

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA  
"ANTONIO NARRO"**

**UNIDAD LAGUNA**

**DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL**



**DETERMINACIÓN DEL CICLO ESTRAL EN PERRAS  
ROTTWEILER POR EL METODO CITOLÓGICO**

**TESIS**

**PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL TITULO DE:**

**MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA**

**PRESENTA**

**MIA MARGARITA RASCON HERNANDEZ**

**ASESOR:**

**M.C. Ramón A. Delgado González**

**COLABORADOR:**

**M.V.Z. José Luis Fco. Sandoval Elías**

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA  
"ANTONIO NARRO"

UNIDAD LAGUNA

DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL

DETERMINACIÓN DEL CICLO ESTRAL EN PERRAS  
ROTTWEILER POR EL METODO CITOLÓGICO

TESIS

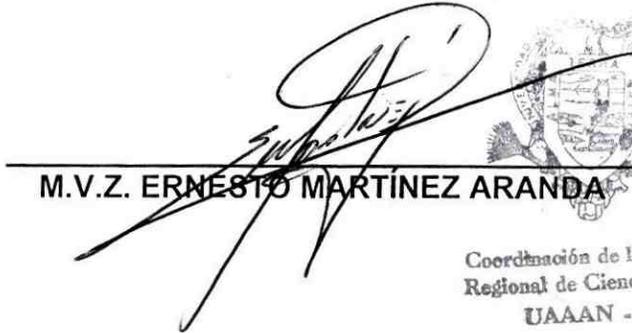
APROBADO POR EL COMITÉ DE TESIS

PRESIDENTE DEL JURADO



M.C. RAMÓN A. DELGADO GONZÁLEZ

COORDINADOR DE LA DIVISIÓN REGIONAL  
DE CIENCIA ANIMAL



M.V.Z. ERNESTO MARTÍNEZ ARANDA



Coordinación de la División  
Regional de Ciencia Animal  
UAAAN - UL

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA  
"ANTONIO NARRO"**

**UNIDAD LAGUNA**

**DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL**

**DETERMINACIÓN DEL CICLO ESTRAL EN PERRAS  
ROTTWEILER POR EL MÉTODO CITOLÓGICO**



---

**M.C. RAMÓN A. DELGADO GONZÁLEZ  
PRESIDENTE**



---

**M.V.Z. E.P. MA. HORTENSIA CEPEDA ELIZALDE  
VOCAL**



---

**M.V.Z. JOSE LUIS FCO. SANDOVAL ELÍAS  
VOCAL**



---

**M.V.Z. ERNESTO MARTÍNEZ ARANDA  
VOCAL SUPLENTE**

## INDICE GENERAL

Resumen .....	1
Introducción .....	2
I. Antecedentes .....	2
1.1 Anatomía y Fisiología del Aparato Reproductor de la Hembra .....	3
1.1.1 Órganos Internos .....	3
1.1.1.1 Ovarios .....	3
1.1.1.2 Oviducto .....	4
1.1.1.3 Útero .....	4
1.1.1.4 Cervix.....	5
1.1.1.5 Vagina .....	5
1.1.2 Órganos Externos .....	5
1.1.2.1 Clítoris .....	5
1.1.2.2 Vulva .....	6
1.1.2.3 Irrigación e Inervación .....	6
1.2 Pubertad .....	6
1.3 Etapas del Ciclo Estral .....	6
1.3.1 Proestro .....	8
1.3.2 Estro .....	10
1.3.3 Metaestro y Diestro .....	12
1.3.4 Gestación .....	13
1.3.5 Anestro .....	13
1.4 Intervalo Entre Estros .....	15
1.5 Celos Silenciosos .....	16
1.6 Citología Vaginal .....	17
1.7 Fundamento de la Citología Vaginal Exfoliativa .....	20
1.8 Clasificación de Células Epiteliales de la Vagina .....	21
1.8.1 Célula Parabasal .....	22
1.8.2 Célula Intermedia .....	22
1.8.3 Célula Superficial .....	23
1.8.4 Célula Anucleada .....	24
1.8.5 Otras Células .....	24
1.9 Flora Bacteriana Genital .....	25
1.10 Cambios Citológicos en el Ciclo Estral Canino.....	26
1.10.1 Anestro .....	27
1.10.2 Proestro .....	28
1.10.3 Estro .....	31
1.10.4 Metaestro y Diestro .....	34
II. Justificación .....	36
III. Objetivos .....	38
IV. Materiales y Métodos .....	38
V. Resultados .....	42
VI. Discusión.....	44
VII. Conclusiones .....	45

## INDICE DE CUADROS Y FIGURAS

Número de Estros por Año en Algunas Razas de Perros .....	14
Intervalo Entre Estros .....	16
Epitelio Vaginal (Cuadro 1).....	19
Anestro (Cuadro 2) .....	28
Proestro (Cuadro 3) .....	30
Proestro Temprano (Cuadro 4) .....	30
Proestro Tardío (Cuadro 5) .....	30
Estro (Cuadro 6) .....	31
Citología en el Estro .....	32
Estro Temprano (Cuadro 7) .....	33
Estro Tardío (Cuadro 8) .....	33
Estro (Cuadro 9) .....	33
Diestro (Cuadros 10 y 11) .....	34, 35
Células por Etapa .....	36
Toma de Muestra (Cuadro 12) .....	40
Laminilla Teñida (Cuadro 13) .....	42
Resultados: Intervalo entre estros .....	42

" Si en la orilla del mar  
encuentras a alguien con hambre,  
no le regales un pez; enséñale a pescar "

**Gracias Señor por permitirme llegar al final y por bendecirme con una  
nueva vida.**

**Dedico mi trabajo y mi esfuerzo a quien espero con amor.**

# DETERMINACIÓN DEL CICLO ESTRAL EN PERRAS ROTTWEILER POR MÉTODO CITOLÓGICO

## RESUMEN

Se realizó un estudio para determinar los cambios citológicos en la vagina que suceden en la perra Rottweiler durante todas las etapas de su ciclo y para verificar la estacionalidad del mismo. Se utilizaron 6 perras adultas de la raza Rottweiler. Se tomaron muestras para citología vaginal cada semana a partir de febrero hasta septiembre del 2000 con el fin de evaluar el comportamiento del ciclo reproductivo comparando el intervalo entre estros en individuos de la misma raza, los resultados mostraron que el ciclo varía de 5 a 7 meses en las perras de raza Rottweiler. Las muestras se tiñeron con la técnica de Papanicolau y se evaluaron por medio de la observación al microscopio de la luz visible y se identificaron los cambios en cuanto a cantidad se refiere de células típicas de estro, obteniendo así el momento óptimo para el cruzamiento. Se observó una ligera agrupación de calores en los meses de febrero y julio, sin llegar a ser estacionalidad.

## INTRODUCCIÓN

El estudio citológico sirve para diagnosticar diversos procesos patológicos como son: alteraciones inflamatorias y pudiendo determinar en muchos de los casos la etiología de éstas (bacteriana, viral, micótica, parasitaria, etc.); y enfermedades neoplásicas benignas y malignas, primarias o metastásicas, distinguir entre ellos para así proporcionar al animal enfermo un tratamiento oportuno y adecuado (Esquivel, 1996). En el caso de la citología vaginal, además de todo lo señalado se pueden determinar etapas del ciclo estral y gestación (De Buen, 1997).

Existen en la actualidad un sin fin de métodos diagnósticos, la mayoría de ellos injustificados y de alto costo, la citología escapa a ellos ya que es

precisamente lo contrario a los anteriores, rápido, atraumático y de bajo costo (Esquivel, 1996).

Se reconoce la utilidad que tienen los cambios en la citología vaginal para determinar la etapa del ciclo; esta técnica es útil para dueños inexpertos, por su sencillez y su carácter rutinario. En relación a las complicadas técnicas de diagnóstico basadas en exámenes citológicos vaginales en los humanos es de poco uso adicional que se ha dado el examen celular de las perras, como no sea para seguir las fases cíclicas y en especial, detectar el momento de la ovulación (Esquivel, 1996).

## I. ANTECEDENTES

Las técnicas citológicas son útiles para la evaluación de los aparatos reproductores masculino y femenino. Sin embargo, su utilidad no se refiere sólo al diagnóstico de enfermedades; también ayudan a determinar el potencial reproductivo del semen y la etapa de estro en perras y gatas. Los diferentes métodos utilizados incluyen eyaculación, masaje, lavados, biopsia por aspiración y raspados (Banks, 1996).

La citología vaginal es una técnica utilizada para determinar en que etapa del ciclo estral se encuentra la perra y principalmente el momento más adecuado para realizar la monta natural o la inseminación artificial. También se utiliza para evaluar la concentración hormonal ( $E_2$ ) y detectar patologías locales (Asa, 1992).

Esta técnica se ha utilizado también en animales silvestres como el chita, ya que a pesar de sus años en cautiverio poco es sabido a cerca de su ciclo reproductivo. A causa de su disminución en la cantidad de ejemplares en forma salvaje, y bajos rangos reproductivos en cautiverio, la información básica sobre los ciclos de cría es críticamente necesaria. Igualmente importante es el desarrollo de métodos para monitorear estos ciclos. Ya que son necesarios métodos para monitorear los procesos reproductivos del chita, se evaluó el uso de la citología vaginal para seguir los ciclos ováricos y de preñez (Asa, 1992).

Además esta técnica es utilizada también en animales domésticos como la oveja y la vaca (Lafi, 1997). Aunque se han hecho algunos estudios sobre

citología vaginal en vacas, los reportes describieron el uso de muestras vaginales para identificación del nivel reproductivo en ovejas y fueron limitados (Lafi,1997).

El epitelio vaginal está grandemente influenciado por hormonas ováricas en la hembra. Por consiguiente, los cambios en la morfología han sido utilizados para determinar el estado fisiológico o patológico y por lo tanto el nivel de hormonas durante varias etapas del ciclo estral en animales y durante el ciclo menstrual en humanos. La citología exfoliativa es usada en animales de laboratorio sin embargo en las perras ésta es usada para predecir las fases del ciclo estral y selección del momento oportuno de su cruzamiento. También se ha utilizado en la evaluación de la función reproductiva en otras especies incluyendo gatos y ratas (Concannon, 1986).

## **1.1 Anatomía Y Fisiología Del Aparato Reproductor De La Hembra**

El aparato reproductor de la hembra está formado por, a) Organos Internos: Ovarios, oviductos, útero, cervix, vagina, vestíbulo; b) Organos Externos: Clítoris, vulva.

### **1.1.1 Órganos Internos**

Los órganos internos están sostenidos por el ligamento ancho, el cual está integrado por el mesoovario que sostiene al ovario, mesosalpinx que sostiene al oviducto y el mesometrio que sostiene al útero (Esquivel, 1996).

#### **1.1.1.1 Ovarios**

Son órganos aplanados y de forma oval, miden aproximadamente 2 cm de longitud y están situados a 2 cm por detrás del polo posterior del riñón a nivel de la 3ª y 4ª vértebra lumbar. El ovario derecho se ubica entre la porción derecha del duodeno y la pared abdominal derecha, en tanto que el izquierdo se encuentra lateral al bazo. Ambos ovarios están encerrados en la bolsa ovárica, (Esquivel, 1996; McDONALD 1991) la cual tiene una hendidura. Esta bolsa está formada por dos capas que contienen grasa y fibras de músculo liso (Esquivel, 1996).

Desde que la perra nace, los ovarios contienen todos los óvulos que usará durante su vida (Esquivel, 1996). Los ovarios de la perra recién nacida contienen un estimado de 700,000 oocitos que disminuyen a 250,000 a la pubertad, 33,000 a

los 5 años de edad y solo permanecen 500 hacia los 10 años de edad. Obviamente la mayor parte de estos folículos sufren atresia en diferentes etapas del desarrollo folicular y los oocitos se degeneran (McDonald,1991). Después de la pubertad, una ola de folículos se desarrollan con cada estro (Esquivel, 1996; McDonald,1991). Después de la ovulación los óvulos son transportados de los ovarios a los oviductos (Weil, 1996).

El ovario, permanece en la cavidad abdominal y es considerado como glándula de función exócrina por la liberación de óvulos y de función endócrina por su producción hormonal (Esquivel, 1996).

Este órgano tiene dos capas: la corteza, caracterizada por la presencia de folículos, cuerpos lúteos o ambos, y la médula, formada por tejido conectivo fibroelástico, nervios y vasos sanguíneos. (Esquivel, 1996)

#### 1.1.1.2 Oviductos

Los oviductos o trompas de Falopio son estructuras tubulares que comunican al ovario con su respectivo cuerno uterino (WEIL, 1996), miden de 5 a 8 cm de longitud y están íntimamente relacionados con los ovarios; se encuentran sostenidos por el mesosalpinx y están formados por tres porciones:

- a) Infundíbulo: tiene forma de embudo y está cerca del ovario, es la estructura que capta al óvulo cuando es liberado.
- b) Ampolla: es la porción media y su lumen es el diámetro más amplio que el istmo.
- c) Istmo: es la conexión del cuerno uterino con el oviducto (Esquivel, 1996).

La fertilización toma lugar en los oviductos. Una vez que los óvulos son fertilizados, son transportados hacia el útero (Esquivel, 1996).

#### 1.1.1.3 Útero

En la perra, el útero se clasifica como bicórneo. Es un órgano formado por 2 cuernos estrechos, un cuerpo y un cuello (Esquivel, 1996).

Los cuernos miden aproximadamente de 12 a 15 cm de longitud variando según la raza , y el cuerpo mide de 2 a 3 cm de longitud (Esquivel, 1996) .

El útero es el lugar de implantación y crecimiento de los fetos (Weil, 1996).

