de celo, se obtuvieron dos muestras para citología vaginal, las cuales se tiñeron con las coloraciones de Giemsa y Papanicolau.

El diagnóstico citológico se basó en el estudio del índice de maduración celular, el cual representa la distribución perceptible de los tipos de células basales, parabasales, intermedias y superficiales, procediendo a realizar el conteo de 100 células para obtener el porcentaje de las mismas.

Es importante enfatizar que el período estral en perras en estados fisiológicos normales presenta grandes variaciones que van a depender desde la raza, hasta del ciclo circadiano, por lo que resulta un poco arbitrario enmarcar a la especie en determinados parámetros; sin embargo para fines de estudio de las diferentes fases del estro, predeterminamos ciertos criterios de inclusión (tabla No.5, gráfica No. 4), con lo cual se determinó el estro por la presencia del 100% de células superficiales, de las cuales el 20% son superficiales nucleadas y el 80% superficiales anucleadas (escamas, queratinizadas, cornificadas), lo cual coincide con el período de máxima fertilidad en la perra (tabla No. 3).

Se debe tener en cuenta que, aunque los cambios en la citología exfoliativa vaginal no predicen prospectivamente el momento exacto de la ovulación, sí orientan para guiar el punto óptimo de la cópula; pudiendo complementarse el diagnóstico de celo con la medición de progesterona plasmática (tabla No. 7, gráfica No. 1).

En base al índice de maduración celular de la citología exfoliativa vaginal analizada, se presentaron en fase de proestro 25%, estro 56.67%, diestro 1.67% y Anestro 16.67% (tabla No. 3, gráfica No. 2), demostrando que no existe correlación entre signos clínicos subjetivos de celo y la citología exfoliativa vaginal, ya que 34 muestras (56.67%) se encontraban en estro, mientras que 26 muestras (43.33%) tomadas en las mismas condiciones se encontraban en otro período citológico-hormonal (tabla No 4, gráfica No. 3); lo cual indica que la citología exfoliativa vaginal debe ser utilizada para identificar los diferentes estadios del ciclo estral y determinar objetivamente la etapa de celo, para el empleo, o no, de la inseminación artificial o la monta natural.

Al realizar la correlación clínico-citológico de ambas coloraciones, los resultados no se analizaron estadísticamente por medio de la prueba de Mac Nemar ya que en ambos métodos de coloración se pudieron diferenciar muy bien las estructuras citológicas características para la determinación del celo en perras; por lo tanto no hubo diferencia entre el diagnóstico citológico mediante la coloración de Giemsa y la de Papanicolau (tabla No. 1 y 2).

En la técnica de Papanicolau el extendido celular en cuanto a formas es más definido, por la propiedad que tienen los diferentes tipos de células de adquirir un color característico, siendo apropiado utilizarla cuando se necesite realizar diagnósticos patológicos especializados. Con la coloración de Giemsa se tiñe indistintamente todo el frotis con diversas tonalidades basófilas, siendo una técnica de rápida preparación para utilizarla como práctica rutinaria en el diagnóstico del celo (Tabla No. 6).

VII. CONCLUSIONES

- Se determinó la presencia del estro por citología exfoliativa vaginal en perras mediante las coloraciones de Giemsa y Papanicolau con un 56.67% de muestras positivas a estro y un 43.33% en otro período citológico hormonal.
- No existe diferencia significativa en el diagnóstico del estro, al utilizar las coloraciones de Giemsa y Papanicolau.
- No existen correlación entre signos clínicos subjetivos de celo y datos objetivos con la citología exfoliativa vaginal.
- La fase óptima del apareamiento natural o inseminación artificial, se determinó por la presencia del 100% de células superficiales, de las cuales 20% son células superficiales nucleadas y 80% células superficiales anucleadas.
- La evaluación del índice de maduración celular en la citología exfoliativa vaginal es de utilidad para asesorar al momento propicio de la fecundación.
- Los cambios en la citología exfoliativa vaginal no se pueden utilizar para predecir prospectivamente el momento exacto de la ovulación.
- El índice de maduración celular diagnostica trastornos hormonales variados que se pueden correlacionar con enfermedades de las gónadas y glándulas de secreción interna como el tiroides y la hipófisis, así como la exposición a medicamentos con base de esteroides.

VIII. RECOMENDACIONES

- Utilizar la técnica de citología exfoliativa vaginal, midiendo en forma porcentual el índice de maduración celular como dato objetivo para diagnóstico del estro en perras.
- Utilizar la coloración de Giemsa como práctica rutinaria para diagnóstico citológico vaginal del estro.
- Utilizar la coloración de Papanicolau para diagnóstico específico del estro y de enfermedades en las estructuras del aparato reproductivo, por citología exfoliativa.
- El análisis de la citología vaginal puede ser utilizada para diagnosticar enfermedades inflamatorias, virales, bacterianas, parasitarias, fúngicas y neoplásicas.
- Obtener la muestra citológica del tercio medio superior de la vagina, utilizando espéculo, para mejorar la sensibilidad en el índice de maduración celular.
- Determinar la concentración de progesterona plasmática para aumentar la sensibilidad en el diagnóstico del estro por medio de citología exfoliativa vaginal.
- Realizar frotis seriado cada dos días, luego de observar los signos clínicos de la fase de proestro, para evidenciar el cambio celular y determinar la etapa del estro.

- Realizar estudios semiológicos del estro por raza, para determinar la fase apropiada en la toma citológica y evaluar el índice de maduración celular.

IX. RESUMEN

Se efectuó citología exfoliativa vaginal en 60 hembras, especie canina, de diferente raza, peso y edad, aparentemente sanas, con signos clínicos subjetivos de celo, realizado en clínicas veterinarias, criaderos y casas particulares. Se obtuvieron dos frotos citológicos de la mucosa vaginal, tiñéndose con las coloraciones de Giemsa y Papanicolau.

