

**EL CICLO SEXUAL VAGINAL DEL MARSUPIAL
DIDELPHYS AZARAE**

POR EL

Dr. Pedro Martínez Esteves . .

(Trabajo del Instituto de Fisiología de la Facultad de Ciencias Médicas de Córdoba. R. Argentina)

El ciclo sexual ha sido estudiado en los marsupiales por Hill y O'Donoghue en el *Dasyurus viverrinus*, y por Hartman (1923) en el *Didelphys virginiana*. Aparte de algunas referencias más o menos incidentales al ciclo sexual de los marsupiales contenidos en artículos donde éste no era encarado en forma directa (Salenka), que nosotros sepamos, no existen otros estudios sobre el ciclo sexual de estos animales.

El trabajo de Hartman (1923) ha sido realizado con gran meticulosidad y es el más completo de todos.

ANIMALES Y METODOS

Durante un año y medio hemos recogido observaciones tendientes a estudiar el ciclo sexual femenino del *Didelphys azarae*, perteneciente a la familia de los Didelphidos, subórden de los poliprotodonta, órden de los marsupiales, infra-clase de los matatheria, sub-clase de los theria, clase de los mamíferos (Yepes 1934). Corresponde a una de las especies vulgarmente conocida por "comadreja" en nuestros campos.

El presente estudio se comenzó en Mayo de 1935 y se ha realizado siempre en medio de una gran dificultad para conseguir animales en número suficiente. Han sido estudiadas en total 30 comadrejas hembras. Los animales eran obtenidos en la mayoría de los

casos mediante trampas que a veces los traumatizaban algo. Después de algunos días de aclimatación a las condiciones del laboratorio se comenzaba el estudio.

La alimentación se hacía a base de carne, vegetales frescos y huevos de gallina. Los animales se mantenían en excelente estado de nutrición y todos aumentaron de peso durante su estadía en el laboratorio. Durante los meses de invierno se mantenían con calefacción tratando de que la temperatura ambiente no bajara de 18 grados c.

Diariamente se recogía el contenido vaginal con la técnica habitual para preparar y colorear frotis destinados al estudio microscópico.

PARTICULARIDADES ANATOMICAS

El aparato genital de los masupiales presenta la particularidad de que los canales de Müller a expensas de los cuales se forman las trompas, el útero y la vagina, permanecen separados hasta muy cerca de la vulva. En todos los otros mamíferos los canales de Müller se unen a alturas variables para constituir órganos medios con una cavidad única. Así por ejemplo en los primates esta coalescencia se hace en forma tal, que ya el útero resulta un órgano simple; en otros animales (carnívoros) la coalescencia se hace en forma tal, que el útero queda como un órgano doble (didelfo), pero con vagina única. En los marsupiales en cambio, incluso la vagina, queda doble hasta muy cerca de la vulva (canales vaginales laterales).

De todo esto resulta una disposición curiosa de la vagina. Existe un conducto vaginal medio que conduce a un fondo de saco ciego. Un poco detrás de éste desembocan, en su porción ventral, la uretra y en su porción dorsal, los dos canales vaginales laterales (Hartman 1923).

Los canales vaginales laterales hacen prominencia en parte en la cavidad peritoneal, colocándose por encima de la vejiga en forma de dos tubos dispuestos como signo de interrogación, uno de cada lado y recubierto por el peritoneo.

Para producir la fecundación, los espermatozoides llegan has-

ta el útero siguiendo la vía de los canales vaginales laterales pere, para nacer, las crías siguen un nuevo pasaje: el canal "pseudo-vaginal" descubierto por Hill, el cual se abre directamente en el conducto vaginal medio (Hartman 1923).