Histológicamente el útero está formado por una serosa o perimetrio, una capa muscular o miometrio y una mucosa o endometrio, encontrándose en esta última glándulas tubulares simples rodeadas de epitelio columnar (Esquivel, 1996).

#### 1.1.1.4 Cérvix

Es el órgano que separa al útero de la vagina, evitando el contacto del lumen uterino con el exterior, a excepción del momento del parto y del período de estro. El conducto cervical en la perra se caracteriza porque es vertical, con la abertura uterina dorsal y la abertura vaginal en posición ventral. El cérvix está formado por una capa circular de fibras musculares elásticas y una mucosa formada por un epitelio que contiene células productoras de moco (Esquivel, 1996).

#### 1.1.1.5 Vagina

Es un órgano largo y estrecho, que sirve para la cópula, se encuentra situada entre el cérvix y el vestíbulo. Su porción más anterior es un fondo de saco que se extiende hacia delante en dirección del cuello. La vagina está formada por una capa serosa, una capa muscular formada por fibras musculares gruesas y una mucosa con pliegues longitudinales y pequeños pliegues transversales, que facilitan el aumento de su diámetro y longitud. Los pliegues longitudinales terminan en el orificio uretral, donde se une la vagina con el vestíbulo. (Esquivel, 1996).

#### 1.1.1.6 Vestíbulo

Es la porción que se extiende desde la vagina hasta la vulva, identificándose la unión entre vagina y vestíbulo por la presencia del orificio uretral, el cual se proyecta desde el piso de la porción craneal del vestíbulo. En el piso vestibular se encuentran los bulbos vestibulares, que son masas alargadas de tejido eréctil y son homólogos al bulbo peneano del macho (Esquivel, 1996).

### 1.1.2 Órganos Externos

#### 1.1.1.1 Clítoris

Es el homólogo del pene en la hembra, es pequeño, ancho y plano localizado en el piso del vestíbulo cerca de la vulva, mide aproximadamente de 3 a 4 cm y tiene dos porciones: un cuerpo formado de grasa y un glande pequeño de

tejido eréctil situado en la fosa del clítoris. Esta fosa no debe confundirse con el orificio uretral (Esquivel, 1996).

#### 1.1.2.2 Vulva

Es un órgano que tiene 2 labios que forman una comisura dorsal y una ventral. Su mucosa es lisa, de color rojo y presenta en ocasiones pequeñas prominencias producidas por nódulos linfáticos. Los labios están formados de tejido elástico, grasa y una capa delgada de músculo liso y su textura es igual a la de la piel (Esquivel, 1996).

#### 1.1.2.3 Irrigación e inervación

La irrigación está dada por ramas que provienen de la arteria pudenda interna, estas ramas son: a) Arteria y vena urogenital; rama craneal (arteria y vena uterina) y rama caudal (arteria y vena vaginal); b) Arteria y vena perineal; c) Arteria y vena del clítoris; d) Arteria y vena vestibular y e) Arteria y vena ovárica (Esquivel, 1996).

La inervación está dada por ramas que provienen del nervio pudendo y se distribuyen en el útero, vagina, vestíbulo, vulva, labios y clítoris, estas ramas son: Nervio perineal y b) Nervio dorsal del clítoris (Esquivel, 1996).

### 1.2 Pubertad

La pubertad es el periodo de la vida en el que comienza la función de los órganos reproductores.

La edad a la que las perras alcanzan su pubertad es muy variable, la raza es un factor determinante para la presentación del primer estro. Generalmente las perras tienen su primer celo algunos meses después de alcanzar su peso y tamaño adulto, lo que ocurre entre los 6 y 10 meses de edad en las razas pequeñas y entre los 18 y 24 meses en las razas grandes (Esquivel, 1996). Las perras ciclan a lo largo de toda su vida, no habiendo un equivalente a la menopausia de la mujer, aunque la fertilidad puede disminuir a partir de los 7 años de edad. (De Guinea, 1994).

### 1.3 Etapas Del Ciclo Estral

Aun cuando muchos criadores de perros creen que existen dos estaciones reproductivas por año en la perra, el examen de los registros disponibles no apoya

esta posición. En su lugar parece ser que, bajo las condiciones ambientales controladas a las cuales, la mayor parte de los perros, se encuentran sujetos hoy en día, muchas de las características de estacionalidad se han perdido. Los registros disponibles de colonias de perros indican que en la perra el estro se presenta todo el año con una ligera concentración al final del invierno o principio de la primavera (McDonald, 1991).

Las perras experimentan actividad ovárica, cruza y partos en todos los meses del año pero estos procesos tienden a tener un sutil pico a finales del invierno/principios de la primavera y también en otoño (Concannon, 1987).

Hay algunos indicativos de que los perros callejeros tienen su primer estro más temprano que los perros de raza o aquellos que viven en casa. Esto es extremadamente difícil de probar, simplemente porque hay un mayor número de variables que afecten estas dos poblaciones (Concannon, 1987).

Después de que la perra alcanza la pubertad, entre 6 y 24 meses de edad, será sexualmente receptiva (estro) dos veces por año. El periodo promedio entre calores es de 7 meses. El calor puede ocurrir en cualquier época del año con un promedio de 9 días (con un rango de 3 a 21 días) (Floss, 2001).

La edad ideal para cruzamiento es entre 2 y 6 años. El primer cruzamiento se recomienda durante el 2° ó 3<sup>er</sup> estro, "después" de que el propietario haya sido testigo de un ciclo ovárico normal completo (Concannon, 1987).

El ciclo reproductivo en la perra tiene 4 fases distintas. Estas fases son influenciadas por hormonas, las cuales son responsables de los cambios en el tracto reproductivo y del comportamiento de la perra (Floss, 2001).

El ciclo estral canino se divide en: Proestro, estro, diestro y anestro. No se habla de un metaestro ya que en la perra los eventos característicos del metaestro (fase lútea) como son la disminución de estrógenos, la formación de los cuerpos hemorrágicos y su transformación en cuerpos lúteos se presentan mientras la perra sigue en estro, por lo tanto solo debe referirse al diestro como la etapa de influencia progestacional ya que el metaestro se superpone con el estro (Esquivel, 1996).

### 1.3.1 Proestro

Esta etapa se considera como el inicio del ciclo estral, ya que es cuando empieza a sangrar la perra (Esquivel, 1996; Weil, 1996). En general se acepta que el primer día de sangrado representa el primer día del proestro (McDonald, 1991). A diferencia del sangrado menstrual en el humano (el cual resulta del desprendimiento del tejido endometrial si la implantación no ocurrió), el sangrado del proestro resulta del incremento de sangre que abastece las paredes uterinas en preparación para una posible implantación. (Weil, 1996; De Buen, 1997). Esta secreción es resultado de la pérdida de eritrocitos hacia el lumen uterino por diapédesis (Esquivel, 1996; Concannon, 1987; De Buen, 1997; Jones, 1982) y de una ruptura capilar subepitelial del endometrio (Esquivel, 1996; Concannon, 1987; De Buen, 1997), el volumen del sangrado uterino y la subsecuente descarga vaginal varía de perra a perra, (Concannon, 1987) en algunas razas es frecuente el sangrado profuso, por ejemplo, el ovejero alemán, saluki y San Bernardo. En otras la pérdida es tan grande como para producir anemia. Si esto ocurre encada ciclo está indicada la ovariectomía (Jones, 1982) La respuesta de la perra a esta descarga es también variable (Concannon, 1987).

Los cambios en color de la descarga vaginal son inconstantes, algunas perras muestran esta descarga a lo largo del proestro, estro y diestro, mientras que otras sangran poco o solo al inicio del proestro.

En esta fase se lleva a cabo el desarrollo folicular por efecto de la FSH, encontrándose niveles bajos de LH y de progesterona (De Buen, 1997).

El inicio del proestro se establece en forma gradual en una serie de cambios secuenciales anatómicos y conductuales inducidos por estimulación gonadotrópica, y subsecuente desarrollo folicular e influencias estrogénicas ejercidas durante el final del anestro (McDonald, 1991).

El Proestro empieza con un engrosamiento del endometrio uterino y luego una turgencia vaginal (Weil, 1996). Esta fase usualmente dura 7 a 10 días (Weil, 1996) con un promedio de 9 (Esquivel, 1996; Concannon, 1987), sin embargo, las variaciones que son consideradas normales pueden ser extremas, tan breve como 2-3 días o tan prolongado como 25 días (Concannon, 1987) con un promedio de 8

a 13 días (Jones, 1982). Estos extremos en la duración normal del proestro pueden ser confusos, y su significado está ampliamente asociado con la evaluación de infertilidad (Concannon, 1987).

Como ya se mencionó en este período hay crecimiento folicular y es la etapa que precede al estro. La hormona foliculoestimulante (FSH) es la responsable del crecimiento folicular, bajo su influencia el foliculo en desarrollo empieza a secretar estrógenos (Floss and Root-Kurtritz, 2001) dando como resultado la presentación de los siguientes signos clínicos:

- a) Edema e inflamación vulvar
- b) Secreción sanguinolenta. La secreción vaginal varía en cantidad dependiendo de la raza, y puede haber confusión para detectarla, sobre todo en perras de pelo largo. En algunas perras sólo se observa que se lamen en exceso y en perras negras no se aprecia la secreción.
- c) Secreción de feromonas que atraen al macho, pero la perra no acepta la monta aún. (Esquivel, 1996; De Buen, 1997).

El inicio de la inflamación vulvar es variable; algunas veces se presenta días antes del sangrado, otras durante éste y en ocasiones se retrasa hasta que se inicia el estro (Jones, 1982).

Durante el proestro, la perra tiende a estar excitable, inquieta y puede perder el apetito; en general se incrementa la ingestión de agua y tiende a orinar frecuentemente y casi siempre con evidencia de demarcación de territorio. (Jones, 1992; Concannon, 1987). Se vuelve muy juguetona. Mantiene su cola firme entre las piernas y cubriendo la vulva. El proestro está relacionado con inflamación y turgidez de la vulva, esto podría impedir la introducción del macho. En el estro la vulva se suaviza dramáticamente y se elimina este obstáculo. (Concannon, 1987).

Al mismo tiempo, los machos se muestran notablemente más interesados, ante todo inquisitivos y con débiles intentos de monta que son vigorosamente

rechazados, (Jones, 1982) la perra no aceptará al macho para el apareamiento y puede aun ser agresiva con él (McDonald, 1991).

En el proestro tardío, una segunda hormona, la progesterona, empieza a incrementar mientras los estrógenos comienzan a declinar. La combinación de estos dos eventos es causa de que la perra demuestre receptividad al macho. (Floss and Root-Kurtritz,2001).

### 1.3.2 Estro

Se considera estar en estro cuando acepta, se presenta y forma con éxito el vínculo copulatorio con el macho (McDonald, 199; Concannon,1987). La libido no solamente es variable entre razas e individuos, sino que, en programas de cruzamiento controlado, hay selección natural, lo que debe tomarse en cuenta para evaluar el comportamiento de aceptación. Muchas perras rechazarán vigorosamente o por lo menos resistirán pasivamente las atenciones de un macho, mientras que mostrarán una aceptación entusiasta a otro (Jones, 1982).

Tomando en cuenta lo anterior, el primer día que la hembra acepta el cruzamiento es el inicio del estro (Concannon,1987).

La perra está en estro tanto tiempo como acepte el perro para apareamiento (McDonald, 1991). El otro criterio para definir el final del estro es por medio de la citología vaginal (Concannon,1987).

La duración del estro puede ser de 3 a 20 días, con un promedio de 9 días, por lo tanto es difícil establecer un patrón estandar para todas las perras (Esquivel, 1996) Hay perras que solamente pueden aparearse en un día del ciclo, ya sea por la fase de aceptación de la hembra o por el interés que muestra el macho. La mayoría de las perras pueden aparearse en 4 ó 5 días; y en algunas, el estro persiste por 9 e incluso 10 días (Jones, 1982). Similar al proestro, la duración de esta fase puede variar dramáticamente entre perras normales, ser tan breve como 1 a 2 días o tan prolongado como 18 a 20 días. Las perras son individuos constantes de ciclo a ciclo dentro de 2 a 6 años de edad. Sin embargo, las variaciones entre y dentro de las razas hacen que se dificulte la predicción de la duración del proestro o estro en cualquier perra (Concannon,1987).

Los folículos de Graff alcanzan su total desarrollo, por lo tanto los niveles sanguíneos de estrógenos están elevados (De Buen, 1997). El pico de estrógenos se alcanza 1 a 2 días antes del inicio del estro, ocurriendo la ovulación 24 a 48 horas después de haberse iniciado el estro (Esquivel, 1996).

La transición de proestro a estro ocurre con una significativa caída de  $E_2$  lo que refleja la maduración de los folículos. Al mismo tiempo los folículos ováricos empiezan a secretar progesterona. Esta elevación de progesterona causa la liberación de hormona folículoestimulante (FSH) así como la hormona luteinizante (LH), las cuales son secretadas por la hipófisis.

El primer día de estro la hormona luteinizante (LH) alcanza su pico máximo, (De Buen, 1997) y es responsable de iniciar la ovulación, lo cual ocurre en el estro temprano. Una vez ocurrida la ovulación, ese sitio se vuelve cuerpo lúteo y el óvulo empieza a madurar a oocito secundario y viaja del oviducto hacia el útero. El óvulo madura en el oviducto en 4-5 días, después la fertilización puede suceder (Weil, 1996).