El diagnóstico citológico se basó en el análisis del índice de maduración celular, procediendo a realizar el conteo de 100 células para obtener el porcentaje de las mismas. La fase del estro se determinó por la presencia del 100% de células superficiales, de las cuales 20% fueron superficiales nucleadas y 80% superficiales anucleadas (escamas, queratinizadas, cornificadas).

En base al índice de maduración celular de la citología exfoliativa vaginal, se encontró: en fase de proestro 25%, estro 56.67%, diestro 1.67% y anestro 16.67%, lo cual indica que **no** existe correlación entre signos clínicos subjetivos de celo y la citología exfoliativa vaginal, pues de 34 muestras (56.67%) se encontraban en estro mientras que 26 muestras (43.33%) se encontraban en otro período citológico–hormonal.

Al realizar la correlación clínico-citológico de ambas coloraciones, no se encontró diferencia significativa entre el diagnóstico mediante las coloraciones de Giemsa y Papanicolau.

X. BIBLIOGRAFÍA

1. Adams, D. 1998. Anatomía canina. Trad. J. Laborda. España, Acribia. 255 -268p.
2. Alba, R. 2005. Uso de la nitrocelulosa en las tinciones citológicas (en línea). Consultado 1 ago. 2007. Disponible en www.conganat.org
3. Allen, W. 1993. Fertilidad y Obstetricia canina. Trad P. Ducar Maluenda. España, Acribia. 1 – 29p.
4. Antelo, R. Determinación de días fértiles en la perra (en línea). consultado 25 ago. 2007. Disponible en www.vetlantranquera.com.ar
5. Arciniega, A. 2002. La reproducción canina (I) (en línea). Consultado 25 ago. 2007. Disponible en www.club-caza.com
6. Barcenas, J. 2002. Celo o ciclo estral de las perras (en línea). Consultado 5 nov. 2006. Disponible en www.tuperro.com.mx
7. Belligotti, V. Ciclo reproductivo en caninos y felinos (en línea). consultado 25 agosto. 2007. Disponible en www.veterinariosursf.com.ar
8. Birchard, S; Sherding, R. 1996. Manual clínico de pequeñas especies. Trad. S. Lara Díaz, LJ. Alanís, R. Méndez, M. Alcantara. México, McGraw-Hill Interamericana. 1747 p.
9. Calixto, F; Ribiera, V. 2004. Diagnóstico de las fases del ciclo estral a través de citología vaginal en perras (en línea). Consultado 25 ago. 2007. Disponible en www.cfmv-org.br

10. Céspedes, R; Pradere, J; Bermúdez, V; Díaz. 2006. Irrigación arterial y venosa del útero y los ovarios de la perra y su relación con la actividad ovárica (en línea). Consultado 8 nov. 2006. Disponible en www.sebi.luz.edu.ve
11. Citología vaginal en la perra. 2003. (en línea). Consultado 1 ago. 2007. Disponible en www.covetcba.com.ar
12. Cole, HH; Cupps, PT. Reproducción de los animales domésticos. España, Acribia. 267 – 447 p.
13. Corrada, Y. 2003. Reproducción canina (en línea). Consultado 20 jun. 2007. Disponible en www.todoperros.com
14. Dahigren, R. 1999. Citología vaginal exfoliativa en la perra. Aristón Purina Company. 3 – 5p.
15. Dellman, D. 1994. Histología veterinaria. Trad por M. Arnal. 2 ed. España, Acribia. 267 – 290p.
16. Derivaux, J. 1982. Reproducción de los animales domésticos. Trad. J. Gómez. 2 ed. España, Acribia. 17 – 18 p.
17. Derivauxy, J; Ectors, F. 2000 Fisiología de la gestación y obstetricia veterinaria. Trad Emilio Espinosa. España, Acribia. 28p.
18. Determinación del momento óptimo para el apareamiento. 2006 (en línea). Consultado 25 ago. 2007. Disponible en www.publications.royalcanin.com
19. Dyce, KW; Sack, WO; Wesing. C. 1999. Anatomía Veterinaria. México, Mc Graw – Hill Interamericana. 482 – 477 p.

20. England, G. 2002. Determinación del momento de apareamiento óptimo en la perra (en línea). Consultado 10 nov. 2006. Disponible en www.fcv.unlp.edu.ar
21. England, G; Concannon. P. 2002. Recent advances in small animal reproduction (en línea). Consultado 6 nov. 2006. Disponible en www.ivis.org
22. Esquivel, C. 2005. Alteraciones del aparato reproductor de la perra (en línea). Consultado 8 nov. 2006. Disponible en www.ammve.com
23. Fariña, J. 2001. Ciclo estral (en línea). Consultado 20 jun. 2007. Disponible en www.dip-alicante.es
24. Gobello, C. 2001. Fisiología de la reproducción en caninos y felinos domésticos (en línea). Consultado 5 nov. 2006. Disponible en www.foyel.com
25. Gobello, C. 2006. Citología vaginal (en línea). Consultado 20 de jun. 2007. Disponible en www.foyel.com
26. Jiménez, M; Nogales, F. 1997. Citología ginecológica. España. Científico – Medica. 215 p.
27. Lqc, M. 2007. Divulgación científica de la química clínica (en línea). Consultado 1 ago. 2007. Disponible en www.quimicaclinicauv.blogspot.com
28. Monachesi, N. Ciclo sexual de la perra (en línea). Consultado 5 nov. 2006. Disponible en www.foyel.com
29. Musolino, C; Olioveira, C; Montal, L. 2001. Alteraciones del ciclo estral en perras (en línea). Consultado 30 ago. 2007. Disponible en www.redevet.com.br

