

**UNIVERSIDAD PRIVADA ANTENOR ORREGO
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
ESCUELA PROFESIONAL DE MEDICINA VETERINARIA Y
ZOOTECNIA**



**Relación de la citología vaginal con el
ciclo estral de la perra doméstica
(*Canis familiaris*)**

**TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE MÉDICO
VETERINARIO ZOOTECNISTA**

CLAUDIA JOHANNA CORDOVA BALAREZO

**Trujillo – Perú
2019**

La siguiente tesis ha sido revisada y aprobada por el siguiente Jurado:



M.V. Mg. Angélica María Huamán Dávila
PRESIDENTE



M.V. Mg. Roberto Sotero Briones Cabellos
SECRETARIO



M.V. Mg. Raquel Ramírez Reyes
VOCAL



M.V. Mg. César Leopoldo Lombardi Pérez
ASESOR

DEDICATORIA

A mi madre, por haberme forjado como la persona que soy en la actualidad; muchos de mis logros se los debo a ella entre los que se incluye éste. Me formó con reglas y con algunas libertades, pero al final de cuentas, me motivo constantemente para alcanzar mis anhelos.

AGRADECIMIENTO

A mi familia, por el apoyo incondicional que siempre me brindan, por sus consejos para ser cada día mejor persona.

A mi asesor César Lombardi Pérez, por su apoyo y guía para la realización de este proyecto.

A mis amigos, con los que siempre puedo contar.

ÍNDICE

	Página
CARÁTULA.....	i
APROBACIÓN DEL JURADO DE TESIS.....	ii
DEDICATORIA	iii
AGRADECIMIENTO	iv
ÍNDICE	v
ÍNDICE DE CUADROS.....	vii
ÍNDICE DE FIGURAS.....	viii
ÍNDICE DE ANEXOS.....	ix
RESUMEN.....	x
ABSTRACT.....	xi
I. INTRODUCCIÓN	1
II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	3
2.1. Histología y morfología de la vagina.....	3
2.1.1. Estructura histológica de la vagina	4
2.1.2. Clasificación de células epiteliales de la vagina	4
2.2. Fisiología reproductiva de la perra	8
2.3. Citología vaginal y su utilidad clínica.	13
2.4. Técnica de citología vaginal y tinción	17
III. MATERIALES Y MÉTODOS	19
3.1. Lugar de investigación.....	19
3.2. Animales en estudio	19
3.3. Metodología para la citología.....	19
3.3.1. Identificación del animal	19
3.3.2. Toma de muestras.....	20
3.3.3. Interpretación de la citología.....	20
3.3.4. Análisis de datos.....	20
IV. RESULTADOS	21
4.1. Conducta animal.....	21
4.2. Examen citológico	22

4.3. Lectura de improntas.....	23
V. DISCUSIÓN	29
VI. CONCLUSIÓN	32
VII. RECOMENDACIÓN	33
VIII. BIBLIOGRAFÍA	34
IX. ANEXOS	39

ÍNDICE DE CUADROS

	Página
Cuadro 1. Conducta de los animales durante la toma de muestras	21
Cuadro 2. Porcentaje de células en improntas vaginales de perras.....	23

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Ilustración de los cambios producidos en el espesor de la pared vaginal.	14
Figura 2. Esquematación de los cambios hormonales ocurridos en el ciclo estral de la perra.....	14
Figura 3. Conducta de los animales durante la toma de muestra.....	22
Figura 4. Estro. Numerosas células vaginales superficiales queratinizadas	23
Figura 5. Estro. Grupo de células vaginales superficiales queratinizadas	24
Figura 6. Estro. Presencia de células superficiales grandes.....	24
Figura 7. Metaestro. Predominio de células parabasales	25
Figura 8. Metaestro. Las células parabasales (ovales) basófilas.....	25
Figura 9. Anestro. Infección vaginal.....	26
Figura 10. Anestro. Células parabasales.....	26
Figura 11. Proestro.....	27
Figura 12. Diestro. Células epiteliales parabasales e intermedias.....	27
Figura 13. Diestro. Células epiteliales parabasales redondeados	28

ÍNDICE DE ANEXOS

	Página
Anexo 1. Ficha de identificación de pacientes	39
Anexo 2. Proestro. Células intermedias con bordes irregulares	40
Anexo 3. Proestro. Células intermedias con bordes irregulares	40

RESUMEN

El presente estudio se realizó con el propósito de relacionar la conducta sexual de la perra doméstica (*Canis familiaris*) con la citología vaginal. Para este propósito se evaluaron 50 perras mestizas (95%); se determinó su conducta sexual y citología vaginal a través de tinciones Giemsa y Wright; previo examen clínico y su afiliación respectiva. La conducta de las perras, en su mayoría (48.15%), evidenció signos de celo observados por la inmovilidad, escasa descarga vulvar y desviación de la cola (Feldman y Nelson, 1987). Para la interpretación de los extendidos celulares se consideró el predominio de células parabasales, intermedias y/o superficiales, correspondiendo a estro (36%), anestro (24%) e infección vaginal (22%).

ABSTRACT

The present study was conducted with the purpose of relating the sexual behavior of the domestic dog (*Canis familiaris*) with vaginal cytology. For this purpose, 50 mongrel dogs (95%) were evaluated; their sexual behavior and vaginal cytology were determined through Giemsa and Wright stains; prior clinical examination and their respective affiliation. The behavior of female dogs, mostly (48.15%), evidence of signs of heat observed by immobility, poor vulvar discharge and deviation of the tail (Feldman and Nelson, 1987). For the interpretation of extended cells, the predominance of parabasal, intermediate and / or superficial cells, corresponding to estrus (36%), anestrous (24%) and vaginal infection (22%) is considered.

I. INTRODUCCIÓN

En la actualidad, la especie canina (*Canis familiaris*) está generando mayor interés, no sólo como animal de compañía, sino también como actividad económica en la reproducción de razas puras; por lo cual, el Médico Veterinario debe estar a la vanguardia en diversos temas de reproducción animal, con el fin de prestar un adecuado servicio profesional.

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

El ciclo estral en la perra se compone de 4 fases: proestro, estro, diestro y anestro; los cuales, están relacionados directamente con la actividad hormonal (Blendinger, 2007; Reddy y otros, 2011); y en cada uno de ellos hay cambios celulares observables tras su seguimiento. Con el propósito de cumplir el objetivo de la investigación se relacionaron, los hallazgos citológicos de la vagina de las perras a través de frotices de la mucosa, y así, determinar con certeza los cambios que sufre la perra en cada fase del ciclo estral, de tal manera que ayude en el diagnóstico de algún caso patológico que pueda sufrir dicho animal.

Son diversos los estudios y métodos para la determinación del ciclo estral en la especie canina, siendo así, que en nuestro medio el diagnóstico en perras, regularmente se basa en la detección de signos clínicos, que son de carácter subjetivo y cuando se realiza citología exfoliativa se utiliza

generalmente colorantes derivados del azul de metileno y ocasionalmente visión del frotis en fresco.

En la práctica veterinaria, el control del ciclo reproductivo de la perra se realiza en base a: cambios anatómicos de los órganos reproductivos, la medición de niveles séricos de progesterona y en otros casos, a través de citología vaginal microscópica de frotices. Estos métodos mencionados, muestran el momento oportuno del servicio, así como, la descripción de las principales patologías que afectan al sistema en la hembra canina. La perra en promedio alcanza su madurez sexual entre los 6 y 10 meses de edad y los intervalos entre ciclos reproductivos ocupan de 4 a 13 meses (Pineda, 1991).

La presente investigación se realizó en perras, utilizando la técnica citológica vaginal, verificando en forma porcentual el índice de maduración celular y comparando para proporcionar una mejor correlación clínico-citológica.

El conocimiento de las características del ciclo reproductivo canino es de suma utilidad, para determinar el día de mayor fertilidad, ya sea, para implementar servicio natural o inseminación artificial; determinar el primer día del diestro y así aproximar la fecha probable de parto, aproximar el diagnóstico y evaluar las posibilidades terapéuticas de las diversas enfermedades reproductivas.

II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1. Histología y morfología de la vagina

La vagina está dirigida cranealmente desde la unión vestíbulo–vaginal hasta el cuello uterino, más o menos a la altura de la cuarta o quinta vértebra lumbar. Es un conducto potencial recubierto por un epitelio estratificado que es influenciado por cambios hormonales. Este conducto se estrecha cranealmente debido a un pliegue longitudinal dorsomedial de la mucosa; el extremo caudal de este pliegue suele confundirse con el cuello del útero (Allen, 1993). La vagina es un órgano cilíndrico, musculoso, provisto de una mucosa tegumentaria, ausente de glándulas.