La hembra muestra signos clínicos de celo mientras existan niveles circulantes de estrógenos. Los signos clínicos son principalmente cambios de comportamiento; la hembra se torna receptiva al macho, contrae la región perineal al contacto con el mismo y se queda quieta apoyándose en sus extremidades para facilitar la penetración. También existen algunos signos físicos: especialmente en cuanto al reflejo de ladear la cola (Jones, 1982), la vulva se torna flácida, decrece la inflamación (Floss and Root-Kurtritz, 2001), la secreción vaginal puede continuar y puede ser de un color rosado, incluso incolora, o seguir siendo hemorrágica hasta que se inicia el metaestro (Jones, 1982; Esquivel, 1996; McDonald, 1991; De Buen, 1997).

Puesto que la perra ovula mientras se encuentra en estro, el metaestro, definido como el período de formación y el inicio de secreción de progesterona por los cuerpos lúteos recién formados, se presenta en su totalidad durante el período de estro. Basado en los niveles sanguíneos de progesterona, el metaestro dura de tres a cinco días y sólo tiene interés académico en la perra (McDonald, 1991; De Buen, 1997).

Al inicio de esta fase aún puede encontrarse algo de edema en los labios vulvares (De Buen, 1997).

### 1.3.3 Metaestro y Diestro

Aceptando que la perra ha ovulado, estará bajo la influencia lútea durante un periodo de 6 a 10 semanas. El cuerpo lúteo debe involucionar aproximadamente a los cuarenta y dos días, aunque puede persistir más tiempo.

El diestro se define como la fase de dominio de la progesterona. El diestro empieza con el rechazo de la perra a cruzarse que es el cese del estro (McDonald, 1991; Concannon, 1987; Floss and Root-Kurtritz, 2001) y es la etapa del ciclo en la cual los cuerpos lúteos son totalmente funcionales, (McDonald, 1991) y finaliza cuando las concentraciones de progesterona en sangre regresan a niveles basales ( $< 1.0$  ng/ml).

Basado en niveles de progesterona superiores a 1.0 ng/ml en la sangre, el diestro dura un promedio de 65 días pero puede ser de 55 a 90 días o más. Las cifras para la duración del diestro, dados en la literatura varían considerablemente dependiendo de los criterios utilizados para definir el final del diestro (McDonald, 1991).

El diestro normalmente ocurre 4 a 8 días después de la ovulación. El cuerpo lúteo mantiene la síntesis y secreción de altos niveles de progesterona. En una perra preñada, estos niveles están elevados hasta el momento del parto, usualmente 61 a 63 días después de la ovulación. Si la perra no se preña los niveles de progesterona declinan lentamente. A causa de que los niveles de progesterona son altos también en perras no preñadas, estos no pueden ser usados para diagnosticar gestación (Weil, 1996).

Dentro de los signos clínicos del diestro figuran:

- a) La hembra rechaza la monta del macho
- b) La hembra ya no atrae a los machos
- c) La vulva regresa a su tamaño normal (tamaño anebral), desapareciendo la flacidez y la secreción.

Hacia el final del estro, algunas perras pueden rehusarse al apareamiento con el macho un día, pero aceptarlo el día siguiente. Esto se observa

frecuentemente en perras jóvenes, en particular cuando el macho es persistente y agresivo. Debido a esta conducta dicotómica, es aconsejable considerar a la hembra en diestro cuando rehusa el apareamiento durante dos días consecutivos (McDonald, 1991).

#### 1.3.4 Gestación

La duración de la gestación en la perra es de 63 días promedio, con variaciones desde 58 a 66 días. Se inicia con la fertilización, la cual ocurre en el estro, sin embargo debido a las características del desarrollo embrionario en la perra la gestación se debe contar a partir del final de la receptividad sexual o cuando la citología vaginal indique que el estro ha terminado. Tanto en las perras gestantes como en las no gestantes, los niveles de progesterona son muy similares decreciendo a los 63 días en hembras preñadas para la presentación del parto y a los 100 días en las hembras no gestantes (Esquivel, 1996).

El desarrollo embrionario preimplantación se inicia en el oviducto y el embrión entra en el útero de la perra en la última etapa o inicial de blastocito 8 a 10 días después de la ovulación. Los sitios de implantación se distinguen hacia el día 10 del diestro (McDonald, 1991).

Las expansiones uterinas en los sitios de implantación pueden palpase transabdominalmente a partir del día 22 y hasta el día 30 de la gestación. El diagnóstico radiológico de gestación es posible 42 a 46 días después del inicio del estro cuando los huesos del feto se vuelven radiopacos.

Las secreciones vaginales posparto contienen muchos neutrófilos y eritrocitos, además de restos hasta de dos semanas. Pueden encontrarse células epiteliales endometriales esponjosas. En el caso de que los cachorros hayan sido macerados en útero, es posible observar fibras musculares (Banks, 1996).

#### 1.3.5 Anestro

El anestro se define como el tiempo que transcurre entre el final de la fase lútea (diestro en perras vacías o gestación en perras gestantes) y el principio de la fase folicular (Proestro). El anestro también se ha definido como un período de inactividad del eje ovario – hipófisis (Esquivel, 1996). Esta definición ya no es sostenible puesto que los descubrimientos recientes indican que los ovarios de la

perra están bastante activos y sensibles a estimulación gonadotrópica endógena, semanas antes del siguiente proestro (McDonald, 1991).

El anestro es el período de descanso entre el parto y el inicio del siguiente ciclo en una perra que se preña (Weil, 1996). El inicio del anestro en perras que no quedaron gestantes es difícil de detectar ya que no existe un cambio claro entre la finalización del diestro y el inicio del anestro (Esquivel, 1996; Weil, 1996). En cambio en las perras gestantes es evidente que el parto marca la diferencia entre gestación y el inicio del anestro (Esquivel, 1996). El anestro dura un promedio de 120 días, pero puede variar de 40 a 270 días (McDonald, 1991), o hasta un año o más (19); y permite que el útero se recupere de la gestación y parto (Weil, 1996), ocurre la involución uterina o bien la preparación del útero para el siguiente ciclo (Esquivel, 1996).

El estímulo por el cual el anestro se termina para dar lugar al inicio de un nuevo ciclo, todavía no ha sido claramente explicado. No hay diferencia clínica entre la perra diéstrica y la perra anéstrica (Esquivel, 1996).

Durante esta etapa las perras deben estar normales tanto físicamente como en comportamiento. Desde hace tiempo, los criadores opinan que las perras que por hábito entran en celo a intervalos de cuatro meses o menos, son infértiles a futuro. A diferencia de otras creencias, esta opinión pudiera tener base lógica: si una perra no ovula, no habrá cuerpos lúteos, por tanto tampoco habrá fase lútea lo que reducirá el ciclo aproximadamente de seis a ocho semanas (Esquivel, 1996).

<b>Número de estros por año en algunas razas de perros (McDonald, 1991)</b>	
Raza	Promedio/año
Basenji	1
Basset hound	2
Beagle	1.5
Boston terrier	1.5
Cocker spaniel	2
Pastor alemán	2.4
Pequinés	1.5
Toy Poodle	1.5

## 1.4 Intervalo Entre Estros

En promedio las perras empiezan el proestro aproximadamente cada 7 meses (Richards, 1997; Concannon,1987), pero algunas perras pueden ciclar cada 4 meses y algunas cada año. El intervalo interestros (periodo desde el fin del celo al inicio del siguiente proestro) es de 5 a 11 meses. La duración del ciclo estral y del intervalo entre estros son diferentes para cada perra pero la mayoría de las perras aciertan a alguna parte dentro del promedio (Richards, 1997).

Un intervalo interestro normal corto de 3.5 meses y largo de 13 meses. El intervalo interestros más frecuente es cada 4 meses, sin embargo, son con frecuencia asociados a infertilidad y los largos de cada 12 meses pueden estar asociados con subfertilidad o infertilidad (Concannon,1987).

El intervalo es el mismo si ella queda preñada (Concannon,1987), lo que sugiere que el anestro de lactancia no contribuye ni alarga el anestro o intervalo entre estros consecutivos (McDonald, 1991).

El pastor alemán es una raza cuyo ciclo es cada 4 a 4.5 meses, manteniendo su fertilidad. Mas que confiar en el conocimiento de cada raza, se usa 5 a 11 meses como intervalo normal. La mayoría de las perras de 2 a 6 años de edad son relativamente constantes en la duración del ciclo y también en la duración de cada fase (Concannon,1987).

El intervalo interestrual es muy variable entre razas y entre hembras de la misma raza, y es probable que esté influenciado por condiciones ambientales e interacciones sociales. Después de la pubertad las perras ciclan cada 4 a 12 meses. El intervalo interestrual promedio es de aproximadamente 7 meses (Banks, 1996).

<b>Intervalo entre estros (McDonald, 1991)</b>	
<b>Raza</b>	<b>Intervalo en meses</b>
Basset hound	5.8
Beagle	7.4
Boston terrier	8.1
Boxer	8
Chihuahua	7.2
Cocker spaniel	5
Dachshund	7
Pastor alemán	5
Pequinés	7.7
Terrier escocés	6.5
Toy Poodle	8

A medida que los perros envejecen y pasan más allá de la edad óptima para cruzamiento (7 años aprox.) muchos cambios pueden ocurrir: alargamiento progresivo en la duración del intervalo interestros, reducción en la camada, incremento en los defectos congénitos, y problemas al parto (Concannon, 1987).

Las perras sanas normalmente experimentan ciclos ováricos a lo largo de su vida (Concannon, 1987).

## **1.5 Celos Silenciosos**

### **1.5.1 Celos mudos, poco intensos, descoloridos o silenciosos.**

Un estudio efectuado en una colonia de reproductoras ha demostrado la existencia de normalidad hormonal en algunas perras en las que no se observó proestro ni estro. Se desconoce la frecuencia de este fenómeno en las perras en general (Allen, 1992).

En perras con una fertilidad reducida, se observa que algunas perras inician un proestro normal que finaliza transcurridos 5 a 6 días. Se desconoce la causa aunque se dice que se encuentra asociada con vaginitis, en la actualidad no existe explicación para esta anomalía (Allen, 1992).

La experiencia de los propietarios, de perros de pelo largo (el sangrado vulvar es fácil de ver en perros de pelo corto), la limpieza del perro (lamerse demasiado es más propenso a aumentar el sangrado), y la presencia de un macho en la casa son algunas variables para determinar la facilidad con la cual un propietario puede darse cuenta del estro (Concannon, 1987).

Se ha comentado que el proestro siempre ocurre, pero como fue débil no se detectó porque es poca la inflamación vulvar, el sangrado, la atracción a machos, o los cambios de comportamiento pueden ser asociados con estros en perras jóvenes (Concannon, 1987). Sin embargo, esta explicación no es del todo satisfactoria, ya que criadores experimentados esperan ansiosamente la aparición del celo en una perra en particular, examinándola diariamente con tal cuidado que es poco probable que no aprecien la menor señal. En estos casos, la perra muestra inflamación vulvovaginal, la vulva se nota húmeda y activa, el flujo vaginal es escaso, es de naturaleza serosa, incoloro o cuando mucho con un tenue matiz rosado (Jones, 1982).

Los machos experimentados que estén en contacto de inmediato muestran interés y la perra está receptiva los días 1-4 después de que ocurrieron los primeros signos. Los criadores a menudo se esperan a que aparezca color, solo para encontrar que el breve ciclo ha terminado de 5-8 días y la perra está en metaestro antes de que se intente el apareamiento. En ocasiones se observa descarga ligeramente sanguinolenta al final de tal ciclo, pero en este momento ya no se muestra atractiva o receptiva (Jones, 1982).

El consejo más adecuado en estos casos es el de observar con atención diariamente a la perra y aparearla con intervalos de 48 horas, mientras que acepta el servicio; casi siempre estos apareamientos son fértiles. Algunas perras nunca sangran durante el proestro, otras intercalan calores silenciosos en ciclos por lo demás normales (Jones, 1982).

El celo silencioso o sin descargas sanguinolentas vaginales: Ocurre con mucha frecuencia, pero sólo los propietarios que mantienen una cuidadosa observación de los genitales de la hembra pueden detectarlo. En estos casos no ocurre un estro observable (Jones, 1982).

## **1.6 Citología Vaginal**

La citología es el estudio de las células individuales sin importar los patrones estructurales que caracterizan a los tejidos que las originan. Proporciona un medio simple y rápido para el diagnóstico, y en ocasiones permite excluir la necesidad de exámenes histopatológicos; también puede ser mejor que los

estudios de histopatología para evaluar la médula ósea y ciertos tipos de tumores. Los exámenes citológicos requieren células exfoliadas, algunas de las cuales se desprenden de manera espontánea hacia las cavidades corporales o son componentes de exudados inflamatorios; otras se obtienen por medio de técnicas como raspado, aspiración o lavado (Banks, 1996).

La citología vaginal tiene varias aplicaciones en todas las especies, como son la detección de enfermedades uterinas y vaginales, así como la detección temprana de cáncer cervicouterino en la mujer (De Buen, 1997).

La influencia de las hormonas ováricas sobre el epitelio vaginal ocasionan cambios citológicos característicos que permiten en la mayoría de los casos, determinar la etapa del ciclo estral en la que se encuentra la hembra, por lo cual es un procedimiento ampliamente utilizado en medicina veterinaria, sobre todo en la perra (De Buen, 1997).

Varios métodos son comúnmente usados para monitorear el ciclo estral de la perra. Los signos de estro son muy usados por los criadores para determinar el momento de cruzamiento. La credibilidad de esta técnica para determinar la ovulación es arriesgada por la subjetiva interpretación y variabilidad entre perros. La citología vaginal es usada clínicamente para monitorear el ciclo estral canino. Esta técnica define adecuadamente el período fértil pero el tiempo estimado de ovulación solo retrospectivamente (Bouchard, 1991).

Una gran precisión en el tiempo de cruzamiento puede ser obtenida combinando la observación del comportamiento y la citología vaginal diariamente. (Floss and Root-Kurtritz, 2001).

