

Del Instituto de Fisiología
de la Universidad de Concepción (Chile)
Director Prof. Dr. A. Lipschütz

El raspaje vaginal como medio de seguir el ciclo sexual en la hembra del cuy

Por O. SOENKSEN

Ayudante del Instituto de Fisiología de la
Universidad de Concepción

1.—Generalidades

Desde 1917, cuando se publicó el trabajo de *Stockard y Papanicolaou* (1) de Nueva York, es conocido el hecho de que puede seguirse el ciclo sexual de la hembra, en el cuy, practicando a diario el raspaje vaginal. Tiene este descubrimiento una trascendental importancia para las investigaciones experimentales del Laboratorio, en cuanto tengan relación, con la glándula sexual femenina, el ovario.

En el ciclo sexual de la hembra se pueden distinguir dos períodos: uno, el período del celo, que corresponde a la maduración folicular, a la ovulación, y el período intermediario. Es durante el celo cuando la hembra acepta las relaciones sexuales con el macho; siempre que la relación sexual tenga lugar, la hembra está en celo, y hé aquí un medio para reconocer este período, pero un medio muy poco exacto.

El método del raspaje vaginal de *Stockard y Papanicolaou* consiste en examinar al microscopio la secreción vaginal. *Stockard y Papanicolaou* lo han estudiado en el cuy, *Allen* (2) en la laucha blanca, *Long y Evans* (3) en el ratón. Se ha hecho un estudio muy completo del ciclo sexual de estos animalitos. El libro publicado por *Long y Evans* en 1922, como resultado de sus muy prolifas investigaciones, es el estudio más completo que se ha hecho sobre este interesante problema. Posteriormente este mismo problema ha sido abordado por numerosos investigadores y en distintos países, para otras especies, como ser para el macaco por *Corner* (4), para la vaca por *Frei* (5) y para la yegua por *Murphy*

(1) C. R. Stockard y G. N. Papanicolaou. Amer. Journ. of Anat. 22, 225; 1917.

(2) E. Allen. Amer. Journ. of Anat. 30, 297; 1922.

(3) I. A. Long y H. M. Evans. Mem. of the Univ. of California, 6, 1922.

(4) G. W. Corner. Carnegie Publ. N.º 352. Carnegie Institution. Washington. 1924.

(5) W. Frei u. E. Metzger Berliner Tierärztl. Wochenschrift, 42, 645; 1926.

(1). A algunos de estos trabajos tendré oportunidad de referirme más adelante.

II.—Técnica del raspaje vaginal

En este punto haré una exposición rápida de la forma en que yo lo practico, pues todos le han introducido pequeñas modificaciones.

Previa inmovilización del animal, se limpian con un paño los genitales externos. En seguida se calienta ligeramente a la llama una pequeña espátula metálica e introduciéndola cuidadosamente en la vagina, se practica un suave raspaje de sus paredes. Se saca la espátula y el producto del raspaje se extiende sobre un portaobjetos. Se seca a la llama, o de preferencia con alcohol metílico, y se tiñe en seguida con hematoxilina (2 minutos) y eosina (15 segundos). Se seca nuevamente y se observa al microscopio.

Algunos investigadores practican el raspaje por medio de una torunda de algodón, sobre cuyas desventajas hablaré mas adelante.

III.—El raspaje vaginal observado bajo el microscopio

Observando cuidadosamente y a diario el raspaje vaginal se revela el hecho de que durante el ciclo sexual aparecen bajo el campo del microscopio tres elementos morfológicos distintos. Ellos son: leucocitos, células epiteliales y células cornificadas. Estos tres elementos se encuentran combinados de una manera distinta y muy característica, durante el ciclo sexual.

Siguiendo la nomenclatura de *Stockard* y *Papanicolaou* dividiremos el ciclo sexual en cuatro períodos.

a) El primer período se caracteriza por una gran abundancia de células epiteliales poligonales de regular tamaño. Se observan, también, aunque en menor cantidad, células cornificadas sin núcleo, que son muy fácilmente reconocibles. Los leucocitos están presentes en algunos casos en regular cantidad y otras veces son muy escasos. La mayoría de los autores no describen leucocitos en este período. La presencia de leucocitos en cantidades variables indica que se trata aquí de un *período de transición* en el ciclo sexual.

b) El segundo período se caracteriza por la presencia de células cornificadas en gran abundancia y formando verdaderos conglomerados. Sobre este punto trataré ámpliamente más adelante.

c) El tercer período se caracteriza porque las células cornifi-

(1) H. S. Murphey. Journ. of the Amer. Veter. Med. Assoc. 25, 79; 65, 5; 1924. 67, 3; 1925. 68, 4; 1926. 70, 4; 1927. Veter. Med. 6 y 8 1925..

cadadas disminuyen nuevamente y aparecen grandes cantidades de leucocitos que ocupan gran parte del campo del microscopio.

d) El cuarto período se caracteriza por un predominio casi absoluto de los leucocitos que se encuentran en cantidades enormes. Suele encontrarse, también, una que otra célula epitelial.