La musculatura de su parte posterior es estriada. Entre la vagina y su vestíbulo baja un pliegue mucoso desde la pared superior, llamado himen (Nusshag, 1977). La vagina es larga y de longitud muy variable, dependiendo de la raza, (10–14 centímetros) se extiende horizontalmente por el interior de la pelvis, antes de inclinarse hacia abajo, más allá de la arcada isquiática para unirse al vestíbulo. Aparte del destacado pliegue dorsal medio que continúa a partir del cérvix en una corta distancia, la luz interior del órgano, cuando no está distendido, está casi obstruida o al menos ocupada por una serie de pliegues irregulares formados en las paredes del órgano. Dichos pliegues terminan entre la unión de la vagina y el vestíbulo. La mucosa presenta pliegues longitudinales con pequeños pliegues transversales. El meato uretral externo señala el límite entre la vagina y la vulva. La gran cantidad de moco vaginal que aparece durante el estro se origina principalmente en el cuello uterino, la vagina es llamada órgano de la cópula (Dellman, 1994). En la túnica serosa o adventicia y en el tejido conjuntivo que une la vagina con las estructuras cercanas están presentes extensos plexos venosos y linfáticos. En la túnica serosa o

adventicia también existen numerosos haces y ganglios nerviosos. La innervación es fundamentalmente simpática y deriva del plexo pélvico (Dellman, 1994).

2.1.1. Estructura histológica de la vagina

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

- A. La mucosa vaginal sustenta principalmente un epitelio escamoso estratificado que incrementa su grosor durante el proestro y el estro. La propia–submucosa consta de tejido conjuntivo irregular laxo o denso. En la zona caudal de la vagina existen ganglios linfáticos (Dellman, 1994).

- B. La túnica muscular consta de dos o tres capas. Una gruesa capa interna de músculo circular liso, está separada en haces por tejido conjuntivo y se halla rodeada por una delgada capa externa de músculo longitudinal liso. En la perra existe además una capa delgada de músculo longitudinal liso que es interior a la capa circular (Dellman, 1994).

- C. La túnica adventicia, cranealmente, la túnica serosa, consta de tejido conjuntivo laxo y contiene grandes vasos sanguíneos, nervios y ganglios nerviosos. La delgada capa muscular exterior de músculo liso puede ser considerada una parte de la túnica serosa y es llamada la serosa muscular (Dellman, 1994).

2.1.2. Clasificación de células epiteliales de la vagina

La nomenclatura de las células vaginales está basada en su morfología. Los diferentes tipos de células representan estados de muerte

celular. En tanto que las células van muriendo se vuelven más grandes y de bordes irregulares (Concannon, 1987). Las células que forman el epitelio vaginal estratificado plano sin queratina de la membrana basal hacia la superficie, son las siguientes:

A. Célula Basal y Parabasal

Las células basales o germinales son células pequeñas de forma redonda a ovalada, de tamaño uniforme (13 a 20 μm) con un núcleo central. Por lo general se desprenden en pequeños grupos y tienen apetencia por los colorantes básicos. No suelen observarse en frotis normales, cuando se encuentran es debido a un proceso patológico que ha lesionado las capas celulares superficiales como pueden ser atrofia, vaginitis o ulceraciones de la mucosa (De Buen, 1997).

Las células parabasales son las células epiteliales más pequeñas vistas en una muestra vaginal típica. Son redondas o casi redondas y tienen núcleo grande en relación al citoplasma. Estas células se desprenden de la capa de células germinales cercana a los vasos sanguíneos (Esquivel, 1996) y prevalecen en muestras tomadas durante el diestro y anestro, y no son raras durante el proestro temprano. Las células parabasales son notablemente ausentes en el estro (Concannon, 1986).

B. Célula Intermedia

El cambio de célula parabasal a intermedia, refleja el primer paso en la muerte celular (Concannon, 1987).

Son las más frecuentes y numerosas, su tamaño depende del grado de maduración, miden de 20 a 40 μm (De Buen, 1997).

Las células intermedias varían en talla y forma, pero normalmente tienen un diámetro 2 a 3 veces mayor que las células parabasales (Concannon, 1986), su abundante citoplasma y el tamaño del núcleo las diferencian de estas últimas; indica la etapa anterior a su transformación a superficial (Esquivel, 1996). Muchos citólogos sub clasifican éstas células en:

- Intermedias pequeñas (casi redondas o de forma oval con núcleo grande)
- Intermedias grandes (forma poligonal con núcleo pequeño en relación al citoplasma)

Con la tinción Papanicolau suelen presentar citoplasma basófilo, sin embargo, en ocasiones puede ser eosinófilo dependiendo del pH celular, y de los colorantes utilizados, además contiene gran cantidad de glucógeno.

Las células intermedias prevalecen durante todos los estados del ciclo excepto el estro (Concannon, 1986). Dentro de estas células encontramos variaciones como son las células naviculares, las células de metaestro y las células espumosas (De Buen, 1997).

C. Célula Superficial.

Las células superficiales son células muertas que revisten el lumen vaginal de perras en estro. Son las más grandes vistas en una muestra vaginal, miden de 40 a 60 μm , de forma poligonal y distintamente planas, algunas veces tienen apariencia de estar enrolladas. Sus núcleos son picnóticos (muy pequeños y oscuros), el citoplasma habitualmente se tiñe de color rosa, aunque puede aparecer azul pálido dependiendo del pH celular, la afinidad tintorial de estas células depende del grado de

maduración, siendo más maduras las eosinófilas que las basófilas (Concannon, 1986 y De Buen, 1997).

A veces pueden mostrar en su citoplasma granulaciones pequeñas de localización perinuclear o periféricas que contienen lípidos y su presencia es estrógeno-dependiente. Como la maduración del epitelio rara vez se lleva a cabo en ausencia de estrógenos, la picnosis nuclear en células superficiales maduras es una buena evidencia de actividad estrogénica (De Buen, 1997).

Son característica del final del proestro, y la presencia de un gran número de células superficiales o solamente células superficiales es característica citológica de estro y su abrupto y precipitado decline marca el inicio del diestro. (Concannon, 1986, 1987).

D. Célula Anucleada

También se le conoce como escama o “cornificada”, es una célula grande, sin núcleo de bordes angulosos e irregulares que predomina en el estro y marca el final del proceso de descamación de la célula parabasal (Esquivel, 1996).

E. Otras células

A parte de las células epiteliales descritas, otras células son vistas en muestras vaginales, entre las cuales tenemos:

- Eritrocitos. Son usualmente observados en gran número durante el proestro. En algunas perras, son vistos en el estro e incluso al inicio del diestro.

- Neutrófilos. Son con frecuencia abundantes en muestras tomadas durante el diestro temprano y no son raras en otros estados, considerados raros durante el estro. Moderado número de neutrófilos son comunes.
- Bacterias. Las bacterias son vistas con frecuencia en muestras vaginales en gran número cubriendo las células (De Buen, 1997).

2.2. Fisiología reproductiva de la perra

La perra doméstica (*Canis familiaris*), posee una fisiología reproductiva muy diferente de otras especies domésticas y también entre otras especies caninas salvajes. Posee prolongados períodos interestrales, sin diferenciar la estación del año. La actividad de las hormonas luteinizante y progesterona, se inicia antes de la ovulación; su fase copulatoria continúa, a pesar de los niveles altos de progesterona sanguínea (Feldman y Nelson, 2000). La perra es considerada monoéstrica típica, su actividad reproductiva no presenta patrones estacionales definidos, presentando así celos durante todo el año.

La convivencia de una perra en celo, puede inducir el estro en otras perras y los factores estresantes pueden suprimir la actividad sexual (Sánchez, 1998). En la práctica se considera púber al animal capaz de liberar gametos y por consiguiente tiene un comportamiento sexual completo, ésta es el resultado de un equilibrio gradual entre la actividad gonadotrófica creciente y la gametogénesis (Hafez, 2000). Con dos o tres meses antes de lograr su peso de adulto, se considera púber, en algunas razas pequeñas presentan su primer celo entre 6 y 10 meses de edad; las razas grandes pueden ciclar hasta los 12 a 24 meses de edad, dependiendo de factores genéticos, ambientales, nutricionales y sanitarios (Feldman y Nelson, 1991). La pubertad no necesariamente indica madurez sexual, por lo que, la edad reproductiva óptima se adquiere a partir del

segundo o tercer celo. En la perra el máximo rendimiento reproductivo se mantiene hasta los seis años aproximadamente, momento a partir del cual, la fertilidad comienza paulatinamente a disminuir (Pineda, 1991).

