



450/19

La Plata, 2 de noviembre de 1976.-

Señor Profesor  
Doctor Ismael O. DELPRATO  
PRESENTE

Tengo el agrado de dirigirme a Ud., con el objeto de llevar a su conocimiento que por resolución de la fecha, ha sido designado miembro integrante del Jurado que deberá expedirse sobre el Trabajo de Tesis que presentan los ex-alumnos ALONSO, Cristina René; HUTTER, Juan Carlos y MONTORO, Luis Salvador, para optar al título de Doctor en Ciencias Veterinarias, habiéndose establecido el día martes 30 de noviembre de 1976 a las 9.30 horas para que el mismo se constituya a efectos de producir el correspondiente dictamen.

Se adjunta a la presente un ejemplar de la tesis y el resumen de la misma, como así también la reglamentación en vigencia.

Saludo al señor Profesor, con atenta y distinguida consideración.



DR. JORGE EUGENIO LEO  
SECRETARIO ASUNTOS ACADEMICOS

INTEGRAN EL JURADO

Presidente: Dr. Florencio CIPRIAN  
Directores: Dr. Gregorio S. MONTES  
Dr. Julio F. OTTINO  
Dr. Raúl R. ROLDAN  
Dr. Ismael O. DELPRATO  
Dr. Eduardo M. ZACCARDI



"APLICACIONES DE LA COLPOCITOLOGIA EXFOLIATIVA EN RATAS NORMALES"

Tesis de:

Cristina Rene Alonso

Juan Carlos Hutter

Luis Salvador Montero

Director: Prof. Dr. Gregorio Santiago Montes

FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS - UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA

- 1976 -



= UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA =

PRESIDENTE:

Profesor Doctor GUILLERMO G. GALLO

SECRETARIO DE ASUNTOS ACADEMICOS:

Profesor Doctor Walter G. AGUIRRE

SECRETARIO GENERAL:

Doctor Rubén LLANOS

= 1976 =

= UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA =  
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS

DECANO INTERVENTOR:

Profesor Doctor JOSE H. FERNANDEZ DE LIGER

SECRETARIO DE ASUNTOS ACADEMICOS:

Profesor Doctor Jorge E. LED

SECRETARIO ADMINISTRATIVO:

D. Hugo O. RAMIREZ

DIRECTORA DEPARTAMENTO DE ENSEÑANZA:

Haydée C. R. de PERETTO

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA  
= FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS =

PROFESOR TITULAR - DEDICACION EXCLUSIVA.

CARROZZA, Jesús S.W.-Física Biológica  
DELPRATO, Ismael O.-Anatomía Descriptiva.  
GALLO, Guillermo G.-Clínica de Grandes Animales  
MOCOROA de ARCONDO Emma.-Física y Química Aplicadas  
QUINTEROS Indalecio Rodolfo.-Genética y Biometría  
ROLDAN Raúl R.-Patol. de la Rep. y Obstetricia  
ZACCARDI Eduardo M.-Fisiología.

\* \* \*

PROFESOR ASOCIADO - DEDICACION EXCLUSIVA.

MARTIN Alcides A.-Anatomía y F.Patológicas.  
LAGRECA de MAROTTA, L.-Zootecnia Gral. y Agrostología

\* \* \*

PROFESOR ADJUNTO - DEDICACION EXCLUSIVA.

ETCHEVERRIGARAY de ZABALA, M.E.-Virología  
REINOSO CASTRO, H.W.-Clínica de G.Animales.

RUAGER Jorge.-Anatomía y F.Patológicas.

\* \* \*

PROFESOR TITULAR - DEDICACION TIEMPO PARCIAL.

AGUIRRE Walter G.-Microbiología Especial.

ANDREATA Jorge N.-Semiología y Propedéutica (Int.)

CARO Gregorio A.-Zootecnia Especial Ia. parte

CELANI BARRY Rafael.-Análisis Clínicos Ia. parte

DEMARCHI Raúl S.-Inmunología Gral. y Aplicada (Int.)

DI GIANO Juan Carlos.-Economía Agraria.-

LED Jorge E.-Parasitología y Enfermedades Parasitarias. (Int.)

OCHOA Mario E.-Zootecnia Especial IIa. parte. (Int.)

PRACCA de GRIECO Lydia.-Clínica de Pequeños Animales.

\* \* \*

PROFESOR ADJUNTO - DEDICACION TIEMPO PARCIAL.

AGUIRRE Pedro.-Zootecnia Especial Ia. parte.

ALZUGARAY de SARMEENTO Hebe.-Cl.de Pequeños Animales.

BOCCIA Francisco O.-Cl. de Pequeños Animales.

CIPRIAN Florencio.-Anatomía y F.Patológicas

FERNANDEZ de LIGER Hugo J.-Clínica de Grandes Animales.

FERNANDEZ Enrique J.-Microbiología

MAROTTA Eduardo G.-Zootecnia Gral. y Agrostología

MENENDEZ Néstor A.-Anatomía y F.Patológicas

NOIA Miguel Angel.-Física Biológica.

PENNIMPEDE María T. del A.-Insp.Sanit.Productos Alimenticios.

RODRIGUEZ Benjamín R.-Zootecnia Especial IIa. parte

VENTURINI de SILVA L.M.-Parasitología y Enfermedades Parasit.

\* \* \*

PROFESOR TITULAR - DEDICACION SIMPLE.

AGUIRRE Walter G.-Microbiología Aplicada.

ALBERDI Cecilio.-Ind. e Insp. Sanit. Leche y Derivados (Int.)

ALBERDI Cecilio.-Insp. Sanit. de Productos Alimenticios (Int.)

CIFOLELLI Angel.-Análisis Clínicos IIa. parte.

CIPRIAN Florencio.-Patología General.

CHIARAVALLE Ambrosio.-Ind. e Insp. Sanit. de Carne y Deriv.

de DIEGO Alberto.-Enfermedades Infecciosas

d'OLIVEIRA de PODESTA J.-Far.Farmacotecnia y Terap.(L.s/s.)

EPSTEIN Bernardo.-Anatomía y F.Patológicas (L.s/s).

ERRECALDE Jorge E.-Microbiología

GIMENO Emilio J.-Higiene, Epidem. y S.Pública.

GRAU Oscar.-Genética Microbiana.

HARISPE Carlos M.-Enfermedades Infecciosas

JENSEN de ASTIZ A.D.-Bioestadística

MALIANDI Florestán S.-Parasitología comparada.

MANZULLO Alfredo.-Inmunología Ia. y IIa. parte.

MARTINO Olindo.-Salud Pública.

PANZONI Erico Emir.-Economía agraria.

PEROTTI Rodolfo M.-Zootecnia Especial IIIa. parte

TOUCEDO Guillermo A.-Patología Quirúrgica y Podología.



- PROFESOR ADJUNTO - DEDICACION SIMPLE -

AKIYOSHI Horacio T.-Inmunología Ia.  
 ARGERI Nelson J.-Análisis Clínicos IIa. parte  
 BOTTINO Jorge A.-Patología de la Reprod. y Obstetricia  
 CALCARAMI Martín J.-Farmacología, F. y Terapéutica.  
 CHAMPREONDE Hugo N.-Patología General.  
 ERRECALDE Jorge E.-Enfermedades Infecciosas  
 GAMBOA Rogelio A.-Patología de la Reprod. y Obstetricia  
 ISEAS Fortunato B.-Patología Médica.  
 JENSEN de ASTIZ A.D.-Higiene, Epidemiología y S.Pública  
 MARTINO Juan José.-Microbiología  
 MIRANDA Manuel F.-Ind. e Insp. Sanit. Carne y Deriv.  
 MOISO Alejandro C.-Microbiología  
 MONTES Gregorio S.-Anatomía Comparada (Reemplazante)  
 MORELLI Héctor A.-Zootecnia Especial IIIa parte.  
 OTTINO Julio F.-Histología Normal.  
 PENNIMPEDE E.F.F.-Inmunología Gral. y Aplicada.  
 RIOJA de DE VECCHI Aixa.-Animales de Laboratorio  
 SCIAMMARELLA Alfredo M.-Medicina Operatoria  
 TESORIERO de GAREIS Catalina.-Análisis Clínicos Ia. parte  
 TESORIERO de GAREIS Catalina.-Física y Química Aplic. (Int.)  
 VALLEJO de KOLAR Mercedes.-Micológia Méd. e Industrial.

\*\*\*

- JEFE DE TRABAJOS PRACTICOS - DEDICACION EXCLUSIVA -

TEJEDOR Eugenio.-Genética y Biometría. (Int.)

- JEFE DE TRABAJOS PRACTICOS - DEDICACION TIEMPO PARCIAL -

ALONSO Cristina Rene.-Anatomía Descriptiva  
 AULICINO Oscar O.-Ind. e Insp. Sanit. de Leche y Derivados  
 BAMBILL de BARBIERI E.-Zootecnia Especial Ia.  
 BERNAGOZZI Jorge.-Inmunología Gral. y Aplicadas.  
 BISCHOFF Jorge R.-Genética y Biometría.  
 BRANDETTI Eugenio.-Anatomía y F. Patológicas  
 BUGALLO Antonio.-Patología general.  
 BUSTOS Susana M.-Histología Normal.  
 CARBONE Cecilia.-Animales de laboratorio.  
 CASTUMA María Elena.-Química Biológica.  
 COLL CARDENAS Ernesto.-Física Biológica.  
 CUMBA Alicia S.-Patología Médica.  
 CUMBA Alicia S.-Cl. de Grandes Animales (Int.)  
 DEL CASTILLO Federico.-Histología Normal  
 de VEGA FERMIN.-Física Biológica (L.s/s)  
 DIBBERN Alberto.-Zootecnia Especial IIa. parte  
 DOZO Manuel F.-Patología de la Reprod. y Obstetricia.  
 DURANTE Eduardo J.-Medicina Operatoria.-  
 FELDMAN de MOGILNER Raquel.-Parasitología Comparada.  
 FONROUGE Reinaldo R.-Higiene, Epidemiología y S.Pública.  
 FORNER Jesús J.-Insp. Sanit. de Productos Alimenticios  
 FUENTES Leticia.-Física Biológica  
 GARCIA VALENTI Horacio.-Genética y Biometría  
 GOMEZ Carlos M.-Inmunología Ia. y IIa.  
 GRIGERA Fernando.-Fisiología  
 GRILLO Virginia E.-Zootecnia Especial IIIa. (reemplazante)  
 GUGLIELMETTI Elda M.-Física Biológica.

HERRERA CANALES Félix R.-Anatomía Comparada  
 HUTTE R Juan C.-Inmunología Gral. y Aplicadas  
 IDIART Julio R.-Anatomía y F.Patológicas  
 LESTCHINSKY de FERRER Eva.-Análisis Clínicos Ia.  
 MAGGI de SILVA Nilda B.-Cl. de Pequeños Animales  
 MERLINI José C.-Patología de la Reprod. y Obstetricia  
 MIRANDA de OCHOA E.O.-Enfermedades Infecciosas  
 MONTES Gregorio S.-Anatomía Descriptiva (reemplazante)  
 MONTORO Luis S.-Histología Normal.  
 MURO Alicia.-Cl.de Pequeños Animales.  
 NADER Juan C.-Ind. e Insp. Sanit. de Leche y Derivados  
 NOCEDA Ramón P.-Patología Médica.  
 ORTEGA César F.-Clínica de Pequeños Animales.  
 PELLON Horacio C.-Insp. Sanit. de Productos Alimenticios  
 PEREZ AZUMENDI Rodolfo.-Patología General (Int.)  
 PEREZ AZUMENDI Rodolfo.-Higiene, Epidemiología y S.Pública.  
 PEREZ CASTILLO Nelly.-Física y Química Aplicadas  
 PERFUMO Carlos J.-Anatomía y F.Patológicas.  
 PIOVANO Nicolás.-Química Biológica.  
 RAMIREZ Elida Elvia.-Insp. Sanit. Productos Alimenticios  
 ROJAS Edmundo R.-Fisiología  
 RONSINO Roberto O.-Fisiología (Int.)  
 RONSINO Roberto O.-Radioisótopos (Int.)  
 SCIUTTO Dualdo L.-Virología  
 TOBIA Marta B.-Microbiología Especial.  
 VISCIDO de HERAS Lydia.-Radioisótopos. (L.s/s.)

- JEFE DE TRABAJOS PRACTICOS - DEDICACION SIMPLE -

ALIVERTI Héctor M.-Zootecnia Especial IIa.  
 AMASINO Carlos F.-Enfermedades Infecciosas  
 AVILA Silvia Matilde.-Microbiología Especial.  
 BARDON Juan C.-Cl.de Pequeños Animales.  
 BRUZZONE Luis H.-Farmacología, F. y Terapéutica.  
 CASTAÑEDA Alberto C.-Cl. de Pequeños Animales  
 CRIVARO Norberto.-Física Biológica,  
 FINOCCHIETTO Héctor.-Patología Médica.  
 HUTTER Juan C.-Anatomía Descriptiva (reemplazante)  
 INCHAUSTIA Agustín S.-Patología Médica.  
 LACCHINI Raúl A.-Zootecnia Gral. y Agrostología  
 LASTA Jorge A.-Higiene, Epidemiología y S.Pública.  
 NLOIS Angel.-Parasitología y Enf. Parasitarias  
 MALIANDI Florestán (h).-Higiene, Epidemiol. y S.Pública.  
 MATTONI Silvia A.-Genética Microbiana  
 MEDINA de RISI Albina H.-Microbiología  
 MONINA María E.-Cl. de Grandes Animales.  
 OCAMPO Jesús M.F.-Física Biológica  
 ORTIZ Graciela E.-Microbiología Aplicada.  
 NOVARINI Miguel A.-Farmacología, F. y Terapéutica.  
 PEREESTEIN Carlos.-Semiología y Propedéutica.  
 PRIO LOFEUDO Graciela.- Zootecnia Especial IIIa. parte  
 REINOSO Enso H.-Micología Méd. e Industrial.  
 SANTA MARINA Héctor A.-Economía Agraria.  
 SCIUDEL Alejandro A.-Virología (L.s/s.)  
 SUAREZ Ana María.-Zootecnia Especial (reemplazante)  
 TARAEUSO Ricardo E.-Semiología y Propedéutica. (Int.)

TREBUCQ Rubén Alfonso.-Anatomía y F.Patológicas

TARSIA de MOSCATO Elba.-Física Biológica

TOBIA Marta B.-Microbiología Aplicada.

TREBUCQ Rubén Alfonso.-Inmunología GRal. y Aplicada (Int.)

TUNES María del Luján.-Microbiología

VILLAR de GUTIERREZ Martha.-Análisis Clínicos IIa.

\* \* \*



## INTRODUCCION:

Habiéndose establecido que la vagina presenta variaciones en su arquitectura histológica como respuesta a la estimulación hormonal, los endocrinólogos se han ocupado del estudio correspondiente a las modificaciones citológicas del material que se descama del epitelio. (Ver: 7, 10, 11, 13, 18, 19, 25, 33, 36, 37).

Debido a que los Veterinarios ponemos especial énfasis en el conocimiento de la Fisiología de la Reproducción con miras al mejoramiento zootécnico, hemos considerado conveniente -desde la óptica de nuestro criterio puramente morfológico- resumir los aspectos prácticos de nuestra experiencia. Esta síntesis persigue como fin proporcionar al profesional una guía para el desarrollo de la serie de extendidos que le permita inferir las relaciones existentes entre el ciclo vaginal y la endocrinología sexual. Partiendo de esta base le resultará accesible efectuar estudios comparativos con la especie animal a la que eventualmente se dedique. (8, 9, 11, 12, 13, 15, 20, 24, 25, 26, 28, 29, 32, 35).