30. Nusslag, W. 1977. Anatomía y Fisiología de los animales domésticos. Trad. J. Muñoz. España, Acribia. 176 – 192 p.
31. Olivares, R; Adaro, L. 2000. Algunas consideraciones anatómicas del aparato reproductor de la perra (en línea). Consultado 1 ago. 2007. Disponible en www.tecnovet.uchile.cl
32. Paredes, M. 2007. Ciclo sexual de la perra (en línea). Consultado 1 ago. 2007. Disponible en www.perrosdemexico.com.mx
33. Purswell, B; Nikola, P. 2000. Infertilidad en la perra (en línea). Consultado 30 ago. 2007. Disponible en www.seleccionesveterinarias.com
34. Sánchez, A; Rubilar, J. 2001. Obtención de cachorros mediante inseminación artificial con semen canino refrigerado (en línea). Consultado 20 jun. 2007. Disponible en www.scielo.cl
35. Sorribas, CE. 2005. Atlas de reproducción canina. Argentina, Intermédica. 1– 51 p.
36. Wanke, M.1991. Cuando debo servir a mi perra (en línea). Consultado 5 nov. 2006. Disponible en www.foyel.com
37. _____. 1991. El servicio de los perros (en línea). Consultado 25 agosto. 2007. Disponible en www.foyel.com
38. Wikipedia. 2007. Tinción de giemsa (en línea). Consultado 1 ago. 2006. Disponible en www.es.wikipedia.org

XI. ANEXOS

TABLA No.1

RESULTADOS DE CITOLOGÍA VAGINAL CON LA COLORACIÓN DE **GIEMSA** PARA EL DIAGNÓSTICO DEL ESTRO EN PERRAS EN LA CIUDAD CAPITAL OBTENIDAS DURANTE EL PERÍODO DE SEPTIEMBRE DEL 2007 A MAYO DEL 2008.

NÚMERO DE PACIENTE	POSITIVO	NEGATIVO
01	➤	
02		➤
03		➤
04	➤	
05	➤	
06	➤	
07	➤	
08		➤
09	➤	
10	➤	
11		➤
12		➤
13	➤	
14	➤	
15		➤
16	➤	
17	➤	
18	➤	
19	➤	
20		➤
21		➤
22		➤
23		➤
24		➤
25	➤	

26		➤
27		➤
28	➤	
29	➤	
30	➤	
31	➤	
32	➤	
33	➤	
34	➤	
35	➤	
36	➤	
37	➤	
38	➤	
39	➤	
40	➤	
41	➤	
42	➤	
43	➤	
44	➤	
45	➤	
46	➤	
47	➤	
48		➤
49		➤
50		➤
51		➤
52		➤
53		➤
54		➤
55		➤
56		➤

57		➤
58		➤
59		➤
60		➤

TABLA No.2

RESULTADOS DE CITOLOGÍA VAGINAL CON LA COLORACIÓN DE PAPANICOLAU PARA EL DIAGNÓSTICO DEL ESTRO EN PERRAS EN LA CIUDAD CAPITAL OBTENIDAS DURANTE EL PERÍODO DE SEPTIEMBRE DEL 2007 A MAYO DEL 2008.

NÚMERO DE PACIENTE	POSITIVO	NEGATIVO
01	➤	
02		➤
03		➤
04	➤	
05	➤	
06	➤	
07	➤	
08		➤
09	➤	
10	➤	
11		➤
12		➤
13	➤	
14	➤	
15		➤
16	➤	
17	➤	
18	➤	
19	➤	
20		➤
21		➤
22		➤
23		➤
24		➤

25	➤	
26		➤
27		➤
28	➤	
29	➤	
30	➤	
31	➤	
32	➤	
33	➤	
34	➤	
35	➤	
36	➤	
37	➤	
38	➤	
39	➤	
40	➤	
41	➤	
42	➤	
43	➤	
44	➤	
45	➤	
46	➤	
47	➤	
48		➤
49		➤
50		➤
51		➤
52		➤
53		➤
54		➤
55		➤

56		➤
57		➤
58		➤
59		➤
60		➤

TABLA No. 3

RESULTADOS DE CITOLOGÍA VAGINAL PARA EL DIAGNÓSTICO DEL ESTRO MEDIANTE LA COLORACIÓN DE GIEMSA Y PAPANICOLAU EN PERRAS EN LA CIUDAD CAPITAL CON SIGNOS CLÍNICOS DEL ESTRO, DURANTE EL PERÍODO DE SEPTIEMBRE DEL 2007 A MAYO DEL 2008.

NÚMERO DE PACIENTE	CÉLULAS BASALES, PARABASALES %	CÉLULAS INTERMEDIAS %	CÉLULAS SUPERFICIALES		LEUCOCITOS	ERITROCITOS	DIAGNÓSTICO
			NUCLEADAS %	A NUCLEADAS*			
01	0	0	90	10	-	+	Estro
02	80	20	-	-	-	-	Anestro
03	-	80	10	10	-	-	Proestro
04	0	0	90	10	-	-	Estro
05	0	0	95	5	-	-	Estro
06	0	0	60	40	-	-	Estro
07	0	0	95	5	-	-	Estro
08	0	90	5	5	-	-	Proestro
09	0	0	90	10	-	-	Estro
10	0	0	90	10	-	-	Estro
11	80	20	0	0	-	-	Anestro
12	10	85	5	0	++	-	Proestro
13	0	0	90	10	-	-	Estro
14	0	0	80	20	-	-	Estro
15	0	60	40	0	+	-	Proestro
16	0	0	90	10	-	-	Estro
17	0	0	60	40	-	-	Estro
18	0	0	30	70	-	-	Estro
19	0	0	60	40	-	+++	Estro
20	0	85	10	5	+	-	Proestro

+ = Escasa cantidad.

++ = Regular cantidad.

+++ = Abundantes.

* Sinónimos de células superficiales anucleadas: escamas, queratinizadas, cornificadas.

