

Universidad Nacional del Nordeste

Facultad de Ciencias Veterinarias

Corrientes - Argentina

TRABAJO FINAL DE GRADUACIÓN

- Módulo de Intensificación Práctica -

OPCIÓN: PRODUCCIÓN ANIMAL

TEMA: CITOLOGÍA VAGINAL EN VACAS HOLSTEIN SOMETIDAS A INSEMINACIÓN ARTIFICIAL A TIEMPO FIJO.

TUTOR EXTERNO: CASUSO JOSÉ ANTONIO

TUTOR INTERNO: GARCÍA ENRIQUE NICOLÁS

RESIDENTE: STERN MIRIAM LUISA

e-mail: mirylstern@gmail.com

-2023-

AGRADECIMIENTOS

No hay más satisfacción que cumplir con el objetivo planteado y brindar alegría a quienes me apoyaron directa o indirectamente, por ello agradezco.

A mis padres María Luisa A. G. de Stem y Augusto Otto Stem, quienes han sido el eje e inspiración principal para alcanzar esta meta y por haber inculcado en mí, amor, respeto y trabajo.

A mi Madre María Luisa A.G. de Stem mi gran compañera, quien en momentos difíciles estuvo allí para saber comprender y aconsejarme, darme ese empujón para seguir y alcanzar mi meta, de quién estoy tan orgullosa de ser hija, mi amor eterno, mi ejemplo.

A mi hijo Dante Iriondo Stem, por ser ese motorcito que me da fuerzas y energía para seguir adelante y triunfar en el vivir diario.

A mí director de tesis Dr. Nicolás García a quien estaré siempre agradecida por sus consejos y apoyo.

A mi tutor Externo el Dr. José Antonio Casuso, por su motivación, sus consejos de profesional, siendo una persona de grandes metas.

INDICE GENERAL

1 .RESUMEN.....	3
2.INTRODUCCION.....	4
2.1.	FISIOLOGIA
REPRODUCTIVA.....	6
2.2. FASES DEL CICLO ESTRAL.....	7
2.2.1.PROESTRO.....	7
2.2.2.ESTRO.....	7
2.2.3.METAESTRO.....	7
2.2.4. DIESTRO.....	7
2.3. ASPECTO MORFOLOGICO DEL EPITELIO	
VAGINA.....	7
2 3.1. TIPOS CELULARES EPITELIALES.....	8
2.3.1.1.CELULAS BASALES.....	8
2.3.1.2.CELULAS PARABASALES.....	8
2.3.13. CELULAS INTERMEDIAS.....	8
2.3.14. CELULAS SUPERFICIALES.....	8
3.OBJETIVO.....	9
4.MATERIALES Y METODOS.....	9
4.1. UBICACION Y DESCRIPCION DEL AREA EXPERIMENTAL.....	9
4.2. TOMA DE MUESTRA.....	9
4.3 DIAS DE MUESTREO.....	10
4.4. PROTOCOLO DE IATF.....	10
5 .RESULTADOS Y DISCUSION.....	10
6.CONCLUSION	13

7. BIBLIOGRAFIA	14
ANEXOS.....	17

RESUMEN

El presente estudio fue realizado en las instalaciones de la escuela ERAGIA, con el objetivo de observar los cambios en la citología vaginal durante un proceso de IATF, en hembras bovinas. Para el ensayo se emplearon 10 hembras bovinas de raza Holstein en ordeñe. En la investigación se evaluaron los frotis vaginales a fin de determinar los cambios citológicos durante un protocolo de IATF. Para la sincronización se emplearon dispositivos intravaginales (Diprogest 600), más la utilización de benzoato de estradiol el día 0. El día 8 se procedió al retiro del dispositivo y posterior aplicación D-cloprostenol más cipionato de estradiol. Los resultados obtenidos de acuerdo al porcentaje celular por observación microscópica fue un incremento de células anucleadas, superficiales e intermedias a partir del día 8 del protocolo de IATF. Las células parabasales por el contrario se observaron en mayor cantidad entre los días 3 y 4, decreciendo luego hasta el final del protocolo. Las células intermedias incrementaron hasta el día 4, luego se produjo un ligero descenso entre los días 4 a 6, donde se mantuvieron hasta el día 9 y finalmente aumentar hasta el final del protocolo, siendo el grupo celular de mayor hallazgo. El hallazgo más notorio fue la presencia de células superficiales y anucleadas en los dos últimos días del protocolo, lo que se relaciona con los cambios hormonales. La citología vaginal resultó una técnica útil para describir el comportamiento celular durante el protocolo de IATF, presentando la desventaja de no presentar respuestas constantes en la población de vacas estudiadas, que permitan validar la condición ovárica de hembras bovinas sometidas a sincronización de la ovulación.

INTRODUCCION:

En un establecimiento ganadero la tasa de preñez y sobre todo su distribución, tienen un impacto muy importante en la rentabilidad económica, siendo la eficacia reproductiva uno de los factores primordiales para el éxito (Aristega ,2016).

El uso de técnicas como la ecografía, permite conocer en detalle el estado reproductivo de los vientres, otras como la inseminación artificial a tiempo fijo permite acelerar el mejoramiento genético, (Bó *et al.*, 2002) por ende, son herramientas útiles y accesible a los productores para tal fin.