Este trabajo no pretende compendiar los conocimientos sobre colpocitología; es por eso que excluye -deliberadamente- las citas, argumentos y especulaciones que hubieran enriquecido la fundamentación científica en perjuicio de la claridad en la exposición. Hemos propuesto esta conducta en la convicción de que sacrificaremos lo accesorio en beneficio de lo esencial.

Si lo que aquí tratamos sucintamente despertara el interés del lector por interiorizarse sobre el contenido de los textos en que nos hemos basado, citados en la bibliografía, se verán plenamente satisfechas nuestras expectativas.

\* \* \*

## ANTECEDENTES.

### - Histología vaginal:

El epitelio vaginal de las ratas impúberes, castradas y seniles se caracteriza por presentar una capa basal de poco espesor, constituida por dos o más estratos de células pequeñas en empalizada. (Ver: 2,7,14,17,18,19,22,23,31).

Con la pubertad se inicia la estimulación hormonal que provoca un aumento en la irrigación correspondiente a los órganos genitales; consecuentemente las células de la capa basal proliferan aumentando el espesor del epitelio mediante la organización de las capas intermedia y superficial. Es así que, por influencia de los estímulos hormonales, se observan en el epitelio vaginal los fenómenos de proliferación, diferenciación y descamación.

El extendido efectuado con el material vaginal descamado de una rata castrada muestra una imagen atrófica caracterizada por la presencia de células de la capa basal, abundantes leucocitos y mucus; lo que da al preparado un aspecto "sucio". A las pocas horas de haber inyectado estrógeno a esta rata<sup>(\*)</sup> los extendidos se modifican sustancialmente: las células de la capa basal son reemplazadas por células de las capas intermedia y superficial cuya cantidad, dentro de ciertos límites, es directamente proporcional a la dosis de estrógenos administrada; habiendo desaparecido los leucocitos y todo rastro de mucus, el preparado se aclara presentando un aspecto tal que se califica como "limpio".

A los efectos de reconocer los distintos tipos celulares se ha establecido una clasificación convencional y esquemática, basada en los detalles que aportan las soluciones colorantes diferenciales. Ver Tabla 1.

(\*): 0,05 microgramos de benzoato de estradiol.



Tabla 1:

CLASIFICACION DE LAS CELULAS VAGINALES

<u>Tipo Celular</u>	<u>Tamaño</u>	<u>Forma</u>	<u>Núcleo</u>	<u>Coloración Prot</u>
Cianófila Profunda	Pequeño 2(+)	Redonda	Grande	Azul
Cianófila Intermedia	Mediano 3(+)	Oval	Mediano	Azul verdoso
Cianófila Superficial	Grande 5(+)	Poligonal	Picnótico	Verde azulado
Eosinófila Superficial	Grande 5(+)	Poligonal	Picnótico	Rojo

---

(+) Si conviniéramos, arbitrariamente, en que el tamaño celular de un neutrófilo está representado por la medida uno (1); el número marcado corresponde al tamaño relativo de la célula tratada.

---

Conviene tener en cuenta que los distintos tipos celulares descriptos corresponden a un epitelio que, como hemos visto, va madurando desde las capas profundas hasta las superficiales; es por esto que normalmente se evidencian numerosas imágenes intermedias. Ver figura n°1.

Según se deduce de lo anteriormente tratado la interpretación colpocitológica se ve posibilitada por la relación que se establece entre los elementos observados en el extendido y las capas de las que proceden.

---

MATERIAL Y METODOS

COLPOCITOLOGIA EXFOLIATIVA EN RATAS

Diagnóstico de rutina: 1.-Material necesario

- 1.1.-Portaobjetos y cubreobjetos, limpios, desengrasados y secos.
- 1.2.-Un frasco conteniendo alcohol 96° que será utilizado como fijador, y otros para los pasajes correspondientes a la deshidratación.
- 1.3.-Pinzas y agujas histológicas.

- 1.4.-Colorante de Shorr (\*),homogeneizado por agitación antes de usar.
- 1.5.-Agua destilada.
- 1.6.-Solución fisiológica.
- 1.7.-Jeringas con pico de vidrio tipo americano.
- 1.8.-Alcohol 100°
- 1.9.-Xilol.
- 1.10.-Bálsamo de Canadá.

Diagnóstico de rutina: 2.-Pasos a seguir.

- 2.1.-Se toma la rata con suavidad y firmeza,apoyándola -en posición supina- sobre la palma de la mano izquierda.Los dedos pulgar e Índice sostienen el miembro izquierdo en abducción; la abducción del miembro derecho se provoca con los dedos mediano y anular.  
Entre los dedos Índice y mediano se sujeta la base de la cola;la porción libre de la misma es sostenida por el dedo meñique.
- 2.2.-El operador toma la jeringa con la mano derecha.Se inserta el pico en la luz vaginal,por medio de suaves movimientos de rotación.Se retira el Émbolo para efectuar vacío hasta constatar,a través del pico translúcido,el ingreso del material.
- 2.3.-En el caso de que esta operación resultara infructuosa se cargará la jeringa con una gota de solución fisiológica,con la que se procederá a realizar un lavaje vaginal,para luego reabsorberla cargada de material.
- 2.4.-Se expulsa el contenido de la jeringa sobre dos portaobjetos a los que previamente se les haya colocado un broche para papeles tipo gancho,en uno de los extremos,y el número correspondiente al preparado en el otro extremo.El extendido se efectuara sobre la superficie del portaobjetos que corresponde a la rama larga del broche.Una buena visualización al microscopio debe evitar las superposiciones aunque,teniendo en cuenta que es aconsejable mantener la agrupación característica de los diferentes tipos celulares,el operador realizará el extendido acercando el pico de la jeringa a un (1) centí-

(\*) FORMULARIO:

Colorante de Shorr	
Alcohol etílico 50%	- 100 ml
Biebrich escarlata	- 500 mg
Fast green	- 75 mg
Orange G	- 250 mg
Acido fosfotúngstico	- 500 mg
Acido fosfomolibdico	- 500 mg
Acido acético glacial-	1 ml

metro del portaobjetos, y desde allí se expulsa el material imprimiendo movimientos espasmódicos de vaivén al émbolo - dentro de la camisa de la jeringa. Si, eventualmente, en el extendido se percibiera un cilindro de mucus, éste deberá ser reabsorbido con la jeringa ya que la impronta de dicho cilindro contiene -de por sí- suficientes células para el diagnóstico; pero si se colorea el cilindro, éste interferirá la lectura.

- 2.5.-Se sumerge el preparado en el fijador (alcohol 96°). La fijación se completa en cinco minutos, aunque los extendidos pueden permanecer en el líquido fijador hasta 72 horas sin que el preparado evidencie modificaciones sustanciales a los fines del diagnóstico.
- 2.6.-Inmediatamente después se lo coloca sobre una gradilla y se cubre su superficie con la solución colorante de Shorr, hasta que actúe durante cinco minutos. Mientras tanto se lava la jeringa con detergente, se la enjuaga abundantemente y se la coloca -desarmada- en estufa para que esté seca cuando sea utilizada nuevamente.
- 2.7.-Se lava el preparado suavemente con agua destilada, hasta la desaparición de todo rastro de colorante.
- 2.8.-Sumergir durante dos minutos en alcohol 96°.
- 2.9.-Luego se sumerge durante dos minutos en alcohol 100°.
- 2.10.-Sumergir en xilol por espacio de treinta segundos.
- 2.11.-Previo observación al microscopio, se coloca el cubreobjetos y se lleva a estufa.

## CONSIDERACIONES

-Breve reseña del ciclo estral en la rata.

Las hembras de los mamíferos domésticos permiten la cópula solamente en determinados momentos, relacionados con la ovulación, en que se encuentran en óptimas condiciones sicosomáticas. Esta fase obedece al gobierno hormonal que permite la liberación del óvulo, apto para la fecundación, en el momento oportuno. Los fenómenos del ciclo estral tienen el propósito de favorecer la ovulación y aumentar la probabilidad de que el óvulo sea fecundado y se inicie la gestación. La denominación de estro (s. celo; s. "calor") ha correspondido al comportamiento de las hembras en estas circunstancias.

El tiempo transcurrido entre las primeras manifestaciones de un estro y el comienzo del estro siguiente, corresponde a un ciclo estral (s. ciclo sexual). Los ciclos sexuales de la rata representan la periodicidad en los procesos de maduración de los óvulos, regidos por las hormonas, que producen variaciones en el aparato genital. La rata presenta ciclos estrales continuos que son interrumpidos por la fecundación.

El ciclo estral se divide, de acuerdo con las modificaciones morfo-fisiológicas correspondientes al ciclo ovárico, en cuatro fases características: estro, metaestro, diestro y proestro.

En los ciclos estrales pueden observarse imágenes colpocitológicas relativamente características que corresponden a las fases en que se los divide convencionalmente. Estas fases han podido ser establecidas mediante estudios seriados durante el desarrollo completo del ciclo sexual. La comparación de cada extendido con el subsiguiente nos permitió llegar al diagnóstico de los distintos estadios del ciclo estral.

Hemos adoptado como relación cronológica de cada ciclo estral, al estro, que corresponde a la fase del ciclo que cursa bajo la influencia del predominio de los estrógenos sobre el resto de las hormonas sexuales. El aumento del nivel de estrógenos desencadena una intensa hiperemia de los órganos genitales con la consecuente proliferación e hipersecreción del epitelio de las vías genitales, e incremento del líquido folicular en la vesícula de de Graaf (s. folículo terciario). (Ver 7, 14).

La pared folicular se vuelve cada vez más delgada hasta que se produce la dehiscencia folicular, que corresponde a la ovulación.

La influencia de los estrógenos en esta fase también se evidencia por un síndrome que se distingue por el aumento de la excitabilidad psicósomática. Se incrementa la intranquilidad y el correteo dentro de la jaula, en presencia de otras ratas se manifiesta el reflejo de lordosis y la contracción característica de las orejas.

El metaestro se caracteriza por la formación del cuerpo lúteo, a expensas de la hiperplasia e hipertrofia de las células de la pared folicular. La hormona luteinizante, responsable principal de la dehiscencia folicular estimula la movilización y almacenamiento de colesterol en el cuerpo lúteo (de allí que el nombre de cuerpo amarillo se deba a la coloración que presenta). La prolactina, que actúa como hormona luteotrófica en la rata, es responsable de que el colesterol almacenado en el cuerpo lúteo sea convertido en progestágenos. Para que el cuerpo lúteo se vuelva funcional es nece

sario que actúa la prolactina, segregada por la adenohipófisis como respuesta a los factores de descarga (releasing factors) que el hipotálamo libera en el sistema vascular porta-hipofisiario. La estimulación hipotalámica obedece a un reflejo nervioso originado en el cuello del útero por la acción mecánica que, durante el coito, ejerce el pene. Si el acoplamiento no se efectúa los cuerpos lúteos no se activan (ya que no se provee el estímulo necesario para la liberación de prolactina), y -por ende- no son funcionales, completando su regresión en aproximadamente dos días (corpus luteum periodicum). Si tiene lugar un coito infértil (macho deferentectomizado) el cuerpo lúteo se vuelve funcional, por lo que el ciclo es interrumpido por la pseudogestación durante un periodo de alrededor de doce días. Cuando el acoplamiento resulta fértil el cuerpo lúteo se mantiene funcional por dieciocho días (corpus luteum graviditatis).

Cabe destacar que la técnica de extracción de material descamado de la vagina, por nosotros utilizada, no provee el estímulo necesario para que actúen los factores luteotróficos. Por lo tanto hemos podido seguir varios ciclos estrales en ratas de las que se extraía material, para realizar extendidos, dos veces por día; sin que el ciclo se viera interrumpido por la pseudogestación. (Ver: 1, 3, 30)

El diestro, entonces, corresponde a la fase de regresión como expresión del proceso de involución que cumple el cuerpo lúteo. Los cuerpos lúteos persisten en el ovario durante los tres ciclos estrales más inmediatos.

Si tenemos en cuenta que los progestágenos interrumpen el ciclo sexual inhibiendo nuevas ovulaciones, reconoceremos que al no ser segregados durante el ciclo estral de la rata, ésta presentará -una vez completado el periodo de regresión- una nueva fase de crecimiento y maduración foliculares con el consiguiente aumento en la secreción de estrógenos. Los estrógenos vuelven a producir los fenómenos de hiperhemia y proliferación en el aparato genital, y las modificaciones en la conducta ya tratadas; que producen en el animal un nuevo estro. Este periodo de maduración folicular se ha identificado con la denominación de proestro.

Siendo que las únicas hormonas gonadales producidas durante el ciclo estral de la rata son los estrógenos; y que los progestágenos se segregan previa interrupción del ciclo sexual (gestación o Pseudogestación), la interpretación del colpocitograma correspondiente al ciclo estral se limitará a reconocer, según los tipos celulares que predominan, si el epitelio está siendo estimulado o no por los estrógenos. Es así que, en el ciclo estral normal, los extenu

didados son similares a los que produjéramos experimentalmente en ratas castradas; durante las fases que no cursan bajo la influencia predominante de los estrógenos. En la fase de crecimiento y maduración, así como durante el estro, los preparados guardan similitud con aquellos que se obtenían de ratas castradas a las que se había administrado estrógenos. (ver 4, 5)

Nos hemos referido a los efectos específicos de los estrógenos en la colpocitología de la rata castrada, para luego compararlos con los fenómenos fisiológicos que resultan de su secreción en forma cíclica por el ovario. (Ver Tabla II).

Tabla II: Ver figuras nros. 2, 3, 4, 5, 6.

RELACION ENTRE LAS FASES DEL CICLO ESTRAL Y LA CITOLOGIA VAGINAL

<u>Fase del Ciclo</u>	<u>Duración</u>	<u>Tipos celulares que predominan</u>	<u>Extendido</u>
PROESTRO (Maduración folicular)	12 horas	Cianófilas y Eosinófilas.	Limpio
ESTRO (Dehiscencia folicular)	30 horas	Eosinófilas (cariopicnóticas cornif.)	Limpio
METAESTRO (Fase Lútea)	06 horas	Eosinófilas y leucocitos.	Sucio
DIESTRO (Fase de Regresión)	48 horas	Cianófilas y leucocitos.	Sucio

\*\*

NOTA: La tabla precedente ha sido confeccionada de acuerdo con los datos correspondientes a los colpocitogramas obtenidos de casos estudiados durante cincuenta y seis días. El lote estaba compuesto por sesenta animales de la especie *Rattus norvegicus*, var. *Albinus*, clínicamente sanos, que fueron sometidos a diez horas de oscuridad y catorce horas de luz natural diarias, en condiciones de laboratorio.

CONCLUSIONES:

-Efectos de las hormonas en el epitelio vaginal.

Las hormonas pueden dividirse en sexuales y no sexuales. A su vez, las hormonas sexuales se subdividen en gonadales y gonadotróficas.

Las hormonas no sexuales intervienen en el trofismo del epitelio vaginal en tanto se relacionan con el metabolismo general.

Las hormonas gonadotróficas (hipofisiarias y extrahipofisiarias) reflejan, en la vagina, la estimulación que han producido sobre los ovarios (id est: actúan indirectamente).