NÚMERO DE PACIENTE	CÉLULAS BASALES, PARABASALES %	CÉLULAS INTERMEDIAS %	CÉLULAS SUPERFICIALES		LEUCOCITOS	ERITROCITOS	DIAGNÓSTICO
			NUCLEADAS %	A NUCLEADAS %			
21	0	80	10	10	+	-	Proestro
22	30	80	10	0	+++	-	Proestro
23	10	90	0	0	+	-	Anestro
24	5	95	0	0	+++	-	Anestro
25	0	30	50	20	++	-	Estro
26	10	80	10	0	+++	-	Proestro
27	0	75	20	5	+++	-	Proestro
28	0	0	80	20	-	+	Estro
29	0	0	90	10	-	+	Estro
30	0	0	80	20	-	+	Estro
31	0	0	90	10	-	-	Estro
32	0	0	70	30	-	+++	Estro
33	0	0	80	20	-	+	Estro
34	0	10	70	20	+++	-	Estro
35	0	0	80	20	-	-	Estro
36	0	0	90	10	-	+++	Estro
37	0	0	80	20	-	-	Estro
38	0	0	80	20	-	-	Estro
39	0	0	90	10	+++	-	Estro
40	0	5	85	10	-	-	Estro

+ = Escasa cantidad.

++ = Regular cantidad.

+++ = Abundantes.

* Sinónimos de células superficiales anucleadas: escamas, queratinizadas, cornificadas.

NÚMERO DE PACIENTE	CÉLULAS BASALES, PARABASALES %	CÉLULAS INTERMEDIAS %	CÉLULAS SUPERFICIALES		LEUCOCITOS	ERITROCITOS	DIAGNÓSTICO
			NUCLEADAS %	A NUCLEADAS (%)			
41	0	0	80	20	-	+	Estro
42	0	0	90	10	-	+++	Estro
43	0	0	30	70	+++	+++	Estro
44	0	0	80	20	+++	+++	Estro
45	0	0	80	20	+	+++	Estro
46	0	0	30	70	+++	-	Estro
47	0	0	85	15	-	+++	Estro
48	10	50	30	10	+++	+	Diestro
49	10	90	0	0	+++	+	Proestro
50	5	95	0	0	+++	-	Proestro
51	0	80	10	10	+++	-	Proestro
52	80	20	0	0	-	-	Anestro
53	70	30	0	0	+	-	Anestro
54	80	20	0	0	+++	-	Anestro
55	90	10	0	0	++	-	Anestro
56	20	70	10	0	-	-	Proestro
57	40	60	0	0	-	+	Anestro
58	20	80	0	0	+++	-	Anestro
59	20	80	0	0	+++	+++	Anestro
60	30	70	0	0	+++	-	Anestro

+ = Escasa cantidad.

++ = Regular cantidad.

+++ = Abundantes.

* Sinónimos de células superficiales anucleadas: escamas, queratinizadas, cornificadas.

CORRELACIÓN ENTRE EL DIAGNÓSTICO CLÍNICO Y EL DIAGNÓSTICO POR MEDIO DE CITOLOGÍA VAGINAL EN PERRAS CON PRESENCIA DEL ESTRO EN LA CIUDAD CAPITAL OBTENIDAS DURANTE EL PERÍODO DE SEPTIEMBRE DEL 2007 A MAYO DEL 2008.

NÚMERO DE PACIENTE	SIGNOS CLÍNICOS	DIAGNÓSTICO CITOLÓGICO
01	Vulva edematizada, flujo rosado, lateralización de la cola, elevación de los labios vulvares, modificación de conducta.	ESTRO
02	Vulva edematizada, poco flujo rosado, modificación de conducta, tensión del tren posterior.	ANESTRO
03	Vulva edematizada, flujo rosado, lateralización de la cola, eleva los labios vulvares, modificación de la conducta, atracción de los machos.	PROESTRO
04	Vulva edematizada, flujo rosado en vulva, modificación de la conducta, tensión del tren posterior, atracción de los machos y aceptación de los machos.	ESTRO
05	Flujo rosado, vulva blanda, cambio de conducta, tensión del tren posterior, atracción de machos, lateralización de la cola a la palpación, no acepta la monta natural.	ESTRO
06	Vulva edematizada poco blanda, flujo rosado, cambio de conducta, tensión del tren posterior, lateraliza la cola.	ESTRO
07	Vulva edematizada y blanda, atrae machos, flujo rosado, modificación de la conducta, lateraliza la cola, tensión del tren posterior, elevación de labios vulvares, aceptación del macho.	ESTRO
08	Vulva edematizada, atrae machos, modificación de la conducta, lateraliza la cola y eleva los labios a la palpación, tensión del tren posterior.	PROESTRO
09	Solo presenta vulva poco edematizada, fluido color rosado en la comisura de los labios vulvares, no ha cambiado su conducta.	ESTRO
10	Vulva blanda, flujo rosado, atrae machos, lateraliza la cola, eleva los labios vulvares, tensión del tren posterior, modificación de la conducta.	ESTRO
11	Vulva edematizada blanda, flujo rosado, atrae machos, lateraliza la cola, eleva los labios vulvares, modificación de la conducta. fue montada por el	ANESTRO

	macho hace 2 días.	
12	Vulva edematizada blanda, flujo rosado, atracción de machos, tensión del tren posterior, lateralización de la cola, rechazo al macho.	PROESTRO
13	Vulva edematizada y blanda, presencia de flujo rosado, aceptación del macho, tensión del tren posterior y lateralización de la cola.	ESTRO
14	Vulva edematizada blanda, no hay presencia de flujo, elevación de los labios vulvares, rechaza al macho.	ESTRO
15	Vulva edematizada blanda, presencia de flujo rojizo, tensión del tren posterior, eleva la cola, ya ha tenido una monta con el macho.	PROESTRO
16	Vulva edematizada blanda, atracción de machos, no hay presencia de flujo, modificación de conducta, lateraliza la cola, tensión del tren posterior, elevación de los labios vulvares.	ESTRO
17	Vulva edematizada blanda, flujo rosado, lateraliza la cola, tensión del tren posterior, rechaza al macho.	ESTRO
18	Vulva edematizada blanda, flujo rosado, lateraliza la cola, acepta al macho,	ESTRO
19	Vulva edematizada, lateraliza la cola, tensión del ten posterior, eleva los labios vulvares, no permite la monta natural.	ESTRO
20	Vulva edematizada, flujo rosado, eleva los labios vulvares, lateraliza la cola, tensiona el tren posterior, acepta la monta.	PROESTRO
21	Vulva edematizada, flujo rosado, elevación de la cola, elevación de labios vulvares, tensión del tren posterior, cambio de conducta, acepta al macho.	PROESTRO
22	Vulva edematizada, flujo rosado, elevación de la cola, modificación de conducta, elevación de labios vulvares.	PROESTRO
23	Vulva edematizada, elevación de la cola, modificación de conducta, tensión del tren posterior, lateralización de la cola.	ANESTRO
24	Vulva edematizada, aceptación del macho, elevación de la cola, tensión del tren posterior.	ANESTRO
25	Vulva poco edematizada, no acepta al macho.	ESTRO
26	Vulva edematizada blanda, flujo rosado, eleva los labios vulvares, lateraliza la cola, modificación de conducta.	PROESTRO
27	Vulva edematizada, flujo rojizo, lateraliza la cola, tensión del tren posterior, eleva labios vulvares,	PROESTRO