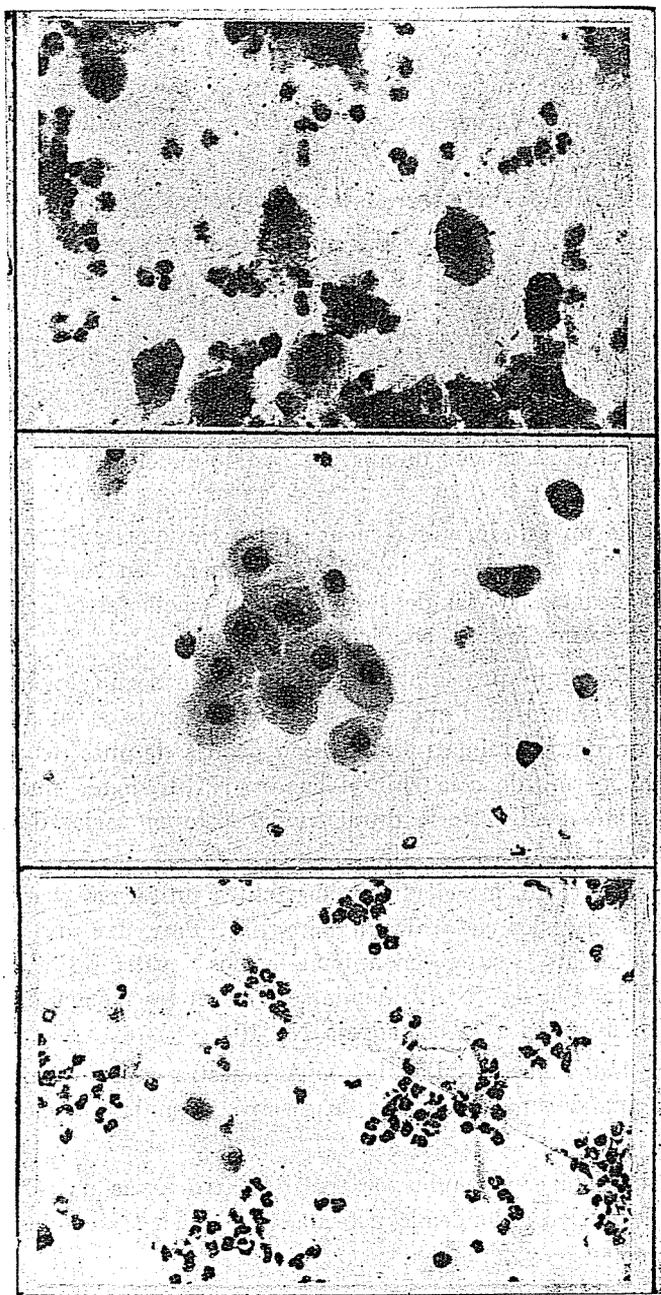
VARIACIONES VAGINALES CÍCLICAS

Inspección. — La vulva y porción inicial de la vagina eran cuidadosamente examinadas diariamente. Las modificaciones reveladas por este procedimiento han sido verdaderamente poco notables. Solo en la comadreja N° 13, que fué sacrificada en pleno celo, había una congestión y tumefacción moderada de la vulva. En 4 animales inyectados con factores gonadótropos hipofisoides (Prolan Bayer) se obtuvo una franca reacción vulvar: enrojecimiento y tumefacción tan marcadas, que se producía una verdadera extrusión de la mucosa vaginal.

Frotis vaginales. — El estudio de los frotis vaginales nos ha demostrado que las variaciones cíclicas del contenido vaginal en las condiciones de nuestro estudio no son tan patentes en la comadreja como en los pequeños roedores. Con algún cuidado sin embargo, pueden distinguirse cambios y caracterizar momentos definidos en el ciclo.

El estado que después de algunas observaciones de orientación se pasó a considerar como estado de reposo o diestro, se caracteriza por la presencia de numerosos leucocitos, células epiteliales pequeñas, redondeadas y con tendencia a presentarse en acúmulos. Todo esto se encuentra sobre un fondo más o menos heterógeno donde se aprecian masas de mucus coloreadas uniformemente y granulos pequeños de aspecto cocoideo, provenientes quizás de la desintegración de algunos elementos epiteliales. Casi nunca falta una que otra escama muy pálidamente coloreada y en evidente camino de desintegración. (Fig. 1, A).

El estado que se consideró como proestro se caracterizaba por la aparición de células epiteliales medianas y grandes, poligonales, de protoplasma claro y homogéneo, y con un núcleo intensamente te-



C

B

A

Figura 1

Frotis vaginal en diversos momentos del ciclo. A, diestro; B, proestro; C, meto oestro.

ñido. Por lo demás seguían apareciendo leucocitos y mucus. (Fig. 1, B).