El primer ciclo estral en perras se produce, en promedio, entre seis y diez meses de edad, ello hace que los intervalos entre ciclos reproductivos sucedan de cuatro a trece meses. Los cambios endocrinos que experimenta la perra durante su ciclo reproductivo, son los más importantes tras su seguimiento (Concannon, 2011).

La perra es considerada monoéstrica no estacional, ya que, tiene un celo por estación reproductiva. El intervalo interestral es muy variable entre hembras de una misma raza, y es probable que esté influenciado por condiciones ambientales e interacciones sociales (Pineda, 1991).

Se consideran cuatro fases en el ciclo estral de la perra: la primera de inactividad sexual o anestro, con una duración promedio de cuatro meses; prosigue el proestro, que dura en promedio nueve días y es observable tumefacción vulvar y sangrado; la tercera fase de celo o estro, es cuando se produce la aceptación al macho y acontece la ovulación espontánea que dura en promedio 9 días; de no producirse la gestación, la última fase es el diestro, con una duración promedio de 65 días y concluye imperceptiblemente en anestro (Jeffcoate, 1999).

A. Proestro

Etapa del ciclo estral que dura entre seis hasta 21 días, la perra presenta sangrado vulvar, que provoca el lamido frecuente de zona genital, excitabilidad, polidipsia, y disminución del apetito, así como, al aumento de la vascularización endometrial (Sánchez, 1998; De los Reyes y Sánchez, 2000).

En esta etapa hay predominio de estrógenos sintetizados por los folículos ováricos en desarrollo que inician su crecimiento previo al proestro, es decir, antes de terminar el anestro (Concannon, 1998). Los estrógenos aumentan, provocando un efecto de retroalimentación negativa a nivel hipotálamo-hipofisiario para la hormona folículo estimulante, la cual disminuye y, por otra parte, la elevación de estrógenos desencadena la retroalimentación positiva para la hormona luteinizante (Parvizi, 2000); por el contrario, la progesterona se encuentra en niveles bajos (menor 0.5 ng/mL) aumentando dos a tres días antes del fin del proestro (Badianand y otros, 1993); éste aumento estaría relacionado a la luteinización de los folículos preovulatorios.

En el proestro las hembras son perseguidas por los machos, debido a las feromonas liberadas en las secreciones vaginales y la orina, a pesar de ello, la hembra no aceptará el apareamiento (Pineda, 1991).

Se mantienen niveles estables de hormonas FSH y LH hasta el momento preovulatorio, en el cual, aquellas incrementan sus niveles; durante esta misma fase, los niveles de estradiol se elevan de niveles basales (2-10 pg/ml) hasta niveles pico (50-100 pg/ml). Por su parte, la progesterona mantiene niveles basales en el común de esta fase (< 1 ng/ml), los cuales empiezan a incrementarse al final de la misma, dando paso a la fase del estro, con una intensa actividad folicular y acompañada, a su vez, del mayor número de signos clínicos asociados a la reproducción en la hembra (Esquivel, 2012).

B. Estro o celo

Comienza el primer día en que la hembra acepta la monta y cópula, termina cuando deja de aceptar al macho; la duración es de nueve días en

promedio, con un rango de cuatro a 21 días (Concannon, 1998). Los genitales externos de la hembra (vulva), se aprecia menos hinchada, blanda y flácida; la mucosa vaginal pálida y secreción serosanguinolenta tenue (Sánchez, 1998). Durante el estro se presenta elevación pre-ovulatoria de LH que dura aproximadamente entre 24 a 72 horas y luego de uno a dos días, se eleva la FSH (Concannon, 1998). Por su parte, la progesterona eleva sus niveles basales previamente y después los de la LH alcanzando un rápido aumento los siguientes 10 días, este efecto de la progesterona aumenta y prolonga la intensidad de la conducta estral (Concannon y Temple, 1989).

La ovulación en la perra es espontánea, no inducida por el coito y se produce 24 a 72 horas después del pico de LH, ello depende de la cantidad de ovocitos maduros liberados (Tsutsui, 1989), sólo después de la maduración, el ovocito está apto para ser fecundado. La maduración del ovocito alcanza alrededor del tercer día post ovulación (Farstad, 2000). La fecundidad en la perra comienza a declinar progresivamente a los seis años de edad o más (Feldman y Nelson, 1991), momento en el cual la progesterona incrementa sus valores sanguíneos de cuatro a 10 ng/ml, situación que coincide, con el descenso de la concentración de estrógenos séricos y del pico de LH (Arcila y otros, 2005).

C. Diestro

Este periodo se caracteriza por el predominio de la progesterona y en la cual los cuerpos lúteos son completamente funcionales. En la perra es similar en tiempo al período la gestación (aproximadamente 63 días); siendo levemente más largo en hembras no preñadas. El inicio del diestro está determinado por el primer día en que la perra rechaza la monta, en la mayoría de las perras comienza ocho a 10 días después del pico de LH (Badianand y otros, 1993). Los niveles de progesterona aumentan

alcanzando sus valores máximos entre los 20 a 30 días, después de la ovulación y luego descienden gradualmente alrededor de la cinco a seis semanas (Concannon, 1998).

La progesterona induce cambios a nivel endometrial y miometrial, favorece la implantación y disminuye las contracciones uterinas, hipertrofia e hipervasculariza al útero, la mucosa vaginal se torna rosado-pálido con pliegues poco notorios (Sánchez, 1998). Por otro lado, los niveles de prolactina durante el diestro varían ligeramente, ésta, juega un rol importante en la mantención del cuerpo lúteo especialmente hacia mediados del diestro aumentando los receptores para LH en las células luteínicas (Fernández y otros, 1987). En hembras gestantes, la prolactina aumenta lentamente y cuando la progesterona comienza a disminuir, el pico de prolactina se observa uno a dos días antes del parto (Galac y otros, 2000), finalmente, el útero que ha estado bajo la influencia prolongada de la progesterona, entra en fase de regeneración (De los Reyes y Sánchez, 2000).

D. Anestro

Esta etapa abarca desde el final del diestro hasta el siguiente proestro. El anestro es la etapa del ciclo estral en la cual no existe actividad reproductiva evidente y se definía como un lapso de inactividad ovárica, sin embargo, se ha demostrado que los ovarios de la perra están activos y bastante sensibles a la estimulación gonadotrópica endógena semanas antes del proestro (Pineda, 1991). El comienzo del anestro en perras que no gestaron es difícil de distinguir de las hembras gestantes, en las cuales, el parto delimita la fase de diestro del anestro. Esta etapa, al igual que las otras del ciclo, presenta variación en su duración de acuerdo a la raza, edad y estado sanitario; su duración promedio es de 120 días aproximadamente (Concannon, 1998). por un incremento de la secreción de la hormona

folículo estimulante (FSH) y la hormona luteinizante (LH), inducido por la acción de la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH) de origen hipotalámico (Blendinger, 2007).

2.3. Citología vaginal y su utilidad clínica.

La citología vaginal, es una técnica con un alto valor diagnóstico, permite determinar el momento del ciclo estral en la perra, ayuda en el diagnóstico de desórdenes genitourinarios; la evaluación de las células exfoliadas de extendidos vaginales, son simples y económicas, lo que justifica su aplicación (Gobello y Corrada, 2001).

La nomenclatura de las células vaginales se basa en la morfología celular, se han descrito células: queratinizadas, no queratinizadas, cornificadas, no cornificadas; sin embargo, en la histología vaginal de la perra no se describe un epitelio vaginal cornificado, por lo que, su nomenclatura es diferente y existe la influencia estrogénica. La exfoliación celular indica necrosis celular, cuando las células vaginales redondas normales mueren se vuelven más grandes, de forma más irregular y de tinción más pálida, sus núcleos progresivamente más pequeños y picnóticos, antes de su desintegración final que deja una célula anuclear (Feldman y Nelson, 1991). Los eventos hormonales durante el ciclo estral y, en particular, a lo largo del momento de ovulación se ilustran en las figuras 1 y 2.