Stockard y Papanicolaou hacen notar que al final de este cuarto período suele presentarse una pequeña hemorragia, que en el campo del microscopio aparece por un predominio de glóbulos rojos. *Long y Evans* niegan la existencia de este período. Yo, por mi parte, creo que se trata de una hemorragia artificial e independiente, por lo tanto, del ciclo sexual. Solo la he observado dos veces y en ocasiones en que he estado completamente seguro de haberla causado artificialmente, pues teniendo todavía la espátula dentro de la vagina, debido a un descuido, el animal hizo un movimiento brusco y al momento apareció la sangre. De tal manera que de lo expuesto se deduce que no vale la pena considerar la aparición de glóbulos rojos como un fenómeno normal del ciclo sexual.

Estas son, a grandes rasgos, las características de los cuatro períodos del ciclo sexual. Haciendo una nomenclatura castellana para ellos, se les podría llamar respectivamente: *período del pro-celo*, *período del celo*, *período del meta-celo* y *período intermedio*.

IV.—El período del celo, en particular

Macroscópicamente, durante este período del ciclo sexual, encontramos un aspecto distinto en los genitales externos. El orificio vaginal, que durante todo el período intermedio permanece cerrado, se encuentra entreabierto; naturalmente que en los animales que se encuentran sometidos a un raspaje vaginal diario, el orificio de la vagina se encuentra abierto durante todo el ciclo sexual.

También durante este período, especialmente en animales jóvenes, se observa una mayor turgescencia, brillantez e hiperhemia de los pezones, como *Lipschütz* (1) lo ha descrito.

Microscópicamente y en términos generales, el período del celo se caracteriza por la gran abundancia de células cornificadas y la desaparición de los leucocitos. Este punto que a primera vista parece tan sencillo, ha sido sin embargo, objeto de mucho estudio y controversias.

Así tenemos que *Stockard y Papanicolaou* en el cuy, *Allen* en la laucha blanca y *Long y Evans* en el ratón, llegaron a la conclusión de que durante el período del celo, el raspaje vaginal pre-

(1) A. Lipschütz. Pflüger's Archiv. 211, 682; 1925.

senta únicamente células cornificadas y hay ausencia absoluta de leucocitos. En oposición a estos resultados hay que hacer mención del trabajo de Voss (1), quien como anteriormente S. Loewe, hacía diariamente el recuento de todos los elementos morfológicos del raspaje; Voss llegó a la conclusión de que el celo tan perfecto descrito por los autores anteriormente nombrados casi no existe en el cuy, y que los leucocitos están siempre presentes, aunque en pequeña cantidad. Este resultado tan contradictorio con respecto a las conclusiones de los investigadores norteamericanos, lo analizaré en seguida, al tratar de la duración del ciclo sexual.

Respecto a la presencia de un mayor o menor número de células cornificadas en los distintos periodos del ciclo sexual, hay que citar el trabajo de Zondek y Aschheim (2) y que se refiere a las fuentes de errores en la apreciación del contenido del raspaje vaginal.

Mencioné anteriormente, al hablar de la técnica del raspaje, la inconveniencia de usar la torunda de algodón. Como Zondek y Aschheim lo demostraron, al hacer esta torunda quedan adheridas a las fibras del algodón una cantidad de células cornificadas de los dedos del operador, que después se mezclarán con el contenido del raspaje, y al campo microscópico aparecerán como formando parte de él, por cuanto no es posible distinguir estas células cornificadas de las que se encuentran en el interior de la vagina. Yo lo pude confirmar plenamente.

Pero no solo éste es el error posible. También con la torunda de algodón se suelen pasar a llevar células cornificadas de la vulva, que observadas al microscopio dan el mismo cuadro. Esto no es posible evitar, aun por medio de guantes; pero sí, practicando el raspaje con una pequeña espátula. Con esta es posible, debido a su rigidez y contornos bien nítidos, introducirse directamente en la vagina sin tocar en absoluto el epitelio vulvar. De más está decirlo, que con el uso de la espátula queda eliminada por completo la posibilidad de que caigan células cornificadas de los dedos en el raspaje.