Resta tratar las hormonas gonadales, cuya acción se manifiesta en la vagina de manera directa:

Hemos analizado los resultados de las experiencias relacionadas con la administración de estrógenos en ratas castradas. También se ha estudiado los ciclos estrales de la rata hasta llegar a la deducción de que los estrógenos caracterizan las diversas fases, sea por su predominio o por que su nivel en sangre decrece marcadamente. Es así que las células cianófilas más superficiales, proliferadas y diferenciadas durante el proestro, se vuelven cariopictóticas cornificadas presentando una evidente eosinofilia coincidente con la máxima estimulación estrogénica (que corresponde al pico ovulatorio)

El efecto de los progestágenos, segregados por el cuerpo lúteo se manifiesta por la proliferación del epitelio con un incremento del número de células de la capa intermedia. Como la preñez cursa bajo la influencia de los progestágenos producidos por el cuerpo lúteo funcional, encontramos una marcada disminución de la eosinofilia y de la pycnosis; aunque aumentan las células cianófilas intermedias y superficiales que aparecen agrupadas y presentan los bordes plegados. La disminución del número de células cariopictóticas y el descenso de la eosinofilia se interpretan como resultado de la acción descamante de los progestágenos, que no da tiempo a que las células completen su maduración.

Es así que el extendido correspondiente a la preñez se caracteriza por presentar gran número de células cianófilas, especialmente intermedias, en cúmulos y con sus bordes plegados. La degeneración y reducción del tamaño celular, así como la vacuolización y citólisis protoplásmica, son características de la estimulación progestacional. El extendido, de aspecto sucio, presenta leucocitos y mucus. Aparecen las características células naviculares que, debido al incremento del metabolismo de la capa intermedia de la que proceden, van cargándose de glucógeno hasta adoptar una forma elíptica y rechazar el núcleo hacia la periferia. Ver figura nro. 7.

El día anterior al parto aparece un aumento sustancial de la eosinofilia con una disminución de las características que imprimía al extendido la acción predominante de los progestágenos. En el período post-partum se obtiene una imagen muy especial, con gran número de células basales agrupadas en gruesos cúmulos o en cadenas, también encontramos leucocitos, eritrocitos, histiocitos y mucus en abundancia. Ver figura nro. 8.

La imagen característica del post-partum se vuelve menos patente paulatinamente durante el segundo y tercer día de lactancia. El extendido vaginal de la lactancia muestra la discreta proliferación característica de cierto estímulo hormonal; se encuentran células cianófilas intermedias aisladas y leucocitos. El diagnóstico se ve favorecido por la presencia de células binucleadas de tamaño mediano, con núcleos de cromatina laxa rodeados por un angosto halo de protoplasma bien coloreado. Una vez destetadas las crías se reinstauran los ciclos estrales, siempre que la rata no haya tenido un acoplamiento fértil en el celo post-partum que tiene lugar entre las veinticuatro y cuarenta y ocho horas posteriores al alumbramiento. Ver figura nro. 9.

El celo post-partum se manifiesta como consecuencia de la desaparición de las influencias hormonales, correspondientes a la implantación placentaria, que antagonizan la acción de los estrógenos. Esta brusca descompensación hormonal, consecuente a la eliminación de las membranas fetales, vuelve favorables las condiciones humorales para la correspondiente dehiscencia de los folículos que se encuentran maduros.

Llama la atención constatar que las hembras que fueron inseminadas durante el celo post-partum, y que continuaron amamantando sus crías, presentan un período de gestación bastante más largo que el normal de veintidós días. También pudo establecerse que el número de crías amamantadas por la hembra es directamente proporcional al incremento en la duración del período de la gestación; tanto es así que si a la rata inseminada durante el celo post-partum se le retiran las crías, el período de gestación no se prolonga más allá que el normal (veintidós días).

Se ha comprobado que el período de crecimiento de los embriones, resultantes de la fecundación post-partum en hembras que amamantan sus crías, siempre se mantiene igual al normal. Por lo tanto el incremento en el período de la gestación corresponde a un retardo en la implantación de los blastocistos que, por ende, quedan flotando libremente en la luz uterina. Si a una rata en las condiciones descritas se le administra la dosis de estrógenos por nosotros utilizada, se produce la implantación de los blastocistos.

De lo anteriormente expuesto puede inferirse que la implantación resulta diferida por un descenso en el nivel de estrógenos; por lo que parece válida la especulación que establece que la excreción de estrógenos con la leche importa de suyo que, cuando el número de crías amamantadas es grande, se segrega más leche, la demanda de estrógenos es mayor, y la implantación de los blastocistos se difiere por más tiempo. (ver: 6, 16, 21, 27, 30, 34)



Es así que interpretamos el colpocitograma de la rata que amamanta // sus crías y fué inseminada durante el celo post-partum, como el extendido de la lactancia ya descripto aunque con una ligera disminución en el número de células cornificadas, antes de la implantación de los blastocistos. Una vez que los blastocistos se han implantado, el preparado muestra las características correspondientes a la preñez así como también rasgos manifiestos de la lactancia. Ver figura Nro. 10.

\* \* \*



---

Utero de rata  
Implantaciones asincrónicas

-DETERMINACION CUANTITATIVA DE ESTROGENOS CIRCULANTES DURANTE EL PERIODO DE DESARROLLO Y MADURACION FOLICULARES.

- A. Introducción.
- B. Antecedentes.
- C. Material y Métodos
- D. Resultados
- E. Conclusiones.

-A. Introducción:

Habiéndose obtenido un concepto previo sobre algunos aspectos que relacionan las variaciones que presenta la arquitectura histológica de la vagina con la endocrinología sexual; analizamos la posibilidad de aplicarlos para realizar comparaciones de índole cuantitativa.

Los estudios seriados en ratas normales fueron comparados con aquellos obtenidos previa ablación de los ovarios, lo que permitió introducir valores promedio para aumentar el caudal de experiencia, excluyendo así los detalles, en beneficio de la claridad de exposición.

El análisis de los frotis logrados -en ratas castradas- luego de realizada una terapia sustitutiva, proporcionó datos en un todo coincidentes con los obtenidos previamente; como consecuencia de los efectos producidos en forma normal por el ovario.

Este trabajo tiene como objeto resumir los conocimientos obtenidos, a través de la experiencia realizada, para que el profesional interesado pueda desarrollar los extendidos vaginales a los efectos de obtener determinaciones cuantitativas de estrógenos circulantes en animales problema, durante el período de desarrollo y maduración foliculares (proestro).

-B. Antecedentes:

Es sabido que la estructura vaginal sufre cambios morfológicos y de afinidad tintorial, de acuerdo con la influencia hormonal, manifestados por el aumento en el número de células cornificadas (tasa de cornificación); y por la reducción en el tamaño de los núcleos (tasa de picnosis) que se evidencia en las células cianófilas superficiales y eosinófilas.

Estas modificaciones en el núcleo y en la estructura celular, producidas por el aumento de concentración de glucógeno, son consideradas como fenómenos ocasionados por la acción estrogénica; lo cual permite determinar indirectamente la cantidad de hormona circulante, de acuerdo con las relaciones existentes entre las tasas de picnosis y cornificación. Siendo el número total de células igual a la suma del número de células cariopictóticas más el número de células cornificadas; cuando la actividad - // // //

estrogénica se incrementa produce un progresivo aumento de la tasa de cornificación con la consiguiente disminución de la tasa de picnosis en los extendidos vaginales.

Por lo tanto el incremento de la acción estrogénica es directamente proporcional a la tasa de cornificación e inversamente proporcional a la tasa de picnosis, situación que se manifiesta paulatinamente a lo largo del desarrollo y maduración foliculares cuya máxima expresión coincide con el pico ovulatorio.

### -C. Material y Métodos:

En la experiencia realizada se procedió a extraer material descamado de la vagina a intervalos de 15 minutos durante el final del diestro hasta obtener el primer extendido exento de leucocitos polimorfonucleares, que se consideró como el correspondiente al comienzo del proestro (tiempo 0); en el cual predominan las células cianófilas superficiales.

A partir de ese momento se extrajo material vaginal a intervalos regulares de media hora hasta la aparición del estro, manifestado por el máximo número de células cornificadas presentes en los extendidos.

Los frotis obtenidos fueron colocados en alcohol 96° que actuó como fijador y luego coloreados según la técnica de Harris-Shorr, que se describe a continuación:

- 1- Se extrae el preparado del fijador y se lo coloca en alcohol de 70° sumergiéndolo 10 veces.
- 2- Sumergir 10 veces en agua destilada.
- 3- Cubrir el preparado con Hematoxilina de Harris (0,4 ml aproximadamente), hasta que actúe durante 2 minutos.
- 4- Lavar suavemente con agua destilada.
- 5- Sumergir en alcohol amoniacal durante 30 segundos.
- 6- Lavar con agua destilada, sumergiendo 10 veces.
- 7- Alcoholes de 70° y 96°, sumergir 10 veces en cada uno.
- 8- Cubrir el preparado con colorante de Shorr (0,4 ml aproximadamente), hasta que actúe durante 5 minutos.
- 9- Lavar suavemente con agua destilada.
- 10- Alcohol de 96°, sumergir 10 veces.
- 11- Alcohol absoluto, sumergir 20 veces.
- 12- Xilol, durante 30 segundos.

Se determinó luego las tasas de picnosis y de cornificación, entendiéndose como tasa de picnosis al porcentaje de células cariopictóticas que aparecen en el extendido (muestreo representativo); se consideraron células ca-

riopicnóticas a aquellas cuyo núcleo mide menos de 5 micras.

Hemos de utilizar el término tasa de cornificación como el correspondiente al porcentaje de escamas córneas que aparecen en el extendido (muestreo representativo).

Se obtuvo luego un cociente dividiendo la tasa de picnosis por la de cornificación (pic./corn.). Ver Tablas.

Posteriormente se procedió a castrar las ratas en estudio, realizando la extracción completa de los ovarios, trompas de Falopio y mesosalpinx, para evitar que -a instancias de la estimulación hipofisiaria- se produzca un desarrollo de los restos embrionarios del conducto de Wolff, casos que hemos observado en nuestra experiencia (hidátides pediculados de Morgagni; paraovarios o conductos de Rossen-Muller).

Pasados siete días, y apareciendo las ratas clínicamente sanas, se obtuvieron nuevos extendidos que indicaron la ausencia de estimulación estrogénica, manifestada en el preparado por la presencia de células basales, leucocitos y abundante mucus (extendido atrófico ya descrito como de rata castrada).

En ese momento se inició la administración de estrógenos hasta obtener los mismos resultados numéricos de las tasas de picnosis y cornificación / correspondientes a las mismas ratas antes de ser castradas. Ver Tablas.

La droga utilizada fue benzoato de estradiol que se administró en dosis de 0,01 mcg vía intramuscular a intervalos de una hora hasta completar la cantidad de 0,04 mcg, correspondiendo ésta al nivel de estrógeno natural circulante en la hembra, para llegar a producir el síndrome que se denominó estro.

Para la experiencia que se describe se utilizó un lote de veinte hembras de la especie *Rattus norvegicus*, variedad *albinus*, clínicamente sanas. Todas las hembras escogidas habían tenido dos pariciones, con un número no menor de diez crías en la segunda parición. Los estudios colpocitológicos se iniciaron luego del primer celo posterior al destete (correspondiente a la reiniciación de los ciclos estrales).

Los colpocitogramas analizados en este capítulo sólo comprenden aquellos realizados durante el proestro siguiente.

#### -D. Resultados:

Teniendo en cuenta que el objeto de este trabajo no es el de determinar las variaciones de susceptibilidad individual respecto de la administración exógena de una droga problema, sino que se pretende relacionar las modificaciones progresivas que presenta una serie de colpocitogramas como resultado de la administración de estrógenos titulados cuantitativamente, se ha utilizado en el análisis de los datos el promedio de las tasas obtenidas de todos los casos estudiados para cada intervalo de tiempo.

En la Tabla III se detallan los valores obtenidos durante el desarrollo y maduración foliculares en los animales estudiados (tiempo "t" expresado en minutos; intervalo de tiempo expresado en horas).

En la Tabla IV aparecen los datos obtenidos treinta horas después de la primera inyección de 0,01 mcg de benzoato de estradiol a los mismos animales, siete días después de la correspondiente ablación de los ovarios.

Los gráficos Nro. 1 y Nro. 2, corresponden a la representación, por el sistema de coordenadas cartesianas, de los datos contenidos en las Tablas III y IV respectivamente. El eje de las ordenadas (y) representa las tasas de picnosis y de cornificación; y el eje de las abscisas (x) corresponde al tiempo; (tasa de cornificación, trazo lleno; tasa de picnosis: línea de puntos).

#### -E. Conclusiones:

El trabajo demuestra que es posible realizar una determinación cuantitativa de estrógenos circulantes durante el proestro (i.e.: determinar la relación existente entre el nivel de estrógenos naturales circulantes y la cantidad de droga utilizada para producir el mismo fenómeno en el animal castrado), mediante el diagnóstico colpocitológico. Ello está condicionado a que el lote de ratas con que se realice la experiencia tenga un alto grado de homocigosis (test biológico de los trasplantes) y un elevado índice de prolificidad.

Consideramos que este conocimiento podría utilizarse para realizar una determinación cuantitativa de estrógenos en una solución problema (alimentos, líquido amniótico, etc.), mediante una técnica sencilla: teniendo un lote de ratas castradas, se inyecta a cada animal una dilución distinta de la solución problema y sabremos que, en aquella rata que haya desarrollado extendidos similares a aquellos del proestro, aunque la dosis no alcanzó para producir un estro franco, la solución inyectada sería equivalente al efecto de la administración de 0,04 mcg de benzoato de estradiol (lo cual constituye un parámetro de índole cuantitativa).