Otro método qué podría ser de gran ayuda es la citología vaginal, ya que los cambios que ocurren en la mucosa vaginal y su epitelio, a través del ciclo estral, son el resultado del aumento de las concentraciones séricas de estrógenos, producto de la actividad oválica durante el proestro, estos cambios celulares pueden observarse en las células vaginales exfoliadas (Stornelli y De la Sota, 2017).

La citología vaginal exfoliativa es un tipo de ensayo endocrinológico que nos muestra el comportamiento celular del epitelio vaginal de la hembra bovina, que ocurre como resultado de un cambio en los patrones de secreción de hormonas reproductivas (Meikle *et al.*, 2001).

Esta técnica se basa en que las células epiteliales vaginales responden a los cambios hormonales, y provienen de la descamación continua y cíclica del epitelio y suelo que recubren las paredes vaginales; esta renovación está ligada a los cambios hormonales especialmente, y casi exclusivamente, a los niveles de estrógeno sanguíneo (Prats Esteve, 2001).

Los estrógenos causan el engrosamiento del epitelio vaginal a través del aumento de las capas celulares del mismo. Las células epiteliales en este proceso se alejan de la membrana basal hacia el lumen vaginal, distanciándose del soporte vascular nutriente y progresando hacia la muerte. De esta manera los cambios citológicos son reflejo de las variaciones de las concentraciones séricas de estrógeno. Los diferentes tipos celulares representan distintos estadios de muerte celular. Tan pronto como estas mueren, comienzan a agrandarse y su forma se vuelve irregular, los núcleos sufren cambios que reflejan el proceso, estos comienzan a disminuir su tamaño, se vuelven picnóticos para luego desintegrarse dando como resultado una célula anucleada (Stornelli y De la Sota, 2017).

El estudio de la citología vaginal es un método complementario sencillo, poco costoso, no invasivo y que puede ser de gran utilidad en la clínica reproductiva diaria en muchas especies. El conocimiento de la estructura histológica de la pared vaginal y de la fisiología del ciclo estral nos permitirá realizar una adecuada interpretación de los resultados obtenidos y relacionarlos con los procesos fisiológicos y patológicos del paciente (Stomelli y De la Sota, 2017).

En un trabajo pionero en este campo de investigación, Long y Evans (1922) describieron los patrones de queratinización de la mucosa vaginal que ocurren durante las fases folicular o estrogénica y lútea o progestacional del ciclo estral.

Luego de la ovulación, con la caída de los niveles de estrógeno en sangre y el aumento de los niveles de progesterona, el epitelio vaginal prolifera quedando infiltrado por polimorfonucleares observándose en la citología exfoliativa células córneas y polimorfonucleares correspondiente al estadio de metaestro o diestro temprano. La fase siguiente, denominada diestro o diestro tardío es la de mayor duración en el ciclo estral (55,8 % de la duración total del ciclo) y se encuentra caracterizada por una delgada mucosa vaginal. Los frotis correspondientes muestran una gran cantidad de leucocitos y células epiteliales de tipo básales esféricas, citoplasma basófilo y núcleo con cromatina laxa. Durante el estadio de proestro cuando el nivel de estrógeno en sangre comienza a elevarse nuevamente (fase proliferativa), se observa un aumento en el número de capas celulares del epitelio vaginal. La citología exfoliativa característica de este estadio, presenta células parabasales (CP) e intermedia (CI) con núcleo condensado (no picnóticos), solitarias o en capas.

A principios de la década del 60, según demostraron Peckman y Kiekhoffer (1962), las células epiteliales marcadas con timidina tritiada, de la capa basal, avanzan uniformemente hacia la superficie del epitelio vaginal durante un período de 35 a 40 horas. Con el empleo de técnicas auto radiográfica (Ladinsky y Pekham, 1965), determinaron que existe un período entre 18-24 horas para que se complete en su totalidad la marcación de las células de la capa basal; lo cual indicaría que el epitelio vaginal hormono dependiente está compuesto por una población de células proliferativa homogénea. Recién en el año 1980, (Wiegerinck *et al.*, 1980) demostró la existencia de receptores de estrógeno (RE) en vagina. Si bien existe acuerdo entre los investigadores que los RE están presentes en el epitelio vaginal (Wiegerinck *et al.*, 1980) aunque en menor concentración que en el útero, existen controversias respecto a si los RE de

vagina, responden a variaciones hormonales endógenas (Punnonen y Lukola, 1982; Di Cario *et al*, 1985).

Una de las grandes ventajas que ofrece el trabajar con el epitelio vaginal, es que el efecto de estrógenos y anti estrógenos, provoca en este tejido una respuesta directa al estímulo. Este no es el caso de otros órganos como el útero, el cual a pesar de estar también modulado endógenamente por estrógenos, su estímulo alcanza las tres capas celulares que lo conforman: epitelio, endometrio y miometrio (Martín *et al*, 1973). Más aún, los anti estrógenos estimulan profundamente el epitelio y solo parcialmente el endometrio y miometrio (Kang *et al*, 1979; Quarmby y Korach, 1984) siendo por lo tanto difícil la interpretación de la respuesta a estrógenos y anti estrógenos en este órgano. Esta es una de las razones por la cual consideramos al epitelio vaginal como un modelo apropiado para el estudio de la acción de las hormonas sexuales y la interacción entre estas hormonas y sus células blanco.

