

Esta página tem uma errata. Para acessá-la, vá até o link do Sumário desta edição.

Mem. Inst. Butantan

35: 63-78, 1971.

“ALTERAÇÕES DO EPITÉLIO E ESFREGAÇOS VAGINAIS DA PREÁ (*Cavia aperea aperea*) DURANTE O CICLO ESTRAL E ESTUDO COMPARATIVO COM AS DA COBAIA”. *

JOSE FRANCO DA SILVEIRA FILHO ** e JESUS CARLOS MACHADO ***

(Seção de Anatomia Patológica, Instituto Butantan)

RESUMO: A preá (*Cavia aperea aperea*) nascida em cativeiro apresenta ciclo sexual (duração de 13 a 17 dias) muito semelhante ao da cobaia e foi por nós dividido em 2 partes, de acordo com o aspecto do esfregaço vaginal: estro ou fase de atividade sexual (26 a 56 horas) e diestro ou fase de repouso (10 a 15 dias). Durante o estro que subdividimos em 4 estágios a população celular do epitélio vaginal apresenta intensa proliferação, diferenciação e descamação. Inicialmente ocorre mucificação das células superficiais e posteriormente queratinização das cé-

lulas subjacentes à camada mucificada. As células superficiais mucosas tornam-se picnóticas e descamam intensamente, seguindo-se a descamação das células queratinizadas. O final do estro é caracterizado por intensa leucitose em toda a parede da vagina. No diestro o epitélio vaginal apresenta-se delgado e não podemos dividi-lo em zonas tal como o estro.

Discutimos os resultados obtidos levando em conta o estado endócrino do indivíduo, principalmente o aspecto dos ovários.

UNITERMOS: *Cavia aperea aperea*; Colpocitologia hormonal.

INTRODUÇÃO

O Laboratório de Anatomia Patológica do Instituto Butantan iniciou em 1969 a organização de um biotério destinado a criação e manutenção de preás em cativeiro, como tentativa de estudo sistemático da preá como animal de laboratório. Este roedor foi utilizado, tempos atrás, por von Ubisch e Amaral, 1936, e por Bueller-Souto e von Ubisch, 1939, em experimentos imunológicos e por von Ubisch e Mello, 1940, em experimentos genéticos. Recentemente, Castro e colaboradores, 1961, e Miranda e colaboradores, 1967, utilizaram a preá em estudos leprologicos. Finalmente, Dellias, 1969, estudou alguns aspectos da biologia da preá e neste mesmo trabalho abordou o seu ciclo estral. Antes dele, von

* Trabalho realizado com o auxílio do F.P.I.B.

** Bolsista da Seção de Anatomia Patológica do Instituto Butantan.

*** Diretor da Divisão de Patologia do Instituto Butantan.

Ubisch e Mello, 1940, fizeram êsses estudos em animais provenientes diretamente do campo. Assim não puderam controlar certas variáveis importantes em um estudo desta natureza tais como: a idade das fêmeas, se elas eram virgens ou não, se já tinham procriado e no caso afirmativo quantas vêzes (Stockard e Papanicolaou, 1917, e Papanicolaou, 1933 a). Também permanecia em aberto a questão de como seria o ciclo sexual das preás nascidas em cativeiro.

Tendo em vista esclarecer êsses pontos e comparar o ciclo sexual da preá com o da cobaia, realizamos estudo sistemático das alterações cíclicas do epitélio e esfregaço vaginais de preás nascidas em cativeiro. Para realizá-lo foi necessário reformulação da classificação dos esfregaços vaginais apresentada por Dellias, 1969, pois constatamos a presença de alguns tipos celulares no esfregaço vaginal que foram omitidos por êsse autor. Também no que diz respeito a duração das fases do ciclo estral, nossas observações diferem em alguns aspectos das de Dellias, 1969.

MATERIAL E MÉTODOS

Utilizamos em nosso trabalho 12 preás fêmeas nascidas no biotério. Destas, 9 eram virgens e foram mantidas antes e durante a experimentação na ausência de macho. As outras 3 fêmeas foram submetidas ao exame vaginal 2 meses após terem dado cria e, foram mantidas durante a gestação e o período de experimentação na ausência de macho. As preás virgens tinham idade variável entre um mês e meio até 10 meses quando foram examinadas, ao passo que, as outras 3 tinham mais de um ano de idade. Para estudo comparativo tomamos 1 lote de 10 cobaias fêmeas virgens, cuja idade variou de 3 a 10 meses de idade, e que foram examinadas concomitantemente com as preás. As preás e as cobaias foram examinadas durante 8 meses (julho de 1970 a fevereiro de 1971).

Os esfregaços vaginais foram executados diariamente procedendo-se uma ligeira raspagem do epitélio vaginal com alça metálica. Os esfregaços eram imediatamente fixados em álcool-éter 50% e corados pelo Método de Harris-Shorr (Pundel, 1967). A avaliação dos elementos presentes no esfregaço foi feita segundo método proposto por Lipschütz, 1929, e utilizado com bons resultados por Mello e Franke, 1945. Quando percebíamos que um animal aproximava-se do estro, êle era submetido a esfregaços vaginais a intervalos de 2 em 2 horas até 22 hrs., sendo reiniciados no dia seguinte às 7:30 horas. Desta maneira tôdas as fases do estro puderam ser estudadas, até mesmo, aquelas que como observamos podem ter apenas 2 horas de duração.

Os animais foram sacrificados nas diferentes fases do ciclo estral. Sistemáticamente foram executados esfregaços vaginais imediatamente antes dos animais serem sacrificados. Tôda a genitalia foi fixada em Bouin, para posteriormente, serem obtidas secções da vagina e dos ovários, os quais foram incluídos em parafina.

Os cortes histológicos foram corados pelos Métodos de Mallory e Hematoxilina-Eosina. Também, utilizamos a coloração indicativa Alcian-Blue, pH=2,5 (Lison, 1960) com a finalidade de melhor evidenciar a presença de células mucosas no epitélio vaginal.

RESULTADOS

Para a descrição das alterações cíclicas do esfregaço vaginal da preá adotaremos classificação baseada naquelas apresentadas por Selle, 1922; Young, 1937; e Bacsich e Wyburn, 1939, para a cobaia. Segundo a análise do esfregaço vaginal nós podemos dividir o ciclo sexual das preás em 2 partes distintas: *estro* ou fase de atividade sexual, na qual o opérculo vaginal encontra-se aberto e *diestro* ou fase de repouso, na qual o opérculo vaginal apresenta-se fechado por uma membrana que foi descrita por Dellias, 1969. Esta membrana encontrada na preá é semelhante à membrana que fecha o opérculo vaginal da cobaia durante o diestro. (Stockard e Papanicolaou, 1919, e Kelly e Papanicolaou, 1927).

O estro na preá segundo os nossos dados tem uma duração de 26 à 56 horas, a média para 12 preás foi de 39,1 horas. Nós dividimos o estro em 4 diferentes estágios.. O esfregaço vaginal e o aspecto do epitélio vaginal de cada fase, bem como sua correlação com a cobaia serão descritos a seguir:

Estágio 1 — (duração de 12 a 42 horas; duração média de 22,0 horas). Para o cálculo da duração das diferentes fases computou-se os dados obtidos em 12 preás.