V.—Duración del ciclo sexual

Cada animal, puede decirse, tiene su ciclo sexual característico en cuanto a duración. Dentro de este ciclo, cada período tiene también una duración variable de un animal a otro. Así, para ser breve y por ser lo que más interesa al laboratorio, mencionaré la duración del ciclo sexual en el ratón y, más especialmente, en el cuy.

(1) H. E. Voss. Pflüger's Archiv. 216, 156; 1927.

(2) B. Zondek u. S. Aschheim. Klinische Wochenschrift. 22, 979; 1926.

Según *Long y Evans*, el ciclo sexual en el ratón dura, por término medio, 5,4 días. El periodo del celo, que es el que más nos interesa, dura en el ratón, 27 a 33 horas.

Pasando ahora al cuy, tenemos que, según *Stockard y Papanicolaou* (1917), el ciclo sexual dura, por término medio, 16 días, con fluctuaciones entre 14 y 17 días. Yo por mi parte, he observado fluctuaciones entre 11 y 21 días; pero como se vé en el cuadro de conjuntos que he hecho, la mayoría fluctúa entre 15 y 17 días.

PROTOCOLO Núm.	PESO en Grs.	PRIMER CICLO	SEGUNDO CICLO
174	415	21 días	15 días
175	450	17 días	15 días
177	500	13 días	11 días
178	520	17 días	14 días

Ahora, respecto a la duración de los distintos periodos del ciclo sexual, podemos hacer, según *Stockard y Papanicolaou*, el siguiente cuadro:

Período	Duración
I.—	6 a 12 horas
II.—	2 a 4 horas
III.—	5 a 8 horas
IV.—	13½ a 14 días

Teniendo ya una noción respecto a la duración del período del celo, podemos entrar a hacer un ligero análisis de los diferentes resultados obtenidos por los diversos investigadores que por este problema se han interesado.

Long y Evans, que operaron en el ratón, en el cual, como ya lo sabemos, el período del celo dura de 27 a 33 horas, pudieron llegar a comprobar el celo perfecto, según ellos, en el cual se encuentran únicamente células cornificadas, aun cuando hayan practicado un solo raspaje diario.

Como *Stockard y Papanicolaou*, operando en el cuyo, han constatado que el período del celo, sin leucocitos, dura de 8 a 16 horas (la suma de los períodos I y II, ver el cuadro), para observar un celo perfecto, sin leucocitos, es necesario hacer repetidos raspajes con escasas horas de intervalo.

Así, es muy explicable que *Voss*, practicando un solo raspaje diario, no haya jamás llegado a obtener un cuadro de celo perfecto. Sus raspajes, sin duda, los ha practicado, en unos casos inmediatamente antes y en otros, inmediatamente después del celo, períodos en los cuales los leucocitos están *siempre* presentes.

(Zusammenfassung)

Aus dem Physiologischen Institut der Universität
Concepción (Chile)
Direktor: Professor Dr. A. Lipschütz

Der Vaginalausstrich als Mittel, den Sexualzyklus beim weiblichen Meerschweinchen zu verfolgen.

Von Oskar Soenksen,
Hilfsassistent des Instituts.

1) Es wurde bei vier normalen Meerschweinchen der Verlauf des Sexualzyklus nach der Methode des Vaginalausstrichs von *Stockard and Papanicolaou* im Verlauf von 2 Monaten verfolgt.

2) Die von *Zondek und Aschheim* hervorgehobenen Fehlerquellen (Hornzellen der Finger und der Vulva bei Benutzung eines Wattebausches) wurden untersucht und bestäetigt.

3) Die Dauer des Zyklus (Wintermonate) schwankte zwischen 11 und 21 Tagen.

4) Wie in den Beobachtungen von *Stockard und Papanicolaou* konnte der leukozytenfreie Oestrus, allein durch Hornzellen charakterisiert, beobachtet werden.

5) Neben den charakteristischen Hornzellen findet man haeufig auch Leukozyten, was sich augenscheinlich aus folgendem erklart: Das leukozytenfreie Stadium des Oestrus dauert beim Meerschweinchen bloss wenige Stunden (*Stockard und Papanicolaou*); wird der Vaginalausstrich nur einmal in 24 Stunden vorgenommen, so wird man in der Mehrzahl der Faelle Leukozyten beigemischt finden, weil der Ausstrich in das Prooestrus oder das Postooestrus faellt.

6) Die Annahme von *Voss*, eine mehr oder weniger grosse Menge von Leukozyten neben Hornzellen sei der Ausdruck einer physiologisch unvollkommenen («13», «12» und «34») Brunst, ist nicht berechtigt, da die jeweilige Menge der Leukozyten davon abhaengt, wie viel Stunden vor oder nach dem so kurzdauernden leukozytenfreien Oestrus der Ausstrich vorgenommen wurde.