Según Gompel *et al* (1997); el epitelio vaginal esta provisto de receptores hormonales, localizado en el núcleo de las células, que controlan la maduración y diferenciación celular. Montalbán *et al.* (1985), sugieren que el estrógeno tiene un efecto directo sobre el epitelio vaginal, induciendo la actividad mitótica, estimulando su estratificación, por lo cual, seguido al aumento de la concentración de estrógeno, ocurre una intensa descamación de las capas superficiales del epitelio. En cambio, la progesterona (P4), provoca disminución de la mitosis y maduración funcional del epitelio.

Fisiología Reproductiva:

Las vaquillonas alcanzan la pubertad cuando poseen un 40 a 50% del peso adulto, lo que ocurre dentro de los 12 a 18 meses de edad. Para ser inseminadas deben alcanzar un 70% del peso adulto. Para las razas británicas el mínimo es 280 kg y esto se alcanza entre los 8 y 14 meses de edad. Para las indicas, el peso mínimo es de 310 kg y se logra entre los 18 y 36 meses de edad (Holy L.1993).

La vaca es poliéstrica anual, lo que significa que presenta celo a lo largo de todo el año. Cuando la hembra está en anestro, no cicla ni presenta celo. Las causas principales de anestro son: preñez, mala nutrición, determinados procesos patológicos. El ciclo estral dura 21 +- 4 días, 60% de las vacas tienen un ciclo que varía de 17 a 25 días (Holy L.1993).

Fases del ciclo estral:

- **Proestro** dura unos 2 a 3 días durante el cual se produce un incremento en la frecuencia de los pulsos de hormona luteinizante (LH), que induce la maduración final del folículo. Los niveles de progesterona (P4) circulante disminuyen debido a la regresión del cuerpo lúteo con aumento de concentración de estrógeno (E2) por el folículo preovulatorio.

Se produce el pico de GnRH, dando el comportamiento estral (hembras receptivas, permiten ser montadas) y preparación del aparato reproductor para la copula (útero edematoso, vulva hinchada, eritematosa).

- **Estro:** dura entre 12-24 h, en esta etapa se observa receptividad sexual, la hembra acepta la monta y apareamiento.

Se produce el pico preovulatorio de GnRH que induce un pico de LH y FSH. La ovulación se produce +- 27 h después del pico de LH.

- **Metaestro:** dura unos 3-5 días, se produce la formación del cuerpo hemorrágico. Termina receptividad sexual; e incrementa la concentración de P4 en sangre por presencia del cuerpo lúteo.
- **Diestro:** dura 10-14 días, las células luteinizadas de la granulosa y teca, producen P4. Se produce liberación de prostaglandina f2 alfa (PgF2) uterina por un mecanismo de contra corriente, que produce la regresión del cuerpo lúteo (Guáqueta, 2009).

Aspecto morfológico del epitelio vaginal: la pared de la vagina de los mamíferos está compuesta por una mucosa, epitelio escamoso estratificado con varios pliegues (Kronenberg y Clark 1985), una túnica muscular delgada y una capa densa de tejido conectivo, que deriva del epitelio del sinus urogenital durante la embriogénesis y por lo tanto es de origen ectodérmico.

Como en la epidermis, el epitelio vaginal en animales adultos, produce distintos tipos celulares, cada uno representando un estado progresivo de maduración. Los estratos parabasal o espinoso e intermedio o granular, que se apoyan sobre la capa germinativa, representan las poblaciones celulares capaces de diferenciarse. Por el contrario, las capas de la zona

superficial están compuestas por células cornificadas que representan el producto final de la diferenciación terminal (Matoltsy ,1976).

Desde el punto de vista anatómico la vagina está localizada en la parte craneal al vestíbulo y se extiende cranealmente por cerca de 15 centímetros hasta la entrada del cérvix. Está protegida por epitelio estratificado escamoso no queratinizado.

Tipos Celulares Epiteliales:

En los trabajos de citología vaginal exfoliativa de manera general se clasifican las células epiteliales que se desprenden de la pared vaginal en: células parabasales, intermedias y superficiales. En esta clasificación se emplea fundamentalmente un criterio morfológico y de afinidad tintorial, que, al ser meramente descriptivo, presenta la desventaja de tener variaciones relacionadas con el ejecutor de la técnica (Moxon *et al.*, 2010). Las células epiteliales encontradas en los campos fueron clasificadas de acuerdo al criterio de Grunert en parabasales, intermedias y superficiales (Schutte, 1967).

Células Básales (CB): son las precursoras de las parabasales características del periodo de anestro. Muy rara vez pueden observarse en un estudio citológico. Se aprecian casi redondas, pequeñas, uniformes con poco citoplasma basófilo.

Células parabasales (CP): son las células más pequeñas que se encuentran de manera rutinaria en un hisopado vaginal. Son de forma redondeada con un núcleo grande y una relación núcleo: citoplasma alto. De tamaño uniforme, se observan en los períodos de proestro temprano, diestro y anestro (figura A).

Células Intermedias (CI): son parabasales intermedias con un tamaño mayor (muchas veces el doble) al de las células parabasales. Presentan un aumento en el tamaño del citoplasma y no del núcleo, por lo que la relación núcleo: citoplasma es baja. El citoplasma puede tornarse irregular por la queratinización temprana. Este proceso se hace más evidente con el paso del tiempo y acercarse el periodo estral. También se les conoce como células transicionales o superficiales intermedias (figura B).

Células Superficiales (CS): Son grandes con núcleo pequeño que se ha reducido de tamaño, y a medida que siguen madurando lo pierden por completo. El citoplasma es amplio con muchas irregularidades y dobleces. En su estado más maduro presentan ausencia total de

núcleo (CA) y es el estadio más tardío de las células epiteliales vaginales (Prats Esteve, 2001) (figura C).