Marca o início do estro. Corresponde na cobaia ao estágio 1 de Selle, 1922, a subdivisão Ia e Ib inicial do estágio 1 de Young, 1937, e ao estágio 1 de Bacsich e Wyburn, 1939. Inicialmente, o esfregaço vaginal da preá no estágio 1 caracteriza-se por apresentar grande quantidade de células epiteliais superficiais mucosas, poucos leucócitos e quantidade relativamente grande de muco. As células superficiais mucosas apresentam citoplasma bastante volumoso (ocupando quase totalmente a célula), vacuolizado, que se cora de azul claro ou, às vezes, de rôxo claro pelo Método de Harris-Shorr. O núcleo de cromatina densa, geralmente encontra-se comprimido na base da célula, à maneira das células mucosas (fig. 1). Mesmo no início do estágio 1 algumas células superficiais mucosas já apresentam núcleo em picnose. As células superficiais mucosas encontram-se no esfregaço vaginal isoladas ou em grupos de muitas células lembrando o arranjo que ocupavam no epitélio vaginal, sendo êste último caso mais comumente encontrado. A medida que o estágio 1 progride verificamos no esfregaço vaginal aumento no número de células superficiais mucosas com núcleo em picnose e o desaparecimento dos leucócitos (fig. 2). As células mucosas picnóticas apresentam citoplasma delgado e com bordos dobrados, que se cora de azul muito pálido pelo Método de Harris-Shorr. Podemos notar no citoplasma granulações espessas dando-nos a impressão de que quando a célula sofre picnose nuclear, ela apresenta aumento destas granulações citoplasmáticas. No fim do estágio 1 o esfregaço vaginal contém grande quantidade de células superficiais mucosas picnóticas e uma quantidade relativa de células queratinizadas e de muco. As células mucosas que não sofreram picnose e os leucócitos estão praticamente ausentes. A presença de células superficiais mucosas não picnóticas e picnóticas no início do estro foi omitida por Dellias, 1969.

No estágio 1 do estro o epitélio vaginal apresenta-se com a sua máxima espessura e podemos dividi-lo em 3 diferentes zonas: germinativa, basal e superficial. A zona germinativa, que está em contacto com o estroma vaginal, é formada por uma camada de pequenas células cilíndricas com núcleos grandes e ova-

Íados ocupando grande parte da célula. A zona germinativa apresenta grande número de mitoses no estágio 1. A zona basal é formada por muitas camadas de células ovaladas ou poliédricas com núcleos grandes, vesiculares tendo um nucleólo bem evidente (fig. 1 e 2). Estas células apresentam conexões em suas superfícies, processos espinhosos semelhantes aos descritos na epiderme humana e no epitélio vaginal da mulher (Pundel, 1967). Na cobaia, Tribby, 1943, também comprovou a existência de pontes intercelulares entre as células do epitélio vaginal. Notamos, ainda na zona basal um grande número de células binucleadas. A zona superficial durante o estágio 1 pode ser subdividida em 2 camadas: uma formada por células superficiais mucosas que estão em contacto com o lúmen vaginal e outra subjacente, formada por células queratinizadas ou em vias de queratinização. Êste aspecto da zona superficial do epitélio vaginal no início do estro, também, foi descrita na cobaia (Selle 1922) e na rata (Long e Evans, 1922). Na metade do estágio 1 somente uma pequena porção da parede da vagina próxima ao opérculo vaginal não apresenta a camada queratinizada. Nesta região o epitélio vaginal é menos espesso e não se notam tôdas as suas zonas, de modo que a camada de células superficiais mucosas repousa diretamente na zona basal (fig. 1). No restante da vagina as células mucosas apresentam-se dispostas sôbre a camada queratinizada formando estruturas que lembram os ácinos mucosos. As características morfológicas de tais células foram descritas anteriormente. No final do estágio 1, as células mucosas apresentam núcleos picnóticos e descamam intensamente fornecendo as células encontradas no esfregaço vaginal. Sômente, a camada de células mucosas da zona superficial cora-se com o Alcian-Blue, tanto no início do estágio 1, como no seu fim quando as células superficiais mucosas apresentam-se picnóticas.

A camada queratinizada já está completamente formada no fim do estágio 1 e reveste completamente tôda a vagina. Entre a camada basal e a camada queratinizada notamos, freqüentemente, existência de uma camada com uma ou duas células de altura que contém quantidade razoável de densas granulações citoplasmáticas coráveis pela hematoxilina.

O estroma vaginal (lâmina própria de tecido conjuntivo) durante o estágio 1 apresenta-se com poucos leucócitos polimorfonucleares, sendo que alguns leucócitos já alcançaram a zona germinativa do epitélio. Notamos algumas mitoses no tecido conjuntivo do estroma. No início do estágio 1 podemos encontrar alguns leucócitos no lúmen vaginal, mas no seu final êles são raros.

Estágio 2 — (duração de 3 a 10 horas; duração média de 5,8 horas). Corresponde na cobaia ao estágio 2 de Selle, 1922, a subdivisão Ib médio e Ib final do estágio I de Young, 1937, e ao estágio II de Bacsich e Wyburn, 1939. O estágio 2 da preá é caracterizado pela presença preponderante de células superficiais queratinizadas no esfregaço vaginal. No início do estágio 2, temos juntamente com as células queratinizadas a presença de pequena quantidade de células superficiais mucosas em picnose, remanescentes do estágio anterior e, uma quantidade pequena de muco. As células queratinizadas apresentam citoplasma largo, delgado e com bordos dobrados, que se cora intensamente de alaranjado (orange) pelo método de Harris-Shorr, portanto são células eosinófilas ou acidófilas (Pundel, 1967). Geralmente, as células queratinizadas são anucleadas podendo-se perceber no citoplasma um halo que foi anteriormente ocupado pelo núcleo. Algu-

mas células queratinizadas apresentam o núcleo em picnose, ocupando normalmente a parte central da célula. As células queratinizadas descamam isoladas ou então em grupos de muitas células. No fim do estágio 2, começam a aparecer no esfregaço vaginal as células epiteliais basais provenientes da zona basal do epitélio vaginal. Dellias, 1969, também encontrou células queratinizadas no esfregaço vaginal da preá em estro.

No estágio 2, o epitélio vaginal apresenta-se com sua espessura diminuída devido à descamação das células superficiais mucosas, deixando a camada queratinizada em contacto com o lúmen vaginal (fig. 3). Em alguns pontos da vagina a camada queratinizada descama-se de uma só vez, aliás, tal fato também foi observado por Selle, 1922, na cobaia. A zona germinativa apresenta grande número de mitoses e a zona basal apresenta-se tal como no estágio anterior. No fundo das pregas da vagina inferior nós vamos encontrar ainda células superficiais mucosas não picnóticas e picnóticas. Tal fato pode ocorrer também, nos estágios 3 e 4. O epitélio vaginal ou seja a camada queratinizada da zona superficial, a zona basal e a zona germinativa não se coram com o Alcian-Blue. Somente aqueles trechos do epitélio vaginal que ainda possuem células superficiais mucosas é que são evidenciadas pela coloração de Alcian-Blue, no estágio 2.

O estroma vaginal acha-se ligeiramente edemaciado e invadido por poucos leucócitos. Alguns leucócitos já penetram na zona germinativa e na zona basal do epitélio, porém, no lúmen vaginal eles são extremamente raros.

Estágio 3 — (duração de 2 a 9 horas: duração média de 4,8 horas). Corresponde na cobaia ao estágio 3 de Selle, 1922, ao estágio 2 de Young, 1937, e ao estágio 3 de Bacsich e Wyburn, 1939. O estágio 3 da preá é caracterizado pela presença no esfregaço vaginal de grande quantidade de células epiteliais basais. No fim do estágio 2 começam a aparecer no esfregaço vaginal as células basais, cujo número torna-se preponderante no estágio 3. Em alguns estros examinados, o estágio 2 confundiu-se com o estágio 3, devido ao grande número de células basais e queratinizadas presentes no esfregaço. Nêstes casos, nós consideramos o início do estágio 3 quando 50% das células presentes no esfregaço eram células basais (tal procedimento foi realizado por Young, 1937 na cobaia). O fim do estágio 3 é marcado pelo advento de leucócitos no esfregaço vaginal. Nos esfregaços do estágio 3 existe pequena quantidade de muco. As células epiteliais basais são células pequenas, redondas ou ovaladas, cujo citoplasma se cora em verde escuro ou em alguns casos de azul escuro pelo Método de Harris-Shorr, podemos então classificá-las como células cianófilas ou basófilas (Pundel, 1967). No citoplasma de algumas destas células notamos uma ou mais granulações. O núcleo de forma ovalada ou arredondada é bastante grande ocupando a região central da célula. Apresenta cromatina homogênea e nucléolo bem definido (fig. 4). As células basais do esfregaço do estágio 3 podem apresentar sinais de degeneração. Umhas apresentam vacúolos perinucleares envolvendo núcleos parcialmente picnóticos, outras apresentam vacúolos no citoplasma, o que é um sinal de início de degeneração celular (fig. 4). Algumas células basais apresentam leucócitos no seu interior. As células basais comumente descamam isoladas, podendo também descamar em grupo de muitas células. Um fato que nos chamou a atenção foi o número relativamente grande de células basais binucleadas presentes no esfregaço do estágio 3. A presença de células basais ou seja o nosso estágio 3, passou despercebida a Dellias, 1969.