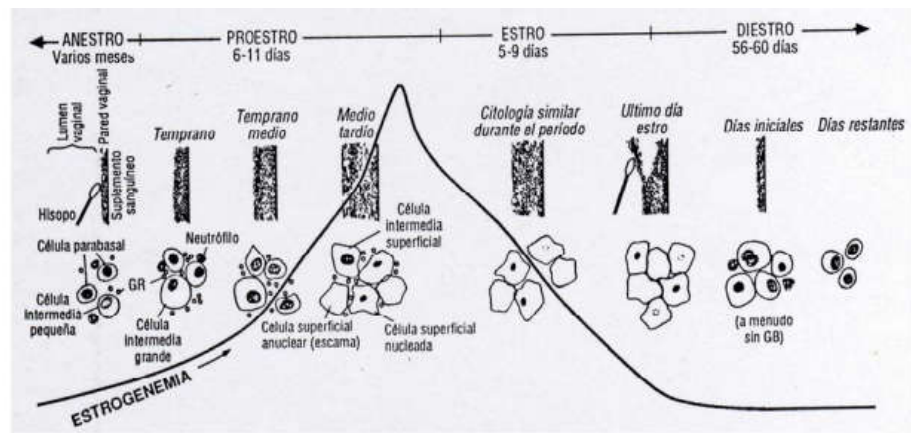


Figura 1. Ilustración de los cambios producidos en el espesor de la pared vaginal, citología vaginal y niveles de estrógenos en una perra promedio que experimenta un ciclo estral. Fuente: Feldman y Nelson (1991).

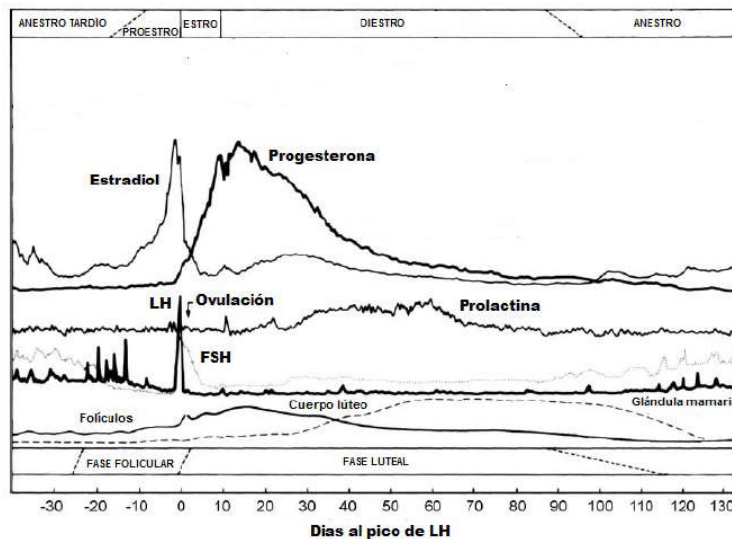


Figura 2. Esquematización de los cambios hormonales ocurridos en el ciclo estral de la perra. Los niveles basales y pico se relacionan a continuación: estradiol, 5–10 y 45–120 pg/ml; progesterona, 0.2–0.5 y 15–60 ng/ml; LH, 0.4–1.5 y 5–40 ng/ml; FSH, 15–40 y 200–400 ng/ml; prolactina, 0.5–2 y 5–30 ng/ml; 0.5 y 4–11 ng/ml. Fuente: Concannon (2011).

En los frotis de la mucosa vaginal se distinguen células normales que provienen de la capa vaginal más profunda hacia el lumen y que corresponden a las parabasales, intermedias, metaestrales y superficiales (Gobello y Corrada, 2001). Se describe otro tipo de células raramente observadas: las basales, consideradas precursoras de otras epiteliales, raramente se observan en citología exfoliativa vaginal y se las relaciona con traumatismos vaginales, raspados profundos o procesos atróficos, son redondeadas u ovaladas, pequeñas de núcleo voluminoso y escaso citoplasma (Roszel, 1977)

Las observaciones citológicas del anestro revelan un predominio de células parabasales y en menor medida células intermedias pequeñas, se pueden encontrar escasos neutrófilos y eventualmente bacterias atribuibles a la flora normal. Las células parabasales son pequeñas, redondeadas o ligeramente ovales, poseen núcleos redondos grandes y un citoplasma relativamente pequeño, se observan en frotis normales (Concannon y DiGregorio, 1986). Por su parte, las células intermedias son apenas más grandes que las parabasales hasta un volumen del doble de tamaño, de bordes irregulares y de núcleos más pequeños que los encontrados en las células parabasales (Feldman y Nelson, 1991), de citoplasma abundante y sin evidenciar queratinización (Olson, 1989). Las células metaestrales son intermedias grandes, contienen uno o más neutrófilos dentro de su citoplasma, suelen observarse en el frotis vaginal de una perra en diestro temprano o con vaginitis. Las células superficiales son las más grandes de todas, de bordes angulosos, planos y agudos, núcleos pequeños o picnóticos, su tinción es exigua. Se presentan también escamas anucleares que corresponden a células superficiales anucleares, se caracterizan por ser grandes, irregulares, necróticas y representan el final de un proceso iniciado con las células parabasales redondas de citoplasma abundante y queratinizado (Roszel, 1977).

Al examen citológico el proestro muestra neutrófilos, abundantes eritrocitos, células intermedias grandes y pequeñas y escasas células superficiales, hacia el final disminuye drásticamente el número de neutrófilos atribuido a su incapacidad de atravesar la pared vaginal, hay predominio de células intermedias y superficiales (Gobello y Corrada, 2001).

La citología vaginal durante el estro es constante, no existen modificaciones que sugieran el día del pico de la hormona luteinizante (LH) o de ovulación, las células superficiales y anucleares constituyen más del 80% y a menudo suelen alcanzar el 100%. Un frotis vaginal tomado durante el estro no contiene neutrófilos, hay disminución drástica de eritrocitos, escasas bacterias y el panorama de la impronta es limpio y libre de detritus celulares (Gobello y Corrada, 2001).

Durante el diestro el número de células superficiales en frotices disminuyen mientras que las células parabasales e intermedias incrementan, así, en los 7-10 días iniciales del diestro, reaparecen los neutrófilos en número variable, pero hay que diferenciarlos de una posible infección en los momentos tardíos; sin embargo, es muy difícil diferenciar proestro de diestro basándose exclusivamente en la citología vaginal (Gobello y Corrada, 2001).

Otros elementos celulares que son frecuentes de observar en frotis celular vaginal son los eritrocitos procedentes de capilares estimulados por la acción estrogénica, regularmente en proestro. Los polimorfo nucleares aparecen en anestro, proestro temprano y diestro por migración natural de los leucocitos a través de la mucosa vaginal y en procesos inflamatorios e infecciosos de vagina y útero, aumentan notablemente durante el proestro, en comparación con el anestro, la gestación y el post-parto (Baba y otros, 1983).

2.4. Técnica de citología vaginal y tinción

La citología vaginal es fácil, rápida y necesita escaso material. Las extensiones se preparan sobre una lámina portaobjetos con torundas de algodón estéril, se fijan, tiñen y se observan al microscopio óptico. Es importante no permitir el contacto de la torunda con el vestíbulo vaginal separando los labios vulvares con la ayuda de un espéculo a fin de evitar una falsa imagen de cornificación celular. Una vez tomada la muestra del epitelio vaginal por extensión firme por rotación se transfiere a una lámina portaobjetos limpia, luego se realiza el fijado por secado al aire o sumergir por inmersión la lámina en metanol o spray fijador, posteriormente se tiñen las muestras y finalmente la observación microscópica (Olson, 1989).

Las técnicas de tinción permiten supervisar la progresión normal del estro, determina el momento óptimo de cubrición o inseminación, detecta ciclos estrales anormales, predice la fecha de parto (Olson y otros, 1983). Los cambios celulares apreciados en la citología vaginal son fiel reflejo de los niveles séricos de estrógenos y, por tanto, permitirá conocer la funcionalidad del ovario.

Existen técnicas monocromáticas que se caracterizan por proporcionar un único patrón tintorial, es decir, muestran una imagen citológica en un solo color con distintos grados de brillo e intensidad, la cual pueden variar en función del tiempo de inmersión en el colorante, permitiendo, no obstante, visualizar e identificar los distintos tipos celulares pertenecientes al epitelio vaginal. Entre las tinciones monocromáticas se disponen del azul de metileno, hematoxilina de harris y wright-giemsá; existe una tinción modificada simple de wright-giemsá o diff-quick (Olson, 1989).