OBJETIVO:

- Describir los cambios en la citología vaginal durante un proceso de IATF.

MATERIALES Y METODOS:

El trabajo se realizó en la Escuela Regional de Agricultura, Ganadería e industrias Afines ubicada en RN 12 km 1031, W 3400, Corrientes Capital dónde se realizó IATF el día 26 de mayo de 2022. Cuya región posee un clima subtropical húmedo (clasificación climática de Kóppen: Cfa).

Las muestras de hisopado fueron obtenidas de 10 (diez) hembras bovinas Holstein en ordeñe, no gestantes comprobadas por ecografía 48 horas previas al inicio del protocolo de IATF. (cuadro 1 anexos). Se tomaron de manera seriada cada 48 horas previo al inicio del protocolo, hasta el momento de retiro del dispositivo, luego se obtuvieron cada 12 horas hasta el momento de inseminación (figura D).

La técnica utilizada para el muestreo fue la recomendada por Ola *et al.* (2006). Los pasos realizados fueron:

- sujeción del animal
- higiene perivulvar
- uso de vaginoscopio limpio y lubricado
- introducción de hisopo estéril en un ángulo de 45°
- obtención de una muestra del hisopado vaginal
- extendí do sobre un porta obj eto 1 i mpi o
- identificación con el número de caravana y día de muestreo del portaobjeto
- fijación con alcohol al 96%
- secado
- tinción con Giemsa

Las muestras fueron observadas al microscopio para determinar tipo y número de células, así como también, realizar una descripción de la evolución citológica durante el protocolo de inseminación (figura E).

Días de muestreo:

- Primera toma 16-05-22 con posterior colocación del dispositivo intravaginal (día 0).
- Segunda toma 18-05-22 (día 2).
- Tercera toma 20-05-22 (día 4).
- Cuarta toma 22-05-22 (día 6).
- Quinta toma 24-05-22, dos muéstros con intervalo de 12 h (AM y PM) (día 8).
- Sexta toma 25-05-22, dos muéstros con intervalo de 12 h (día 9).
- Séptima toma 26-05-22 (con posterior inseminación) (día 10).

PROTOCOLO DE IATF:

El protocolo fue realizado utilizando un dispositivo intravaginal que contiene progesterona (4 pregnano -3,20-diona) micronizada 0,80 g. silicona inerte c. s. p 1 dispositivo intravaginal.

Dia 0: se colocó el dispositivo más 2mg de estradiol benzoato (BE).

Dia 8: retiro del dispositivo. Aplicación de 150 mg de D-cloprostenol IM (2ml ciclar), más 1mg de cipionato de estradiol IM.

DIA 10: Inseminación artificial (54 h pos retiro).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la figura F se observa que el porcentaje de CS y CA obtenidas, se incrementó a partir del día 8 del protocolo al día 10 ,momento en que se realizó la inseminación.

En cambio, las CP se encontraron en aumento entre los días 3 y 4 donde alcanzaron su pico para luego ir decreciendo lentamente hasta el final del protocolo.

Las CI fueron en aumento hasta el día 4, donde alcanzaron su mayor porcentaje, luego mostraron un ligero descenso del día 4 al día 6, donde se mantuvieron en ese promedio hasta el día 9, para finalmente incrementar hasta el final del protocolo de IATF.

curva de distribución celular durante un protocolo de IATF

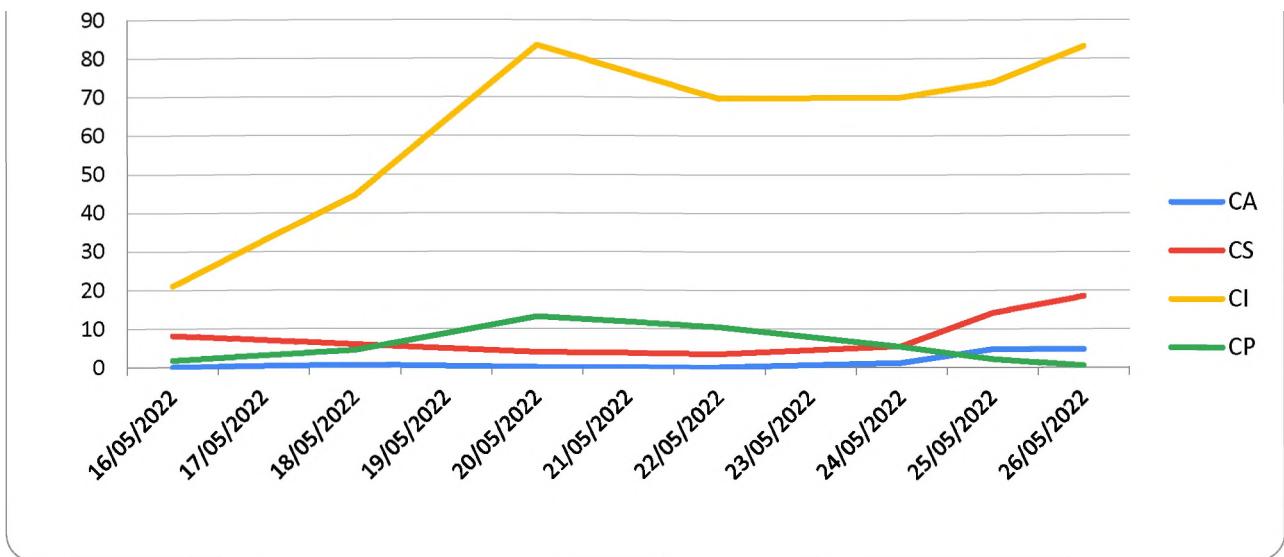


FIGURA F:Curvas de distribución de promedios de hallazgos de los distintos tipos celulares obtenidos por citología vaginal a lo largo del protocolo de IATF. CAxélulas anucleadas. CSxélulas superficiales. CLcélulas intermedias. CPxélulas parabasales.