Durante o estágio 3, o epitélio vaginal apresenta-se com espessura menor do que a do estágio anterior. Agora, a zona basal é que está em contacto com o lúmen vaginal. Na zona germinativa as mitoses são raras. Fazendo uma análise da parede da vagina em toda a sua extensão, verificamos que existem pequenos trechos do epitélio vaginal que ainda apresentam células queratinizadas e células mucosas picnóticas. O epitélio vaginal constituído pela zona basal e germinativa não se coram com o Alcian-Blue, de modo que somente aqueles trechos que ainda possuem células mucosas picnóticas é que se coram com o Alcain-Blue.

No estágio 3 há aumento de leucócitos presentes no estroma vaginal que se encontra ligeiramente edemaciado. O epitélio vaginal acha-se parcialmente invadido pelos leucócitos, podendo-se notar células basais com leucócitos no seu interior. Apesar disso, apenas no fim do estágio 3 é que os leucócitos começam a aparecer no lúmen vaginal.

Estágio 4 — (duração de 8 a 20 horas; duração média de 12,2 horas). Corresponde na cobaia ao estágio 4 de Selle, 1922, ao estágio 3 de Young, e ao estágio 4 de Bacsich e Wyburn, 1939. O estágio 4 da preá é caracterizado pela presença no esfregaço vaginal de grande quantidade de células basais e polimorfonucleares. No início deste estágio, o esfregaço vaginal é composto de grande quantidade de células basais e leucócitos, e às vezes, de pequena quantidade de células mucosas picnóticas e queratinizadas que ainda se encontram no lúmen vaginal. O muco está presente em pequena quantidade no esfregaço. As células basais apresentam as degenerações descritas anteriormente: vacúolos perinucleares envolvendo núcleos picnóticos e vacúolos citoplasmáticos que são prenúncios de degeneração celular. À medida que o ciclo progride tais degenerações são mais acentuadas e são detectadas em um maior número de células basais. A partir da metade do estágio 4, a grande maioria das células basais presentes no esfregaço vaginal apresentam núcleo em picnose. Tais células coram-se em verde escuro pelo Método de Harris-Shorr, ou então, mais raramente em vermelho escuro. No fim do estágio 4 o número de células basais é bastante reduzido. Quase todas as células estão degeneradas, certamente devido à ação fagocitária dos leucócitos. A maioria das células basais apresentam núcleos picnóticos, notando-se também a presença de células basais em cariorrexis e células basais totalmente vacuolizadas. Células basais com um ou mais leucócitos no seu interior ocorrem durante todo o estágio 4 e são uma das características deste estágio, embora, possam ocorrer no esfregaço do estágio 3, como já afirmamos anteriormente. Tais células apresentam núcleo e citoplasma em degeneração, coram-se difusamente pelo Método de Harris-Shorr e são semelhantes àquelas descritas na cobaia (Stockard e Papanicolaou, 1917 e Stockard, 1932). O estágio 4 também foi descrito por Dellias, 1969.

Secções da vagina durante o estágio 4 mostram o estroma e o epitélio vaginal totalmente tomados por um grande número de leucócitos, os quais deixam os leitões dos capilares, atravessam o epitélio vaginal e vão ter no lúmen da vagina (fig 5). O epitélio vaginal apresenta-se com a zona basal e germinativa, e à medida que o ciclo progride a zona basal vai tornando-se cada vez menos espessa e mais colapsada, devido à descamação das suas células e à ação leucocitária (fig. 5). As camadas basal e germinativa dão reação negativa ao Alcian-Blue e as mitoses estão ausentes. O estroma vaginal apresenta-se extremamente edemaciado.

O epitélio vaginal emite algumas projeções que adentram no estroma vaginal. A zona germinativa e as células basais nestas projeções parecem não sofrer injúrias devido à ação leucocitária. Talvez, isto tenha papel importante na reconstituição do epitélio vaginal após a intensa descamação de suas células e a leucocitose fisiológica que caracterizam o estro. Esta idéia também foi apoiada por certos autôres na cobaia (Stockard e Papanicolaou, 1917, e Selle, 1922).

Em duas preás sacrificadas no início do estágio 4 observamos que pequeno trecho do epitélio vaginal, próximo ao opérculo vaginal, apresentava células superficiais mucosas dispostas diretamente sobre a zona basal. Evidentemente, este curto trecho do epitélio vaginal não sofreu queratinização mas somente mucificação. Nas demais regiões da vagina dessas preás podemos perceber nitidamente restos da camada queratinizada no lúmen vaginal. Isto explica o aparecimento de células superficiais mucosas bem conservadas em alguns esfregaços do estágio 4.

Verificamos, também, a ocorrência de alguns estros que apresentam leucócitos em tôdas as fases. Isto foi também observado na cobaia por Young, 1937.

O diestro na preá tem a duração de 10 até 15 dias, a média para 12 preás foi de 13,1 dias. O diestro pode ser dividido em 2 partes levando-se em conta o aspecto do esfregaço vaginal.

Diestro 1 (duração de 5 a 10 dias; duração média de 6,4 dias).

O esfregaço vaginal do diestro 1 é, geralmente pobre tanto em elementos celulares como acelulares. Porém, podemos caracterizá-lo pela presença de uma quantidade razoável de muco e leucócitos e, pequena quantidade de células epiteliais e restos de células basais, provenientes do estro anterior. A medida que o diestro 1 progride a quantidade de restos de células basais vai diminuindo cada vez mais. As células epiteliais diestrais são células pequenas, redondas ou ovaladas, com citoplasma que se cora de azul pálido pelo Método de Harris-Shorr. Apresentam núcleo ovalado ou arredondado, com cromatina homogênea e nucléolo bem definido. O núcleo, que é relativamente grande ocupa geralmente a posição central da célula. As células epiteliais diestrais encontram-se isoladas no esfregaço vaginal do diestro 1.

O epitélio vaginal durante o diestro 1 apresenta-se delgado não permitindo divisão em zonas tal como fizemos no estro. O lúmen vaginal no diestro é bastante pregueado e o seu diâmetro é notadamente menor do que o diâmetro visto no período de atividade sexual. O epitélio vaginal emite projeções que penetram no estroma vaginal. Nas regiões mais delgadas, o epitélio vaginal apresenta uma ou duas camadas de células de altura. A zona germinativa é perfeitamente distinguível no epitélio diestral e nela notamos algumas mitoses. As células epiteliais que estão em contacto com o lúmen vaginal podem ser achatadas ou alongadas, ou então de forma cuboidal. Algumas destas células de forma cuboidal apresentam citoplasma vacuolizado e dão reação positiva ao Alcian-Blue, acusando a presença de muco (fig. 6). Tribby, 1943, observou a presença de células epiteliais contendo muco na superfície do epitélio vaginal diestral da cobaia. Devemos acrescentar ainda, que nas regiões próximas ao opérculo vaginal, o epitélio vaginal da preá apresenta-se mucificado. Aí nós vamos encontrar células superficiais mucosas, semelhantes aquelas descritas no estágio 1 do estro.