Las técnicas de tinción tricrómicas han mejorado el diagnóstico citológico al revelar una mayor información sobre la muestra estudiada, permiten diferenciar células epiteliales queratinizadas de las no queratinizadas en función de su acidofilia (Mialot, 1984). La tinción de Harris-Shorr requiere mayor tiempo para procesar la muestra. La prueba de Papanicolaou ultrarrápido diseñada para el diagnóstico de tumores en humanos permite reducir el procesado de la muestra a cinco minutos, proporciona imágenes tricrómicas limpias, libres de glóbulos rojos y con un ligero incremento del tamaño celular (Yang, 1995; Yang y Alvarez, 1995).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Lugar de investigación

La presente investigación se realizó en el distrito de Florencia de Mora. La toma de muestra se hizo en perras que llegaban a consulta en el consultorio veterinario "AR" procesándose luego en el laboratorio de histología de la Escuela de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Privada Antenor Orrego en la Escuela Profesional de Medicina Veterinaria y Zootecnia.

3.2. Animales en estudio

Se consideraron 50 caninos hembras adultas, en su mayoría mestizas (95%), las que fueron atendidas en la clínica veterinaria "AR" de la ciudad de Trujillo. Se realizó una evaluación clínica reproductiva para determinar el comportamiento en relación a su conducta sexual, tomando como referencia la anamnesis proporcionada por el propietario.

Variable independiente: Edad, raza

Variable dependiente: Etapa del ciclo estral

3.3. Metodología para la citología

3.3.1. Identificación del animal

Los animales atendidos en el centro veterinario fueron registrados en una ficha de identificación (Anexo 1).

3.3.2. Toma de muestras

Previa limpieza genital externa se introdujo un hisopo estéril por la comisura dorsal de los labios vulvares hasta atravesar la unión vestíbulo vaginal y llegar a la porción caudal de la vagina, para luego, mediante movimientos circulares del hisopo se colectó el material celular. Posteriormente se retiró el hisopo y realizó un frotis por rodamiento sobre la lámina portaobjetos y se procedió a fijar con alcohol al 95% durante 5 a 10 minutos. Inmediatamente se procedió a la tinción Giemsa y Wright, para finalmente, realizar la lectura.

3.3.3. Interpretación de la citología

Se realizó la lectura microscópica de las láminas preparadas, identificando el tipo de células y la cantidad por campo para finalmente tomar las microfotografías.

3.3.4. Análisis de datos

Se utilizó estadística descriptiva, basándose en la media aritmética y su error estándar. Las variaciones obtenidas entre los distintos tiempos de cada parámetro se analizaron mediante la prueba 't' de Student de muestras asociadas. Asimismo, se realizaron estudios de correlaciones entre las características fisiológicamente asociadas.

IV. RESULTADOS

4.1. Conducta animal

En el Cuadro 1, se reporta el grado de comportamiento (conducta) animal en relación a la toma de muestras, importante hallazgo para un diagnóstico en la corrección de la escasa o nula receptividad al macho. Luego de examinar 50 hembras, se determinó que en su mayoría (48.15%), correspondió a hembras en grado 3, con apreciables signos de celo principalmente observadas por la inmovilidad, escasa descarga vulvar y desviación de la cola, hallazgos que se complementan con la anamnesis realizada al propietario.

Cuadro 1. Conducta de los animales durante la toma de muestras

Grado	N°	%	Conducta	Signos Clínicos de celo
1	15	29.63	Sin atracción del macho	Ninguno
2	11	22.22	Atracción del macho, sin receptividad	Escaso
3	24	48.15	Atracción del macho, con receptividad	Apreciable

Fuente: Adaptado de Feldman y Nelson, 1987

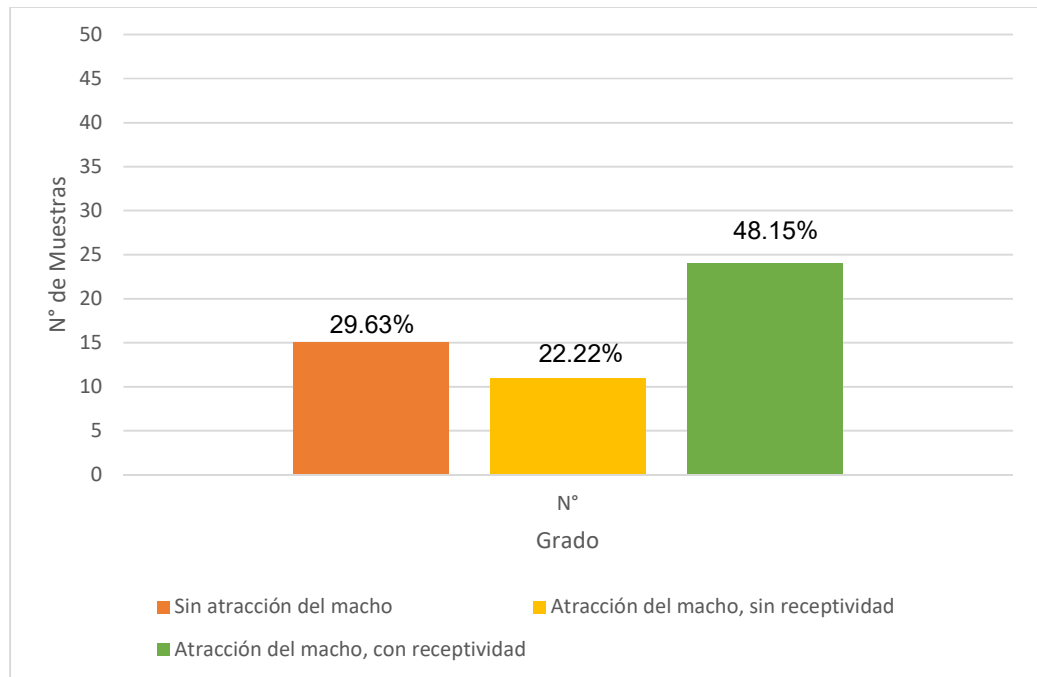


Figura 3. Conducta de los animales durante la toma de muestras

4.2. Examen citológico

La interpretación de los extendidos se realizó de acuerdo al predominio del tipo celular presente, indicativo del estado del ciclo estral canino. Para ello se consideró la presencia de células parabasales, intermedias, superficiales (nucleadas y anucleadas).

En el Cuadro 2, se reporta el grado de clasificación en base al tipo de células observadas en los frotices vaginales. Luego de examinar 100 frotices teñidos con colorante Giemsa y Wright, se puede reportar que los animales, en su mayoría, correspondieron a un grado 3 (36%) que corresponden a celo por el predominio de células superficiales, seguida de animales en anestro (24%) con presencia de células parabasales, además un considerable número de animales correspondieron a un grado 4 (22%) indicativo de infección vaginal por la presencia de células inflamatorias.

Cuadro 2. Porcentaje de células en improntas vaginales de perras

Grado	N° (%)	Superficiales (*)	Intermedias	Parabasales	Eritrocitos	Neutrófilos
1	12 (24%)	5- 10%	80 - 90%	5 – 10%	-	-
2	09 (18%)	20 - 60%	30 - 40%	0 – 5%	-	-
3	18 (36%)	90 - 95%	5 - 10%	-	Escasos	-
4	11 (22%)	90 – 95%	5 – 10%	-	Abundantes	+

(1) Adaptado de Feldman y Nelson 1987

(*) Nucleadas y anucleadas

4.3. Lectura de improntas

En las figuras 4, 5 y 6 las células vaginales son abundantes, queratinizadas de coloración acidófila, en su mayoría anucleadas y aglomeradas. No se encontraron hematíes ni leucocitos, indicativo de ovulación y por consiguiente aceptación del macho, correspondiendo a un estadio de celo. En estos casos se recomendó la búsqueda del macho y practicar otro frotis luego de dos días para, de ser el caso, recomendar una nueva monta o inseminación.

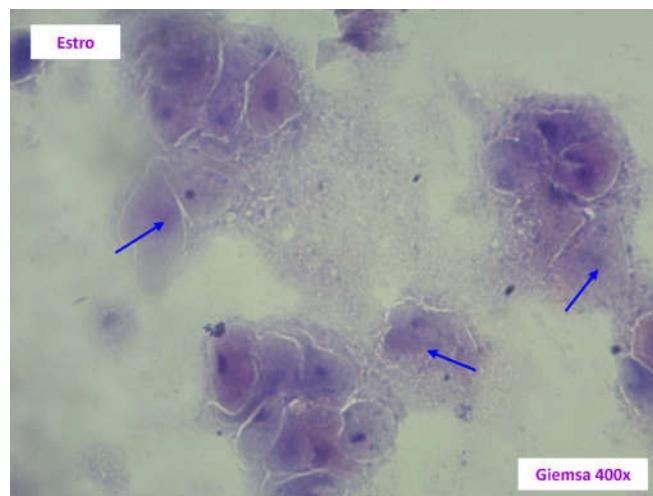


Figura 4. Estro. Numerosas células vaginales superficiales queratinizadas, caracterizadas por sus contornos irregulares, núcleo picnótico o anucleares (*), Característico arreglo en “racimos”.