28	Vulva edematizada blanda, flujo rojizo, no acepta al macho.	ESTRO
29	Vulva edematizada blanda, flujo rosado, eleva los labios vulvares, tensión del tren posterior, lateralización de la cola, acepta la monta natural.	ESTRO
30	Vulva edematizada, flujo rosado, no acepta al macho	ESTRO
31	Vulva edematizada, flujo rojizo, no acepta al macho	ESTRO
32	Vulva edematizada blanda, flujo rosado, eleva labios vulvares, tensión del tren posterior, lateralización de la cola, atracción de machos, aceptación del macho.	ESTRO
33	Vulva edematizada blanda, flujo rojizo, eleva los labios vulvares, mete la cola en el perineo.	ESTRO
34	Vulva edematizada, sin presencia de flujo.	ESTRO
35	Vulva edematizada blanda, flujo rosado, lateralización de la cola, cambio de conducta.	ESTRO
36	Vulva edematizada blanda, flujo rosado, lateralización de la cola, tensión del tren posterior, eleva los labios vulvares.	ESTRO
37	Vulva edematizada, flujo rojizo, lateralización de la cola, tensión del tren posterior, eleva los labios vulvares, no acepta al macho.	ESTRO
38	Vulva edematizada, flujo rosado, modificación de conducta, atrae machos, eleva los labios vulvares, tensión del tren posterior.	ESTRO
39	Vulva edematizada, flujo rosado, tensiona la cola hacia el perineo.	ESTRO
40	Vulva edematizada blanda, flujo rosado, tensión del tren posterior, eleva los labios vulvares, lateraliza la cola, atrae machos, acepta al macho.	ESTRO
41	Vulva edematizada blanda, flujo rosado, tensión del tren posterior, elevación de labios vulvares, cambio de conducta, aceptación del macho.	ESTRO
42	Vulva edematizada blanda, ya fue montada por el macho.	ESTRO
43	Vulva edematizada blanda, modificación de conducta, elevación de los labios vulvares, tensión del tren posterior, lateralización de la cola, acepta al macho.	ESTRO
44	Vulva edematizada, flujo rosado, muy agresiva.	ESTRO
45	Vulva edematizada, flujo rosado, lateralización de la cola, tensión del tren posterior, cambio de conducta.	ESTRO
46	Vulva edematizada, flujo rojizo, cambio de conducta, lateralización de la cola, acepta al macho.	ESTRO

47	Vulva edematizada, flujo rosado, lateralización de la cola, tensión del tren posterior, elevación de los labios vulvares, aceptación del macho.	ESTRO
48	Vulva edematizada blanda, flujo rosado, acepta al macho.	DIESTRO
49	Vulva edematizada, flujo rojizo, lateralización de la cola, tensión del tren posterior, conducta agresiva.	PROESTRO
50	Vulva edematizada, flujo rojizo, cola entre el perineo, cambio de conducta.	PROESTRO
51	Vulva edematizada blanda, flujo rosado, tensión tren posterior, lateralización de la cola, atrae machos.	PROESTRO
52	Vulva edematizada, flujo rosado, agresividad hacia los machos.	ANESTRO
53	Vulva edematizada, flujo rosado, tensión del tren posterior, lateralización de la cola, agresividad hacia los machos.	ANESTRO
54	Vulva edematizada, cambio de conducta. fue montada hace 2 días por un macho.	ANESTRO
55	Vulva edematizada, flujo rosado, lateralización de la cola, cambio de conducta.	ANESTRO
56	Vulva edematizada, flujo rojizo, lateralización de la cola, tensión del tren posterior, cambio de conducta.	PROESTRO
57	Vulva edematizada, cambia de conducta.	ANESTRO
58	Vulva edematizada, cambio de conducta, tensión del tren posterior, rechaza los machos.	ANESTRO
59	Vulva edematizada, flujo rosado, atrae machos.	ANESTRO
60	Atrae machos, tensión del tren posterior.	ANESTRO

GUÍA DE REFERENCIAS PARA EL DIAGNÓSTICO DE LAS FASES DEL CICLO ESTRAL EN LA PERRA

FASE ESTRAL	HORMONAS IMPLICADAS	CAMBIOS CITOLÓGICOS OBSERVABLES
PROESTRO	FSH- alta concentración. LH- alta concentración al final de la fase. E2-alta concentración al final. P4- ligero aumento al final.	<p>Al inicio de la fase se observan o no escasas células parabasales, regular cantidad de células intermedias, escasas células superficiales nucleadas, eritrocitos abundantes, neutrófilos escasos.</p> <p>A mitad de la fase se observan abundantes células intermedias, abundantes células superficiales nucleadas y escasas células superficiales anucleadas, abundantes eritrocitos y escasos neutrófilos.</p> <p>Al finalizar la fase se observan escasas células intermedias, abundantes células superficiales nucleadas; y regular cantidad de células superficiales anucleadas; escasos eritrocitos.</p> <p>*Regularmente, en esta fase el fondo del frote citológico se observa con impurezas y con abundantes eritrocitos.</p> <p>**En el presente estudio, para homogenizar la terminología definimos, a las células superficiales con núcleo normal o picnótico y células superficiales sin núcleo, cuyos sinónimos son: escamas, queratinizadas, cornificadas.</p>
ESTRO	FSH- concentración basal. LH- decreciente concentración. E2- decreciente concentración. P4- aumentando su concentración.	<p>Al inicio de la fase se observan abundantes células superficiales con núcleo picnótico y regular cantidad de células superficiales anucleadas; eritrocitos ausentes.</p> <p>A mitad de la fase se observa escasa cantidad de células superficiales</p>