O estroma vaginal no diestro 1 apresenta-se ligeiramente edemaciado e invadido por poucos leucócitos. Podemos surpreender alguns leucócitos no epitélio vaginal e no lúmen vaginal.

Diestro 2 (duração de 5 a 10 dias; duração média de 6,5 dias).

No esfregaço vaginal do diestro encontramos uma quantidade bem maior em relação ao diestro de: células epiteliais diestrais, leucócitos e muco. A principal característica do esfregaço do diestro 2 é a descamação das células diestrais em grupos de muitas células e a presença de algumas figuras de mitose. Podemos notar também, células diestrais com leucócitos no seu interior.

Um ou dois dias antes do estro há no esfregaço vaginal diminuição na quantidade de leucócitos e de células diestrais e, aumento na quantidade de muco e o aparecimento das primeiras células superficiais mucosas do estro.

O epitélio vaginal, no início do diestro 2 apresenta-se com espessura menor do que qualquer outra fase do ciclo estral (fig. 7). Selle, 1922, verificou o mesmo na cobaia. Muitas mitoses podem ser observadas tanto na zona germinativa como nas camadas superficiais. Podemos surpreender figuras de mitose em células que estão em contacto com o lúmen vaginal, prestes a descamarem. Nas regiões mais delgadas o epitélio vaginal apresenta-se com espessura de uma ou duas camadas de células de altura. No início do diestro 2, o epitélio vaginal dá reação negativa ao Alcian-Blue.

O estroma vaginal acha-se invadido por leucócitos, cuja quantidade é bem superior àquela vista no diestro 1. Os leucócitos atravessam o epitélio vaginal e vão ter no lúmen da vagina. Em quase toda extensão da vagina, as células epiteliais das camadas superficiais apresentam leucócitos no seu interior (fig. 7). Um dia antes de iniciar-se o estro, o epitélio vaginal apresenta-se com a sua espessura aumentada e as células superficiais já exibem o processo de mucificação.

Algumas vezes, obtivemos tanto no diestro 1 como no diestro 2, esfregaços vaginais contendo quantidade enorme de muco filamentososo e leucócitos, e raras células epiteliais. Em alguns casos é tal a quantidade de muco e leucócitos no lúmen da vagina que a membrana diestral que fecha o opérculo vaginal se rompe e o material purulento se extravasa. Com exceção destes casos, no diestro o opérculo vaginal está obliterado por uma membrana.

DISCUSSÃO

O ciclo estral da preá nascida em cativeiro é extremamente semelhante ao da cobaia (Selle, 1922, Young, 1937, Bascich e Wyburn, 1939), existindo perfeita correlação entre os estágios do ciclo estral destes dois roedores. A seqüência e duração destes estágios também é semelhante ao da cobaia. O ciclo sexual da preá tem a duração de 13 a 17 dias, raramente, temos ciclos de 12 ou 18 dias. A média foi de 14,9 dias, bastante próxima à da cobaia (Stockard e Papanicolaou, 1917 e Selle 1922). Não notamos diferenças entre o ciclo sexual das preás virgens e daquelas examinadas após a parturição. Por esse aspecto acreditamos que a preá nascida em cativeiro reproduz-se normalmente.

Para nossos estudos foi necessário reformular a classificação de Dellias, 1969. Este autor omitiu o estágio 1 do estro quando ocorre mucificação do epitélio vaginal. Ele diz ter encontrado no início do estro células ovaladas com núcleo grande e central. Nas nossas observações nunca deparamos com tais células no esfregaço vaginal do início do estro. Também, passou despercebido a Dellias a presença de células epiteliais basais no esfregaço do estro ou seja como descrevemos no estágio 3. Provavelmente, isto ocorreu devido a curta duração do estágio 3 (2 a 7 horas), pois, Dellias, 1969, realizava apenas um esfregaço vaginal por dia e, em alguns animais os esfregaços eram feitos em dias alternados. Quanto à duração do metaestro que chamamos estágio 4, acreditamos que a duração de 2 a 5 dias prevista por Dellias, 1969, é bastante excessiva, pois em nossas observações o estágio 4 teve a duração de 9 a 20 horas, o que está de acordo com resultados obtidos na cobaia (Stockard e Papanicolaou, 1917, Tribby, 1943, e Young, 1937). Dellias, 1969, não dividiu o diestro em duas partes tal como nós fizemos.

No estágio 1, primeiramente, ocorre mucificação da camada de células superficiais em contacto com o lúmen da vagina, depois, as células subjacentes à camada mucificada se queratinizam. Quadro semelhante foi descrito no início do estro na cobaia (Selle, 1922). Paralelamente a esta diferenciação da zona superficial do epitélio vaginal em camadas mucificada e queratinizada notamos, também, uma intensa proliferação na sua zona germinativa. A proliferação, diferenciação e descamação da população celular do epitélio vaginal da preá durante o estro parece estar relacionada com a grande quantidade de estrogênio presente no organismo, pois, examinado ovários de preás sacrificadas nos estágios 1, 2 e 3, notamos a presença de folículos em crescimento e maduros e corpos lúteos degenerados e não funcionais. A mucificação no epitélio vaginal no estro foi descrita na cobaia (Selle, 1922, e Tribby, 1943) e obtida experimentalmente com doses subqueratinizantes de estrogênio na cobaia e na camundonga (Meyer e Allen, 1933) e na rata (Clarke e Selye, 1942 e Rosa e Alvarado, 1959). Doses superiores àquelas necessárias para mucificação causam mucificação e queratinização do epitélio vaginal da cobaia (Allen e Meyer, 1933, Nicol e Snell, 1954 a, Harmreck e Greenwald, 1966). Recentemente, Harmreck e Greenwald, 1966, sugeriram que a interação estrogênio-progesterona resulta na mucificação vaginal da cobaia e acentuaram a importância da adrenal na produção de hormônios semelhantes à progesterona e ao estrogênio.

A medida que o estágio 1 progride aumenta a espessura da camada queratinizada e as células superficiais mucosas tornam-se picnóticas e descamam intensamente. Talvez, um dos fatores que faz com que as células superficiais mucosas tornem-se picnóticas e descamem seja a diminuição de nutrição destas células devido a grande espessura do epitélio vaginal. Aliás, em alguns estros não ocorre queratinização em regiões próximas ao opérculo vaginal e nelas podemos encontrar epitélio relativamente delgado com células superficiais mucosas bem conservadas. Esse ponto de vista coincide com o de Tribby, 1943 e Nicol e Snell, 1954 a, b, para explicação da picnose nuclear e descamação das células superficiais do epitélio vaginal da cobaia. Meyer e Allen, 1933, demonstraram experimentalmente na cobaia que a queratinização das células subjacentes à camada mucificada do epitélio vaginal acarreta a descamação das células superficiais mu-

cosas. Desta maneira, acreditamos que pelo menos parte do muco encontrado no esfregaço vaginal do estro seja proveniente de uma secreção vaginal. Esta conclusão é semelhante a de Selle, 1922, e Tribby, 1943, em relação ao muco presente no esfregaço vaginal do estro na cobaia. Talvez, a secreção vaginal da preá no estro constitua um tipo de secreção holócrina tal como Lelièvre e Retterer, 1910, descreveram na cobaia à têrmo.

A coloração indicativa de Alcian-Blue, permitiu-nos comprovar o caráter mucoso das células da camada mais externa da zona superficial do epitélio vaginal no estágio 1, e também afastar a hipótese de que as células superficiais picnóticas encontradas no esfregaço vaginal do fim do estágio 1 sejam exclusivamente células em vias de queratinização ou tipos de células queratinizadas como alguns autôres descreveram na cobaia (Stockard e Papanicolaou, 1917 e 1919, Selle, 1922 e Papanicolaou, 193 b.).