TABLA III

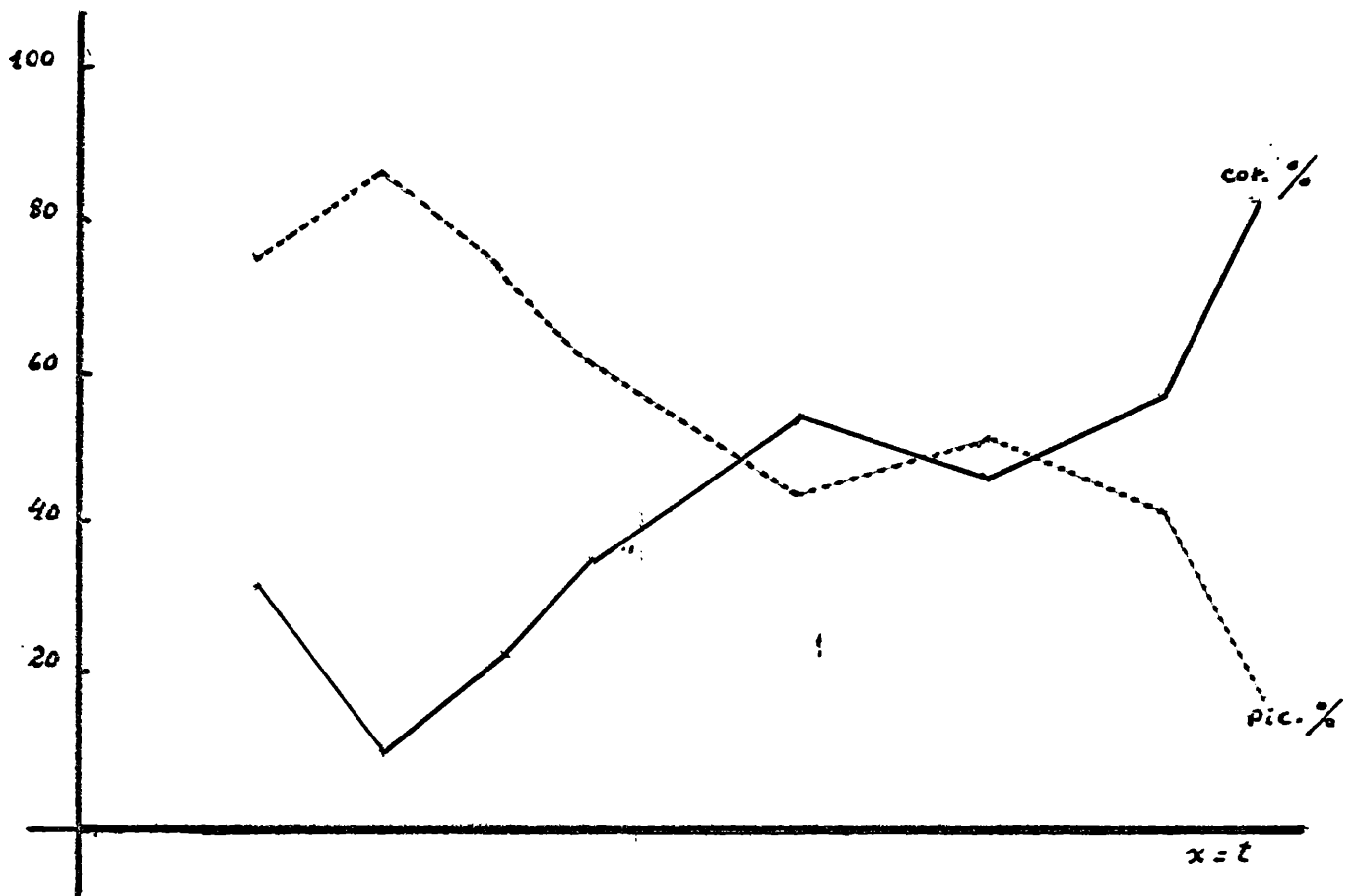
Tiempo	Intervalo "t"	Tasa Pic-nosis %	Tasa Cornif. %	Indice pic./corn.
0	6,30-8,30 hs	77	33	3,3
120	8,31-9,40	88	12	7,3
190	9,41-11,00	76	24	3,1
270	11,01-12,00	63	36	1,7
330	12,01-13,00	56	44	1,2
390	13,01-14,15	45	55	0,8
465	14,16-15,20	48	52	0,9
530	15,21-16,20	52	48	1,08
590	16,21-17,20	48	52	0,9
650	17,21-18,20	42	58	0,7
721	18,21-19,20	17	83	0,2
770	19,21-21,00	35	65	0,5

Tabla IV

Tiempo	Intervalo "t"	Tasa Pic-nosis %	Tasa Cornif. %	Indice pic./corn.
0	4,31-5,30	62	38	1,7
60	5,31-6,30	76	24	3,1
120	6,31-7,30	76	24	3,1
180	7,31-8,30	71	29	2,4
240	8,31-9,30	46	54	0,8
300	9,31-10,30	40	60	0,5
360	10,31-11,30	19	81	0,2
420	11,31-12,30	23	77	0,2

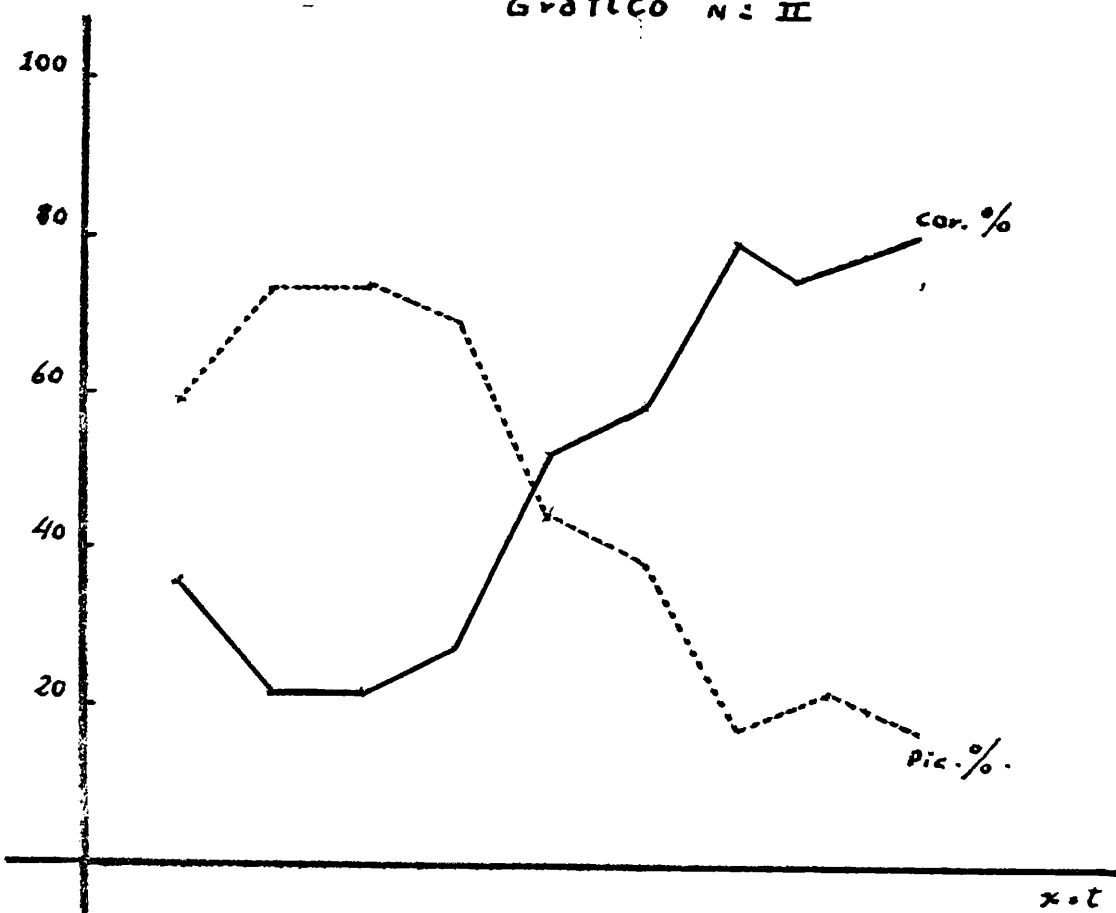
y = %

Gráfico nº I



y = %

Gráfico nº II



- IMPLANTACIONES ASINCRONICAS EXPERIMENTALES.

- A. Introducción
- B. Cronología de los fenómenos de la implantación.
  - B.1. Cronología del proestro y ovulación.
  - B.2. Inseminación Post-partum.
  - B.3. Duración del desarrollo oviductal.
  - B.4. Gobierno hormonal de la implantación.
  - B.5. Implantación diferida.
- C. Material y métodos.
- D. Resultados y conclusiones.

A. Introducción:

El estudio cuidadoso de los tiempos que transcurren entre los distintos fenómenos desencadenados por la fecundación en los animales, permitió evidenciar que -en algunos de ellos- ocurre una pausa entre la fertilización y la implantación.

Llama la atención constatar que las hembras que fueron inseminadas durante el celo post-partum, y que continuaron amamantando sus crías, presentan un período de gestación bastante más largo que el normal de veintidós días. También pudo establecerse que el número de crías amamantadas por la hembra es directamente proporcional al incremento en la duración del período de gestación; tanto es así que si a la rata inseminada durante el celo post-partum se le retiran las crías, el período de gestación no se prolonga más allá de lo normal.

Se ha comprobado que el período de crecimiento de los embriones, resultantes de la fecundación post-partum en hembras que amamantan sus crías, siempre se mantiene igual al normal. Por lo tanto el incremento en el período de la gestación corresponde a un retardo en la implantación de los blastocistos que por ende, quedan flotando libremente en la luz uterina. Si a una rata en las condiciones descritas se le administra la dosis de estrógenos por nosotros utilizada, se produce la implantación de los blastocistos.

De lo anteriormente expuesto, puede inferirse que la implantación resulta diferida por un descenso en el nivel de estrógenos; por lo que parece válida la especulación que establece que la excreción de estrógenos con la leche importa de suyo que, cuando el número de crías amamantadas es grande, se segrega más leche, la demanda de estrógenos es mayor, y la implantación de los blastocistos se difiere por más tiempo. Teniendo en cuenta que la dosis de estrógenos por nosotros utilizada produce la implantación de los blastocistos que se encuentran libres en el lumen uterino; hemos intentado lograr la implantación de algunos blastocistos, sin alte -       ///



rar el aletargamiento del resto. Ese objetivo importaba de suyo una reducción en la dosis de estrógeno.

## B. CRONOLOGIA DE LOS FENOMENOS DE LA IMPLANTACION.

### B.1. Cronología del proestro y ovulación.

Los controles que realizáramos en el lote de ratas utilizado -en // las condiciones y con las técnicas antes descritas- permitieron observar que el proestro se iniciaba hacia la media noche (hemos considerado como iniciación // del proestro en una serie de extendidos, el primero que aparezca exento de leucocitos en los campos examinados).

Al medio día siguiente comenzaba el estro, y la máxima receptividad del macho se producía a la noche de ese mismo día.

Diez horas después de iniciado el estro, se produce la dehiscencia folicular (correspondiente a la ovulación).

En la rata los espermatozoides están presentes en el oviducto cuando los óvulos son expulsados de los folículos. Por lo tanto, el momento de la ovulación puede considerarse como la iniciación de la preñez (hora cero).

### B.2. Inseminación post-partum.

Como consecuencia de la desaparición de las influencias hormonales, correspondientes a la implantación placentaria, que antagonizan la acción de los estrógenos, aparece el celo post-partum.

Esta brusca descompensación hormonal, consecuenta a la eliminación de las membranas fetales, vuelve favorables las condiciones humorales para la correspondiente dehiscencia de los folículos que se encuentran maduros.

El celo post-partum, que se manifiesta entre las veinticuatro y cuarenta y ocho horas posteriores al parto, presenta el momento de máxima receptividad para el macho entre las ocho y doce horas posteriores al nacimiento de la última cría.

### B.3. Duración del desarrollo oviductal.

Los óvulos fecundados, a medida que progresan a lo largo del oviducto van desarrollándose hasta el estadio de blastocisto, forma en que penetran en la luz uterina, transcurridas noventa horas de la fertilización.

El hecho de que el oviducto puede conducir los huevos, que son inmóviles, hacia una dirección, y, simultáneamente, llevar los espermatozoides, muy

móviles, en dirección opuesta, ha despertado interés por el estudio de los mecanismos de transporte de las gametas. La importancia de este transporte respecto de la fertilidad, se demuestra por el hecho de que, como veremos más adelante, el embrión no podrá implantarse a menos que alcance el útero en el momento oportuno.

El movimiento del cumulus a lo largo de la ampolla oviductal es muy rápido aunque discontinuo, y corresponde a una serie de pequeñas progresiones entrecortadas. Eventualmente algunas contracciones antiperistálticas podrían revertir la dirección del huevo.

Una vez recorrido el trayecto ampollar el óvulo es retenido en el istmo del oviducto por un intervalo que oscila entre las cuarenta y cincuenta horas. Es en ese lugar donde ocurre la fecundación.

El transporte depende de la actividad de las cilias, de las contraciones de las fibras musculares lisas de la pared; de la reunión de la ampolla con el istmo oviductales, y del estado del ostium uterinum. Dado que las hormonas gonadales modifican la actividad de estas entidades anatómicas, el transporte se ve alterado por la ovariectomía y la administración exógena de hormonas.

Como regla general podemos decir que el estrógeno aumenta la contractilidad del músculo liso, incrementándose los movimientos en la ampolla y ocluyendo la luz del istmo. Los progestágenos deprimen la actividad muscular en la ampolla disminuyendo la velocidad del transporte ovular.

La duración del transporte está directamente asociada con la iniciación de la actividad del cuerpo lúteo, que se refleja en el endometrio, para garantizar -mediante su apropiada preparación- las condiciones óptimas que permitan la viabilidad embrionaria.

#### B.4. Gobierno hormonal de la implantación.

Durante el ciclo estral de la rata las únicas hormonas gonadales producidas son los estrógenos. Estos comienzan a actuar en la fase de crecimiento y maduración foliculares (proestro) incrementándose paulatinamente su secreción hasta la ovulación, regida por la secreción hipofisiaria de hormona luteinizante. Esta hormona estimula la movilización y almacenamiento de colesterol en el cuerpo lúteo, que se forma a expensas de la hiperplasia e hipertrofía de las células de la pared folicular.

La hormona prolactina (luteotrófica) es responsable de que el colesterol almacenado en el cuerpo lúteo se convierta en progestágenos. Para que el cuerpo lúteo se active es necesario, entonces, que actúe la prolactina, segregada por la adenohipófisis como respuesta a los factores de descarga ("releasing factors") que el hipotálamo libera en el sistema vascular porta-hipo-

fisiario. La estimulación hipotalámica obedece a un reflejo nervioso originado en el cuello del útero por la acción mecánica que, durante el coito, ejerce el pene.

Los progestágenos segregados por el cuerpo lúteo interrumpen el ciclo sexual inhibiendo nuevas ovulaciones. Reconoceremos entonces que si no se proveyó el estímulo necesario para la liberación de prolactina el cuerpo lúteo no se activa, iniciando un proceso de involución (fase de regresión). Por lo tanto la rata que no fue apareada presentará una nueva fase de crecimiento y maduración foliculares con el consiguiente aumento en la secreción de estrógenos. Los estrógenos vuelven a producir los fenómenos de hiperemia y proliferación en el aparato genital, y las modificaciones en la conducta ya tratadas, que producen en el animal un nuevo estro y la consiguiente ovulación.

En las ratas que han sido fecundadas, la organización del cuerpo lúteo, como resultado de la dehiscencia folicular, se cumple de manera análoga a la estudiada en el ciclo estral. La diferencia estriba en que la secreción de progestágenos, una vez que el cuerpo lúteo se vuelve funcional, impedirá la dehiscencia de los nuevos folículos que han ido desarrollándose; de esta manera se interrumpen los ciclos sexuales para hacer lugar a la gestación.

De lo anteriormente expuesto se deduce que, en comparación con los cambios endometriales que ocurren en otras especies que presentan una fase lútea con la consiguiente secreción de progestágenos en el ciclo estral, las transformaciones correspondientes a la preñez temprana en la rata son muy leves.

En el quinto día de preñez la velocidad de las modificaciones cambia, rápidamente, apareciendo un edema generalizado del estroma, cuando éste ha sido convenientemente preparado por la progesterona.

Esta modificación en la permeabilidad de los vasos uterinos coincide con un aumento relativo en la cantidad de estrógenos circulantes, ya que ocurre en el momento en que -si la rata no hubiera sido fecundada - se manifestaría el incremento de estrógenos correspondiente a un nuevo proestro.