En la figura G se observa la proporción de células en los distintos conteos a lo largo del ciclo, siendo el hallazgo más notorio la presencia de CP y CI los días en que se encuentra presente el dispositivo y de CS y CA al retiro del mismo, en los últimos 2 (dos) días del protocolo de IATF.

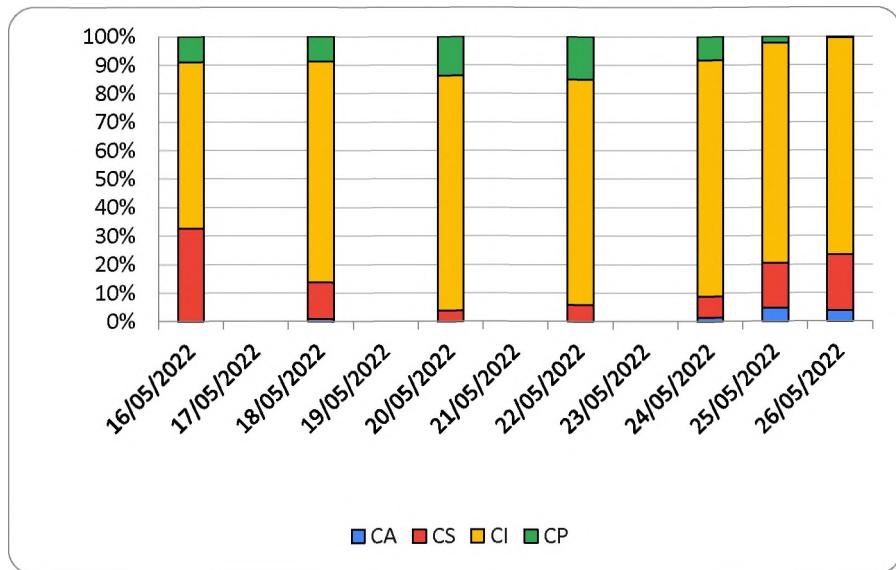


FIGURA G. Diagrama de barras descriptivo de la proporción de células en los distintos días de muestreo. CA: células anucleadas. CSxélulas superficiales. CI: células intermedias. CP: células parabasales.

El porcentaje de preñez obtenido en este trabajo por inseminación artificial fue del 30% diagnosticado por ecografía los días 30 y 90 pos IATF.

Los resultados citológicos hallados son similares a los encontrados por Peñafiel Guillen (2016) en Ecuador, en donde obtuvo los mayores hallazgos de células anucleadas al momento de realizar la inseminación artificial y la misma retuvo hasta el 30% de preñez.

Calderón Castillo (2016) estudiando la citología vaginal en cuatro ciclos naturales, en bovinos mestizos, encontró mayor proporción de células anucleadas (40,11%) a diferencia del presente trabajo en donde se encontraron mayor proporción de células intermedias (76%) al momento de realizar la inseminación artificial.

Podemos relacionar los resultados obtenidos en el presente trabajo con lo expuesto por Palomo Martell (2016), donde usando protocolos con progesterona durante 7 a 9 días, más Benzoato de Estradiol (BE) observó un mayor porcentaje de células parabasales durante el tratamiento, las cuales disminuyen al descender los niveles de progesterona en sangre, lo que se correlaciona con el aumento de los niveles de estrógeno luego de retirar el dispositivo, el cual actúa sobre los estratos intermedios y luminales provocando la queratinización y exfoliación de estas células (Clemente Ovando, *et al* 2013).

Palomo Martel (2016) también observó un menor porcentaje de células superficiales al inicio del estro, en las hembras bovinas tratadas.

Ferraz (2007) utilizando protocolos similares concluye que las células parabasales predominaron durante el periodo observado, con tendencia a aumentar en el momento en que se encuentra presente el implante de progesterona, mimetizando la fase progesterónica del ciclo estral, observando un aumento en el número de células intermedias y superficiales pos aplicación de benzoato de estradiol, (BE).

Rezende (2006) también describe esa tendencia de aumento de células parabasales durante el diestro en novillas Nelore; fase de dominancia de progesterona (P4) en el ciclo estral., verificando también el aumento de células intermedias y superficiales durante el estro, fase de dominio estrogénico.

Benavides Cueva (2021) encontró que el uso de protocolo de IATF favoreció la preñez por repaso de monta natural, sugiriendo su influencia en los posteriores ciclos luego de protocolo IATF, lo cual deja abierta la posibilidad de evaluar a futuro la respuestas citológicas de animales tratados por IATF, que no se preñen en la inseminación observando su citología entre los días 19 a 23 pos inseminación, en donde deberían repetir de manera natural el periodo de estro de acuerdo a lo descripto por Castro y Gómez (1979).