		<p>nucleadas y muy abundante cantidad de células superficiales anucleadas; por lo que para el presente estudio se determinó por la presencia del 100% de Células Superficiales, de las cuales 20% son nucleadas y 80% anucleadas, lo cual coincide con el período de máxima fertilidad en la perra.</p> <p>Al finalizar la fase se observan abundantes células superficiales anucleadas; escasas células superficiales nucleadas y escasa cantidad de células intermedias.</p>
DIESTRO	<p>FSH- concentración basal. LH- concentración basal. E2- concentración basal. P4- sube hasta la concentración más alta e inicia descenso lento.</p>	<p>Células Parabasales: a medida que avanza esta fase, disminuyen en cantidad. Eritrocitos: generalmente ausentes. Neutrófilos: abundantes al comienzo de la fase, luego descienden.</p>
ANESTRO	<p>FSH- crecimiento lento. LH- concentración basal. E2- lento crecimiento, aumenta su concentración al final de la fase. P4- concentración basal</p>	<p>Células Parabasales: predominan en esta fase. Células Intermedias: de tamaño pequeño. Neutrófilos: número variable. Eritrocitos: ausentes. Extendido vaginal regularmente presenta escasa densidad celular.</p>

*Sinónimos de células superficiales anucleadas: escamas, queratinizadas, cornificadas.

FASE ESTRAL	PROMEDIO DURACION DE LA FASE	SIGNOS CLÍNICOS	OBSERVACION VAGINOSCÓPICA
PROESTRO	9-10 días	Inflamación vulvar con cierto grado de turgencia, secreciones sanguinolentas, micción frecuente, excitable, atrae machos, mantiene la cola en el perineo, desobedece, gruñe y se torna agresiva hacia los machos, no permite el apareamiento.	La mucosa vaginal de color rosa, edematizada y con pliegues grandes, redondos y longitudinales con abundantes secreciones sanguinolentas.
ESTRO	5-10 días	Vulva edematizada pero blanda, disminución del flujo sanguinolento y se torna color rosado, modifica su conducta, lateraliza la cola, tensiona el tren posterior, eleva los labios vulvares, atrae y acepta al macho.	Secreciones vaginales de color rosa al inicio y de color marrón al final y hasta de color blanco y de consistencia seca con pliegues profundos longitudinales, engrosados y pliegues secundarios, se puede apreciar el lumen craneal de la mucosa vaginal.
DIESTRO	56-63 días en preñez 70-80 días en no preñez	Deja de aceptar y atraer al macho, vulva menos tumefacta, puede haber un flujo mucoide para luego observar la vulva de tamaño normal y sin presencia de secreciones. Puede quedar preñada si fue servida o haber una pseudogestación.	Mucosa con pliegues engrosados y redondos separados y poco profundos, de colores rosado pálido o fuertes, con áreas hiperémicas y poco húmedos. Secreciones ausentes.
ANESTRO	+/- 3 meses	No presenta signos particulares, ni tampoco alteraciones en el comportamiento, es un período de inactividad ovárica y es el reposo del parto genital.	Mucosa vaginal pálida y sin pliegues, sin presencia de secreciones vaginales.

TABLA No. 6.**CARACTERÍSTICAS OBSERVADAS EN LA CITOLOGÍA VAGINAL MEDIANTE LAS COLORACIONES DE GIEMSA Y PAPANICOLAU.**

CELULAS	PAPANICOLAU	GIEMSA
BASAL	Citoplasma; azul o verde oscuro homogéneo. Núcleo; oscuro y prominente	Citoplasma: basófilo. Núcleo: basófilo poco mas oscuro que el citoplasma.
PARABASAL	Citoplasma; cianófilos, pero mas claro que las basales. Algunas veces rosado (eosinófilo). Núcleo; redondo y oval menos voluminoso que las basales, se torna de los colores obtenidos por el citoplasma pero mas oscuro.	Citoplasma: basófilo. Núcleo: basófilo oscuro.
INTERMEDIA	Citoplasma: azul claro (basófilo), verde o violáceo, algunas veces eosinófilo. Núcleo: redondo u oval y mas oscuro que el citoplasma.	Citoplasma: basófilo con mayor cantidad de citoplasma que las anteriores. Núcleo: basófilo oscuro.
SUPERFICIAL NUCLEADA	Citoplasma: transparente y núcleo picnótico, de color eosinófilo, azul pálido (basófilas) Las eosinófilas son más maduras que las basófilas.	Citoplasma: basófilo pálido. Núcleo: picnótico oscuro.
SUPERFICIAL ANUCLEADA	Escama: de color eosinófilo, puede haber de color amarillo o de color anaranjado. Se colorean débilmente.	Escama: basófila débilmente coloreada.

TABLA No. 7.

CONCENTRACIONES HORMONALES DE PROGESTERONA Y ESTROGENOS EN PERRAS DURANTE ALGUNAS FASES DEL CICLO ESTRAL.