Cuando el endometrio ha sido preparado de una manera acorde por la progesterona y sensibilizado por los estrógenos, responde con una reacción decidual de su estroma a una gran variedad de estímulos. La respuesta decidual a estímulos de baja intensidad (i. e. : blastocisto) sólo puede obtenerse durante un cortísimo período de la preñez o pseudopreñez; aunque para estímulos traumáticos este período dura alrededor de tres días.

Durante el breve período de alta sensibilidad endometrial (quinto día de la preñez) el blastocisto estimula al endometrio induciendo las modificaciones locales que provocan la reacción decidual.

Se denomina respuesta decidual a la modificación de los fibroblastos del estroma endometrial, que aumentan de tamaño adoptando una forma cuboide para dar lugar a una masa sólida en el corion endometrial correspondiente al sitio de implantación; esta // formación recibe el nombre de deciduomata.

#### B.5. Implantación diferida:

Hemos establecido que el incremento en el período de la gestación de ratas inseminadas durante el celo post-partum, y que amamantan sus crías, corresponde a un retardo en la implantación de sus blastocistos que, por ende, quedan flotando libremente en la luz uterina.

Analizados los requerimientos hormonales para que una // conveniente sensibilización y preparación del endometrio permita / la implantación, hemos de reconocer que cualquier situación que interfiera temporaria o permanentemente la acción de las hormonas intervinientes, postpondrá o impedirá la implantación.

Cuando inyectamos estrógenos a una rata cuya implantación ha sido diferida por la lactancia, se produce la implantación de los blastocistos. También hemos comprobado que el número de crías amamantadas por la hembra gestante es -dentro de ciertos límites— directamente proporcional al incremento en el período de gestación. La excreción de estrógenos con la leche importa de suyo que, cuando el número de crías es grande, se segrega más leche, la demanda de estrógenos es mayor y la implantación de los blastocistos se difiere por más tiempo.

De lo anteriormente expuesto puede inferirse que la implantación resulta diferida cuando no se alcanza el incremento relativo en la cantidad de estrógenos circulantes.

#### C. MATERIAL Y METODOS

Para la experiencia que se describe fué utilizado un lote de veinte hembras de la especie *Rattus norvegicus*, variedad albinus, clínicamente sanos, que fueron sometidos a diez horas de oscuridad y catorce horas de luz natural diarias, en condiciones de

laboratorio.

Sobre dicho lote se realizaron controles colpocitológicos diarios a los efectos de determinar la actividad ovárica y su consecuente estimulación hormonal, traducidos en los cambios cíclicos del epitelio vaginal.

Los animales controlados presentaron ciclos estrales normales de cuatro días, tal como se describe en la Tabla IIa. En el momento en que el estro era diagnosticado, se colocaba la hembra con un macho para efectuar el apareamiento.

Después de constatada la cópula se realizaba un nuevo // control colpocitológico para diagnosticar la imagen del extendido post-coitum. (Ver figura Nro. 4).

Estas hembras fueron puestas en jaulas individuales (de acrílico, alto impacto, standard) identificadas con un rótulo en el que se inscribía la fecha en que, la hembra de dicha jaula, había sido cubierta por el macho.

Se realizaron después colpocitogramas diarios en los que se constataron los extendidos correspondientes a la preñez. (Ver figura nro. 7)

El día anterior al parto aparecía en el extendido vaginal un aumento sustancial de la eosinofilia con una disminución de las características que imprimía al extendido la acción predominante de los progestágenos.

Veintidós días después del coito -como término promedio- se iniciaba el parto. En el período post-partum se obtenía en el extendido vaginal una imagen muy especial, con gran número de células basales agrupadas en gruesos cúmulos o en cadenas; también presentaban leucocitos, eritrocitos, histiocitos y mucus en abundancia como consecuencia del trauma obstétrico. (Ver figura nro. 8)

Entre las ocho y doce horas posteriores al último alumbramiento (que corresponde al momento de máxima receptividad para el macho) las hembras fueron apareadas con el objeto de lograr un acoplamiento fértil en el estro post-partum.

Se montó guardia a los efectos de comprobar la cópula. Acto seguido se procedía a verificar en el extendido vaginal la presencia de espermatozoides.

Después, la hembra era puesta en jaula individual con nueve (9) celtas. Se colocó otro rótulo indicando el día en que fue inseminada.

En los controles colpocitológicos posteriormente realizados se diagnosticó la implantación diferida por la lactancia. (Ver figura nro. 10).

Seis días después del coito se procedió a inyectar en dichas hembras, de acuerdo con la técnica que a continuación se detalla, una vigésima parte de la dosis por nosotros utilizada para producir el estro en la rata castrada.

#### TECNICA PARA INYECCION UTERINA INTRAMURAL EN RATAS:

-Preoperatorio: se utilizó como anestésico el clorhidrato de ketamina, aplicándose 15 mgr. por vía intramuscular.

Transcurridos diez minutos se procedió a preparar el campo operatorio. Se rasuró uno de los flancos, de caudal hacia cranial, desde una línea imaginaria que se extiende del coxal hasta la babilla, para llegar al reborde de la última costilla. El campo operatorio resulta por lo tanto una zona cuadrilátera con un ancho de un (1) centímetro. El largo, de dos con cinco (2,5) centímetros va desde las apófisis costiformes de las vértebras lumbares hasta la primera mama abdominal.

Se realizó una antisepsia tópica con alcohol iodado y se colocó luego un paño de campo fenestrado.

-Intervención: Se hizo una incisión longitudinal de un (1) centímetro en el medio del campo; se extrajo el tejido adiposo subcutáneo a los efectos de permitir una mejor cicatrización de pared y piel, además de una mayor visualización del campo.

Se divulsionó la pared muscular. A través de la herida se tomó el ligamento ancho con una pinza anatómica y se expuso el cuerno uterino con suavidad, rapidez y sin vacilaciones.

A los efectos de realizar la inyección intramural se tomó el ligamento ancho cerca de la pequeña curvatura del cuerno (borde mesometrial). Así fijado se procedió a pinchar la pared uterina en su borde antimesometrial (gran curvatura) con el bisel de la aguja dirigido hacia el operador y la punta dirigida hacia -cranial.

Colocada la aguja en una ubicación subserosa, se rotó el bisel hacia la luz del órgano. Así situada la aguja se efectuó la inyección en el miometrio, liberándose luego el ligamento ancho.

Se suturó la pared muscular con un punto en "U", y luego la piel con un punto en "8".

Se realizaron tres inyecciones en cada hembra; efectuándose la primera seis días después del coito. Las dos siguientes fue-

ron practicadas con un intervalo de cuarenta y ocho horas entre cada inyección, es decir, octavo y décimo días posteriores a la fertilización, respectivamente.

Con el fin de evitar que -en cada parto- los fetos a término arrastren consigo a los que aún no han completado su desarrollo, el sitio de la inyección uterina fue cuidadosamente elegido. La primera inyección se practicó en el tercio caudal del cuerno izquierdo; la segunda en el tercio caudal del cuerno opuesto (derecho) y la tercera en el tercio cranial del cuerno izquierdo.

Los controles colpocitológicos continuaron realizándose diariamente con el objeto de corroborar el mantenimiento de la preñez.

#### D. RESULTADOS Y CONCLUSIONES

Se logró reproducir experimentalmente implantaciones asincrónicas con la consiguiente superfetación.

Transcurridos dieciocho, veinte y veintitrés días de la primera inyección, las hembras parieron sus crías a intervalos de cuarenta y ocho horas, en los días arriba señalados, respectivamente.

Tres de las hembras tuvieron una cuarta parición entre el primer y segundo días posteriores a la última. Consideramos que ello ocurrió como consecuencia del incremento natural de estrógeno que provocó la implantación del resto de los blastocistos que -al no ser afectados por las dosis mínimas administradas mediante inyecciones locales- se encontraban libres en la luz de las porciones uterinas cuyo endometrio no había sido convenientemente sensibilizado.

Las crías por nosotros obtenidas mediante implantaciones asincrónicas experimentales se han desarrollado siempre dentro de los límites de la normalidad.

ALGUNOS ASPECTOS MORFOLOGICOS RELACIONADOS CON EL CULTIVO DE BLASTOCISTOS EN LA CAMARA ANTERIOR DEL OJO.

A. *Introducción*

B. *Material y Métodos*

C. *Resultados.*

D. *Conclusiones.*

\*\*

A. *Introducción:*

Hemos creído conveniente considerar en el trabajo sobre "Aplicaciones de la Colpocitología Exfoliativa en Ratas Normales" algunos aspectos referentes a transplantes de blastocistos.

Teniendo en cuenta que existen factores hormonales que regulan la implantación y desarrollo del embrión que ha llegado al útero, los blastocistos fueron cultivados en un medio endocrinológicamente indiferente.

Las experiencias realizadas buscan establecer que la implantación y crecimiento controlados, que sufren los blastocistos en el útero, desaparecen si estos son transplantados a la cámara anterior del ojo.

La importancia que este tema reviste en producción animal nos mueve a su estudio, aunque sin separarnos del punto de vista morfológico, dejando a un lado todo lo que no sea el objetivo final con el propósito de brindar una mayor coherencia y claridad a la interpretación de los resultados.

B. *Material y Métodos:*

Ya descrito el sincronismo de los fenómenos correspondientes a la implantación en el capítulo anterior, nos limitaremos a tratar aquí el método por nosotros utilizado para obtener blastocistos de las hembras donantes, con el objeto de transplantarlos y estudiar su desarrollo fuera del medio uterino.

Hemos decidido utilizar la cámara anterior del ojo para cultivar los blastocistos ya que, para realizar el correspondiente cultivo "in vitro" se necesitaba:



I) suero homólogo en condiciones de esterilidad; para obtenerlo se debe realizar punción cardíaca en ratas de la misma cepa con instrumental siliconado (ya que la sangre de rata se coagula rápidamente en agujas y jeringas). La esterilización conveniente no puede realizarse por los medios corrientes debido a la termolabilidad de sus constituyentes.

II) trabajar en un ambiente con rigurosas condiciones de asepsia, cosa que en nuestras circunstancias no nos es dable obtener.

III) mantener la homeostasis del medio, mediante la realización de ionogramas, pHmetría, controles de temperatura, presión osmo-oncótica, etc. El instrumental necesario para esta computación también se encuentra fuera de nuestro alcance.

#### B. 1. Obtención de los blastocistos:

Las hembras donantes fueron:

a) Hembras muy prolíficas y controladas a las que se les realizó colpocitogramas diarios a los efectos de determinar que estuviesen en proestro. Se las apareó con un macho prolífico, en el momento de máxima receptividad.

Se realizaron guardias con el objeto de observar el coito en cada una de las ratas a los efectos de realizar el extendido correspondiente, en el que se apreciaban células cornificadas y espermatozoides. En la mañana del quinto día se procedió a la obtención de sus blastocistos.

b) Hembras con implantación diferida; es decir aquellas que, inseminadas durante el celo post-partum, son mantenidas con sus crías en lactancia.

Como en el caso anterior, se realizó el correspondiente control.

Estos animales fueron sacrificados entre el quinto y octavo días post-partum.

#### B. 2. Sacrificio de los animales y laparotomía:

Comenzamos por realizar la correspondiente tricotomía en la región abdominal inferior y se desinfecta la zona mediante la aplicación tópica de alcohol yodado.

Así preparado el animal se lo sacrifica por conmoción cerebral. Inmediatamente se colocan los correspondientes paños de campo estériles, practicándose entonces la incisión de la piel; se di

vulciona el tejido celular subcutáneo para abordar la cavidad abdominal incidiendo la línea alba.

Localizados los cuernos uterinos colocamos una pinza hemostática en su porción cervical, por detrás de esta se secciona el útero quedando este extremo libre, a partir del cual se disecciona, por el borde mesometrial, el ligamento ancho hasta la vecindad del ostium uterinum donde se secciona el oviducto.

Realizada esta operación se retiran los cuernos; quedando en el cadáver el ligamento ancho, mesosalpinx, mesovario, bolsa ovárica, ovario y oviducto.

Los cuernos uterinos y la pinza se sumergen en una solución antiséptica compuesta por 2% de hipoclorito de sodio y 2% de cetrimida, a 30° C por espacio de 2 segundos.

### B.3. Lavaje de los cuernos uterinos.

Los cuernos uterinos, sostenidos por un ayudante, son lavados con una solución glucosada Ringer-Dale-Bufferada al fosfato. Para ello nos valemos de una jeringa estéril y aguja 15/5 que se carga con 1 c.c de la solución antes mencionada.

A través de la porción pinzada del útero se lleva la aguja a su lumen y se inyecta suavemente la solución.

Se desplaza una pinza anatómica estéril a lo largo de la pared uterina con el objeto de hacer progresar el líquido hasta la extremidad libre del cuerno.

Así la solución que contiene los blastocistos gotea por el oviducto seccionado y se recoge en un tubo de hemólisis estéril.

Obtenido el material, es llevado a una centrífuga donde se centrifuga a 70 revoluciones por minuto, por espacio de 2 minutos.

Mediante una jeringa de insulina y aguja 15/5 es tomado el material del culot, eliminándose el líquido sobrenadante.

Paralelamente se preparan las ratas receptoras, las que fueron anestesiadas con clorhidrato de Ketamina administrando una dosis de 14 mg (dosis total) por vía intramuscular, o por inhalación de éter.

Sosteniéndose el animal se inyecta en la cámara anterior del ojo 0,005 ml de la solución que contiene los blastocistos, introduciéndose la aguja por el limbo esclerocorneal. La operación debe ser hecha con precisión y rapidez.

Pasadas 48 horas se observa que el cultivo, habiendo adoptado una forma elíptica y una coloración blancuzca, flota en la cámara anterior del ojo.

Se procede entonces, a enuclear los ojos que evidencian cultivos de la manera tratada para fijarlos en formol neutro al 10% durante 48 horas.

Transcurrido este tiempo se extraen los cultivos de la siguiente manera

ra:

- 1- Se observa el ojo a los efectos de localizar el cultivo.
- 2- Se sostiene el globo ocular (bulbus oculi) mediante una pinza anatómica.
- 3- Se incide el limbo esclerocorneal con el objeto de retirar suavemente la córnea.
- 4- Presentado así el campo se toma el cultivo con una pinza de disección.

Los cultivos así obtenidos se procesan de la manera corriente. Los cortes fueron coloreados, para su estudio, con Hematoxilina y Eosina.

### C- RESULTADOS:

El biólogo que desee realizar una comparación morfológica se apoya / en los factores de Waddington, incorporando la evolución, el desarrollo y la función como fuentes del conocimiento para orientar su descripción sistemática.

1) Con este criterio es que debemos dejar constancia de que la organogénesis, en condiciones normales, evoluciona armónicamente gracias a la dirección y coordinación dependientes del sistema nervioso.

Es por lo anteriormente expuesto que el sistema nervioso se esboza tempranamente mediante un espesamiento del ectodermo que se localiza en la línea media dorsal. Dicho engrosamiento, que se distingue del resto del ectodermo (inducido por el epiblasto notocordal) ya que sus células son altas y prismáticas, recibe la denominación de placa neural.

La actividad mitótica de dicha placa es responsable de su rápida invaginación, por lo que se constituye un surco en el sentido sagital. Su proliferación celular da como resultado que el surco se cierre dorsalmente formando un conducto: el tubo neural, que queda unido al ectodermo por la cicatriz epineural.

El tubo neural no presenta la misma configuración en toda su longitud: la porción caudal da lugar a la formación de un cordón medular cuyo lumen es pequeño, mientras que la porción craneal se dilata para formar las vesículas cefálicas.