CONCLUSION

La citología vaginal exfoliativa resultó una técnica útil para describir el comportamiento celular en las distintas etapas de un protocolo de inseminación. Presentó la ventaja de ser económica, por el contrario, presentó como desventaja el no ser práctica de realizar en un gran número de animales, ni rápida, y no presentar respuestas constantes en la población de vacas estudiadas. Por otra parte, la citología vaginal no ofrece elementos que permitan validar la condición ovárica en hembras bovinas sometidas a sincronización de la ovulación.

BIBLIOGRAFÍA:

- Aristega Félix. T. Santur.2016. Determinación de porcentaje de células epiteliales vaginales en las diferentes fases de ciclos estrales durante 84 días en hembras bovinas de la universidad técnica de Babahoyo
- Benavides Cueva, O. R. (2021). Evaluación de tres protocolos de inseminación artificial a tiempo fijo (1ATF) en vacas holstein friesian en la serranía ecuatoriana (Master's thesis, Ecuador: Latacunga: Universidad Técnica de Cotopaxi).
- Bó, G.A.; Cutaia, L. y Tríbulo, R. (2002). Tratamientos hormonales para insminación artificial a tiempo fijo en bovinos para carne: algunas experiencias realizadas en Argentina. Rev. Taurus4(14): 1—14.
- Calderón Castillo, J. D. (2016). Identificación de células epiteliales vaginales dominantes en ovulación para mejorar los índices reproductivos en hembras bovinos (Bachelor's thesis, Babahoyo: UTB, 2016).
- Castro, A., & Gómez, R. (1979). Duración del ciclo estral, del estro y tiempo de ovulación en ganado de leche, en climas cálidos de Colombia. Revista ICA, (3), 171-176.
- Clemente Ovando, N., Orihuela Trujillo, A., Flores Pérez, F. I., & Aguirre Flores, V. (2013). Citología y Análisis morfométrico de las células del epitelio vaginal durante el ciclo estral en ovejas de pelo (*Ovis aries*). International Journal of Morphology, 31(3), 888-893.
- Di Cario, F., Racca, S., Gallo, E, Conti, G., Russo, A., Mondo, F. y Francalanci, S. (1985). Receptores de estrógeno y progesterona en la vagina humana. Revista de investigación endocrinológica, 8, 13 1-134.
- Ferraz H.T. (2007). dinámica folicular, concentrado sérica de hormónio luteinizante e citología vaginal de fémeas nelore (*bos taurus indicus*) submetidas á sincroniza9áo da ovula9áo,
- Gompel, C , Koss, L. G , & Wullcan, I. (1997). Citología ginecológica e suas bases anatomoclínicas. In Citología ginecológica e suas bases anatomoclínicas (pp. xiii-216).
- Guáqueta, H. (2009). Ciclo Estral: Fisiología básica y estrategias para mejorar la detección de celos. Revista de la Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia, 56(111), 163-183.
- Holy L. (1993). Bases fisiológicas de la reproducción Bovina. Ed. Diana.

- Kang, SY, Gutowsky, HS, Hshung, JC, Jacobs, R., King, TE, Rice, D. y Oldfield, E. (1979). Investigación de resonancia magnética nuclear de la interacción citocromo oxidasa-fosfolípido: un nuevo modelo para los lípidos límite. *Bioquímica*, 18 (15), 3257-3267.
- Kronenberg, MS y Clark, JH (1985). Identificación y análisis de polipéptidos de queratina a partir de epitelio vaginal aislado de rata. *Endocrinología*, 117 (4), 1469-1479.
- Ladinsky, JL y Peckham, BM (1965). La cinética del comportamiento generativo del epitelio vaginal dependiente de estrógenos. *Investigación celular experimental*, 40 (3), 447-455.
- Long, J. A., & Evans, H. M. (1922). *The oestrous cycle in the rat and its associated phenomena* (Vol. 6). University of California Press.
- Martín, L., Finn, CA y Trinder, G. (1973). Hipertrofia e hiperplasia en el útero de ratón después del tratamiento con estrógenos: un estudio autorradiográfico. *Diario de Endocrinología*, 56 (1), 133-NP.
- Matoltsy, AG (1976). Queratinización. *Revista de dermatología investigativa*, 67 (1), 20-25.
- Meikle, A., Garofalo, EG, Rodríguez-Piñón, M., Tasende, C., & Sahlin, L. (2001). Regulación por esteroides gonadales de los receptores de estrógeno y progesterona a lo largo del tracto reproductivo en corderos hembra. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 42, 1-9.
- Montalbán, E.B. Ayala, M.J.; Vilaplana, E.; Ortiz, F.N.; Fernández, F.N. (1985). *Citopatología ginecológica*. 2. Ed. Barcelona: editorial científico médica, P.357-370.
- Moxon, R., Copley, D. E. Inglaterra, GCW (2010). Garantía de calidad de la citología vaginal canina: un estudio preliminar. *Teriogenología*, 74 (3), 479-485.
- Ola, S. I., Sanni, W. A., & Egbunike, G. (2006). Exfoliative vaginal cytology during the oestrous cycle of West African dwarf goats. *Reproduction Nutrition Development*, 46(1), 87-95.
- Palomo Martell, G. (2016). Progesterona exógena en la expresión del estro y componentes citológicos vaginales en cabras alpinas.

Peñafiel Guillén, B. W. (2016). Determinación del momento óptimo de la inseminación artificial con la observación de células cornificadas del epitelio vaginal en hembras bovina de la Universidad Técnica de Babahoyo (Bachelor's thesis, Babahoyo: UTB, 2016).