O fim do estro ou estágio é marcado por intensa leucocitose em tôda a parede da vagina. A invasão leucocitária inicia-se no fim do estágio 3, mas somente no estágio 4 que os leucócitos alcançam o lúmen vaginal e ela deve ser um fenômeno secundário tal como na cobaia (Stockard e Papanicolaou, 1917). Os leucócitos exercem sua ação tanto nas células descamadas no lúmen como nas células que estão na parede da vagina. É comum nos esfregaços vaginais do estágio 4 têrmos células basais com leucócitos dentro. As projeções do epitélio vaginal do estroma podem não sofrer ação leucocitária, talvez, isto esteja relacionado com a restauração do epitélio vaginal pós-estro.

Em contraste com o estro, o epitélio vaginal diestral apresenta-se delgado e não podemos dividi-lo em zonas. Um ou dois dias após o estro, êle está recuperado das injúrias sofridas devido à leucocitose do estágio 4. No diestro 1 é pequena a quantidade de leucócitos no estroma e epitélio vaginais. Em certas regiões da vagina e principalmente na região próxima ao opérculo vaginal encontra-se mucificado. O aspecto das células superficiais diestrais que contém muco é semelhante ao das células mucosas do estro. Nesta época, examinando os ovários verificamos a presença de corpos lúteos grandes e funcionais (geralmente um por ovário) e folículos pouco desenvolvidos. Possivelmente, existe relação entre a secreção do corpo lúteo e a mucificação parcial do epitélio vaginal diestral da preá. Hemreck e Greenwald, 1966, obtiveram mucificação vaginal na cobaia com aplicações de progesterona.

No diestro 2, o epitélio vaginal apresenta-se com sua menor espessura e invadido por leucócitos. As mitoses são comuns tanto nas camadas profundas como nas superficiais.. A fina espessura do epitélio, talvez, deva-se a descamação relativamente intensa de suas células.

Somos levados a relacionar a êsse início da proliferação do epitélio vaginal diestral com o crescimento e amadurecimento dos folículos ovarianos. Por volta de 8 dias após o estro, os ovários apresentam folículos em crescimento e maduros e corpos lúteos funcionais do último estro.

O comportamento da população celular do epitélio vaginal da preá durante o ciclo estral é muito semelhante ao da cobaia e deve estar relacionado com o estado endócrino do indivíduo tal como nêste último.

CONCLUSÕES

A preá nascida em cativeiro apresenta ciclo sexual (duração de 13 a 17 dias) semelhante sobre quase todos os aspectos ao da cobaia. Baseando-se no aspecto do esfregaço vaginal dividimos o ciclo sexual em 2 partes: estro ou fase de atividade sexual (26 a 56 hs) e diestro ou fase de repouso (10 a 15 dias). No estro (por nós subdividido em 4 estágios) a população celular do epitélio vaginal apresenta intensa proliferação, diferenciação e descamação.

Inicialmente, ocorre mucificação das células epiteliais superficiais e posteriormente, as células subjacentes à camada mucificada se queratinizam (estágio 1 inicial). À medida que o ciclo progride, as células superficiais mucosas tornam-se picnóticas e descamam intensamente (estágio 1 final). Segue-se a descamação das células queratinizadas (estágio 2) e das células epiteliais basais (estágio 3). O final do estro é caracterizado por uma intensa leucocitose em toda a parede da vagina, que se encontra colapsada (estágio 4).

No diestro, inicialmente, o esfregaço vaginal apresenta poucas células epiteliais diestrais, leucócitos e muco. O epitélio vaginal é delgado e com raras mitoses, podendo ocorrer mucificações das células superficiais tal como no estro (diestro 1). Posteriormente, o esfregaço torna-se rico em células diestrais que descamam em grupo. O epitélio apresenta-se delgado, mas com algumas mitoses (diestro 2).

O epitélio vaginal da preá apresenta comportamento durante o ciclo sexual semelhante ao da cobaia, e tal como neste último deve estar relacionado com o estado endócrino do organismo.

SUMMARY: The preá (*Cavia aperea aperea*) a wild Brazilian cavoy born in captivity has a estrous cycle (duration 13-17 days) very similar to that of the guinea pig and which we divided into two parts on the basis of vaginal smears: estrus, or the phase of sexual activity (26 to 56 hours) and diestrus, or the resting phase (10-15 days). During estrus (which we subdivided into four stages) the cellular population of the vaginal epithelium is characterized by intense proliferation, differentiation and delamination. Initially, there occurs a mucification of the superficial cells and, later, a keratinization of the

cells subjacent to the mucified layer. The superficial mucus cells become pycnotic and delaminate intensely, followed by the delamination or the keratinized cells. The end of estrus is characterized by an intense leucocytosis in the entire vaginal wall. In diestrus, the vaginal epithelium is thin and cannot be divided into zones as it can in estrus.

We discussed the results obtained, taking into consideration the endocrine state of the individual, principally from the point of view of the ovaries.

UNITERMS: *Cavia aperea aperea*
Hormonal Colpocitology.

AGRADECIMENTOS

Ao Dr. Newton Macha, do Departamento de Histologia da U.S.P.; ao Dr. Earl Albert Hart da Seção de Anatomia Patológica do Inst. Butantan, queremos agradecer a colaboração emprestada. Também desejamos agradecer ao Sr. Elyseu Baptista de Oliveira cuja dedicação ao biotério nos propiciou a boa execução da presente pesquisa.