Conforme van esbozándose los diversos órganos, también comienzan a distinguirse morfológicamente algunos grupos celulares debido a la diferenciación histogenética que se realiza a expensas del tejido primitivo, cuya proliferación da origen a neuroblastos (que evolucionarán hacia la formación de células nerviosas) y glioblastos (cuyas mitosis terminarán por constituir los distintos tipos de neuroglia).

El crecimiento del tubo neural ofrece una morfología característica,

consistente en el engrosamiento de sus paredes laterales acompañado por el adelgazamiento correspondiente de sus paredes dorsal y ventral. Su corte vértico-transversal muestra, por lo tanto, un lumen cuyo aspecto recuerda al de una hendidura limitada por dos paredes laterales que se reúnen por intermedio de dos comisuras, dorsal y ventral, respectivamente.

La embriología experimental ha demostrado que las causas condicionantes de la normal morfogénesis del tubo neural son de carácter extrínseco. De ello se desprende que la configuración del tubo neural se debe a la influencia de las estructuras vecinas:

a) las somitas, situadas a ambos lados del tubo neural, estimulan el crecimiento de sus paredes;

b) la notocorda, situada ventralmente del tubo neural, es inhibidora // del crecimiento.

Se ha demostrado que las estructuras vecinas también inducen la normal distribución de los neuroblastos para que se agrupen formando los núcleos propios del sistema nervioso.

2) El estudio histológico de los blastocistos, cultivados en la cámara anterior del ojo, revela la existencia de poblaciones celulares dispuestas ordenadamente para formar un tubo de paredes gruesas que delimitan una amplia luz circular central.

Su arquitectura organotípica recuerda aquella del tubo neural en desarrollo, tanto por su aspecto estructural cuanto por sus características morfológicas.

El cultivo muestra una clara disposición embrionaria que se caracteriza por la observación de los datos siguientes:

a) el comportamiento dinámico correspondiente a las células epiteliales (pre-neuroblastos) que se demuestra por las fases de mitosis evidentes en la capa matriz (ependimaria).

b) la diferenciación estructural no se limita a la formación de tubos neurales primarios (con una capa endimaria muy activa que presenta abundantes figuras mitóticas) sino que se ponen en evidencia arquitecturas histológicas más complejas, en las que se observa la disposición característica del desarrollo correspondiente a las vesículas cefálicas (formaciones supramedulares) ya que, de la capa matriz, emigran en oleadas grandes cantidades de células que adoptan -a distancia- una situación periférica en estratos ordenados.

c) las células ectoblásticas, que forman el tubo neural descrito en los puntos a) y b), se encuentran perfectamente delimitadas del tejido mesenquimatoso circundante.

d) por último, el cultivo está revestido, en su superficie libre, por un epitelio plano que no muestra diferenciaciones epidérmicas.

## CONCLUSIONES:

Los blastocistos cultivados en la cámara anterior del ojo durante 48 horas adquirieron un tamaño mucho mayor que el de los testigos cuyo desarrollo continuó "in utero".

Si se tiene en cuenta que, en el momento del trasplante (quinto día de preñez), los blastocistos sólo son visibles con la ayuda del microscopio, se pondrá en evidencia su notable desarrollo 48 horas después, momento en que su situación en la cámara anterior del ojo se determina a simple vista.

Iniciados los procesos de división y multiplicación se sucede una serie de mitosis que, ocurriendo en cada célula, significa una progresión geométrica del número de células embrionarias en cada fase reproductora. Bastan pues cuarenta o cincuenta divisiones sucesivas de todos los componentes celulares para alcanzar los billones de células de que consta el organismo de un vertebrado / superior. (Así ocurre durante la totalidad del desarrollo prenatal, aunque en secuencias y velocidades diversas dependientes de las necesidades nutritivas que presentan las células en condiciones de reproducirse).

Los embriones testigos demostraron una organogénesis armónica "in utero". El tubo neural del cultivo presentó una constitución análoga a aquella del testigo cuando éste alcanzaba los nueve días de desarrollo.

Por otra parte, en la constitución de los testigos se encontraba el resto de los esbozos que normalmente aparecen a lo largo del desarrollo; mientras que en los cultivos se evidenciaba solamente un tubo neural de mayor tamaño, pero menos diferenciado. Ello se debe a que al no existir los órganos vecinos -somitas y notocorda- no se manifestaba la inducción extrínseca (de allí que, al corte, el tubo y su luz aparecieran circulares; las migraciones de las células se produjeran en oleadas concéntricas, etc.).

Realizado el trasplante de los blastocistos el quinto día / de preñez y cultivados en un medio endocrinológicamente indiferente durante cuarenta y ocho horas, éstos mostraban un tubo neural análogo al de los embriones de nueve días desarrollados "in utero", aunque de un mayor desarrollo relativo y una menor diferenciación.

Cabe destacar que los cultivos (que equipararon a embriones de nueve días) tienen una edad cronológica de siete días. Si consideramos que su evolución hasta el momento del trasplante (quinto día) es exactamente igual a la de los testigos, veremos que en

cuarenta y ocho horas (el séptimo día) presentan un tubo neural / cuyo desarrollo sólo es alcanzado por los testigos que sean estudiados el noveno día.

Por lo tanto, para alcanzar dicho grado de desarrollo, el tubo neural cultivado necesita cuarenta y ocho horas; mientras que el tubo neural de un embrión necesita, "in utero", justo el doble (noventa y seis horas).

Ello nos permite concluir que la velocidad de crecimiento del cultivo, en estas circunstancias, duplica aquella del desarrollo en la preñez normal.

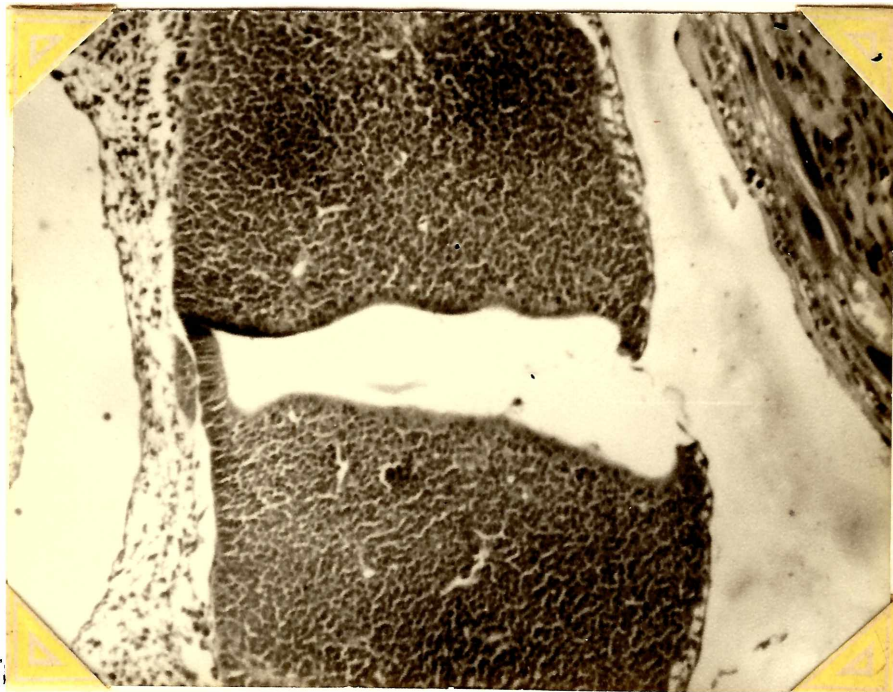
Tal como se tratara en el capítulo correspondiente a implantaciones asincrónicas experimentales, el crecimiento de los blastocistos (en ratas inseminadas durante el 4to "post-partum" y que continúan amamantando sus crías) sufre una pausa a partir del quinto día ya que no se logra la implantación debido a que no están dadas las condiciones endocrinológicas necesarias. Aún así no se produce el aborto, sino que los blastocistos -en un estado de vida latente al que hemos denominado "aletargamiento"- esperan a que las condiciones se vuelvan propicias para su implantación. Creemos que dicho aletargamiento es inducido por el útero mediante una "intoxicación controlada y reversible" correspondiente al incremento relativo en el gradiente de alguno de los componentes físico-químicos del medio. Esta creencia se basa en el hecho de que, inyectada la dosis de estrógeno, el tiempo que se sucede entre la administración y el parto -sumado a los cinco días de desarrollo previo- excede la duración de la preñez corriente. Ello nos induce a pensar que ese retardo se debe a que -una vez dadas las condiciones para la implantación- se inician los fenómenos de secreción y absorción a través del endometrio para que el medio uterino se vuelva favorable y el blastocisto "desintoxicado" reinicie su actividad mitótica.

El razonamiento anteriormente expuesto es avalado por el hecho de que si se cultivan blastocistos obtenidos de una hembra cuya implantación ha sido diferida por la lactancia, su velocidad de crecimiento es la misma que aquella de los blastocistos obtenidos como resultado de ciclos corrientes (ello se debería a que se los cultiva en un mismo medio que, por diferencia de gradientes, desintoxica rápidamente a los blastocistos aletargados).



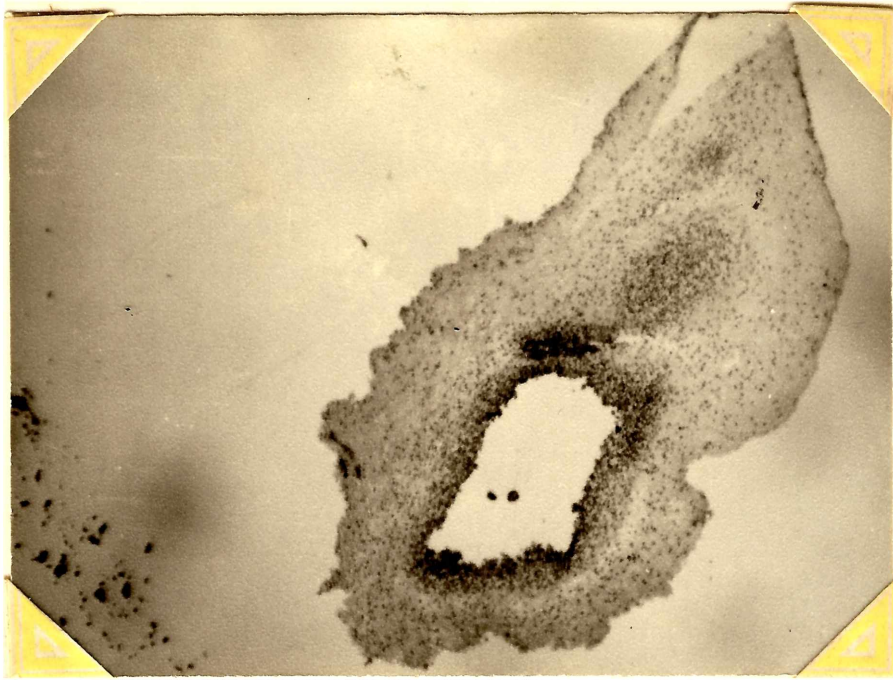
---

Embrión de rata  
Noveno día de gestación  
Vista panorámica



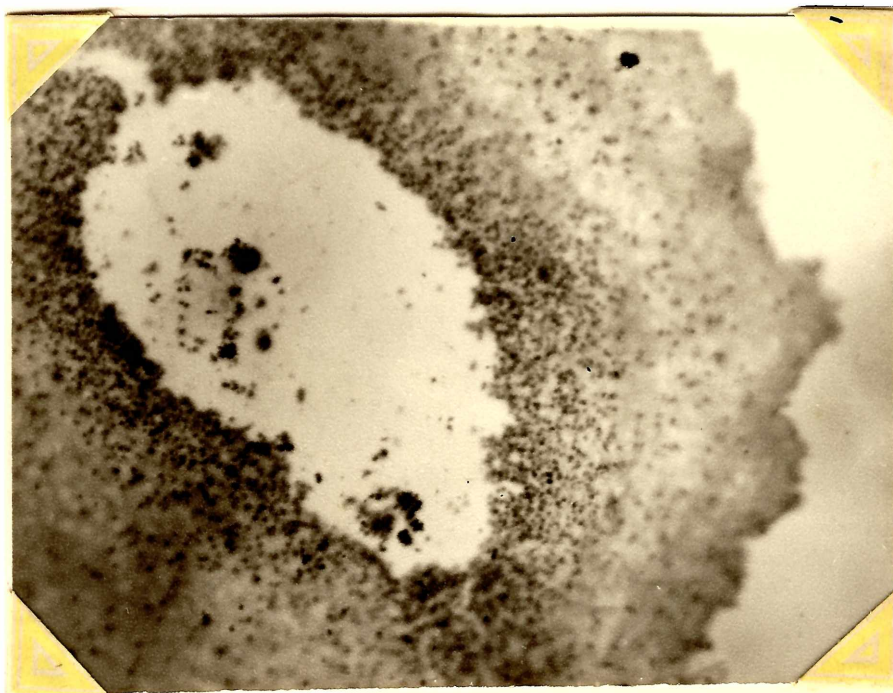
---

Embrión de rata  
Noveno día de gestación  
(100 x)



---

Cultivo  
Vista panorámica



---

Cultivo  
(100 x)



- R E S U M E N .

1) Dada la creciente importancia que ha cobrado el estudio / de la Fisiología de la Reproducción con miras al mejoramiento zoo técnico, y habiéndose observado que la vagina presenta variacio— nes en su arquitectura histológica como respuesta a la estimula— ción hormonal; nos hemos ocupado -desde la óptica de nuestro cri— terio puramente morfológico- de redactar una guía para que el ve— terinario pueda desarrollar la serie de extendidos del material descamado que le permita inferir las relaciones existentes entre el ciclo vaginal y la endocrinología sexual.

Si bien el valor intrínseco de toda investigación científica es de carácter absoluto y no depende de la eventual posibilidad de su aplicación; no nos sentimos eximidos de manifestar que hemos e legido, para este trabajo, a la rata ya que su utilización como a nimal de laboratorio es universal, y con la esperanza de que -par— tiendo de esta base- el lector encontrará accesible efectuar est— dios comparativos con la especie a que se dedique.

Los datos bibliográficos, fragmentarios, dispersos, y algu— nas veces hasta contradictorios, nos han demandado un esfuerzo de sntesis y comparación conciliadoras con el objeto de obtener con clusiones válidas aunque no pretendemos compendiar, de manera en— ciclopédica, los conocimientos sobre colpocitología.

En fin, este trabajo resume los aspectos prácticos de la ex— periencia que obtuvimos observando más de mil preparados realiza— dos en un lote de animales perfectamente controlados.

2) Para realizar una determinación cuantitativa de estróge— nos circulantes durante el período de desarrollo y maduración fo— licularés (proestro) se preparó una serie de extendidos obtenidos cada treinta minutos. Las tasas de células cariopicnóticas y de escamas córneas resultaron datos importantes para efectuar un an lisis comparativo con los extendidos que se obtuvieron de los mis— mos animales -una vez castrados- como resultado de una terapia // sustitutiva (administración exógena de estrógenos titulados cuan— titativamente).

Pudo demostrarse que es posible determinar, mediante el diag— nóstico colpocitológico, la relación existente entre el nivel de estrógenos naturales circulantes y la cantidad de droga utilizada para producir el mismo fenómeno en el animal castrado.