Del estado descrito en el párrafo precedente, se pasa a una situación más o menos característica según los casos identificable por la presencia de:

1°. — Células epiteliales francas como las descriptas;

2°. — Elementos en los que todavía es posible reconocer su carácter epitelial gracias a un núcleo sumamente pálido y borroso, que conservan como vestigio y

3°. — Elementos cornificados grandes, totalmente carentes de núcleo, y de forma irregular, identificados como escamas. Los leucocitos disminuyen mucho en su número, pero es raro, que desaparezcan totalmente. El mucus desaparece casi totalmente. Tal sería en cuadro del oestro.

Después de un estado más o menos cierto caracterizado por la reaparición de los leucocitos y las células pequeñas en racimo, alternando con escamas en vías de desintegración (metaoestro. Fig. 1, C) se llega nuevamente a la condición de diestro.

El ciclo descrito presenta duración variable según la época y el animal, no siendo raro que presentara variaciones en su duración aún en un mismo animal. La revisión prolija de nuestros protocolos nos ha permitido construir el cuadro N°. 1, donde pueden verse los términos medios de la duración del ciclo en varias de las comadrejas estudiadas.

Como puede verse, las cifras son bastantes uniformes y en la mayoría de los casos los ciclos duran siete días. Para dar una idea de cómo se sucedían estos en un animal, hemos construido el gráfico que reproduce la fig. N°. 2, donde se marcan los momentos de oestro correspondientes a la comadreja N°. 10.

Examen histológico. — La fig. 3, A muestra una fotomicrografía de vagina de una comadreja en diestro obtenida con medio aumento.

El epitelio está constituido por tres o cuatro capas de células poligonales de núcleo redondeado u ovalado. Si bien las células de

la primera capa se disponen en hilera constituyendo una capa basal, ellas no demuestran ningún signo de actividad mitótica. La capa más próxima a la luz, constituida por células con características pa-

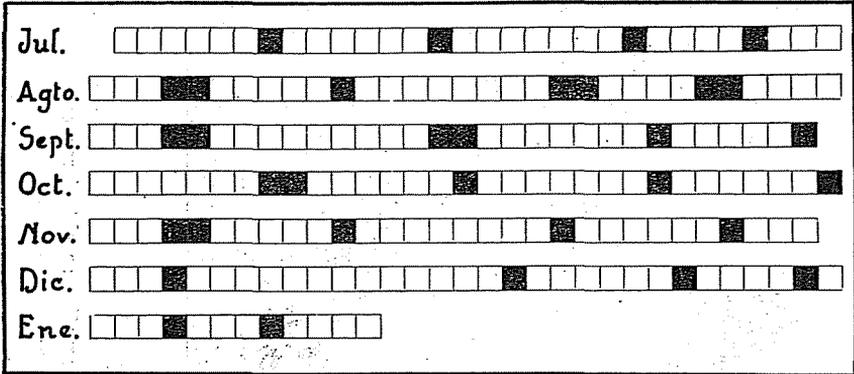


Figura 2

Gráfico demostrativo de los ciclos vaginales frustrados de la comadreja N° 10. Los cuadros negros demuestran los días en que aparecían elementos cornificados.

recidas a las de los otros niveles epiteliales, muestra un contorno irregular debido a una exfoliación despareja.

La fig. 3, B muestra una fotomicrografía de cortes de vagina

CUADRO 1

TÉRMINO MEDIO DE LA DURACION DE LOS CICLOS VAGINALES

Comadreja	Tiempo de observación	Término medio de duración del ciclo
N° 1	48 días	7 días
" 4	18 "	7 "
" 6	44 "	7 "
" 7	55 "	7 "
" 8	109 "	8 "
" 9	48 "	7 "
" 10	205 "	7 "
" 11	150 "	7 "
" 12	298 "	8 "
" 13	139 "	6 "
" 14	94 "	7 "
" 15	48 "	8 "
" 16	245 "	5 "



A

B

C

Figura 3

Variaciones del epitelio vaginal. Las tres microfotografías se obtuvieron con igual aumento. A, diestro; B, oestro; C, oestro completo.

obtenidos en una de las comadrejas que presentaron en el frotis del contenido vaginal el cuadro caracterizado como representativo del oestro. El epitelio está constituido por unas siete u ocho capas celulares. La capa basal muestra signos de actividad, caracterizándose éstos por una distribución más irregular de las células, sin una delimitación muy neta en el dermis, por su núcleo ovalado, con su diámetro mayor rígido en forma radical, y por algunas figuras de mitosis. Las capas medias se caracterizan por su núcleo redondeado y las superficiales por su núcleo ovalado con su diámetro mayor dirigido paralelamente a la superficie. En algunos puntos se aprecia una verdadera cornificación y desprendimiento de escamas.