Peckham, B. y Kiekhofer, W. (1962). Comportamiento celular en el epitelio vaginal de ratas tratadas con estrógenos. Diario americano de obstetricia y ginecología, 83 (8), 1021-1027.

Punnonen, R. y Lukola, A. (1982). Unión de alta afinidad de estrona, estradiol y estriol en miometrio cervical humano y epitelio cervical y vaginal. Revista de investigación endocrinológica, 5, 203-207.

Prats Esteve, A. (2001). Citología vaginal y examen del esperma. XVIII Congreso Anual. 277. Citología vaginal., (págs. 277-288). Recuperado el 10 del 06 de 2022 de Citología vaginal, <http://www.advanceveterinary.com/AmvacOO 02/2001/seminario03.pdf>.

Quarmby, V.E y Korach, K.S (1984). La influencia del 17 P-estradiol en los patrones de división celular en el útero. Endocrinología, 114 (3), 694-702.

Rezende, LC (2006). Perfil citológico vaginal y dinámica folicular durante el ciclo estral en novillas Nellore.

Schutte, AP (1967). Citología vaginal canina: técnica I y morfología citológica. Revista de Práctica de Pequeños Animales, 8 (6), 301-306.

Stornelli, M. A., & Sota, R. L. D. L. (2017). Atlas de reproducción de animales de producción y compañía. Series: Libros de Cátedra.

Wiegerinck, MAHM, Poortman, J., Agema, AR y Thijssen, JHH (1980). Receptores de estrógeno en tejido vaginal humano. Maturitas, 2 (1), 59-67.

Anexo:

Cuadro 1. Característica de ecografía en día cero.

VACA	OVARIO IZQ	OVARIO DERECHO	OBSERVACIONES
26	Fol. 12 mm	F 6 mm	
rayo	fol 4 mm	CL con cavidad Fol 14 mm	
806	Fol 8 mm	CL con cavidad y Fol 12 mm	
811	fol 4 mm	CL	
823	fol 8 mm	CL y folículo de 12 mm	
se	fol 10 mm	CL y fol de 12, 8 y 6 mm	
807	fol 8 mm	CL y fol 12 mm	
812	fol 8 mm	CL y fol 12 mm	
802	fol 12 mm	fol 4 mm	40 dias posparto
817	fol 4 mm y 6 mm	CL y fol 12 mm	

Fol: folículo. CL: cuerpo lúteo.

Cuadro 2: PLANILLA DE CONTEO CELULAR, CITOLOGIA VAGINAL:

ANIMAL	FECHA	Porcentaje celular obtenido			
		CA	CS	CI	CP
1	16/5/23 AM	0%	0%	30%	70%
1	18/5/23 AM	0%	0%	68%	32%
1	20/5/23 AM	0%	0%	85%	15%
1	22/5/23 AM	0%	5%	69%	26%
1	24/5/23 AM	0%	4%	87%	9%
1	24/5/23 PM	0%	0%	86%	14%
1	25/5/23 AM	0%		85%	5%
1	25/5/23 PM	0%	6%	89%	8%
1	26/5/23 AM	0%	0%	80%	5%
2	16/5/23 AM	0%	9%	84%	16%
2	18/5/23 AM	0%	0%	76%	19%
2	20/5/23 AM	0%	2%	80%	20%
2	22/5/23 AM	0%	0%	56%	39%
2	24/5/23 AM	0%	1%	76%	24%
2	24/5/23 PM	0%	27%	65%	31%
2	25/5/23 AM	0%	12%	78%	8%
2	25/5/23 PM	10%	37%	63%	7%
2	26/5/23 AM	0%	20%	92%	0%
3	16/5/23 AM	0%	41%	13%	0%
3	18/5/23 AM	7%	0%	65%	11%

3	20/5/23 AM	0%	5%	65%	35%
3	22/5/23 AM	0%	3%	91%	6%
3	24/5/23 AM	1%	2%	92%	4%
3	24/5/23 PM	0%	11%	97%	0%
3	25/5/23 AM	0%	4%	84%	0%
3	25/5/23 PM	0%	###	93%	0%
3	26/5/23 AM	3%	6%	17%	0%
4	16/5/23 AM	0%	4%	92%	3%
4	18/5/23 AM	0%	50%	64%	7%
4	20/5/23 AM	0%	2%	85%	8%
4	22/5/23 AM	0%	0%	83%	15%
4	24/5/23 AM	0%	8%	62%	38%
4	24/5/23 PM	0%	4%	91%	0%
4	25/5/23 AM	0%	0%	94%	3%
4	25/5/23 PM	0%	12%	91%	9%
4	26/5/23 AM	0%	5%	90%	0%
5	16/5/23 AM	0%	67%	67%	0%
5	18/5/23 AM	1%	15%	82%	7%
5	20/5/23 AM	0%	4%	88%	3%
5	22/5/23 AM	0%	15%	82%	10%
5	24/5/23 AM	10%	33%	69%	0%
5	24/5/23 PM	4%	2%	84%	0%
5	25/5/23 AM	0%	10%	99%	0%
5	25/5/23 PM	21%	13%	50%	0%
5	26/5/23 AM	1%	21%	87%	0%
6	16/5/23 AM	0%	25%	56%	0%
6	18/5/23 AM	0%	2%	90%	0%
6	20/5/23 AM	0%	7%	81%	17%
6	22/5/23 AM	0%	21%	82%	10%
6	24/5/23 AM	9%	11%	76%	0%
6	24/5/23 PM	0%	6%	91%	0%
6	25/5/23 AM	0%	13%	93%	0%
6	25/5/23 PM	0%	7%	90%	0%
6	26/5/23 AM	28%	8%	65%	0%
7	16/5/23 AM	0%	69%	25%	0%
7	18/5/23 AM	0%	25%	61%	0%
7	20/5/23 AM	0%	0%	80%	15%
7	22/5/23 AM	0%	19%	74%	26%
7	24/5/23 AM	0%	29%	75%	7%
7	24/5/23 PM	0%	14%	89%	0%
7	25/5/23 AM	0%	9%	85%	0%
7	25/5/23 PM	4%	17%	89%	0%