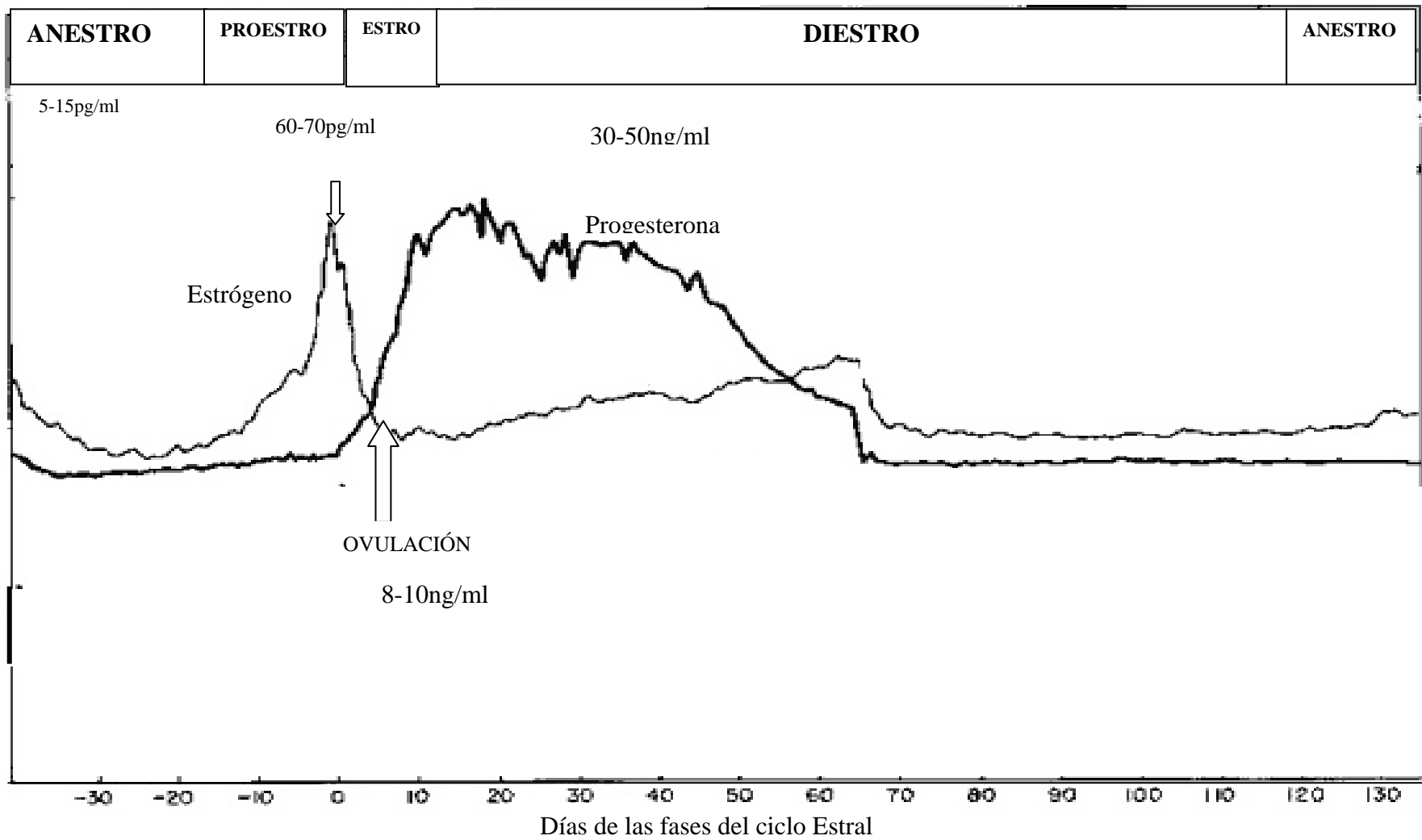
PROGESTERONA	ESTRÓGENOS
Proestro 0.5 ng/ml.	Anestro 5-15 pg/ml.
Final de Proestro e inicios del Estro 1.0ng/ml.	Proestro clínico 15 pg/ml.
Momento de ovulación 8 – 10 ng/ml.	Proestro temprano 25pg/ml.
Diestro 30-50 ng/ml.	Proestro tardío 60-70 pg/ml
Anestro concentración basal.	Diestro y Anestro concentración basal

La PROGESTERONA se expresa en unidades de nanogramos por mililitro (ng/ml). Es equivalente a $1 \text{ ng} = 1 \cdot 10^{-9} \text{ g}$.

Los ESTRÓGENOS se expresan en unidades de picogramos por mililitro (pg/ml). Es equivale a $1 \text{ pg} = 1 \cdot 10^{-12} \text{ g}$.