3) Habiendo estudiado la cronología del proestro y ovulación

correspondientes al ciclo estral, se destacaron analogías y diferencias con el celo "post-partum". Tratada la duración del desarrollo oviductal y teniendo en cuenta el gobierno hormonal de la implantación, hemos tomado los fenómenos desencadenados por la implantación diferida como objeto de una de nuestras experiencias.

Logramos reproducir experimentalmente las implantaciones asincrónicas, con la consiguiente superfetación, que -esporádicamente- aparecen como hechos naturales que llaman poderosamente la atención.

4) Se creyó conveniente describir algunos aspectos relacionados con el trasplante de blastocistos a la cámara anterior del ojo; ya que la experiencia reveló que el embrión cultivado en el humor acuoso duplicaba la velocidad de su crecimiento comparado con aquella de los embriones testigos cuya evolución continuó "in utero". Al mayor desarrollo relativo se agrega una menor diferenciación y la ausencia total de "inducciones extrínsecas" que impide una evolución armónica del cultivo.

El texto y las ilustraciones no han sido otra cosa que el producto de un estudio metódico que en ningún momento se separó del punto de vista puramente morfológico, teniendo como objeto dejar a un lado todo aquello que se apartara del desarrollo estricto del plan propuesto, con el propósito de brindar coherencia y claridad a la interpretación de los resultados.

\* \* \*

- B I B L I O G R A F I A -

- X 1.- ALLEN, W.: "Cyclic alterations of the endometrium of the rat during the normal cycle, pseudopregnancy and pregnancy". *Anat. Rec.*, 48(1931):65-103.
- 2.- ANGULO, E.: Cátedra de Histología y Embriología. Facultad de C. Veterinarias. Universidad Nacional de La Plata. Comunicación personal, 1976.
- 3.- ASTWOOD, E.: "The regulation of corpus luteum function by hypophysial luteotrophin". *Endocrinology*, 28(1941): 309.
- X 4.- BEILLY, J.: "Hydrogen ion concentration changes in the vaginal fluid of the rat during an estrous cycle". *Endocrinology*, 25 (1939): 275-277.
- X 5.- BLANDAU, R.; Jensen, L. et Rumery, R.: "Determination of the pH values of the reproductive tract fluids of the rat during heat". *Fertil. and Steril.*, 9(1958): 207.
- 6.- BRAMBELL, F.: "The influence of lactation on the implantation of the mammalian embryo". *Amer. J. Obst. Gynec.*, 33(1937): 942-953.
- 7.- BURROWS, H.: *Biological actions of sex hormones*. London: Cambridge Univ., 1945.
- 8.- CASIDA, L. et Mc. Kenzie, F.: "The oestrous cycle of the ewe; histology of the genital tract". *Uni. Mo. Agric. Expt. Stn. Res. Bull.* N° 170.
- 9.- COLE, H.: "A study of the mucosa of the genital tract of the cow, with special reference to cycle changes". *Amer. J. Anat.*, 46(1930): 261-301.
- 10.- COLE, H. et Cupps, P.: *Reproduction in domestic animals*. New York: Academic Press, 1959.
- 11.- COURRIER, R.: *Modificaciones vaginales chez la lapine au cours de la vie génitale*. *C.R. Soc. Biol. Paris* 94 (1926): 280.
- 12.- CIPRIAN, F.: "Contribución al estudio de la citología vaginal de la vaca y sus relaciones con el ciclo estrual. Buenos Aires: Segundo Congreso Nacional de Veterinaria, 1961.
- 13.- CREO, C. et al.: "Estudio colpocitológico durante el ciclo y embarazo en la cobaya". *Semana médica Bs. Aires*, 128 (1966): 1378.
- X 14.- EVERETT, J.: "Progesterone and oestrogen in the experimental control of ovulation time and other features of the oestrous cycle in the rat". *Endocrinology*, 43(1948): 389-405.
- 15.- EVANS, H. et Cole, H.: "An introduction to the study of the oestrous cycle in the dog". *Mem. Univ. Calif.* (1931): 65-101.
- 16.- GALE, C. et Mc. Cann, S.: "Hypothalamic control of pituitary gonadotrophins. Impairment in gestation, parturition and milk ejection following hypothalamic lesions". *J. Endocrin.*, 22 (1961): 107-117.
- X 17.- HAFEZ, E.: *Reproduction and breeding techniques for laboratory animals*. Phil.: Lea & Febiger, 1970.

- 18.- LENCIONI, L.: El colpocitograma. Buenos Aires: Médica Panamericana, 1964.
- 19.- LONG, J. et H. Evans: "The oestrus cycle in the rat and its associated phenomena" *Mom.Univ.Calif.*, 6(1922): 1-148.
- 20.- MAC DONALD, L.: Reproducción y endocrinología veterinarias. Méjico: Interamericana, 1971.
- 21.- MICHEL, G. et E. Schwarze: Compendio de anatomía veterinaria. Embriología. Zaragoza: Acribia, 1970.
- 22.- NALBANDOV, A.: Fisiología de la reproducción. Zaragoza: Acribia, 1969.
- 23.- NELSEN, O.: Comparative embryology of the vertebrates. New York: Mc. Graw Hill, 1953.
- 24.- NICOLL, T. et R. Snell: "The appearance of lipid in the cells of the vaginal smear of the guinea pig." *J. Obst. and Gynec. Brit. Emp.*, 61 (1954): 85 - 96.
- 25.- OTTINO, J.: "Variaciones histológicas del aparato genital de la perra en las distintas etapas de su ciclo sexual" Tesis. Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional de La Plata, 1952.
- X 26.- PAPANICOLAOU, G.: Atlas of exfoliative cytology. Cambridge: Harvard Univ., 1954.
- 27.- PEREZ y PEREZ, F. et M. Sanjuan: "Citología vaginal exfoliativa en el ciclo de la cerda, de la oveja y de la cabra" *Mem. Fac. Vet. Zaragoza*, 1 (1966): 227 - 280.
- 28.- PSYCHOYOS, A.: "La nidation chez la ratte et la dose d'oestrogène nécessaire. *C.R. Acad. Sci.*, 253 (1961) : 1616 - 1617.
- 29.- REUBER, H.: "Citología vaginal bovina" *Agronomía y Veterinaria Bs.As.*, 102 (1959): 17 .-
- 30.- ROBINSON, T. et N. Moore: "The interaction of oestrogen and progesterone on the vaginal cycle of the ewe " *J. Endocrinol.*, 14 (1956): 97 - 109.
- X 31.- ROTHCHILD, I.: "The corpus luteum-pituitary relationship. The association between the cause of luteotrophin secretion and the cause of follicular quiescence during lactacion; the basis for a tentative theory of the corpus luteum pituitary relationship in the rat. *Endocrinology*, 67 (1960): 9.-
- X 32.- THEILER, K.: The house mouse. Development and normal stages. Würzburg: Springer, 1972.
- 33.- SANGER, F.; P. Engle et S. Bell: "The vaginal cytology of the ewe during the estrous cycle" *Am. J. Vet. Res.*, 19 (1958): 283.
- 34.- TURNER, C.: General endocrinology . Philadelphia: Saunders & Co., 1966.-
- X 35.- WEICHERT, C.: "The effectiveness of estrogen in shortening delayed pregnancy in the rat" *Anat. Rec.*, 81 (1941): 106.
- 36.- WOLFSTELLER, W.: "Citología vaginal de la vaca" *Soc. Med. Vet. Bs.As.*, 4 (1951): 293 - 295.

- 37.- YOUNG, W.: Sex and internal secretions. Baltimore: The Williams & Wilkins Co., 1961.
- 38.- ZIETZSCHMANN, O. et O.Krölling: Lehrbuch der entwicklungs  
geschichte der haustiere. Berlin: Parey, 1955.

\*\*

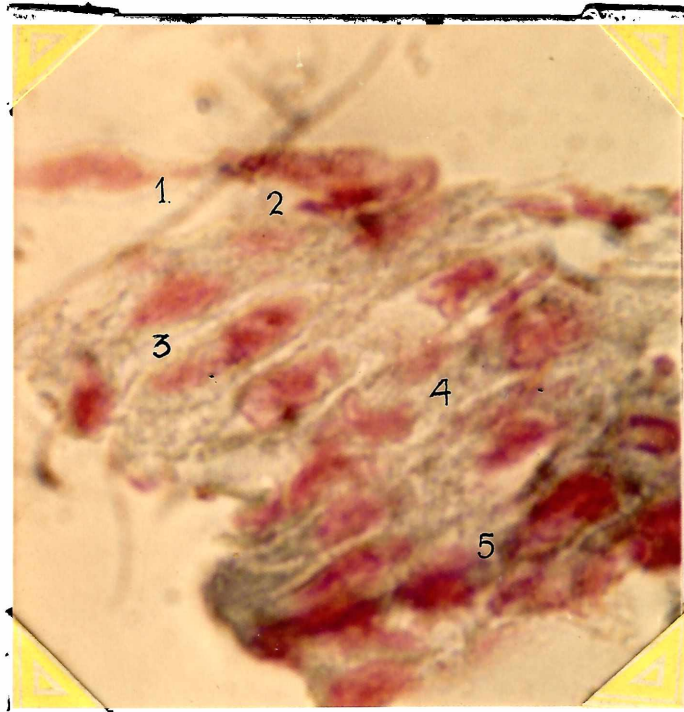


Fig. Nº 1: Epitelio vaginal durante el estro  
(1000 x - técnica de Shorr modificada)

- 1.- Células cornificadas descañándose
- 2.- Células eosinófilas
- 3.- Células cianófilas superficiales
- 4.- Células cianófilas intermedias
- 5.- Células cianófilas profundas: capa basal

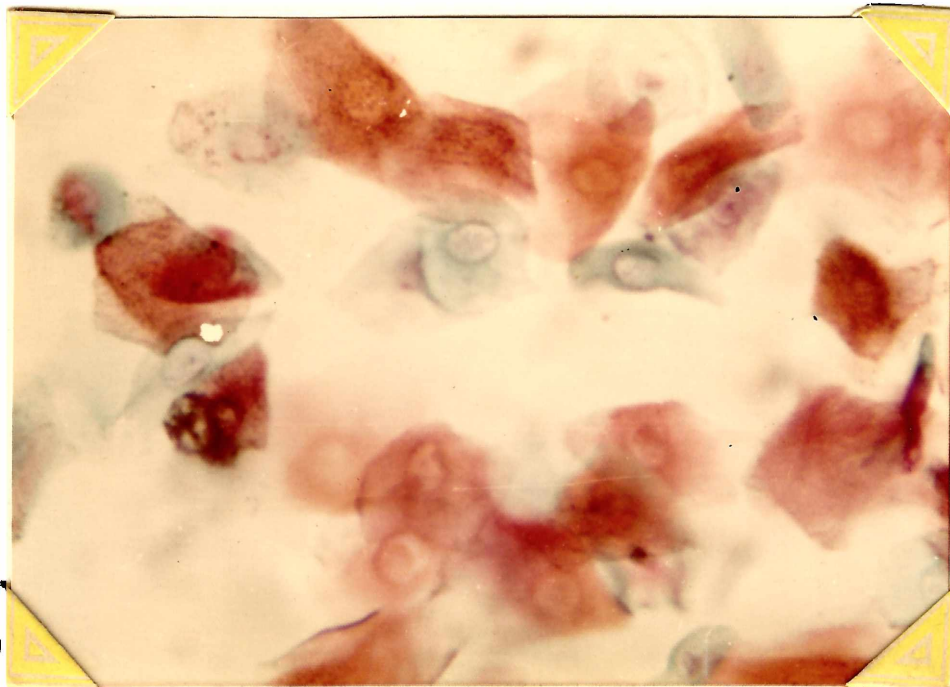
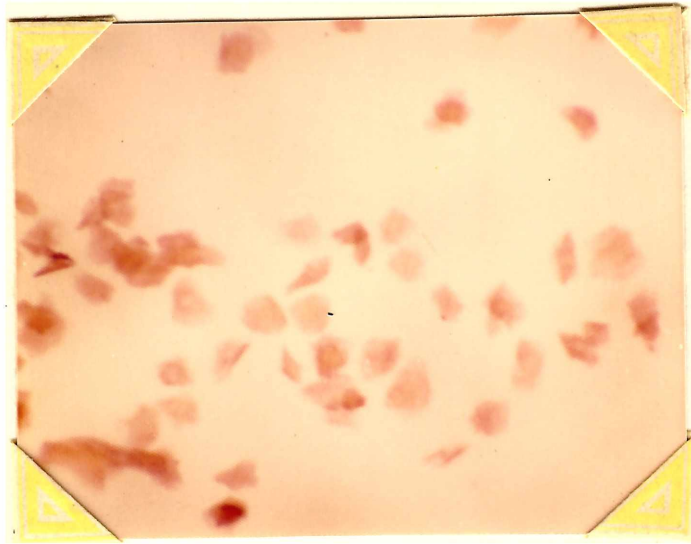
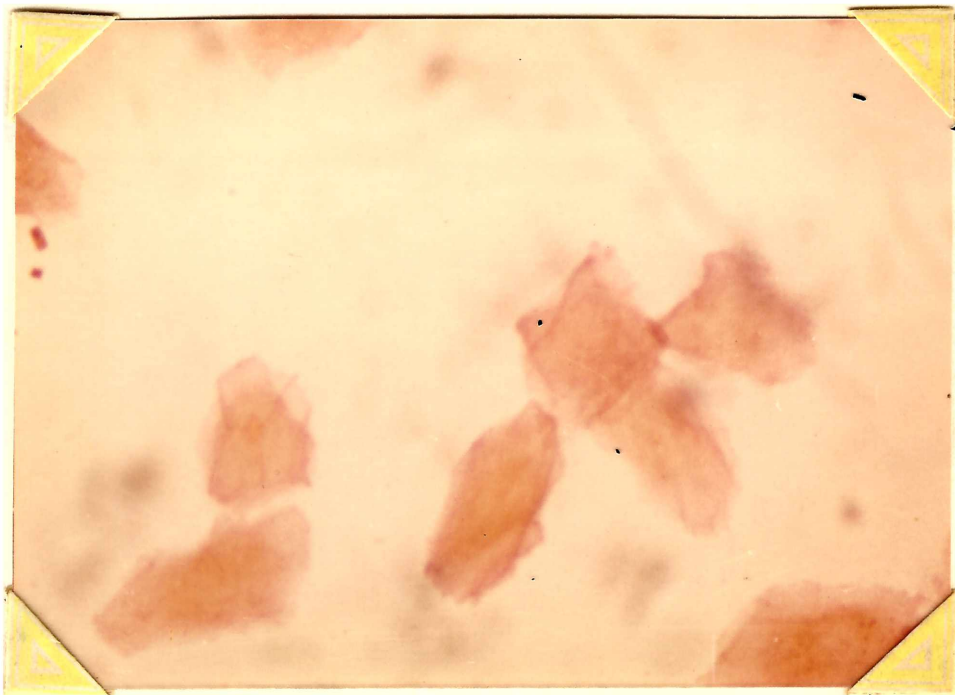