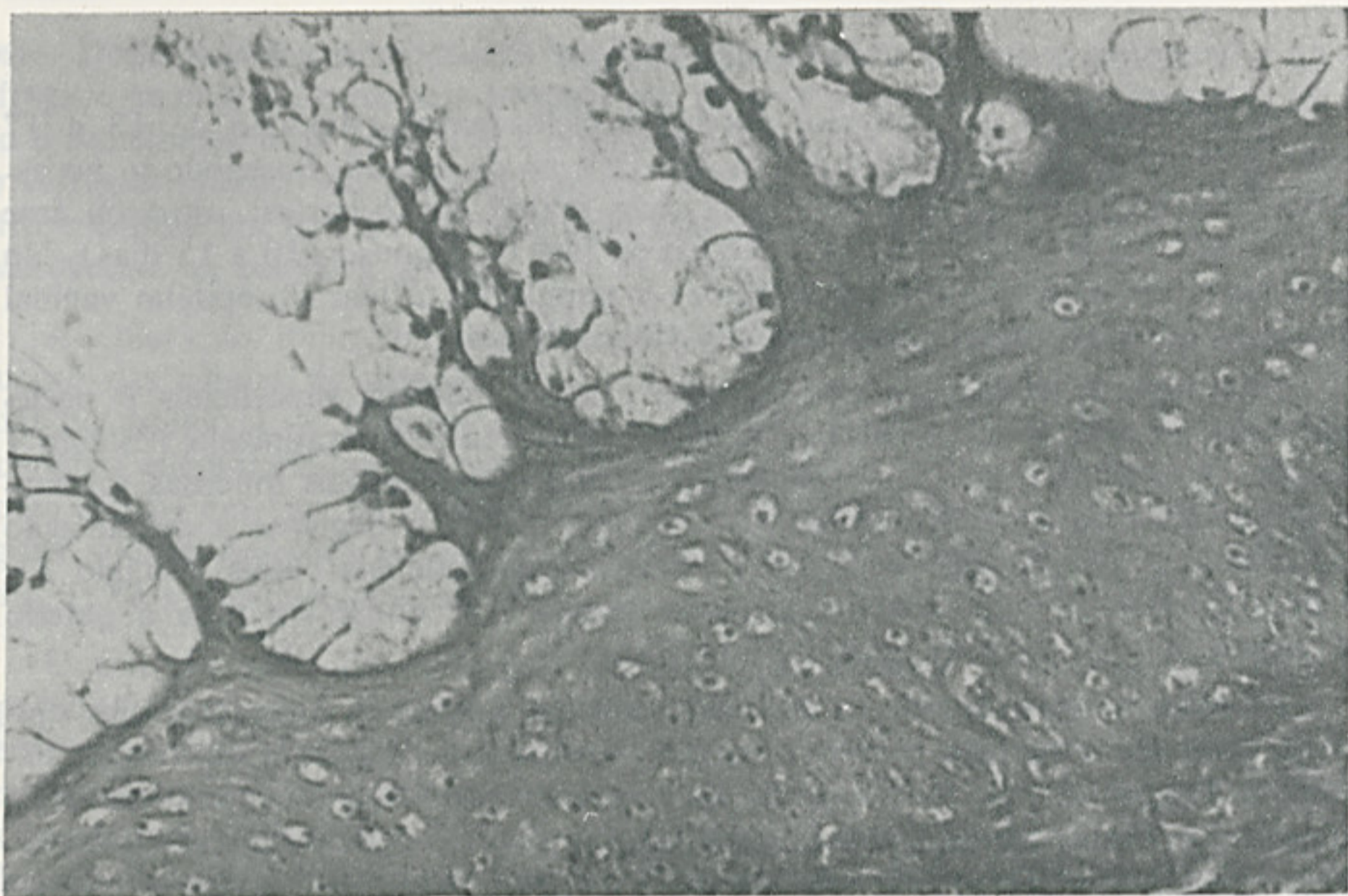


Fig. 1 — Secção longitudinal da parede da vagina próxima ao opérculo vaginal. Aspecto do estágio 1 inicial do estro. Notar o epitélio vaginal espessado e o aspecto glanduliforme apresentado pelas células superficiais mucosas. Em outras regiões da vagina dêste mesmo animal a camada queratinizada já está formada. (Mallory, \pm 160 vezes).

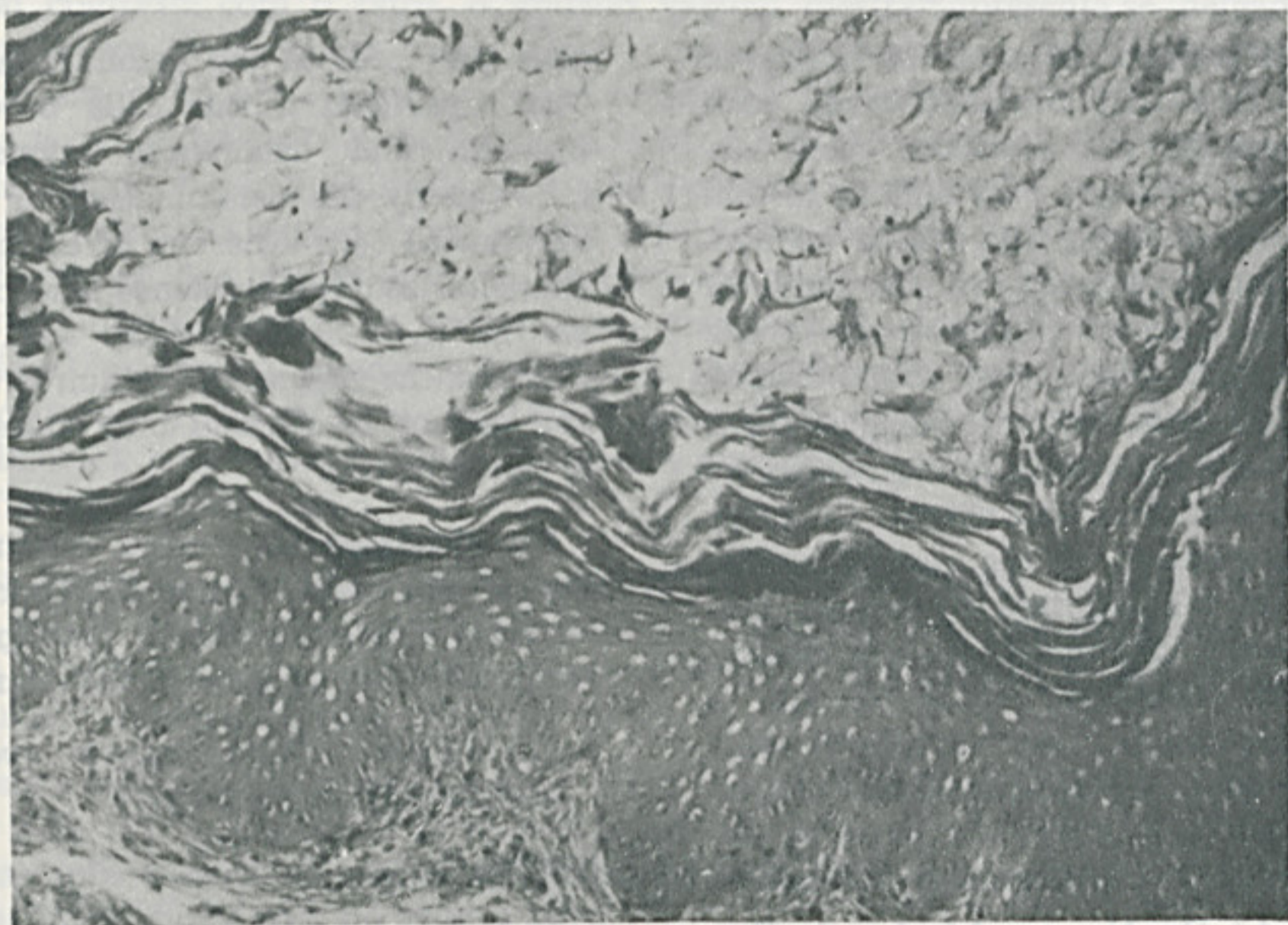


Fig. 2 — Secção transversal da parede da vagina próxima ao cérvix. Aspecto do fim do estágio 1 do estro. Notar as células superficiais mucosas picnóticas em vias de descamação. Podemos observar as zonas germinativas, basal e germinativa do epitélio vaginal. (Mallory \pm 160 vezes).