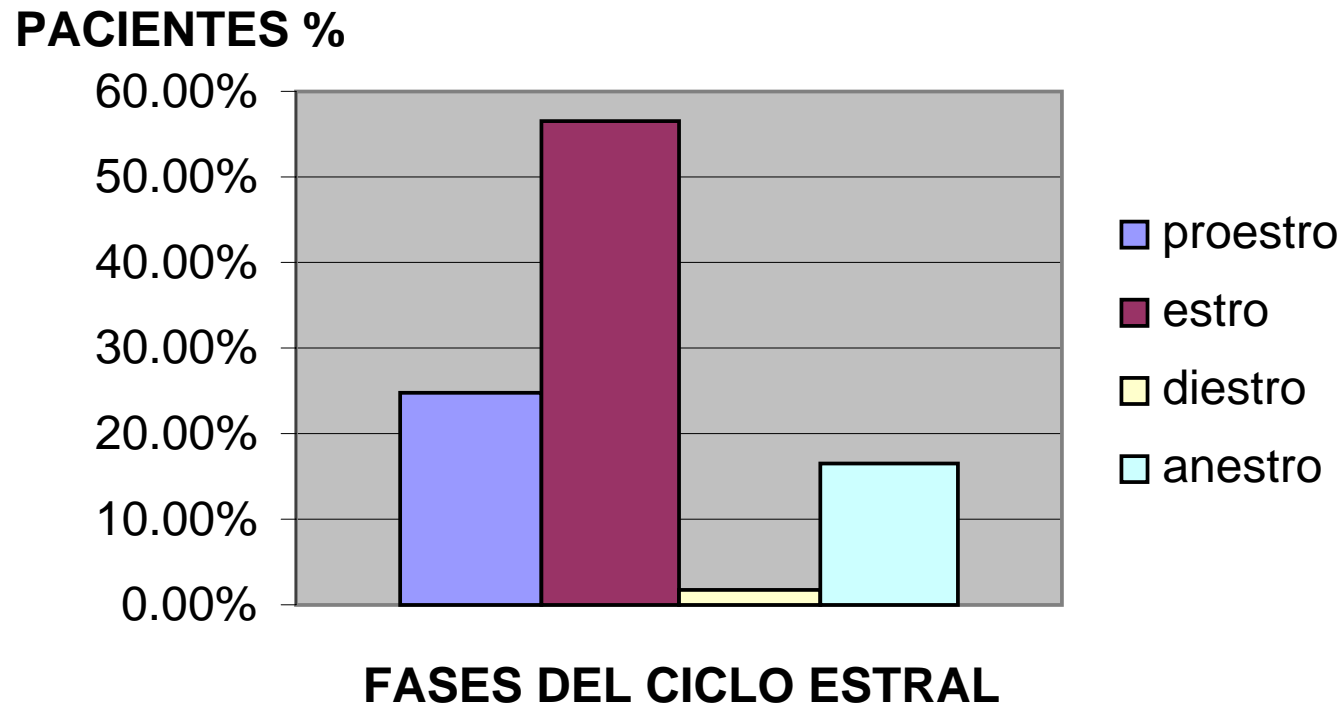
GRÁFICA: para poder expresar las concentraciones hormonales en la gráfica, se realizó de forma cualitativa, debido a que la concentración de Progesterona se expresa en ng/ml, y los Estrógenos en pg/ml. Siendo las pulsaciones Estrogénicas 1000 veces menor en cuanto a concentración; debido a esto no se pueden expresar las concentraciones de dichas hormonas de forma cuantitativa en una gráfica de este tipo ya que las concentraciones estrogénicas son imperceptibles al graficarlas, comparándola con las concentraciones hormonales de la progesterona.

GRAFICA No. 1.



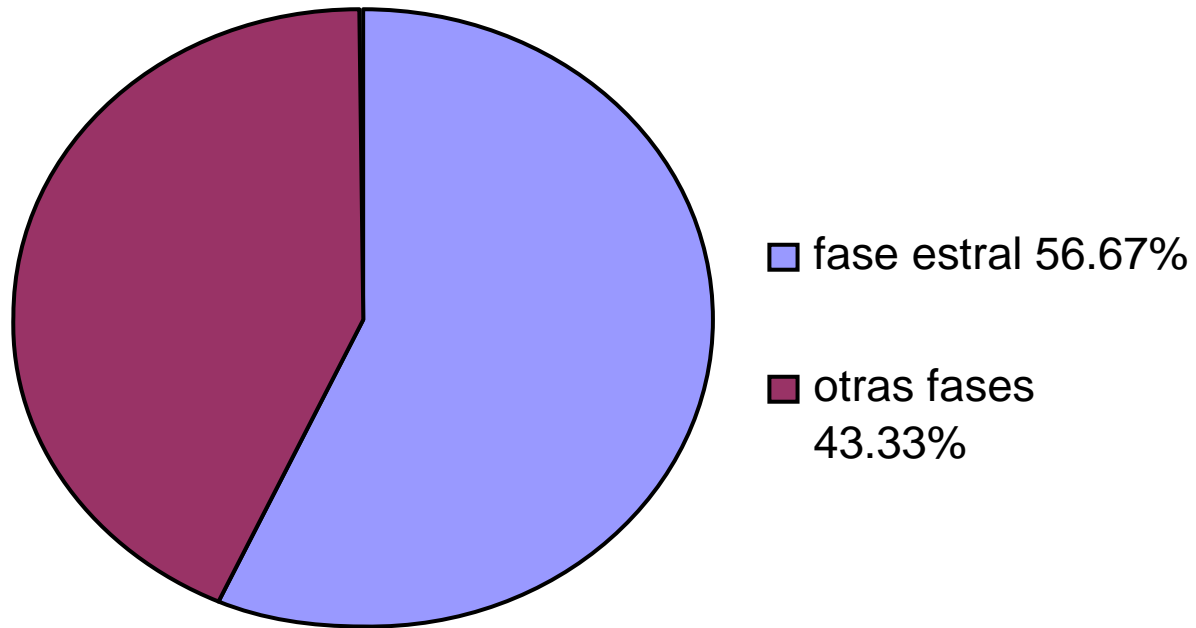
GRAFICA No. 2.

INDICE DE MADURACION CELULAR DE PACIENTES MUESTREADAS CON SIGNOS CLÍNICOS DEL ESTRO



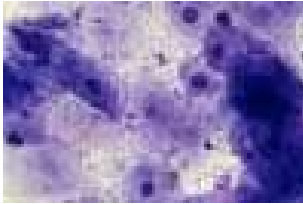
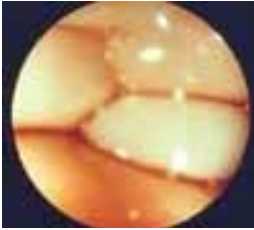
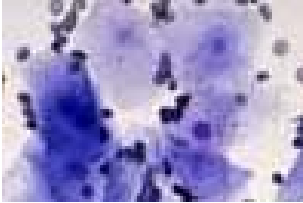

GRAFICA No. 3.

RESULTADOS DE LA CITOLOGÍA VAGINAL EN PERRAS CON PRESENCIA CLÍNICA DEL ESTRO



GRAFICA No. 4.

IMÁGENES OBSERVADAS EN LA CITOLOGÍA Y VAGINOSCOPIA VAGINAL, EN PERRAS CON CICLO ESTRAL NORMAL.

FASE ESTRAL	CITOLOGIA	VAGINOSCOPIA
PROESTRO		
ESTRO		
DIESTRO	