Fig. Nº 2: proestro



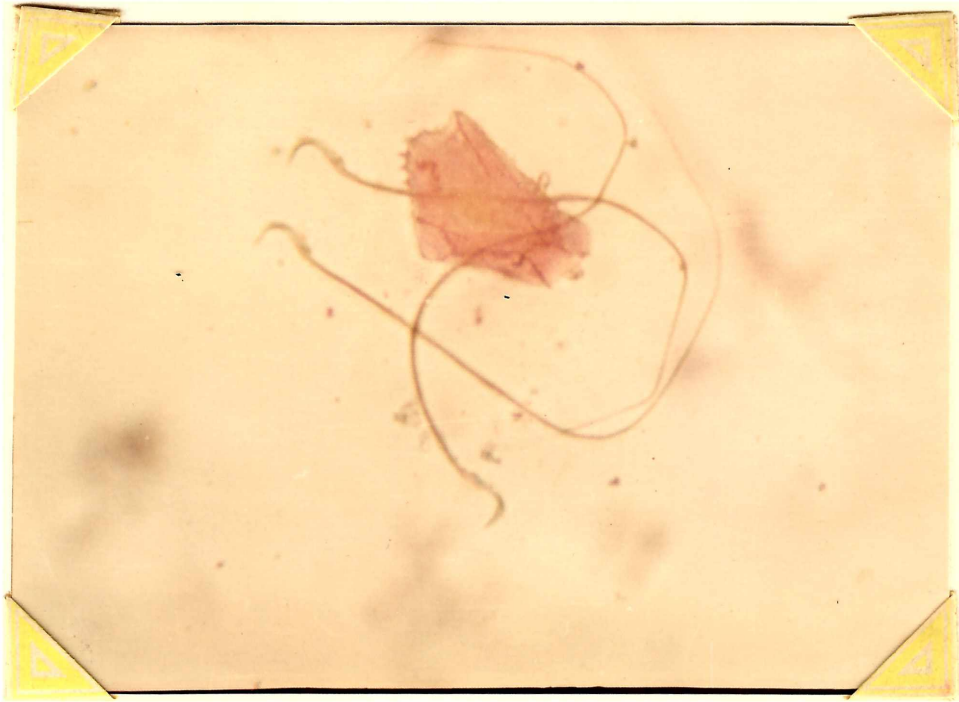
---

Fig. № 3: estro  
(100 x)



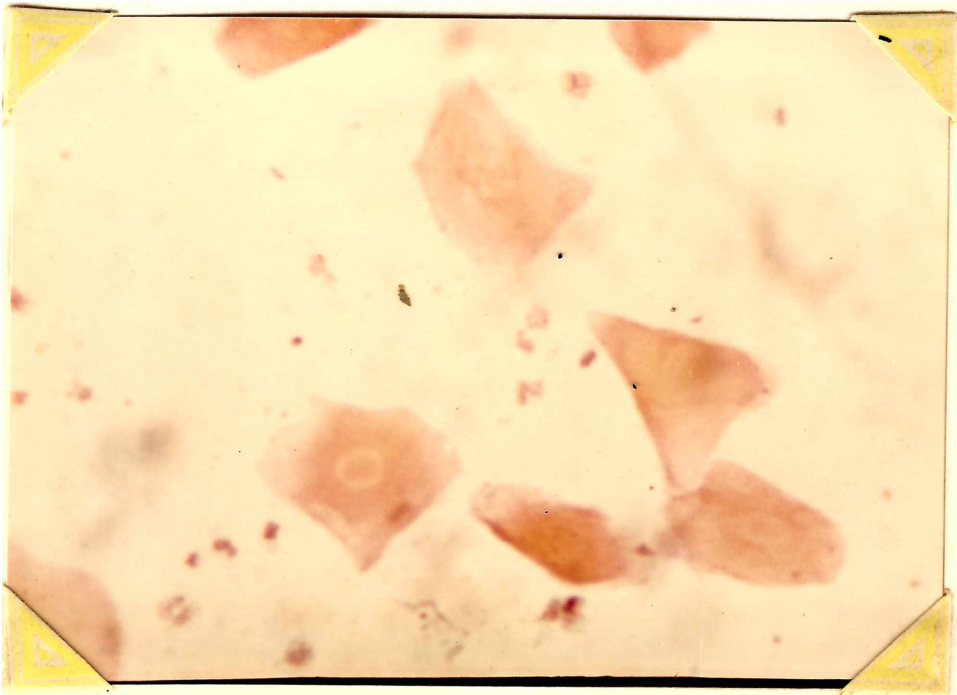
---

Fig. № 3: estro  
(450 x)



---

Fig. № 4: extendido "post-coitum"



---

Fig. № 5: metaestro



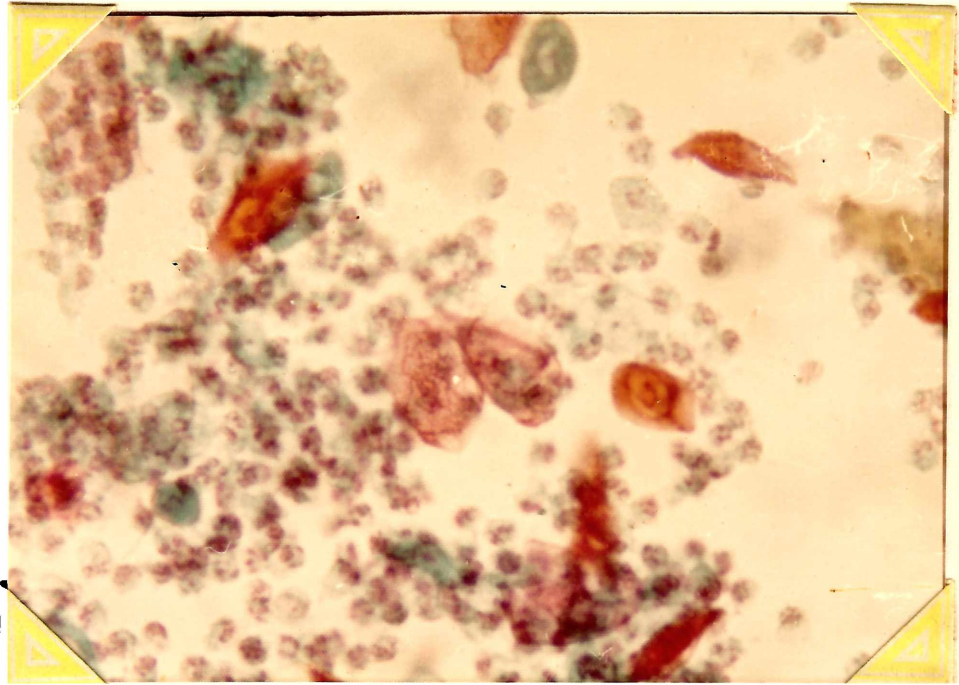


Fig. № 6: diestro

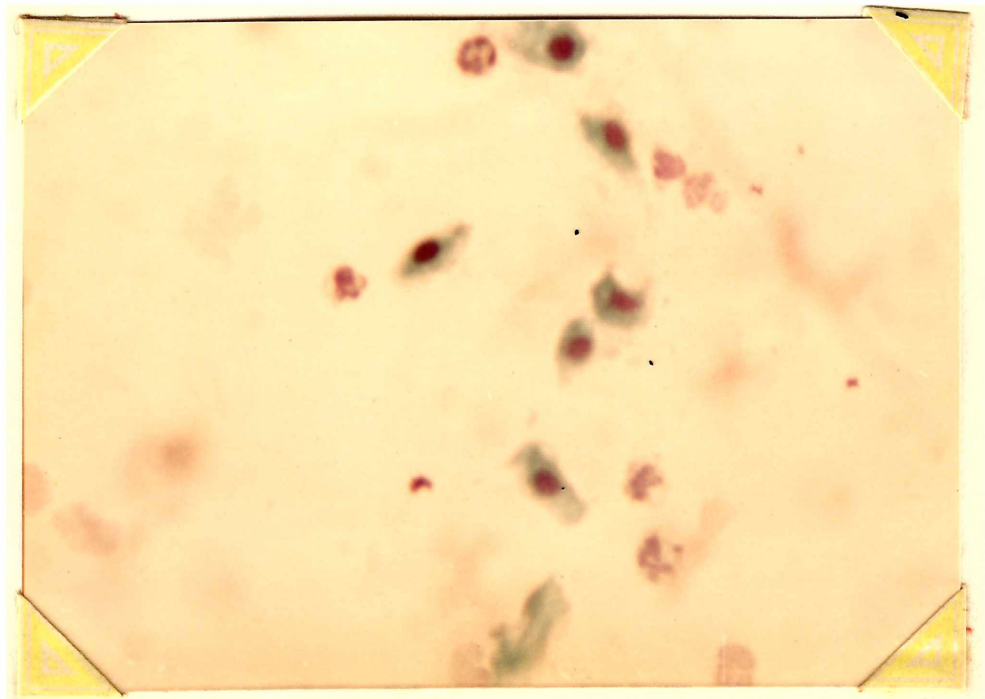
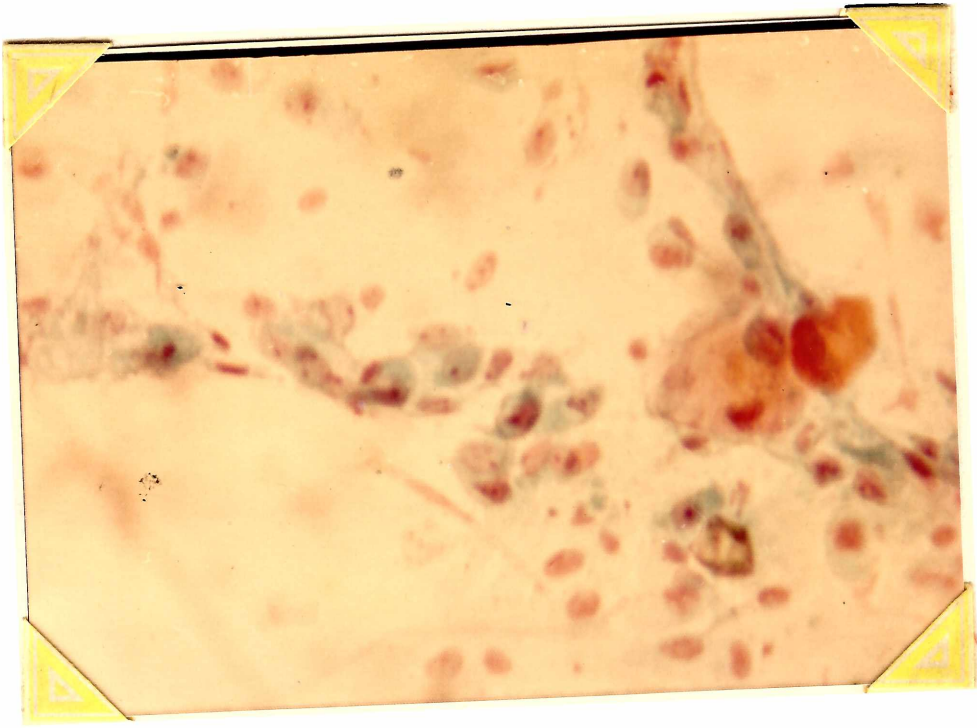
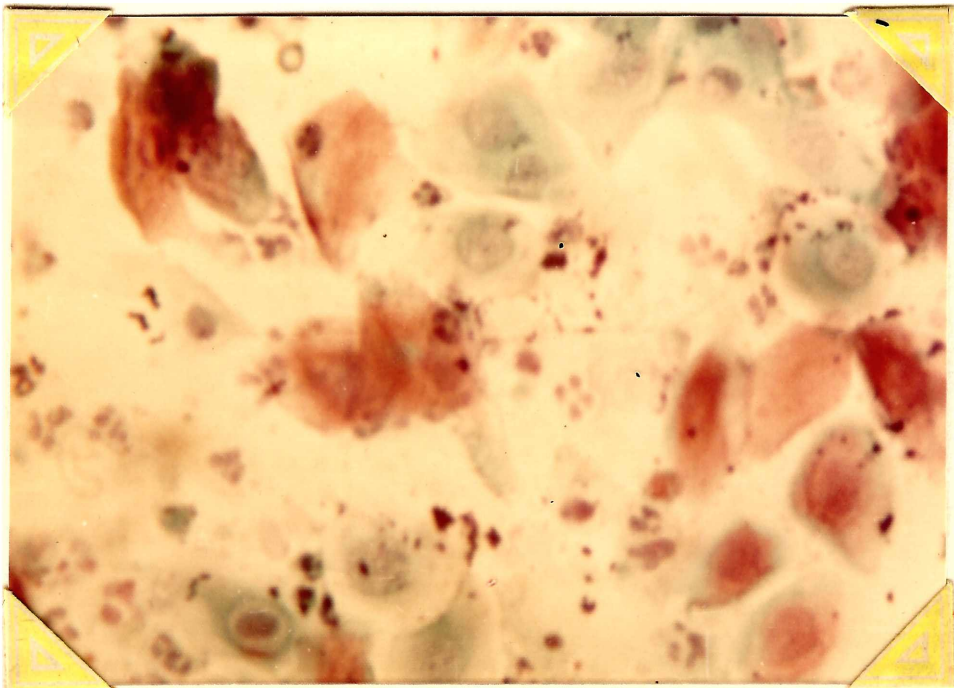


Fig. № 7: preñez



---

Fig. № 8: extendido "post-partum"



---

Fig. № 9: lactancia

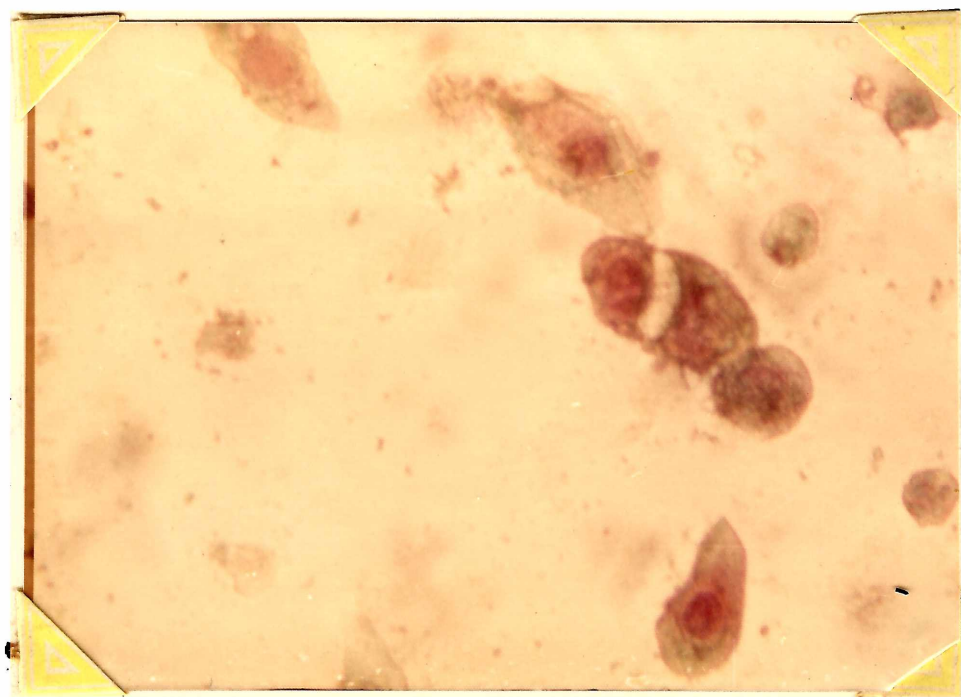


Fig. No 10: implantación diferida

Transcripción del Artículo VII de la Reglamentación de Tesis:

"La Facultad no se hace solidaria de las opiniones vertidas en una tesis".-