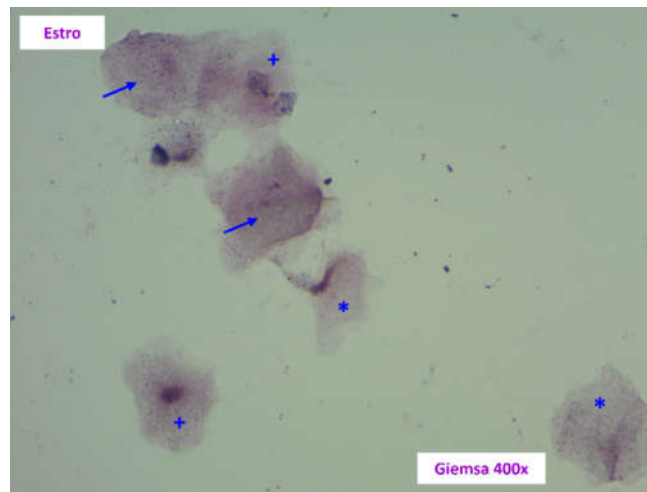


Figura 5. Estro. Grupo de células vaginales superficiales queratinizadas, contornos irregulares, algunas anucleadas (*), otras con núcleo picnótico (+), algunas intermedias núcleo rosado (**flecha**)

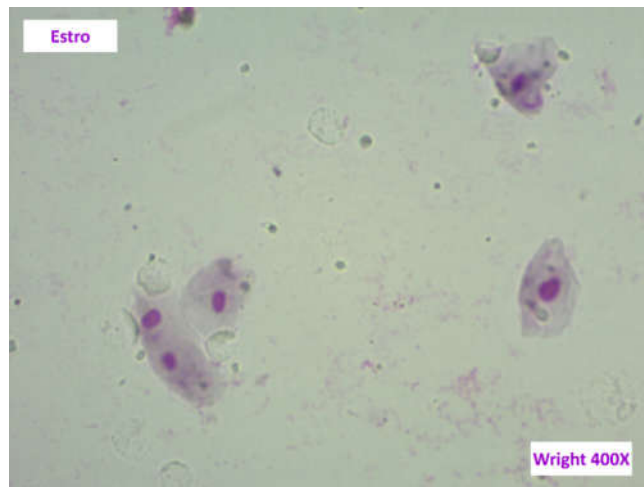


Figura 6. Estro. Presencia de células superficiales grandes. Destaca su núcleo picnótico con bordes planos o angulados

En las figuras 7 y 8, las células vaginales en regular cantidad de aspecto redondeado u oval y basófilas que corresponden a las células parabasales las cuales están rodeadas de glóbulos blancos principalmente neutrófilos. Hallazgo que confirma un estadio de metaestro, nidación o de pseudogestación.

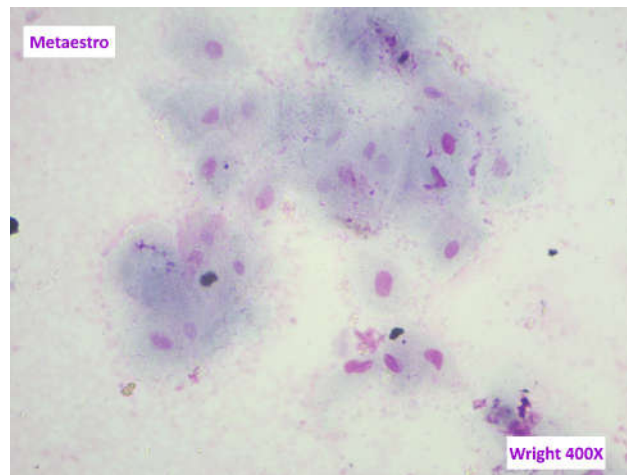


Figura 7. Metaestro. Predominio de células parabasales ovas o redondeadas basófilas, rodeadas de leucocitos principalmente neutrófilos

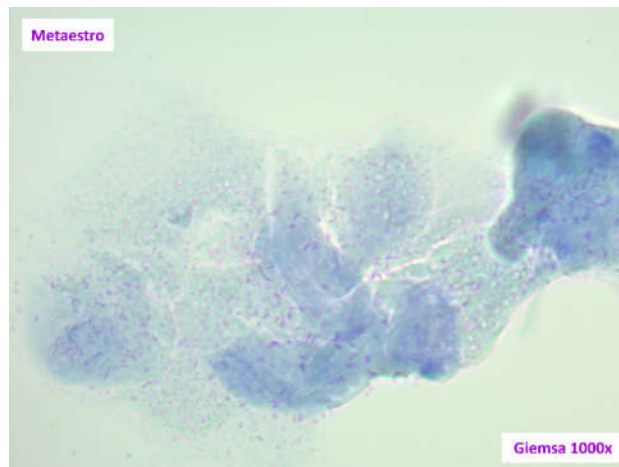


Figura 8. Metaestro. Las células parabasales (ovales) basófilas enmascaradas por abundantes neutrófilos contenidos en mucus.

En las figuras 9 y 10 se observa un frotis pobre en células y abundantes leucocitos que evidencian infección vaginal o uterina. Los animales no mostraron conducta ni signos exteriores de celo durante un largo período de tiempo correspondiendo a una fase reposo sexual o anestro.

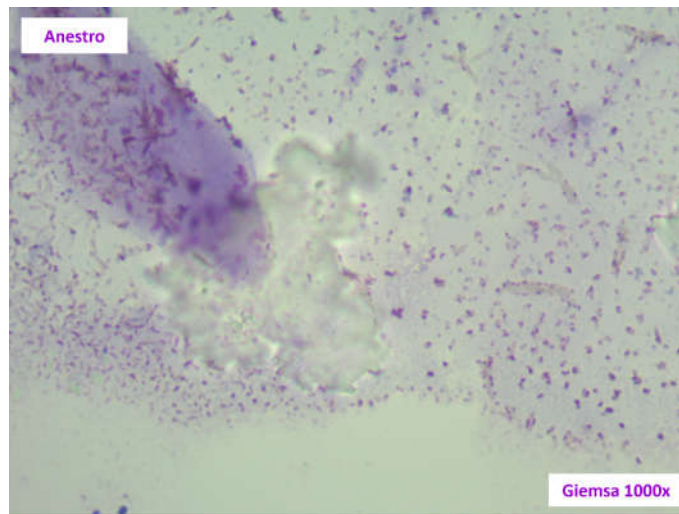


Figura 9. Anestro. Infección vaginal. Abundantes leucocitos en respuesta a proceso inflamatorio por infección, presencia de microorganismos (+) escasas células parabasales.

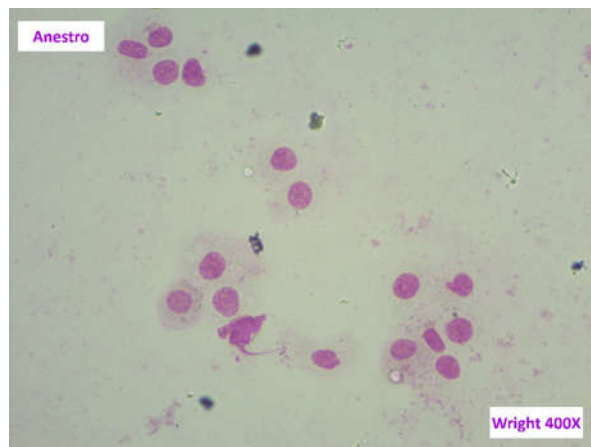


Figura 10. Anestro. Células parabasales caracterizadas por su escaso citoplasma y núcleo redondeado y central.

Las figuras 11, 12 y 13 permiten distinguir un frotis con abundantes células intermedias y escasas parabasales. El comportamiento celular es indicativo de proestro por el inicio de la queratinización.