El epitelio vaginal cambia en respuesta a los niveles de estrógenos y los tipos de células presentes son característica de diferentes estados en el ciclo reproductivo. Durante el proestro y estro temprano el número de capas de células incrementan hasta diez veces. En el estro tardío con el descenso de los niveles de estrógeno, el epitelio vaginal regresa rápidamente a la normalidad. Los niveles de progesterona empiezan a incrementar. La mayor fertilidad ocurre entre 4 y 6 días siguientes a la fase inicial de incremento (Floss and Root-Kurtritz, 2001).

## 1. EPITELIO VAGINAL (Spano, 2001)



En la citología de vagina encontramos células epiteliales de las diferentes capas del epitelio estratificado plano no queratinizado, a veces células endocervicales, de reserva, y en ocasiones células endometriales, así como células no epiteliales como son leucocitos y eritrocitos. Según la especie, se pueden encontrar algunas variaciones en cuanto al tamaño de las células del epitelio vaginal (De Buen, 1997).

En la reproducción canina uno de los problemas más comunes con el que se encuentra el médico veterinario así como los propietarios de perras es el poder determinar el momento preciso para realizar la monta o bien para llevar a cabo la inseminación artificial debido a la gran variación que se presenta en la duración de las etapas del ciclo estral lográndose la elaboración de técnicas como la citología vaginal exfoliativa para detectar la etapa de estro en la cual ocurre la ovulación (Esquivel, 1996).

El frotis vaginal puede ser un indicador bastante bueno de la etapa del ciclo estral en la perra, en particular si se obtienen una serie de frotis diarios. El frotis representa secreciones y células del útero, cérvix y vagina.

La citología vaginal proporciona información con respecto a:

- ❖ etapa del ciclo
- ❖ si el estro progresa normalmente
- ❖ presencia o ausencia de vaginitis o neoplasia vaginal

- ❖ si el cuello está abierto, diagnóstico de descarga vulvar que se origine del útero (p. ej., metritis, piómetra) (Birchard and Sherding, 1996; De Buen, 1997).

La ovulación ocurre al inicio del estro y por tanto, es importante identificar esta etapa. (Esquivel, 1996).

Cuando la muestra de citología indica que el diestro ha empezado, el cruzamiento cesa. Si la hembra queda preñada se esperará el parto 56 a 58 días desde el primer día de diestro. (Floss and Root-Kurtritz, 2001).

La citología vaginal también es un estudio que se utiliza para evaluar la concentración hormonal (estrógenos). El perfil estrogénico también nos brinda información a cerca de la proximidad de los días más fértiles para realización de la monta (Concannon, 1986).

### **1.7 Fundamento De La Citología Vaginal Exfoliativa**

El principio de la citología vaginal exfoliativa se basa en identificar el tipo y cantidad de células de las diferentes etapas del ciclo estral, ya que los cambios hormonales que sufre la vagina durante el ciclo se reflejan en la morfología de sus células epiteliales. Al inicio del ciclo, la célula epitelial recibe una mayor irrigación sanguínea (nutrición celular). Conforme los niveles de estrógenos se incrementan el epitelio vaginal se va engrosando ocasionando que la célula epitelial se vaya separando del aporte sanguíneo, dando como resultado una transformación celular que va de célula parabasal a célula anucleada o escama (Esquivel, 1996).

El epitelio vaginal es sensible a esteroides sexuales particularmente estrógenos, y sufre cambios directos en el ciclo en respuesta a los cambios de concentración de hormonas ováricas en sangre. El aumento de los niveles de estrógenos causa que el epitelio vaginal se vuelva "cornificado" – las células superficiales se vuelven grandes y planas con núcleos pequeños o ausentes. (Concannon, 1986).

El criterio de clasificación de los tipos de células está ahora en uso general y el examen de citología vaginal es comúnmente usado para monitorear el ciclo

estral en perras y sugerir el momento óptimo para el cruzamiento o inseminación (England, 1992).

### 1.8 Clasificación De Células Epiteliales De La Vagina

La mayoría de las células observadas en una muestra vaginal normal son células epiteliales, eritrocitos, leucocitos y bacterias, también un bajo número de células contaminantes y microorganismos son algunas veces observados (Concannon, 1986;

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:

- ❖ Basales o germinales.
- ❖ Parabasales.
- ❖ Intermedias.
- ❖ Superficiales
- ❖ Escamas

(De Buen, 1997).

Las células basales o germinales son células pequeñas de forma redonda a ovlada, de tamaño uniforme (13 a 20  $\mu\text{m}$ ) 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).

El análisis de una muestra vaginal es considerablemente un ejercicio en clasificación de células epiteliales en uno de 4 tipos fundamentales: parabasal, intermedia, superficial, (Concannon, 1986:

y anucleada o queratinizada (Esquivel, 1996).

Tomando en cuenta que las células epiteliales reflejan un desarrollo continuo; algunas de las células que se observan no corresponderán

perfectamente a estas categorías (Concannon, 1986; \_\_\_\_\_)

### 1.8.1 Célula Parabasal

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 desprende 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)

### 1.8.2 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 um. (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 (De Buen, 1997); indica la etapa anterior a su transformación a superficial (Esquivel, 1996). Muchos citólogos subclasifican 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).

### 1.8.3 Célula Superficial

Las células superficiales son células muertas que revisten el lumen vaginal de perras en estro (De Buen, 1997).

Son las más grandes vistas en una muestra vaginal (Concannon, 1986; Miden de 40 a 60 um. (De Buen, 1997) Hay de forma poligonal y distintamente planas, algunas veces tienen apariencia de estar enrolladas. Sus núcleos son picnóticos (muy pequeños y oscuros) (Concannon, 1986;

De Buen, 1997). 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 (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 (Esquivel, 1996), 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,

- Células superficiales-intermedias: Estas son células que tienen relativamente sano un núcleo vesicular pero también tienen bordes angulares, planos y típicos de células superficiales. Estas

células se evidencian por potentes efectos estrogénicos en el revestimiento vaginal, pero no el efecto completo. El efecto completo de los estrógenos está asociado con las células superficiales y las escamas. La citología vaginal exfoliativa puede no ir más allá de la presencia de células superficiales-intermedias de acuerdo con el pico de efectos estrogénicos y estas perras han sido reportadas que rehúsan al cruzamiento o tienen problemas de infertilidad relacionado a maduración incompleta de folículos, o fallas para ovular (Concannon, 1987).

No hay estudios que demuestren una asociación entre defectos en el desarrollo de células superficiales en la citología vaginal y el subsecuente cruzamiento, o problemas de fertilidad (Concannon, 1987).

#### 1.8.4 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 (Esquivel, 1996; De Buen, 1997) y marca el final del proceso de descamación de la célula parabasal (Esquivel, 1996).

#### 1.8.5 Otras células

A parte de las células epiteliales descritas, otras células son vistas en muestras vaginales.

- ✎ 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.
- ✎ Células naviculares: toman una forma de barca, de ahí su nombre, el citoplasma presenta sus bordes doblados y núcleo alargado excéntrico.

Se han descrito como típicas de preñez y significativas de la acción lútea interna (De Buen, 1997).

- ✎ Células de metaestro: durante el metaestro las células intermedias grandes pueden presentar neutrófilos en su citoplasma y son llamadas células de metaestro (De Buen, 1997; Concannon, 1987). Son usualmente vistas en el frotis vaginal de perras en diestro temprano o en la vaginitis. Raramente tales células pueden ser vistas en proestro temprano (Concannon, 1987).
- ✎ Células espumosas: es el término dado a células epiteliales que contienen numerosas vacuolas citoplasmáticas (De Buen, 1997; Concannon, 1987) que son típicamente vistas en muestras preparadas durante el anestro (Allen, 1992), y diestro (Concannon, 1987).
- ✎ Células endocervicales: son poco frecuentes y generalmente aparecen mal conservadas en los frotis vaginales, sin embargo, cuando el frotis es tomado de cervix, se aprecia su morfología cilíndrica, el citoplasma finamente vacuolado y en ocasiones se pueden ver los cilios, estas células forman grupos que semejan panal de abejas, debido a la apariencia clara del citoplasma alrededor del núcleo, el cual es central, con cromatina finamente granular y con uno o dos nucléolos pequeños (De Buen, 1997).
- ✎ Células endocervicales de reserva: Se localizan sobre la membrana basal por debajo de las endocervicales, son por lo tanto, células endocervicales jóvenes. Se pueden observar en grupos o aisladas, el citoplasma a veces es escaso, basófilo y finamente vacuolado, el núcleo es central, con cromatina finamente granular, llegan a presentar algunos pequeños cromocentros. Estas células suelen aparecer en los frotis inflamatorios, en atrofas y en los procesos de metaplasia y displasia. Cuando se encuentran aisladas no deben confundirse con histiocitos o células endometriales (De Buen, 1997).
- ✎ Células endometriales: no suelen encontrarse en frotis normales excepto en el posparto. En otras circunstancias su presencia indica patología

endometrial. Cuando se obtienen por lavado endometrial aparecen aisladas o en grupos, a veces formando acinos, miden de 8 a 10  $\mu\text{m}$ , de forma redonda u oval, citoplasma fino, transparente de color verde a rosado, a veces se observan los cilios; el núcleo es redondo, hipercromático y uniforme. La cantidad de éstas depende del estímulo estrogénico (De Buen, 1997).

- ✎ Bacterias: las bacterias son vistas con frecuencia en muestras vaginales en gran número cubriendo las células (De Buen, 1997).

### **1.9 Flora Bacteriana Genital**

La vagina caudal y vestíbulo presentan una flora bacteriana normal, la misma cambia diariamente, aparecen muchas especies de bacterias incluyendo estreptococos hemolíticos, otros estreptococos, estafilococos y E. Coli. Se conoce un fenómeno de destrucción celular llamado citolisis en el que los núcleos quedan desnudos. En la mujer, esto es provocado por el Bacillus vaginales, y suele verse con mayor frecuencia durante la etapa premenstrual, en fases tempranas del ciclo y en el embarazo.<sup>4</sup>Las células más afectadas son las intermedias, se ha descrito también este fenómeno en células neoplásicas. En la perra también se ha observado sobre todo durante el proestro, y en algunos casos durante el metaestro. Sin embargo no se menciona la asociación de este fenómeno con ningún tipo de flora bacteriana (De Buen, 1997).

También son normales ureoplasmata y micoplasmata, generalmente existe una flora mixta, con presencia de 2 a 5 especies. No está bien documentada la incidencia de bacterias anaerobias. Pseudomona spp no se aísla comúnmente en perras normales. No existe correlación entre el número de microorganismos cultivados y los descubiertos en los frotas vaginales; esto sugiere que algunas bacterias teñidas pueden estar muertas o ser anaerobias (Allen, 1992).

### **1.10 Cambios Citológicos En El Ciclo Estral Canino**

Los estados del ciclo estral canino pueden estar definidos por el comportamiento sexual, signos físicos (sangrado vaginal, inflamación vulvar) o por citología vaginal. El período de receptividad a un macho varía considerablemente entre perras; algunas perras son receptivas antes y después del período de

fertilidad potencial. Igualmente, signos tales como el sangrado es con frecuencia un indicador poco confiable; algunas perras sangran muy poco y otras muestran sangrado desde el principio hasta el fin del estro y en el diestro. Como los cambios citológicos reflejan los eventos endócrinos fundamentales del ciclo, ellos son casi siempre una mejor predicción del tiempo fértil y duración de la gestación, que son signos físicos y de comportamiento. Los cambios citológicos en el ciclo estral canino reflejan cambios en las concentraciones de estrógeno en sangre (Concannon, 1986;

Los niveles de estrógeno se elevan previo a y durante el proestro y cae en conjunto con la ola preovulatoria de la hormona luteinizante. Elevándose los niveles de estrógenos se induce a la cronificación que es característica de muestras examinadas durante el estro. La ovulación ocurre 2 días después de la ola de LH (McDonald, 1991).

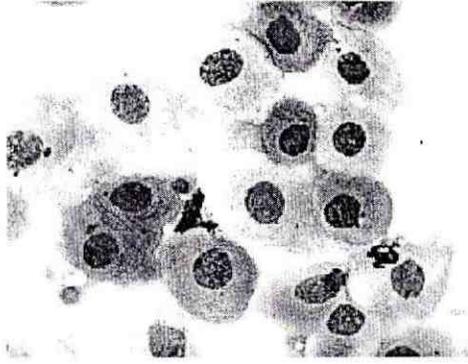
El recubrimiento epitelial de la vagina durante el anestro tiene solo 2 ó 3 capas de espesor, pero hacia el principio del proestro, se vuelve estratificado y se incrementa a 6 u 8 capas. Durante el proestro, el incremento del epitelio vaginal continúa, y el momento que se presenta el estro, el recubrimiento epitelial puede contener de 12 a 20 capas de células. La descamación del epitelio se inicia al final del estro (McDonald, 1991).

#### 1.10.1 Anestro

La vagina en anestro tiene muchas células no queratinizadas, redondas u ovals (células intermedias y parabasales) que contienen núcleos uniformes grandes y mucho citoplasma (Banks, 1996; Allen, 1992). Se observan pocos neutrófilos, y hay una cantidad mínima de restos celulares (Banks, 1996). Las células superficiales están ausentes o se hallan en un bajo número. Los neutrófilos también pueden o no estar (McDonald, 1991; (Concannon, 1986;

Allen, 1992).

## 2. ANESTRO (Spano, 2001)



Las células parabasales proceden de las cercanías de la membrana basal de la mucosa; las células mayores son producidas mediante división celular y se denominan células intermedias (Allen, 1992).