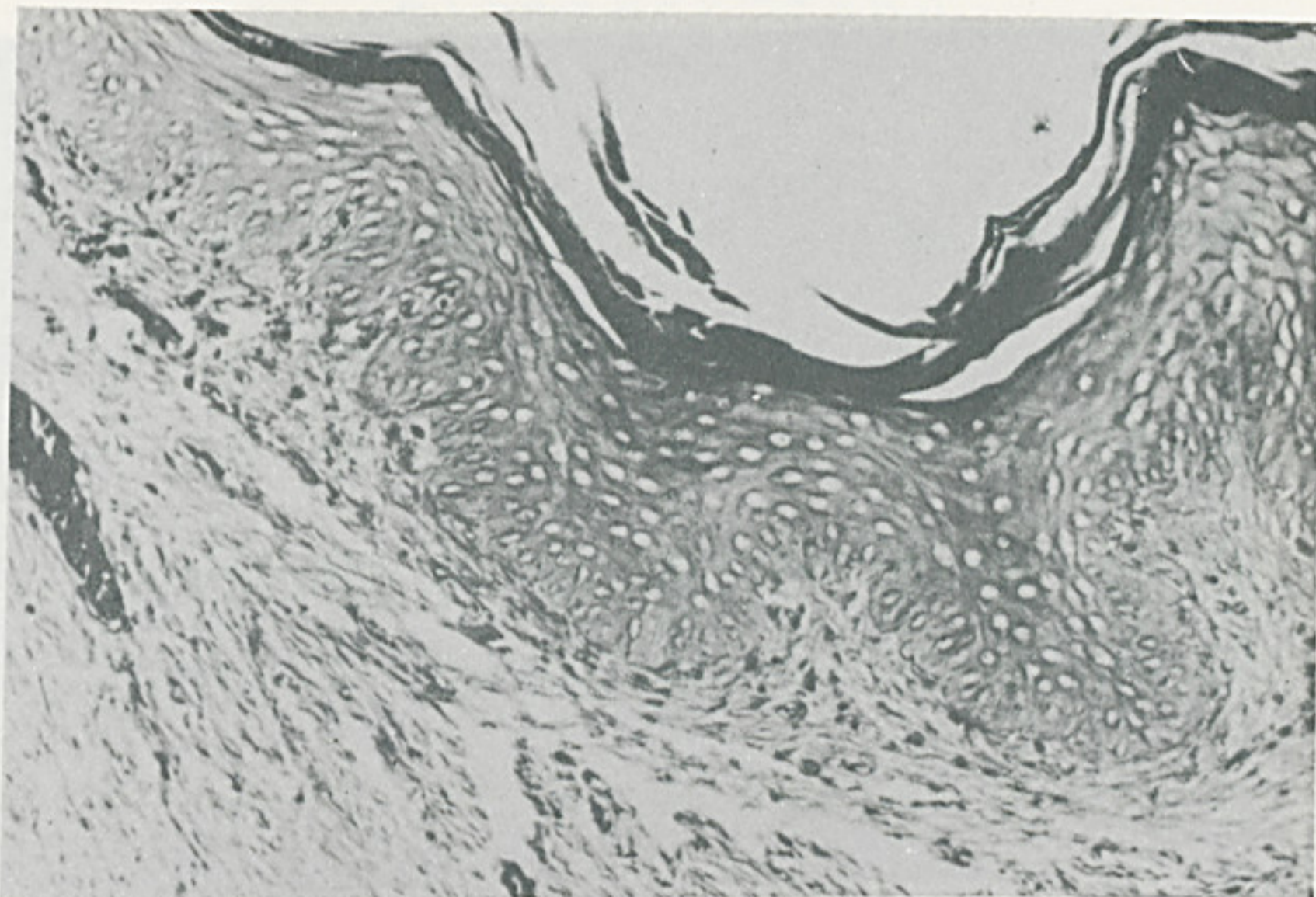


Fig. 3 — Secção transversal da parede da vagina próxima ao cérvix. Aspecto do estágio 2 do estro. Agora é a camada queratinizada que está em contacto com o lúmen vaginal. (Mallory, \pm 160 vezes).

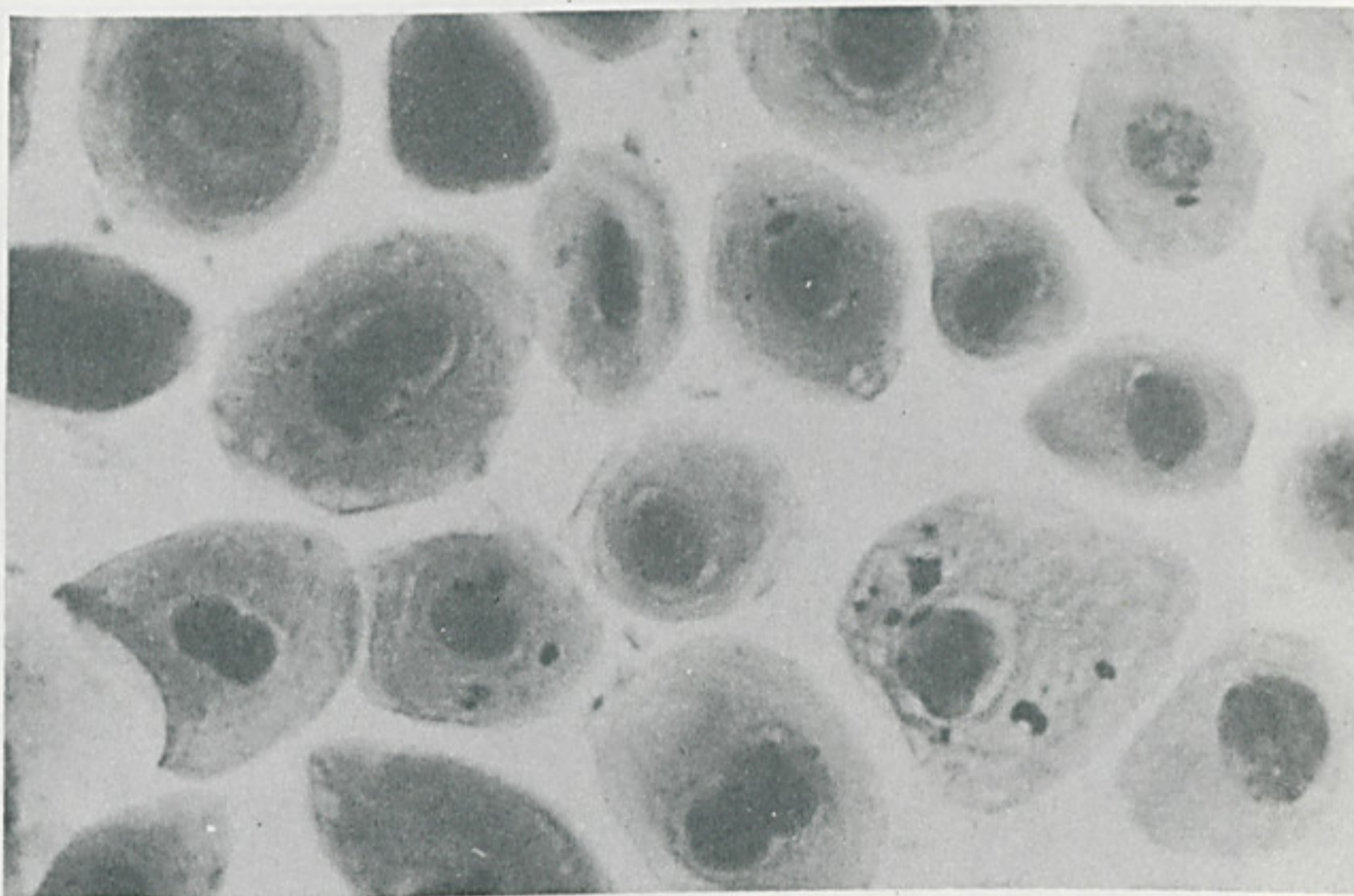


Fig. 4 — Esfregaço vaginal do estágio 3 do estro. A maioria das células epiteliais basais presentes apresentam vacúolos perinucleares que indicam picnose nuclear. As células basais coram-se intensamente pelo Método de Harris-Shorr. (Shorr, \pm 500 vezes).