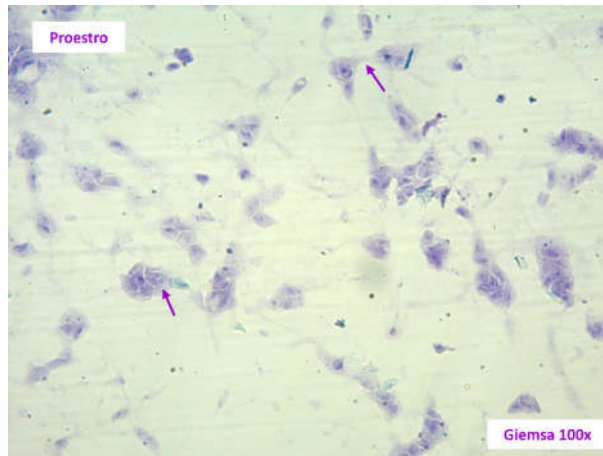


Figura 11. Proestro. Células intermedias y algunas parabasales caracterizadas por su escaso citoplasma y núcleo redondeado y central.

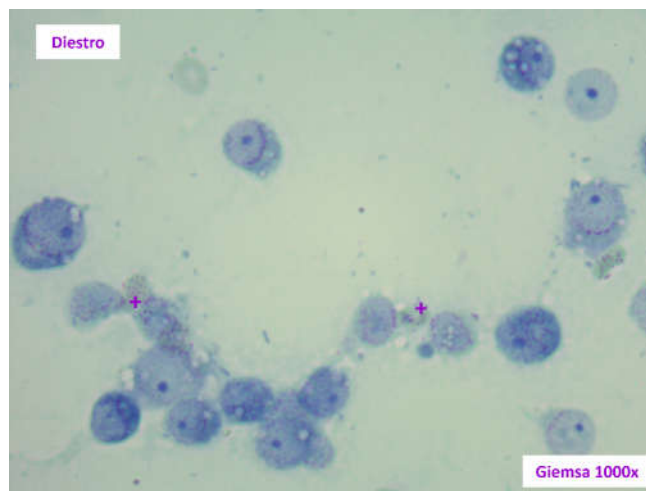


Figura 12. Diestro. Células epiteliales parabasales e intermedias. Las células presentan bordes más redondeados, núcleo visible, presencia de eritrocitos (+)

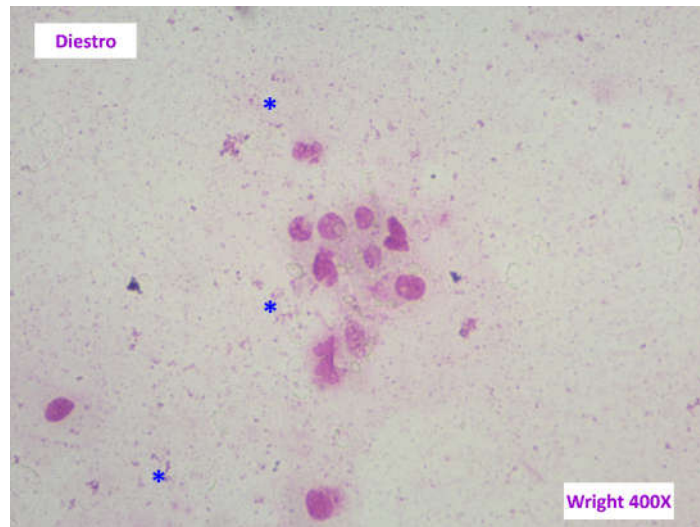


Figura 13. Diestro. Células epiteliales parabasales redondeados, presencia de considerable cantidad de eritrocitos.

V. DISCUSIÓN

No fue posible evaluar el momento óptimo de la detección del celo por la conducta individual de las perras respecto a otras, por cuanto no se tuvo evidencias de convivencia con otros animales en celo como lo describe Sánchez (1998). El comportamiento observado tiene su explicación con lo manifestado por Hafez (2000) para quién la conducta sexual es gradual previa evaluación entre el equilibrio gonadotrófico y gametogénico.

La conducta de receptividad o aceptación al macho manifestado durante la anamnesis se correlaciona con los periodos interestrales de la perra, edad y la madurez sexual, condiciones ambientales e interacciones sociales, al respecto, Feldman y Nelson (2000) atribuyen la conducta sexual a la actividad hormonal luteinizante y niveles de progesterona y Pineda (1991) al rendimiento reproductivo según la edad, el ambiente y convivencia con otras hembras.

En 11 animales (22.22%) se observó sangrado vulvar y manifestaciones de lamido y que corresponderían a la atracción del macho, pero sin receptividad, hallazgo que coincide con el proestro del ciclo estral, en la cual, hay rechazo al macho atribuido a la liberación de feromonas como lo reporta Pineda (1991) y el sangrado al incremento de la vascularización endometrial explicada por Sánchez (1998) y De los Reyes y Sánchez (2000).

Veinticuatro animales (48.15%) presentaron la vulva pálida y suave al tacto, en algunos se observó la desviación de la cola, el propietario indicó que la perra en gran parte del día animal permanece echada, esta conducta correspondería a la descrita por Sánchez (1998) para quién la palidez se debe a la secreción serosanguinolenta tenue y la escasa actividad coincide con la aceptación del macho y que corresponde al estadio de celo, así

Concannon y Temple (1989) atribuyen esta conducta a los niveles altos de FSH y Feldman y Nelson (1991) al aumento sanguíneo de progesterona.

Por referencia de los propietarios, 15 animales (29.63%) tuvieron un comportamiento indiferente a la presencia del macho, traduciéndose clínicamente en rechazo, conducta que corresponde a estadios estrales de diestro, en el cual ya se produjo la ovulación y la probable gestación; hallazgos que son atribuidos al incremento de la progesterona y funcionalidad de los cuerpos lúteos descritos por Badianand y otros (1993), además se observó la mucosa vaginal pálida, hallazgo que es corroborado por Sánchez (1998).

Se incluye en este grupo animales en anestro que no aceptan al macho, probablemente por no estar gestando, coincidiendo con Blendinger (2007) quién atribuye este estadio al incremento de la secreción de las hormonas folículo estimulante y luteinizante.

Lectura de citologías

En el presente estudio se ha observado la morfología de las células vaginales que exfolian hacia la superficie y que corresponden a células en degeneración y necrosis como lo describe Concannon (1987) para quién éstas células representan estados de muerte celular y con cambios en tamaño y borde.

La ausencia en los frotices de células basales o germinales descritas por De Buen (1997) de morfología pequeña, redonda u ovalada coinciden con nuestras observaciones por cuanto el mencionado indica que no suelen encontrarse en frotices normales y que aparecen ante cuadros que compromete la mucosa como atrofia, vaginitis o ulceraciones, cuadros patológicos que no se presentaron a la toma de muestras.

La presencia de células parabasales pequeñas, redondeadas y núcleo grande se observaron en frotices que corresponden a diestro y anestro coincidiendo con lo descrito por Concannon y Di Gregori (1986), los mismos autores reportan que éstas células están ausentes en estro, coincidiendo con nuestros hallazgos.

En el presente estudio las descripciones de las células intermedias coinciden con las descritas por Concannon (1987) y De Buen (1997) y que corresponden a poseer citoplasma abundante, redondeadas a ovales, algunas con núcleo grande o pequeño, cambios que Esquivel (1996) atribuye a la transformación de parabasales a superficiales como un paso a la necrosis celular. Las células intermedias se encontraron en los diferentes estadios del ciclo excepto durante el estro como lo reporta Concannon (1986).

La presencia de células superficiales en las tinciones correspondió a las más grandes, forma piramidal y planas, núcleo picnótico y con distinta afinidad tintorial, éstas características coinciden por las descritas por Concannon (1986), De Buen (1997). Se trata de células que van madurando y revisten el lumen vaginal de perras en estro, al respecto, De Buen (1997) atribuye que su presencia es estrógeno-dependiente de allí su abundancia en durante el celo. También se encontró al final del proestro como lo describe Concannon (1986, 1987). En el presente estudio se describen células anucleadas, escamosas o cornificadas que predominan en el estro y que corresponden a células grandes y angulosas abundantes durante el celo, coincidiendo con la descripción de Esquivel (1996).

La presencia de otras células en las tinciones como eritrocitos, se observaron en proestro o inicio del diestro, los neutrófilos se observaron en diestro.

VI. CONCLUSIÓN

Los cambios clínicos y celulares en la conducta de la hembra canina, constituyen una herramienta práctica para la evaluación de su actividad reproductiva.

VII. RECOMENDACIÓN

Utilizar la citología exfoliativa como prueba de rutina en el control y manejo del estado reproductivo de hembras caninas.