La pared de una vagina en anestro está revestida normalmente por epitelio escamoso que se forma de dos a tres capas de células. Conforme aumentan las concentraciones de estrógeno, el revestimiento se engrosa a 40 capas; dicho engrosamiento constituye la base de los cambios citológicos observados en un frotis vaginal. Las células epiteliales progresan de células no queratinizadas a queratinizadas a medida que ocurre el engrosamiento (Banks, 1996).

### 1.10.2 Proestro

Las alteraciones que ocurren en la mucosa vaginal como resultado del incremento de la concentración de estrógeno sérico durante el proestro y estro son reflejadas en la aparición de células epiteliales vaginales exfoliadas. El estrógeno causa engrosamiento del revestimiento vaginal. Desprendimiento de las células hacia el lumen vaginal además de su sangrado. Así la citología vaginal puede servir como un imperfecto pero confiable análisis de estrógenos (Concannon, 1987).

El dato citológico más relevante en esta etapa, es la presencia de eritrocitos (De Buen, 1997).

Las concentraciones de E<sub>2</sub> en suero se elevan durante el proestro, llevando la diapédesis de glóbulos rojos hacia el epitelio uterino y proliferación del epitelio vaginal.

Las proporciones de los diferentes tipos de células varían con la fase del proestro, en especial el número de eritrocitos que pueden ser relativamente escasos muy al principio y al final del proestro (Jones, 1992).

El número de células intermedias aumenta en el frotis inmediatamente antes, y también durante el inicio del proestro (Allen, 1992).

El examen de muestra vaginal del proestro revelará un cambio gradual de células intermedias y parabasales a células superficiales (Concannon, 1986;

quertatinizadas, que se vuelven una porción principal de las células epiteliales al tercer día. Los bordes citoplasmáticos bordeados son desplazados por bordes rectos; los núcleos se hacen picnóticos y pueden desaparecer (Banks, 1996; Allen, 1992; Jones, 1992).

Los neutrófilos presentes en pequeño número inicialmente aunque gradualmente desciende su número; ausentes generalmente al final del proestro. (Allen, 1992; Jones, 1992) No se observan leucocitos a la mitad del proestro; es posible que los eritrocitos sean numerosos como resultado de la diapédesis del lecho vascular subyacente (Banks, 1996).

Normalmente los eritrocitos están presentes en gran número hasta el final de esta fase, aunque el número carece de importancia clínica; algunas veces aparecen lisados en las preparaciones procedentes del frotis. Los eritrocitos provenientes del útero aparecen en las descargas vaginales durante el proestro y estro (Banks, 1996).

Un gran número de bacterias (visibles solamente con algunas determinadas tinciones) también se presentan con frecuencia (Concannon, 1986;

... y aumenta hasta el final del proestro (Allen 1992).

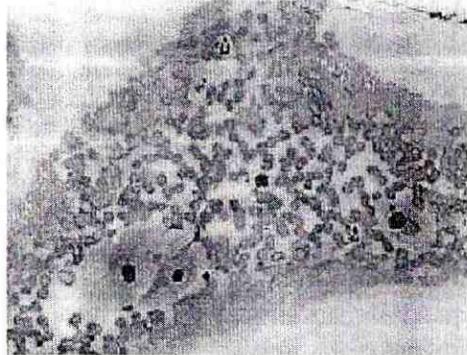
En algunas perras el proestro puede persistir por 2-3 semanas. En tales casos se prolonga la falta de receptividad y puede sugerir la necesidad de Inseminación Artificial o cruce forzada del animal. El examen de la muestra vaginal

en tales casos aliviará tales inquietudes, ciertamente, si muy poco porcentaje de células son parabasales y pequeñas intermedias, la cruza es un desperdicio de tiempo (Concannon, 1986;

Hacia el final del proestro, están presentes grandes células epiteliales cornificadas y la mayor parte del sangrado cesó (McDonald, 1991).

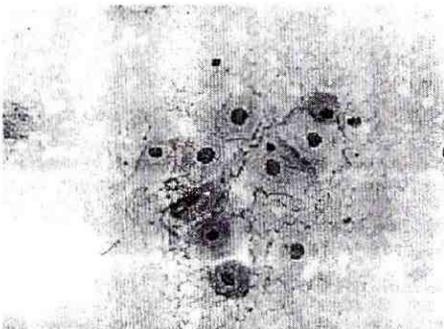
### 3. PROESTRO

(Spano,2001)



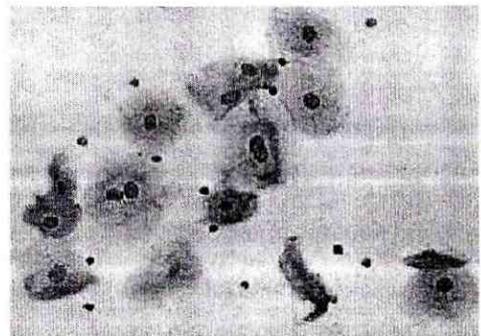
### 4. PROESTRO TEMPRANO

(Spano, 2001)



### 5. PROESTRO TARDIO

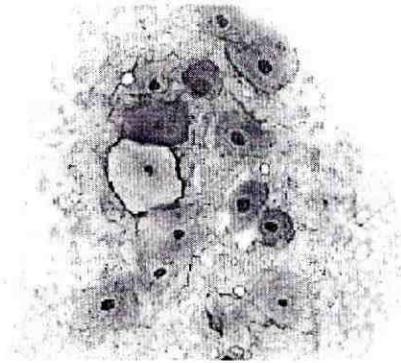
(Spano, 2001)



### 1.10.3 Estro

Al principio, los frotis no difieren de los de la fase tardía del proestro. Es frecuente la ausencia notable de leucocitos y eritrocitos, aunque estos últimos pueden observarse durante todo el estro. La característica citológica del estro es el predominio de células superficiales o de células queratinizadas, (Banks, 1996; De Buen, 1997; Allen, 1992) es decir entre el 60% y 90% de las células tienen bordes citoplasmáticos rectos y núcleos picnóticos, (Banks, 1992) y con frecuencia alcanza el 100% en el inicio del celo y con la ola de LH (Concannon, 1987). La mayoría de las perras sufren una cornificación total y la muestra revela formas monótonas compuestas casi exclusivamente de células superficiales anucleadas (McDonald, 1991; Concannon, 1986; Jones, 1982) o escamas (Allen, 1992).

6. ESTRO. Células cornificadas, eritrocitos  
(Spano, 2001)



Varios índices de cornificación y queratinización han sido sugeridos como señales para la etapa del ciclo. Se ha notado que la fertilidad mejora con el incremento en el número de células epiteliales cornificadas y se sugiere que el cruzamiento podría ser intentado en el período cuando más del 80% de células epiteliales sean superficiales. El uso de la citología vaginal no está exento de problemas, algunas perras alcanzan el pico estimado de solo 60% de cornificación mientras en otras pueden ser 2 picos (England, 1992).

Algunas veces se presenta un máximo "falso" de cornificación antes de alcanzarse el máximo real; esto puede reconocerse por la naturaleza imprecisa (tinción pálida) de las escamas; se desconoce la causa de este hecho aunque no es señalado por quienes emplean colorantes tricromo (Allen, 1992).

Se considera que en la mayoría de las perras, la ovulación coincide con la fase del ciclo estral, en la cual la proporción entre células queratinizadas y no queratinizadas es de 3:2 (Jones, 1982).

### CITOLOGIA EN EL ESTRO

(McDonald, 1991)

ESTADO	GLOBULOS ROJOS	NEUTROFILOS	BACTERIAS	CÉLULAS EPITELIALES
Proestro temprano	Usualmente	frecuentes	Muchas	Parabasaes, intermedias, superficial-intermedias, pocas superficiales.
Proestro tardío	Usualmente	Pocos o ninguno	Muchas	Superficiales-intermedias, superficiales
Estro	Presentes, puede ir declinando el número	ninguno	Muchas	Superficiales >80-90%
Diestro	Algunos o ninguno	muchos	Pueden estar	Parabasaes, intermedias y declinan las superficiales.

La parte final del estro se caracteriza por células epiteliales sin núcleo. Los neutrófilos desaparecen durante el proestro y el estro debido a que el epitelio engrosado no permite su paso hacia la luz vaginal (Banks; 1996; Concannon, 1987). El fondo del frotis está limpio de material granular visto con frecuencia en proestro (Allen, 1992).

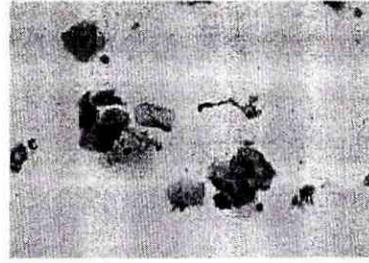
### 7. ESTRO TEMPRANO

(Spano, 2001)



### 8. ESTRO TARDIO

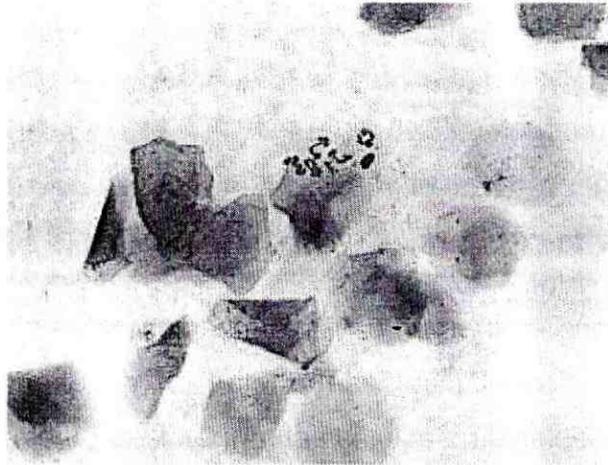
(Spano, 2001)



El número de eritrocitos es menor, su número carece de importancia clínica, (Allen, 1992) y pueden o no estar presentes (Concannon, 1987). Se observan bacterias y conforme se desintegran las células epiteliales, se vuelven abundantes los restos celulares. Los neutrófilos reaparecen uno o dos días antes del diestro (Banks, 1996).

### 9. ESTRO. La aparición de leucocitos indican el inicio del diestro

(Spano, 2001)



Si la perra ha sido cruzada un día de toma de muestra vaginal, es absolutamente probable que el esperma será observado entre las células epiteliales. De hecho un examen detallado para esperma en una muestra tomada pocas horas de la supuesta cruce es un medio confiable para confirmar o negar tal cruce. En la imagen, un esperma y una cabeza de esperma están presentes cerca

de las células superficiales (Concannon, 1986;

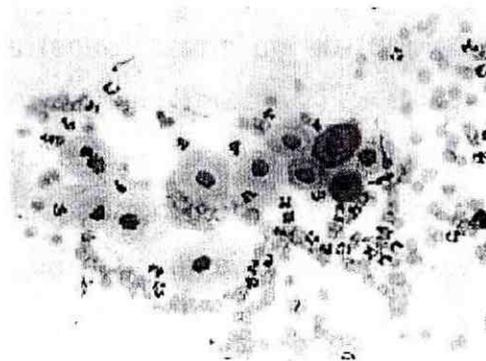
#### 1.10.4 Metaestro Y Diestro

Las células de Metaestro son generalmente células intermedias grandes que parecen tener uno o más neutrófilos en el interior de su citoplasma. Estas células son generalmente vistas en el frotis vaginal de la perra en diestro temprano o con vaginitis. Raramente estas células se ven en el proestro temprano (Concannon, 1987).

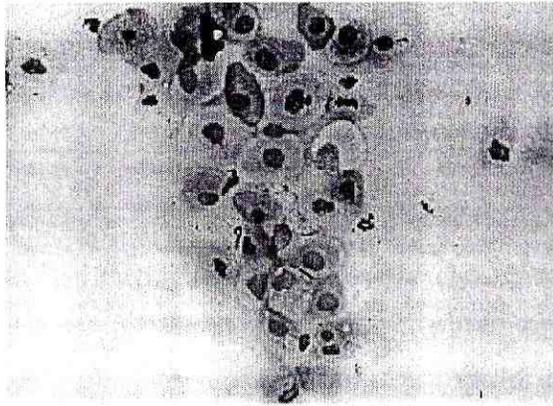
Una alternativa de definición del inicio del diestro es el día en que un cambio dramático es observado en la citología vaginal: de una fase de 80-100 % de células superficiales (estro) a una de 80-100 % de células parabasales e intermedias (diestro) (Concannon, 1987).

El inicio del diestro está dado por un descenso marcado en el número de células superficiales y reaparición de células intermedias y parabasales. En el diestro los neutrófilos son abundantes y reaparecen las células epiteliales no queratinizadas redondas y pequeñas. Al final del estro se produce un aflujo masivo de neutrófilos (Allen, 1992). Los neutrófilos pueden encontrarse dentro de las células epiteliales. Los restos y los eritrocitos casi siempre desaparecen; conforme progresa el diestro se reduce el número de neutrófilos. La parte final del diestro es citológicamente similar al anestro (Banks, 1996).

10. DIESTRO. Marcado aumento de neutrófilos  
(Spano, 2001)



(Spano, 2001)



Las bacterias desaparecen totalmente al final del estro, coincidiendo con el aflujo de neutrófilos y la aparición de mocos y residuos, los frotis vaginales son similares durante el diestro y la gestación (Allen, 1992).

Comúnmente los cambios celulares en un solo día van de un 100% a un 20% de células superficiales. Sin embargo esto es lo mejor para confirmar el inicio del diestro examinando una muestra preparada en el día 2 del diestro (Concannon, 1986).