DISCUSION

Las particularidades del ciclo sexual en la vagina, tal como han sido descriptas, y según se desprende de las fotomicrografías reproducidas, solo remotamente recuerdan las variaciones homólogas de la vagina de la rata o ratón. En estos últimos animales tanto en el frotis vaginal como en los cortes histológicos de vagina, se aprecian modificaciones mucho más patentes y definidas que permiten un diagnóstico preciso del momento del ciclo en que el animal se encuentra.

Comparando las observaciones en la comadreja nuestra con las observaciones de Hartman—1923 en la comadreja norteamericana (*Didelphys virginiana*) también hay diferencias marcadas. Este autor encontró una época durante el mes de Diciembre que corresponde en aquel país a la culminación del invierno. Pasada esta época, empiezan los ciclos, cuya duración media fué de 28 días para cada uno (22 días para el más corto y 34 para el más largo). Por otra parte el oestro se caracterizaba por un “cultivo de células cornificadas”, cuadro que dista mucho del que hemos descrito nosotros.

En los primeros meses de nuestro estudio, estas diferencias no dejaron de preocuparnos grandemente, y fueron motivo de que redobliáremos nuestra prolijidad para observar y analizar los hechos. El estudio histológico de los otros integrantes del aparato genital, tampoco nos permitió orientarnos debidamente en el problema. Nos

resultaba particularmente intrigante el comportamiento del ovario. Animales sacrificados en el momento en que hemos caracterizado como el de oestro y en los que esperábamos encontrar folículos maduros, próximos a estallar, o bien ya en los primeros momentos de su



Figura 4

Ovario con folículos atrésicos y en crecimiento.

transformación en cuerpos amarillos, presentaban folículos pequeños con no mucho líquido en su interior. (Fig. 4, A). En animales sacrificados al día siguiente o a los dos días de haberse producido el cuadro caracterizado como de oestro, y en los cuales esperábamos encontrar cuerpos amarillos, no presentaban ni vestigios de estos últimos.

En este estado de cosas, cuando llevábamos unos siete meses en nuestro estudio, una de las comadreas (N° 13) hizo un oestro distinto a lo que hasta entonces veníamos observando. La vulva presentaba una ligera tumefacción, las mamas estaban evidentemente

te agrandadas, y en el frotis vaginal predominaban netamente las escamas (células cornificadas). La autopsia de este animal reveló también un cuadro completamente distinto de los que estábamos habituados a ver. Si bien en los animales que sacrificábamos en el estado que hemos llamado de oestro, notábamos un mayor tamaño y más vascularización de los órganos genitales que en los sacrificados en "reposo", lo cual confirmaba nuestra idea de que las variaciones vaginales efectivamente traducían momentos bien definidos del ciclo, la autopsia de la comadreja N° 13 nos reveló cual era el verdadero estado de celo en este animal. Lo que habíamos estado tomando como oestro, no era sino el punto culminante de un ciclo frustrado incompleto.



Figura 5

Ovario con folículos maduros. La fotomicrografía ha sido obtenida con igual aumento que la figura 4.

El aspecto morfológico macroscópico de los órganos genitales de la comadreja N° 13 y el cuadro histológico de los mismos, nos han permitido formarnos una idea de la condición en que dichos órga-

nos se encuentran durante el verdadero estado de celo en la comadreja. Por lo que a la vagina se refiere (Fig. 3, C) el cuadro es característico: El epitelio, con una capa basal con evidentes manifestaciones de actividad proliferativa, consta de una veintena de capas celulares. La disposición de las células en las distintas capas, que apenas se esbozaba en el caso que reproduce la fig. 3, B es aquí perfectamente visible: Las capas próximas a la basal presentan células con núcleo ovalado con su diámetro mayor dispuesto en forma radial; las capas más próximas a la luz están constituidas por células aplanadas cornificadas y con núcleo (las que lo tienen) pequeño, y sin diferenciación estructural. El examen macro y microscópico del ovario evidenciaba la presencia de numerosos folículos grandes, maduros, próximos a estallar. (Fig. 4, B).

Nuestras observaciones constituyen un sólido apoyo para el modo de pensar de Clauberg (1932, 1933).