7	26/5/23 AM	3%	16%	79%	0%
8	16/5/23 AM	0%	12%	52%	0%
8	18/5/23 AM	0%	6%	92%	2%
8	20/5/23 AM	0%	10%	80%	13%
8	22/5/23 AM	0%	0%	65%	12%
8	24/5/23 AM	0%	9%	70%	30%
8	24/5/23 PM	0%	17%	91%	0%
8	25/5/23 AM	0%	39%	91%	0%
8	25/5/23 PM	0%	30%	73%	0%
8	26/5/23 AM	1%	6%	71%	0%
9	16/5/23 AM	0%	40%	73%	0%
9	18/5/23 AM	0%	8%	93%	0%
9	20/5/23 AM	0%	2%	86%	7%
9	22/5/23 AM	0%	11%	93%	5%
9	24/5/23 AM	0%	11%	81%	6%
9	24/5/23 PM	2%		84%	0%
9	25/5/23 AM	15%	13%	41%	0%
9	25/5/23 PM	0%	19%	79%	0%
9	26/5/23 AM	0%		89%	0%
10	16/5/23 AM	0%	8%	92%	0%
10	18/5/23 AM	0%	3%	83%	10%
10	20/5/23 AM	0%	2%	95%	4%
10	22/5/23 AM	0%	0%	97%	2%
10	24/5/23 AM	0%	3%	99%	1%
10	24/5/23 PM	0%	32%	95%	2%
10	25/5/23 AM	44%	14%	14%	0%
10	25/5/23 PM	0%	19%	63%	4%
10	26/5/23 AM	0%	0%	92%	0%

CA: células anucleares. CS: células superficiales. CI: células intermedia. CP: células parabasal.

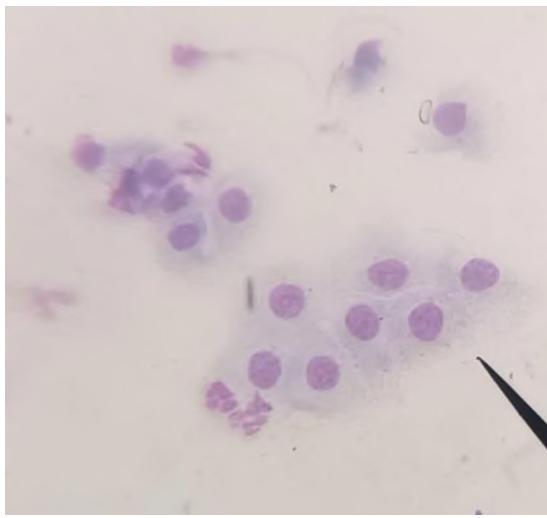


Figura A: CP.magnificancia 40x Giemsa.

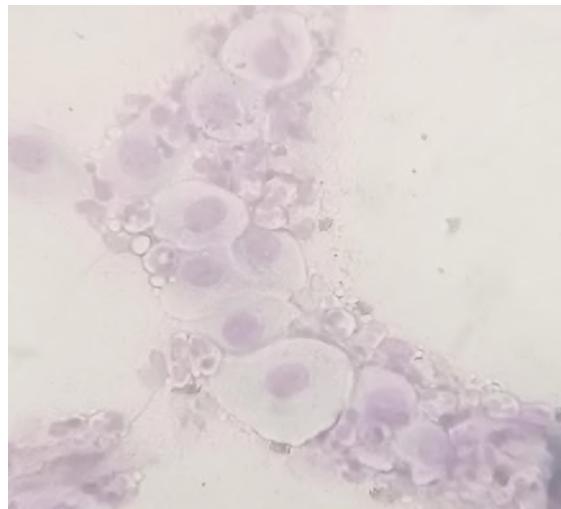


Figura B: CI . Magnificancia 40x ,Giemsa.

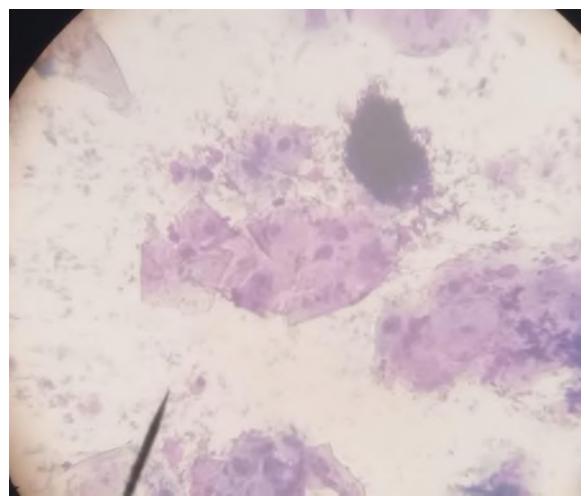




Figura D: Toma de muestra de citología vaginal en vacas Holstein.



Figura E: observación de muestras al microscopio Óptico.