La importancia de identificar el inicio del diestro es que éste es considerado el pronóstico más preciso del tiempo de ovulación, y por lo tanto duración de la gestación. Las perras ovulan 5 a 7 días previos al inicio del diestro (7 a 9 días después de la ola preovulatoria de LH), y por lo tanto, la duración de la gestación es usualmente  $57 + 1$  día del primer día del diestro. El comportamiento en el período de estro es variable y con frecuencia se extiende a varios días antes y/o después del estro citológico. La duración de la gestación calculada desde el inicio o cese de receptividad es impreciso. El inicio del diestro también está correlacionado con la pérdida de fertilidad, y las cruas después del diestro son raramente fértiles (Concannon, 1986).

En el siguiente cuadro se resumen las células más comúnmente observadas en las diferentes etapas del ciclo estral:

(McDonald, 1991)

	<b>Proestro</b>	<b>Estro</b>	<b>Metaestro</b>
Eritrocitos	+++	-	-
Neutrófilos	+-	+	+
Células parabasales	+-	+	+++
Intermedias	+++	-	+
Superficiales	+-	++	+-
Escamas	+	++++	

## II. JUSTIFICACIÓN

El ciclo estral de la perra presenta ciertas particularidades que la diferencian del ciclo de otras hembras domésticas, por lo tanto el conocimiento de las características reproductivas de esta especie es muy importante para optimizar la producción de cachorros.

La perra ha sido clasificada como una hembra monoéstrica ya que presenta un período de aceptación sexual en la época reproductiva y en promedio presenta dos celos al año con un intervalo de 6 meses aproximadamente, pudiendo variar de 4 hasta 9 meses dependiendo de la raza.

La fisiología reproductiva de la perra es compleja lo que ha provocado que los propietarios o los médicos veterinarios se confundan al recomendar el momento preciso para la cruce ya que existe gran variabilidad en la duración de las etapas del ciclo estral, ejemplo clásico es el hecho de cruzar a la perra después del día 9 o cuando el sangrado desaparece lo que da como resultado un margen de error muy alto.

Algunas perras presentan lo que puede ser un anestro persistente cuando en realidad sí presentan estro sólo que éste es poco evidente.

El desarrollo de un método rápido y confiable para predecir el momento óptimo para el cruzamiento o inseminación artificial tendrá un impacto en la

reproducción canina. Tal método mejoraría la fertilidad y el costo-beneficio de la producción de cachorros.

La temporada de cruce depende de 2 factores: manejo y genética. La preferencia por finales del invierno y principios de la primavera para el cruzamiento puede provenir de una ventaja de evolución en el nacimiento cuando la comida incrementa, en asociación con mejores condiciones climáticas. Las preferencias de los propietarios también juegan un rol ciertamente, el parto en octubre provee al criador con buenas ventas para la época navideña. Para muchos criadores otra oportunidad para el parto es a finales del invierno para tener cachorros en venta en la primavera (Concannon, 1987).

Tradicionalmente, los propietarios de perras hacen cubrir a sus animales dos veces, 11 y 13 días después del inicio del proestro, para asegurarse de que los espermatozoides están presentes en el tracto genital alrededor de o en el momento de la ovulación. Esta pauta es generalmente muy válida. Su eficacia se debe, sin duda, en gran parte a la inusual longevidad de los espermatozoides caninos (hasta 7 días) en el tracto genital de la hembra. Sin embargo, los criadores saben bien que se puede perder mucho tiempo si las cubriciones son infructuosas, de ahí que haya una imperiosa necesidad de hacerlo bien en cada ocasión. Ello ha dado lugar al desarrollo y empleo de técnicas más científicas. Tales métodos son especialmente apropiados cuando la visita al semental de elección requiere un viaje largo y costoso, que es posible con los modernos medios de transporte. Sin lugar a dudas, muchos problemas de fertilidad radican en basar la organización de la cubrición más en el momento que resulta más cómodo y fácil para viajar que en el día fisiológicamente más apropiado.

Si el momento de la ovulación se puede determinar con mayor precisión que la proporcionada por la simple observación visual de los signos externos y del comportamiento mostrado por las perras, es muy probable que se aumenten las tasas de fertilidad y, además, que se pueda predecir con más exactitud la fecha del parto. De esta forma, si se puede predecir el momento de la ovulación, son menos probables los fallos en la concepción y se puede simplificar el manejo de la perra (Broers, 1995).

La duración de las fases del ciclo pueden variar considerablemente entre individuos. La situación se complica también por el hecho de que la duración y la intensidad de los cambios externos y los signos de comportamiento – hinchazón de la vulva, hemorragia vaginal y aceptación del macho -, por los cuales se reconocen el proestro y el estro en la perra, no son en absoluto constantes entre animales. Además, ya que el metaestro no se caracteriza por la presencia de signos externos no pueden reflejar el status hormonal subyacente, son, sin embargo, de gran importancia cuando el objetivo es la cubrición o se quiere manipular el ciclo. Las dificultades señaladas pueden reducirse mediante el examen del frotis vaginal (Broers, 1995).

### **III. OBJETIVOS**

Detectar celo por citología vaginal en hembras en las que no es evidente físicamente.

Conocer el momento óptimo para el cruzamiento o inseminación artificial.

Determinar el intervalo entre estros en hembras de la raza Rottweiler por medio de citología vaginal.

### **IV. MATERIALES Y MÉTODOS**

Se realizó un estudio en la ciudad de Torreón, Coahuila para determinar los cambios en la citología vaginal que se suceden en la perra durante todas las etapas de su ciclo. Se utilizaron 6 perras adultas de la raza Rottweiler. Se tomaron muestras para citología vaginal cada semana a partir de febrero hasta septiembre del 2000 con el fin de evaluar el comportamiento del ciclo reproductivo comparando el intervalo entre estros en individuos de la misma raza.

Material requerido para obtener y procesar la muestra

- hisopos
- portaobjetos
- cubreobjetos
- alcohol 96°
- microscopio de luz visible

- material para tinción Papanicolau

#### Método para obtener la muestra

El objetivo es obtener una muestra de células epiteliales de la vagina, evitando muestrear el vestíbulo (justo pasando la vulva) (Concannon, 1986;

El área en la vagina caudal al cérvix es el mejor lugar para tomar muestras para citología vaginal (Weil, 1996).

Por lo regular el hisopo debe ser insertado varias pulgadas después de la vulva; en razas grandes (Pastor Alemán), un máximo de 6 pulgadas puede ser introducido. Las perras en proestro o estro raramente objetan a este procedimiento, aunque alguna restricción puede ser requerida para prevenir que se violente.

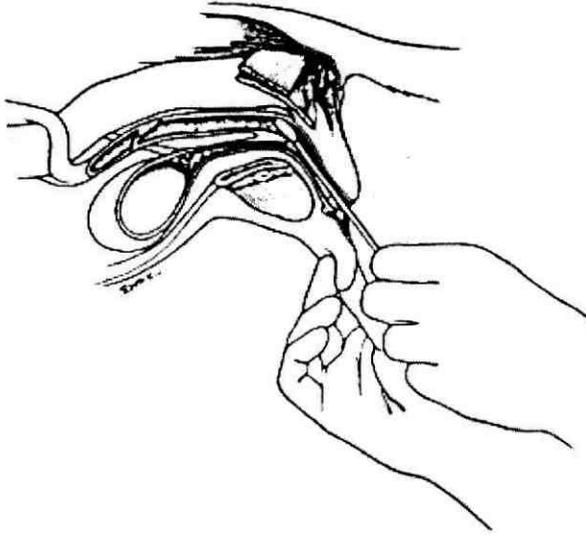
#### Procedimiento

Para tomar una muestra de citología vaginal se introduce un hisopo estéril por la comisura dorsal de los labios vulvares (previa limpieza de estos) (Esquivel, 1996).

Separar los labios de la vulva y gentilmente insertar el hisopo a un ángulo relativamente inclinado. Algunas personas sugieren usar un espéculo, pero este es raramente necesario. El hisopo no necesita estar humedecido. Después de haber insertado el hisopo 1-2 pulgadas, el ángulo de inserción puede ser alterado aproximadamente 45° y continuar insertando (Concannon, 1986;

## 12. TOMA DE MUESTRA

(Concannon, 1987)



Cuando el hisopo está totalmente adentro se gira 2-3 revoluciones, lo cual permitirá que se recolecte una adecuada cantidad de células (Weil, 1996; (Concannon, 1986; Holst and Phemister, 1974a; Holst and Phemister, 1974b). El hisopo, entonces, debe ser cuidadosamente retirado (Weil, 1996; (Concannon, 1986; Esquivel, 1996).

Se prepara el frotis inmediatamente después de retirar el hisopo, girándolo (no deslizándolo o frotándolo) a lo largo del portaobjetos. Generalmente dos líneas paralelas pueden ser giradas (Weil, 1996; (Concannon, 1986; Esquivel, 1996).

El nombre del animal es escrito en el espacio mate al final de la laminilla (Weil, 1996).

Tan pronto como la muestra es preparada, se sumerge 15 minutos en alcohol 96° o se fija usando spray. Después de fijarla, puede ser guardada por largo tiempo aunque comúnmente ésta es teñida sin retraso (Concannon, 1986;

En todos los casos es importante el manejo cuidadoso del material tanto para evitar traumatismos al individuo como para disminuir las distorsiones

engañosas de la imagen citológica. Es muy probable que en manos experimentadas, cualquiera de las técnicas mencionadas se utiliza satisfactoriamente (Jones, 1982).

Existen técnicas de tinción como la de Papanicolau, Dic-quick, giemsa, Wright y Shorr que pueden ser utilizadas para teñir muestras de citología vaginal (Concannon, 1986;

#### Método de tinción Papanicolau

1.- Hematoxilina de Harris	3 minutos
2.- Agua	5 lavados
3.- Alcohol 96°	4 lavados
4.- Alcohol 96°	4 lavados
5.- Colorante OG-6	5 minutos
6.- Alcohol 96°	6 lavados
7.- Alcohol 96°	6 lavados
8.- Colorante EA-50	5 minutos
9.- Alcohol 96°	4 lavados
10.- Alcohol 96°	4 lavados
11.- Alcohol absoluto	4 lavados
12.- Alcohol absoluto	4 lavados
13.- Xilol	3 minutos
14.- Xilol	2 minutos
15.- Se montan con resina sintética	

Todas las técnicas para procesar las muestras pueden ser de utilidad. Sin embargo, se debe usar aquella técnica que resulte práctica, barata, que no se deteriore al almacenar los frotis por mucho tiempo y que proporcione una buena observación de la morfología celular para llegar a un diagnóstico efectivo (Esquivel, 1996).

### 13. LAMINILLA TEÑIDA

(Spano, 2001)



## V. RESULTADOS

Aunque todas las perras siguen el esquema básico del ciclo estral, es evidente la existencia de algunas variantes, pues se ha observado que los individuos exhiben sus propias pautas en ciclos sucesivos.

ANIMAL	INTERVALO ENTRE ESTROS (MESES)
1. * LAZY	0-3-2
2. MISMI	0-5-5-7
3. VERONA	0-6-5-6
4. PELUSA	0-5-5
5. ANIS	0-5
6. DANY	0-6

El cuadro anterior muestra los intervalos entre estros de cada perra, lo que nos indica que existe una variación que va desde 5 a 7 meses entre un celo y otro.

\* En el caso particular de Lazy según los resultados de sus muestras de citología se observaron problemas hormonales, ya que tiene intervalos entre celos muy cortos seguido por un periodo de 5 meses sin presentar calor; cabe hacer la aclaración que estos celos nunca fueron evidentes físicamente, únicamente a la citología (FIG. 1).

En el caso de Mismi se observa uniformidad en los 3 primeros calores y un intervalo entre estos largo, lo cual puede deberse a que hubo gestación en estos dos últimos calores (FIG.2).

Para Verona se vio uniformidad en el intervalo entre estros de 5 y 6 meses, no hubo gestación en ningún celo (FIG. 3). En el caso de Pelusa, aunque hubo gestación en los dos últimos celos, no se alargó el intervalo entre celos, se mantuvo constante en 5 meses (FIG.4). Anis y Dany tuvieron intervalo entre estros dentro del rango que la literatura marca como normal (5-10 meses) (FIGS. 9,12).

En cuanto a citología se refiere para Lazy (FIG. 7) se observan varios picos que indican aumentos de células típicas de proestro y estro, y disminución de células típicas de anestro y diestro; con intervalos pequeños, lo que indica un problema hormonal, posiblemente quistes o hiperestrogenismo. Para esta perra, el celo mayormente marcado fue el día 10 de julio en donde se ve un descenso de células intermedias y basales y un aumento de superficiales y escamas además de presencia de eritrocitos.

En el caso de Mismi (FIG 8) se observa marcadamente el final del estro con un aumento de células intermedias y basales y un descenso de células superficiales y escamas, además de un aumento de neutrófilos y un proestro muy evidente con eritrocitos. Con Verona se observan dos proestros perfectamente marcados con su subsecuente celo; entre cada estro se ve un ligero aumento de células superficiales y escamas que no llega a ser celo. Aunque la literatura marca un 90% de células escamosas en el estro, según estos resultados existen estros con menor porcentaje. En la gráfica de Dany (FIG.6) se observan 2 celos, el segundo más pronunciado y donde se muestra un drástico aumento de neutrófilos que indica el final del estro e inicio del diestro, según marca la literatura.