Según Clauberg es menester distinguir el ciclo genital completo del ciclo oestral. El ciclo oestral es un ciclo incompleto, limitado a la fase folicular. Es el ciclo que presentan las ratas y ratones cuando están separados del macho. En estas condiciones la fase de la cornificación vaginal corresponde a la maduración folicular, pero una vez maduro el folículo, o entraría en atresia sin estallar nunca (Clauberg) o, después de estallar daría lugar a un cuerpo amarillo de vida muy breve y de actividad funcional sumamente limitada (Long y Evans, Allen, Parkes, Del Castillo, Calatroni).

En la comadreja, en las condiciones en que han sido estudiadas por nosotros, es evidente que se presentaban ciclos incompletos, limitados a una fase folicular también de por sí incompleta, ya que el examen macro y microscópico del ovario denotaba la presencia de folículos o a lo sumo medianos en tamaño, y muchos de ellos con signos evidentes de haber entrado en atresia. (Fig. 4, A). Un estudio del ciclo sexual de la comadreja, hecho teniendo en cuenta únicamente las variaciones vaginales, puede conducir con muchas probabilidades a la conclusión errónea de que tiene un ciclo sumamente corto, de seis a ocho días de duración. Por lo que hemos visto nosotros en el caso de la comadreja N°. 13, y de acuerdo también

con las observaciones de Hartman (1923), en la comadreja puede seguirse mejor la evolución del ciclo sexual estudiando las mamas que la vagina. Los ciclos oestruales (en el sentido de Clauberg), incompletos, no alcanzan a provocar alteraciones visibles en las mamas, apareciendo sin embargo en la vagina alguna de las manifestaciones características de la actividad de la hormona sexual femenina. Ya Hartman (1923) había observado estos ciclos frustrados en la comadreja de Virginia a los cuales menciona en forma más o menos incidental y guiándose por el comportamiento del ovario. No menciona variaciones vaginales cíclicas en los ciclos frustrados.

Es indudable que el cautiverio ha influido considerablemente para perturbar la actividad genital normal de nuestros animales. Hartman (1924) ha estudiado en la comadreja de Virginia la influencia que pueden tener la insuficiencia alimenticia y la limitación de los movimientos ocasionados por el enjaulamiento para provocar la falta de ovulación. Ha comprobado que la falta de vitaminas no es la causa primordial. Parece que es más bien la limitación de los movimientos provocados por el encierro en jaulas estrechas, la que influye desfavorablemente sobre la actividad genital. Las modificaciones vaginales observadas en nuestros animales demuestran que la actividad ovárica endócrina no estaba totalmente abolida. Lo que indudablemente sucedía es que en un momento dado dejaba de actuar el factor extragonadal que ponía en juego la actividad proliferativa (crecimiento folicular) y endócrina (secreción de oestrone) del ovario, y los resultados de su acción involucionaban (atresia folicular y desintegración del epitelio vaginal). Por lo que sabemos que la influencia que ejerce la hipófisis sobre el desarrollo y mantenimiento funcional de las gónadas, no resulta aventurado pensar que es en las condiciones de funcionamiento de este órgano donde debe buscarse la causa del comportamiento particular del ciclo sexual de nuestros animales.

Nuestras observaciones permiten además destacar un hecho importante y ya bien conocidos; los tejidos muestran un umbral distinto para reaccionar ante la influencia de las hormonas sexuales. En efecto, las cantidades de hormona femenina que llegaron a segregarse en los ciclos frustrados presentados por nuestros animales,

si bien fueron suficientes para provocar cambios vaginales visibles, macro y microscópicamente no alcanzaban la concentración necesaria para provocar modificaciones en las mamas. La vagina por consiguiente presenta en la comadreja un umbral más bajo que el tejido mamario frente a la acción de la hormona femenina.

RESUMEN

El marsupial *Didelphys azarae* en cautiverio en jaulas estrechas presenta ciclos frustrados que se hacen patentes a través de una ligera proliferación del epitelio vaginal con escasísima cornificación. Estos ciclos vaginales frustrados duran unos siete días y se acompañan por un ciclo ovárico también frustrado: en lugar de continuar su crecimiento y madurar, los folículos entran en atresia. Cuando los folículos llegan a madurar hay una gran hiperplasia del epitelio vaginal con cornificación franca de las capas más centrales.

Los gastos demandados por el presente trabajo han sido costeados en parte con un subsidio otorgado por la Asociación Argentina para el Progreso de las Ciencias.