VIII. BIBLIOGRAFÍA

Allen, W. 1993. Fertilidad y Obstetricia canina. Trad P. Ducar Maluenda. España, Acribia. 1 – 29p.

Arcila, A., Hernández, M., Meza, L. 2005. Estandarización de la citología vaginal exfoliativa correlacionando los niveles séricos de progesterona en perras durante la periovulación. *Revista Spei Domus*. 1(2):7-19.

Baba, E., Hata, H., Fukata, T., Arakawa, A. 1983: Vaginal and uterine microflora of adult dogs. *Am J Vet Res*, 44, 606-9

Badianand, F., Maurel, B., Siliart, 1993. Fertilization time in the bitch relation to plasma concentration of estradiol, progesterone and luteinizing hormone and vaginal smears. *J Reprod Fert* 47, 63-67.

Blendinger, K., 2007. Physiology and pathology of the estrous cycle of the bitch. *IVIS, Congresso Internazionale Multisala SCIVAC*. 56, 73 -77

Concannon, DiGregorio, B., 1986: Canine vaginal cytology. In Burke TJ (ed): *Small Animal Reproduction and Infertility, A clinical Approach to Diagnosis and Treatment*. Philadelphia, Lea and Febiger, 96-111.

Concannon, P. 1987. The physiology of ovarian cycles, pregnancy and parturition in the domestic dog; *Proceedings of the Society for Theriogenology*, 159.

Concannon, P., Temple, 1989. Biology and Endocrinology of Ovulation, Pregnancy and parturition in the dog. *J Reprod Fert* 39, 3-25.

Concannon, 1998. Physiology of canine ovarian cycles and pregnancy. En:

C LinderForsberg. Advances in canine reproduction. SLU Uppsala, Sweden, 9-20.

Concannon, 2011. Reproductive cycles of the domestic bitch. *Animal Reproduction Science*, 124: 200–210

De Buen, De Arguero, Nuria. Curso de Citopatología. Junio 1997.

De los Reyes, M., Sánchez, 2000. Fisiología Reproductiva de la perra. Tópicos de Reproducción en pequeños animales. Santiago, Chile, 13-28.

Dellman, D. 1994. Histología veterinaria. Trad por M. Arnal. 2 ed. España, Acribia. 267– 290p.

Esquivel (1996), Ciclo estral de la perra y su seguimiento a través de la citología vaginal exfoliativa, Curso de Actualización en Reproducción en caninos AMVEPE Laguna y AMMVEPE

Esquivel, C., 2012. Ciclo estral en la perra y técnicas utilizadas para su seguimiento. *Vanguardia Veterinaria*, 52:6 – 25

Farstad, W. 2000. Assisted reproductive thecnology in canid species. *Theriogenology* 53:175- 186.

Feldman, Nelson, R. 1991. Reproducción de la hembra canina. En: EC Feldman, Nelson, R. *Endocrinología y Reproducción Canina y Felina*. Editorial Inter-Médica. Buenos Aires, Argentina, 445-536.

Feldman, E., Nelson, R. 2000. Reproducción de la hembra canina. En: Feldman EC. Endocrinología y Reproducción Canina y Felina. Editorial Inter-Médica. Buenos Aires, Argentina, Pp 450-540.

Fernández, P., Bowen, R., Kostas, A., Sawyer, A., Olson, H. 1987. Luteal function in the bitch: changes during diestrus in pituitary concentration of LH and the number of luteal receptors for luteinizing hormone and prolactin. Biol Reprod 37, 804-811.

Galac, S., Kooistra, H., Butinar, J., Bevers, M., Dieleman, S., Okkens, A. 2000. Termination of mid-gestation pregnancy in bitches with aglepristone, a progesterone receptor antagonist. Theriogenology 53, 941-950.

Gobello, C., Corrada, Y. 2001. La citología vaginal de la perra. En: Actualización de temas de Reproducción Animal. Editorial Universidad Nacional de Río Cuarto, Córdoba, Argentina, Pp 419-429.

Hafez, 2000. Ciclos Reproductivos. En: Hafez ESE. Reproducción e Inseminación Artificial en Animales. Editorial McGraw Hill Interamericana, México DF, México, Pp 89- 107.

Jeefcoate, I. 1999. Reproducción canina. En: P Broers. Compendium de reproducción animal. Editorial Laboratorios Intervet S.A., Madrid, España, Pp 125-157.

Mansilla, E. 2008. Inducción de estro y ovulación en perras (*canis lupus familiaris*) mediante la utilización de extracto hipofisiario equino (HAP), descripción citológica y clínica. Memoria de título, Escuela de Medicina Veterinaria, Universidad Austral de Chile, Chile.

Mialot, J. 1984: Pathologie de la Reproduction chez les Carnivores Domestiques. Maisons-Alfort, Point Veterinaire, pp:192.

Nusshag, W. 1977. Anatomía y Fisiología de los animales domésticos. Trad. J. Muñoz. España, Acribia. 176 – 192.

Olson, P. 1983: Infertility in the bitch. In Kirk RW (ed): Current Veterinary Therapy VIII. Philadelphia, WB Saunders Co, p 925.

Olson, P. 1989: Exfoliative cytology of the canine reproductive tract. Proceedings of the Annual Meeting of the Society for Theriogenology, Coeur d'Alene, ID, September 29-30. Nashville, Society for Theriogenology.

Parvizi, N. 2000. Neuroendocrine regulation of gonadotropins in male and the female. Anim Reprod Sci 60, 31-47.

Pineda, M. 1991. Patrones reproductivos en perros. En: McDonald LE, MH Pineda. Endocrinología Veterinaria y Reproducción. Editorial Interamericana Mcgraw-Hill, México DF, México. Pp 448-473.

Reddy, Raju, K., Rao, K. y Rao, B. 2011. Vaginal cytology, vaginoscopy and progesterone profile: breeding tools in bitches. Iraqi Journal of Veterinary Sciences. 25, 51-54.

Roszel, J. 1977: Normal canine vaginal cytology. Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice 7, 667-81.

Sánchez, A. 1998. Ciclo sexual y fisiología reproductiva de la perra. Curso de Educación Continua: Tópicos de Clínica Reproductiva e Inseminación Artificial en Caninos, Valdivia, Chile, Pp 13-16.

Tsutsui, T. 1989. Gamete physiology and timing of ovulation and fertilization in dogs. *J Reprod Fert* 39, 269-275.

Yang, G. 1995: Ultrafast Papanicolaou stain is not limited to rapid assessment: application to permanent fine-needle aspiration smears. *Diagnosis Cytopathology* 13, 160-62.

Yang, G. Alvarez II, 1995: Ultrafast Papanicolaou stain: an alternative preparation for fine needle aspiration cytology. *Acta cytological* 39, 55-60.

IX. ANEXOS

Anexo 1. Ficha de identificación de pacientes

- Nombre _____
- Raza _____
- Edad estimada _____

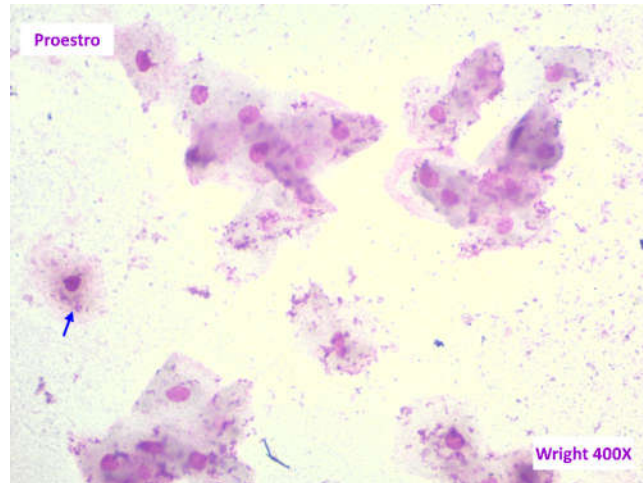
SIGNOS CLÍNICOS

Signos	Presente	Ausente
Edema y tumefacción vulvar 1		
Descarga vulvar sanguinolenta 1		
Reducción de edema y descarga vulvar 2		
Reflejo de inmovilidad 2		
Desviación de la cola 2		
Monta a otras hembras 2		

1 Proestro

2 Estro

Anexo 2. Proestro. Células intermedias con bordes irregulares, algunas intermedias (flecha)



Anexo 3. Proestro. Células intermedias con bordes irregulares, presencia de neutrófilos (*) y algunos eritrocitos (flecha)