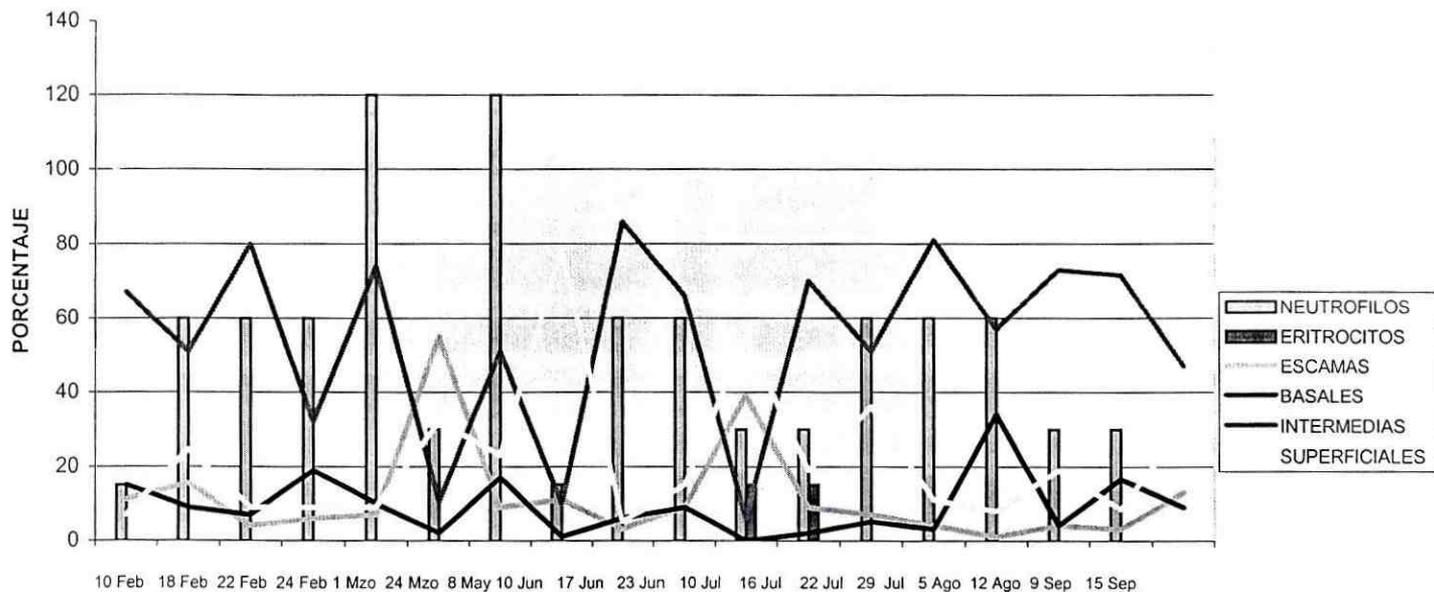


FIG. 1. LAZY Porcentaje de células epiteliales por fecha de toma de muestra.

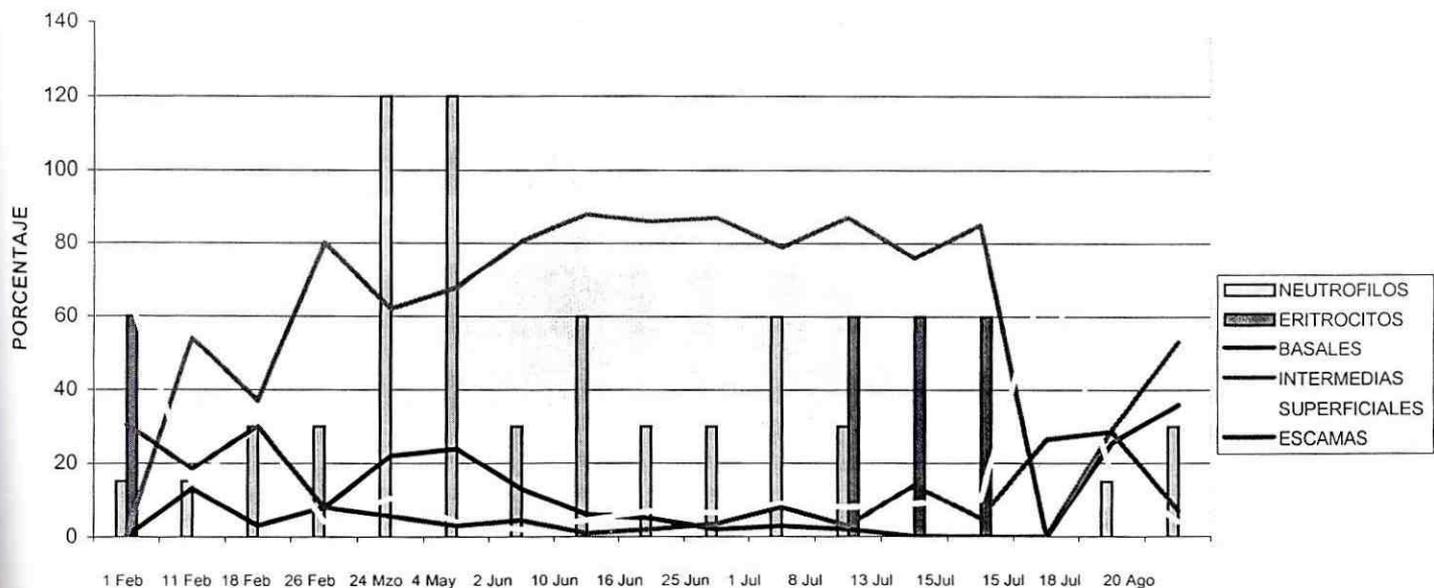


FIG. 2. MISMI Porcentaje de células epiteliales por fecha de toma de muestra

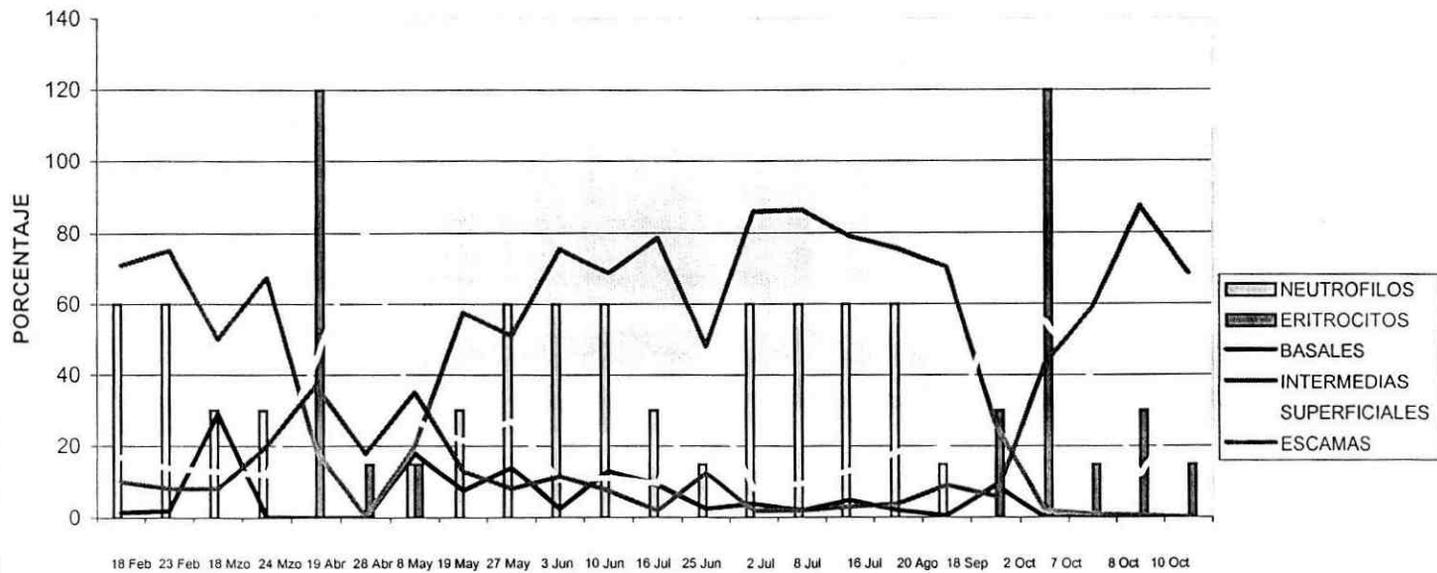


FIG. 3. VERONA. Porcentaje de células epiteliales por fecha de toma de muestra

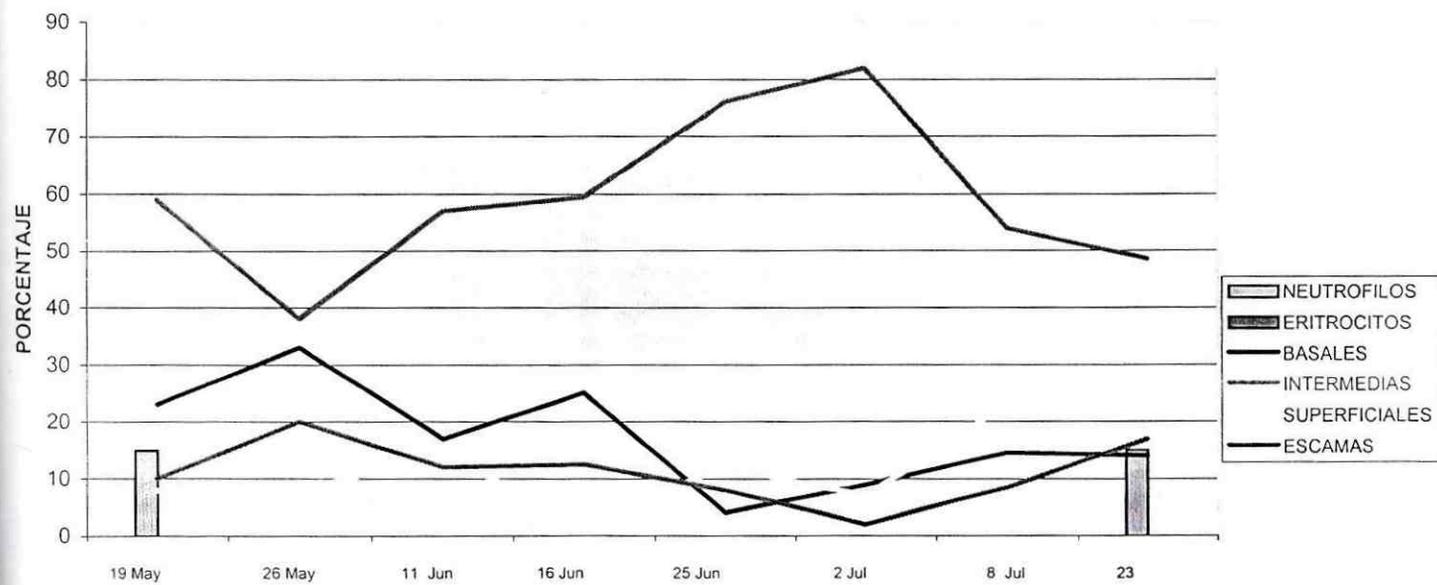


FIG. 4. PELUSA. Porcentaje de células epiteliales por fecha de toma de muestra

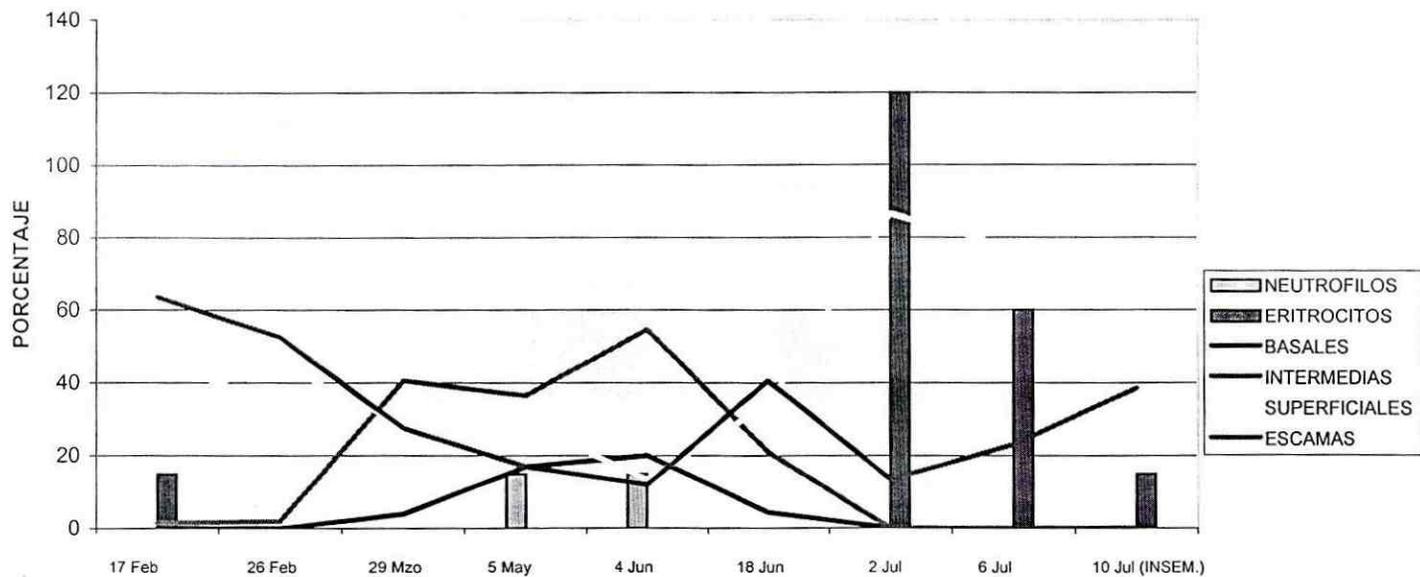


FIG. 5. ANIS Porcentaje de células epiteliales por fecha de toma de muestra

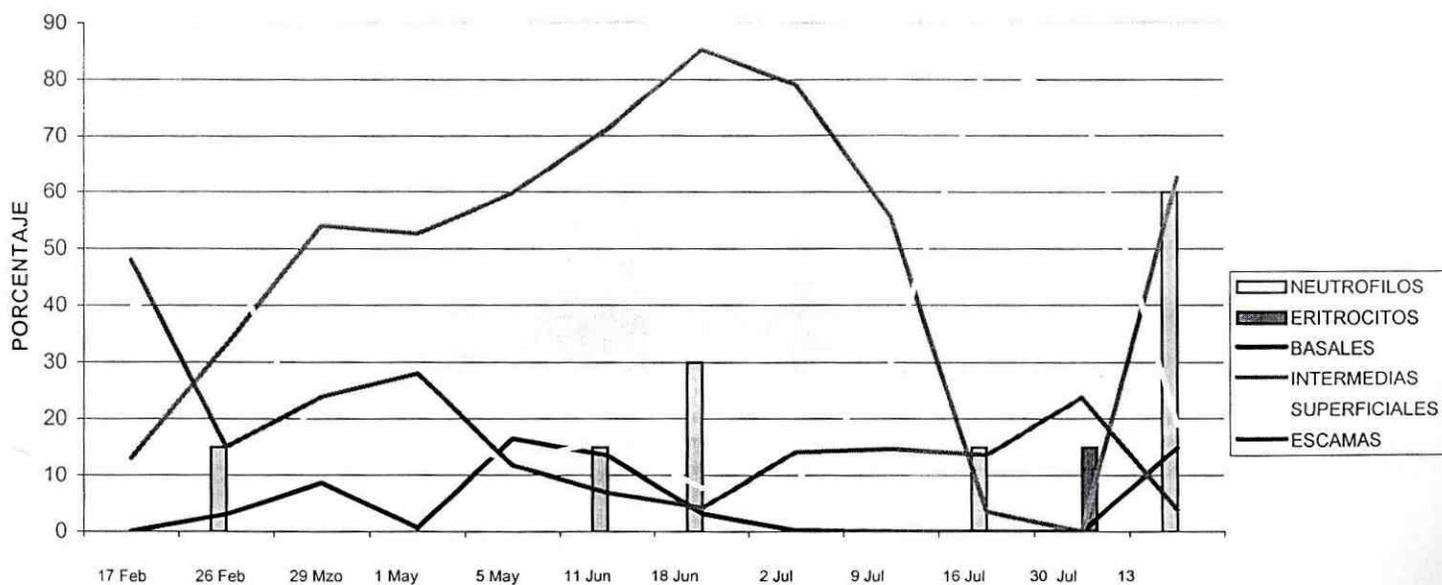


FIG. 6. DANY Porcentaje de células epiteliales por fecha de toma de muestra

## VI. DISCUSIÓN

De cualquier manera, en la literatura se considera que en la mayoría de las perras, la ovulación coincide con la fase del ciclo estral, en la cual la proporción entre células queratinizadas y no queratinizadas es de 3:2. En otros casos donde se observe que la proporción se mantiene más allá del supuesto "día favorable" deben llevarse a cabo apareamientos repetidos y para obtener la mayor ventaja posible de las muestras se aconseja un aumento en la frecuencia que va de cada tercer día durante el inicio del proestro a diariamente durante la fase crítica del estro. Para el caso de Anis se hicieron 3 inseminaciones cada tercer día a partir del día 10 de julio del 2000, teniendo para este día un 61.5% de células superficiales y un 38.5 de células escamosas; no llevándose a cabo la gestación.

Según la literatura la frecuencia del celo en la perra viene determinada principalmente por la variación en la duración del anestro. El intervalo entre estros es de 5-10 meses, sin embargo existen razas como el Pastor Alemán que tiene intervalos de 4-4.5 meses y el Basenji que tiene solamente un solo celo al año; y según Mc Donald, 1991 el promedio de estros por año del Basset hound es de 2, el del Beagle es de 1.5, el del Boston terrier es de 1.5, el del Cocker spaniel es de 2, el del Pequinés es de 1.5, el del Toy Poodle es de 1.5, y según resultado de este trabajo, para Rottweiler es de 5-7 meses.

La literatura menciona que hay una indicación de que la actividad estacional puede aumentar ligeramente en el periodo entre febrero y mayo, y según estos resultados, para Rottweiler esta agrupación se da en los meses de febrero y julio, pero en esencia las perras pueden comenzar a ciclar, cubrirse y parir aleatoriamente a lo largo de todo el año.

La literatura indica que cuando hay gestación, aumenta el intervalo hasta el celo siguiente una media de 28 días. Pero en el caso particular de Pelusa, la gestación se llevó a cabo y sin embargo el intervalo entre estros no se vio afectado (FIG. 11).

■ CELOS

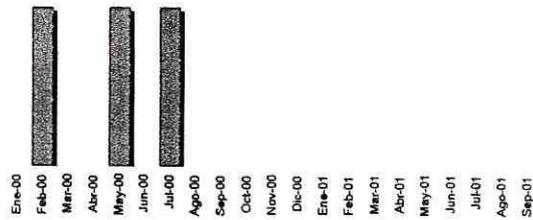


FIG. 7 LAZY Total de celos detectados

■ CELOS

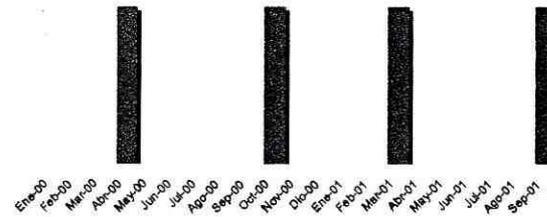


FIG. 10 VERONA Total de celos detectados

■ CELOS

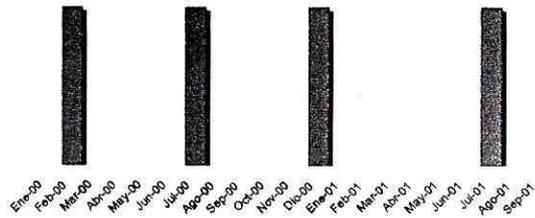


FIG. 8 MISMI Total de celos detectados

■ CELOS

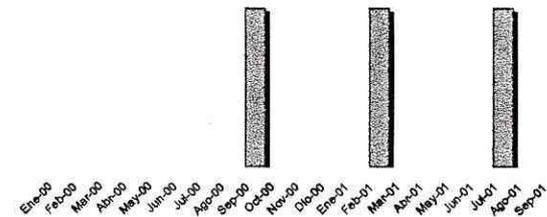


FIG. 11 PELUSA Total de celos detectados

■ CELOS

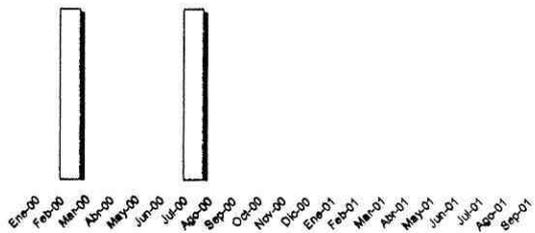


FIG. 9 ANIS Total de celos detectados

■ CELOS

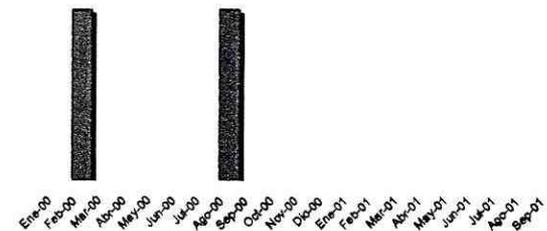
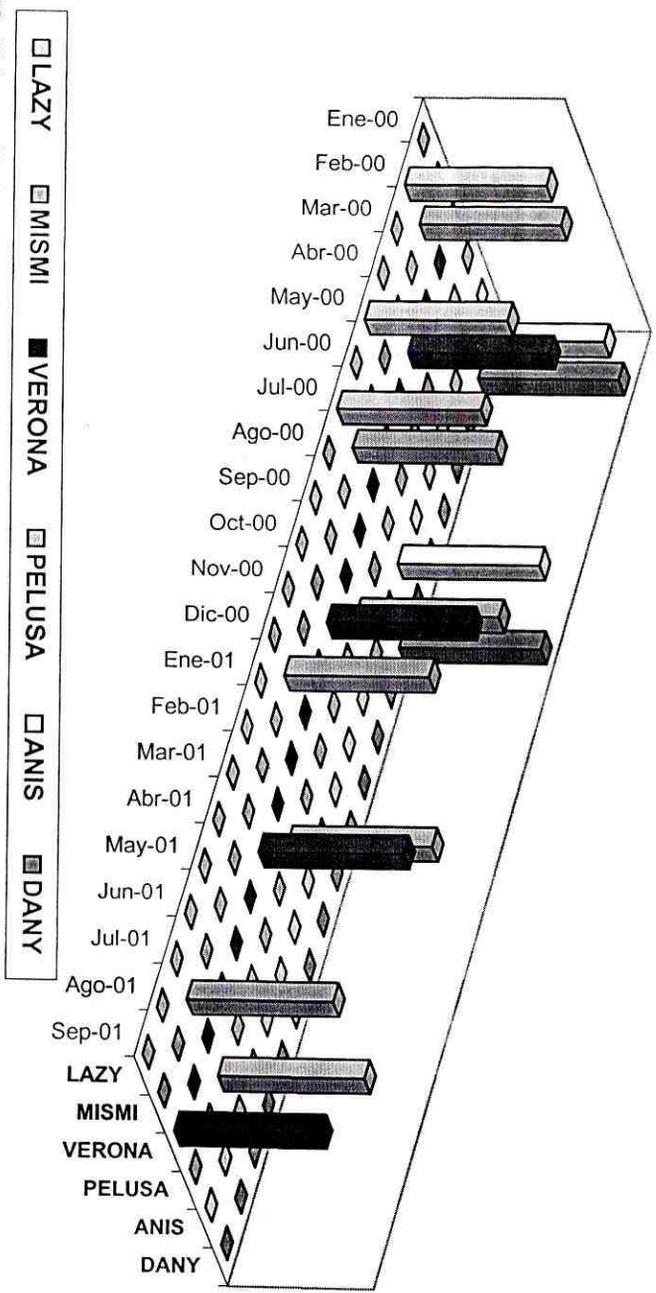


FIG. 12 DANY Total de celos detectados

## VII. CONCLUSIONES

El intervalo entre estros en la raza Rottweiler sin ningún tipo de alteración (sanas) va de 5-7 meses con una ligera agrupación de calores en febrero y julio (FIG. 13). En todas las hembras se observa aumento de células superficiales y escamas más descenso de células basales e intermedias en el estro, lo cual indica perfectamente el momento óptimo para cruzamiento o inseminación. Se detectan con mayor facilidad las alteraciones en el ciclo estral de las perras, lo que nos puede llevar a un diagnóstico preciso y por lo tanto un tratamiento preciso según el problema que se detecte.

FIG. 13 Agrupación de celos por mes



## LITERATURA CITADA

1. ALLEN, W. E., Fertilidad y obstetricia canina, Editorial Acribia, p 19-31
2. ASA Ch. A., Junge R.E. (1992); *St. Louis Zoo Biology* 11:139-151
3. BANKS, W.J. (1996) Introducción a la Citología; *Histología Veterinaria Aplicada*, 2a. Edición, Editorial El Manual Moderno 713, 720-723
4. BIRCHARD and SHERDING (1996); Reproducción; *Manual Clínico de pequeñas especies*, Vol. 2, Editorial McGraw-Hill Interamericana, 1102
5. BOUCHARD G.F., Solorzano P.W. (1991) Determination of ovulation time in bitches based on teasing, vaginal cytology, and ELISA for progesterone. *Theriogenology* 35 (3).
6. BROERS, P. (1995); Compendium de Reproducción Laboratorios Intervet S.A. España 129-137
7. CONCANNON PW and DeGregario GB (1986) :Canine vaginal cytology. In Burke T (ed), *Small Animal Reproduction and Infertility*, Lea & Febiger, 96-111
8. CONCANNON PW (1987): The physiology of ovarian cycles, pregnancy and parturition in the domestic dog; *Proceedings of the Society for Theriogenology*, 159.
9. DE BUEN DE ARGUERO, Nuria  
Curso de Citopatología  
Junio 1997
10. DE GUINEA, Carlos (1994). Mis amigos los perros  
Sección de Anatomía y Fisiología: La esterilidad  
Editorial Planeta DeAgostini, S.A.  
Barcelona
11. ENGLAND G. C. W. (1992) Vaginal kCytology and cervicovaginal mucus arborisation in the breeding management of bitches. *Journal of Small Animal Practice* 33, 557-582
12. ESQUIVEL, Carlos (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* Torreón, Coah., 22-24 Marzo, 24 horas
13. FLOSS, J.; Root-Kurtritz, M. (2001); Reproductive Management of the Female Dog, *American College of Theriogenologists*
14. JONES, E. D.; Joshua, J. O. (1982); Ciclo Estral; *Problemas clínicos de la reproducción canina*; México D.F. 33-53, 169-195
15. LAFI S. Q., Camas W. A., Hailat N. Q., (1997) Vaginal Cytology in small ruminants *Indian Vet. J.* 74: 662-665
16. McDONALD, L.E. (1991) Patrones Reproductivos en Perros; *Endocrinología Veterinaria y Reproducción*, 4ª edición, Editorial Interamericana, 449-469
17. OLSON, P.N., Behrendt M.D.; (1987) Reproductive problems in the bitch: Finding answers through vaginal cytology; *Veterinary Medicine* 344-351.

18. RICHARDS, Michael (1997); Estrus of Heat Cycle; *Encyclopedia of Canine Veterinary Medical Information* TierCom, Inc.
19. SPANO, Joe; (2002); Clinical Pathology Lessons, *Auburn University College of Veterinary Medicine*, Alabama.
20. WEIL, M.A., Caht A.S. (1996) Vaginal Cytology and Optimum Breeding Time for Bitches. *Peer-Reviewed CE Article #1 17 (3):137-141*