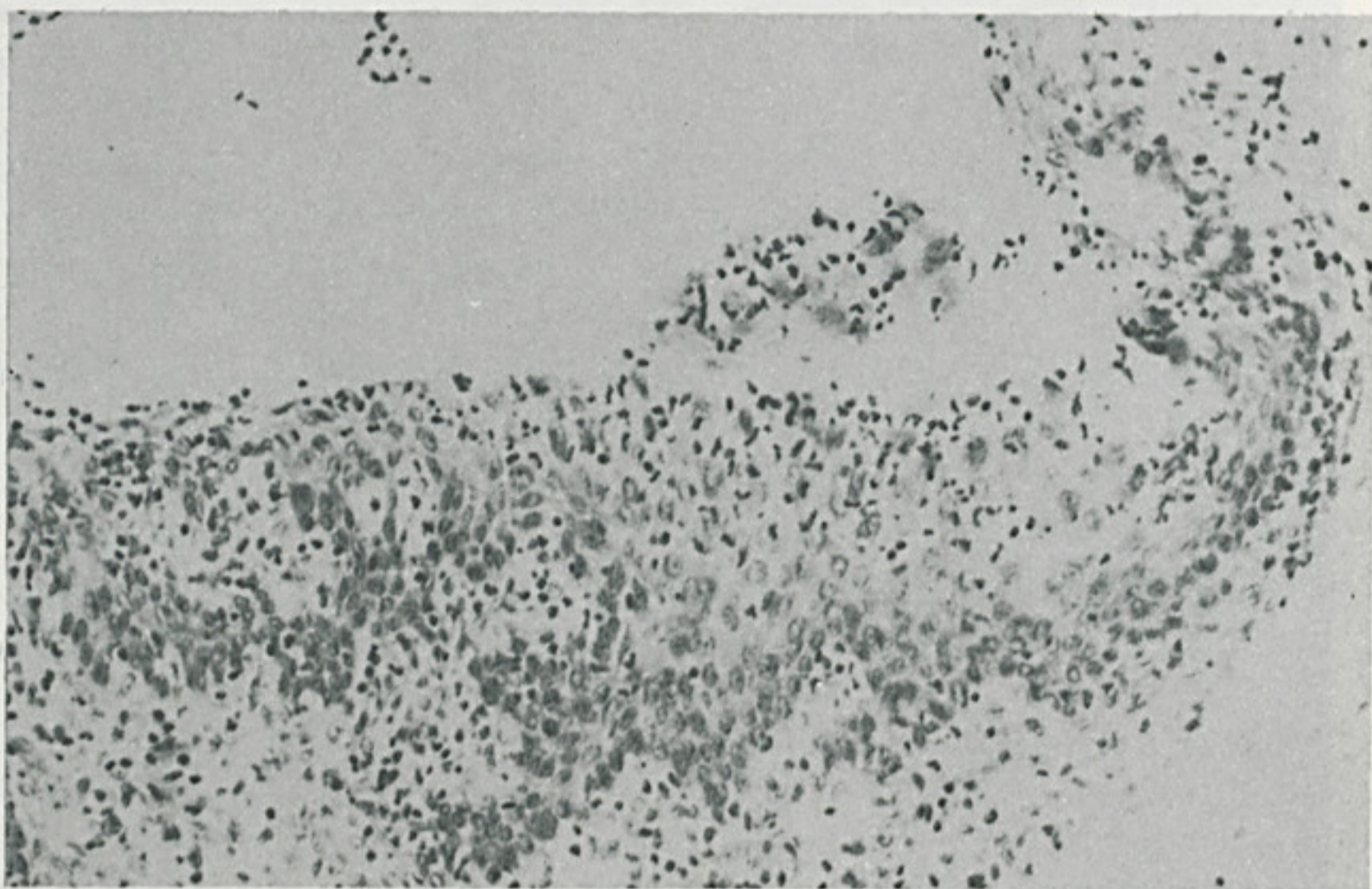


Fig. 5 — Corte transversal da parede da vagina próxima ao cérvix. Aspecto do estágio 4 do estro. O epitélio e estroma vaginais encontram-se intensamente invadidos por leucócitos. O epitélio vaginal é formado pelas zonas germinativa e basal, sendo que esta última apresenta-se vacuolizada em muitos pontos, devido à ação leucocitária. (HE \pm 130 vezes).

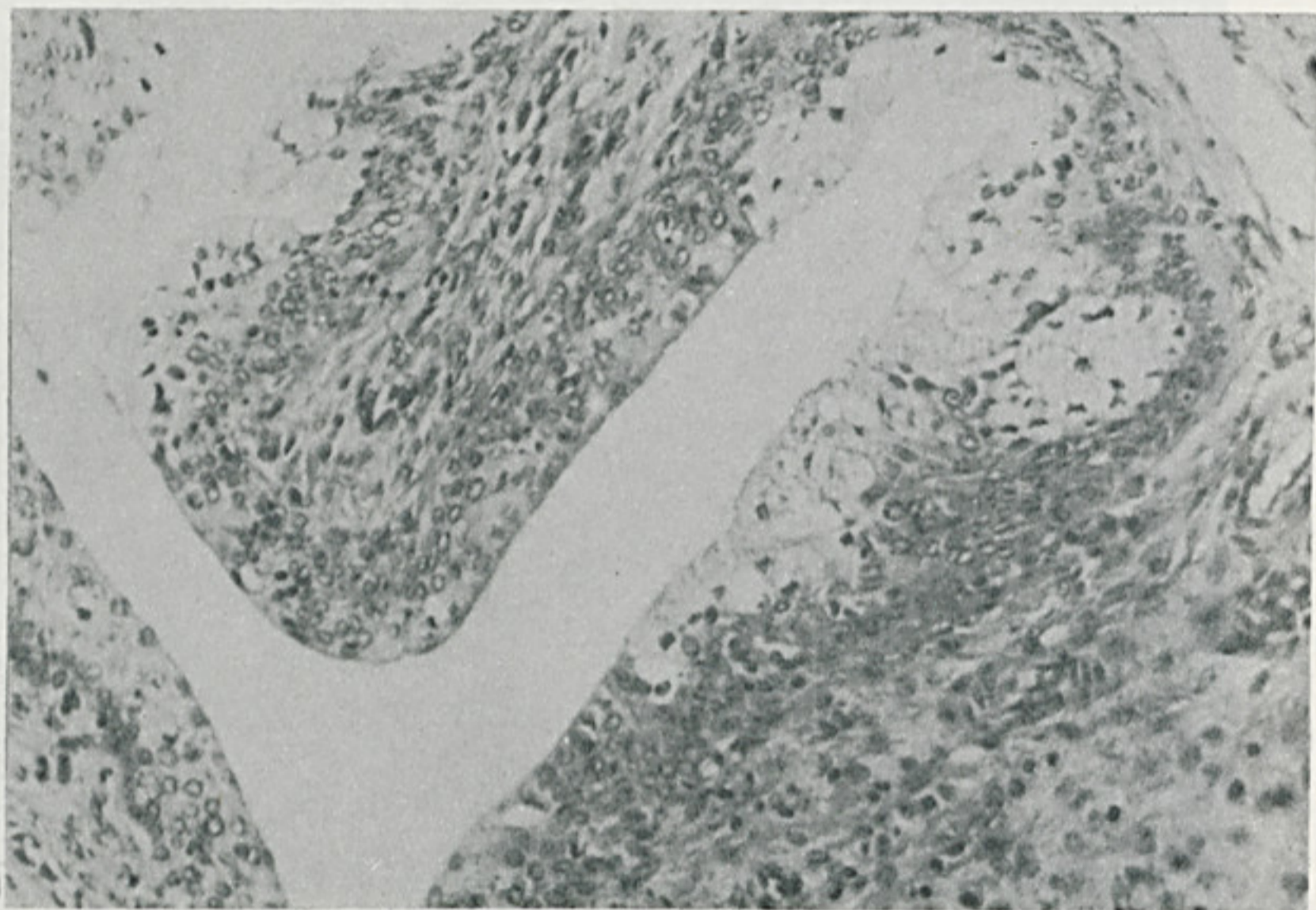


Fig. 6 — Corte transversal da parede da vagina próxima ao cérvix. Aspecto do diestro 1 (2 dias após o estro). Comparar a espessura e o aspecto deste epitélio vaginal com os dos estágios do estro. Notar a mucificação em certos trechos e a presença de alguns leucócitos no epitélio vaginal (HE \pm 130 vezes).

BIBLIOGRAFIA

- 1) BACCHER, P. and WYBURN, G.M. — *Journal of the Royal Microscopical Society*, 1957, 77: 1-10.
- 2) BUTLER-SMITH, A. — *Journal of the Royal Microscopical Society*, 1957, 77: 11-12.
- 3) CASTRO, A. F., SANTA ROSA, C. A. e THOISE, C. — *Arq. Inst. Biol. USP*, 1961, 29: 1-10.
- 4) CLARKE, H. and SMYTH, H. — *Am. J. Med. Sciences*, 1943, 154: 1-10.
- 5) DELLAS, J. — "Contribuição para o estudo da biologia da preá (*Cavia aperea*) nos períodos de reprodução experimental e estudo do ciclo estral." Tese Fac. de Farm. e Odont. de S. José dos Campos, 1969.
- 6) HERMINKER, A. B. and GREENWALD, G. B. — *Am. J. Anat.*, 1956, 146: 1-10.

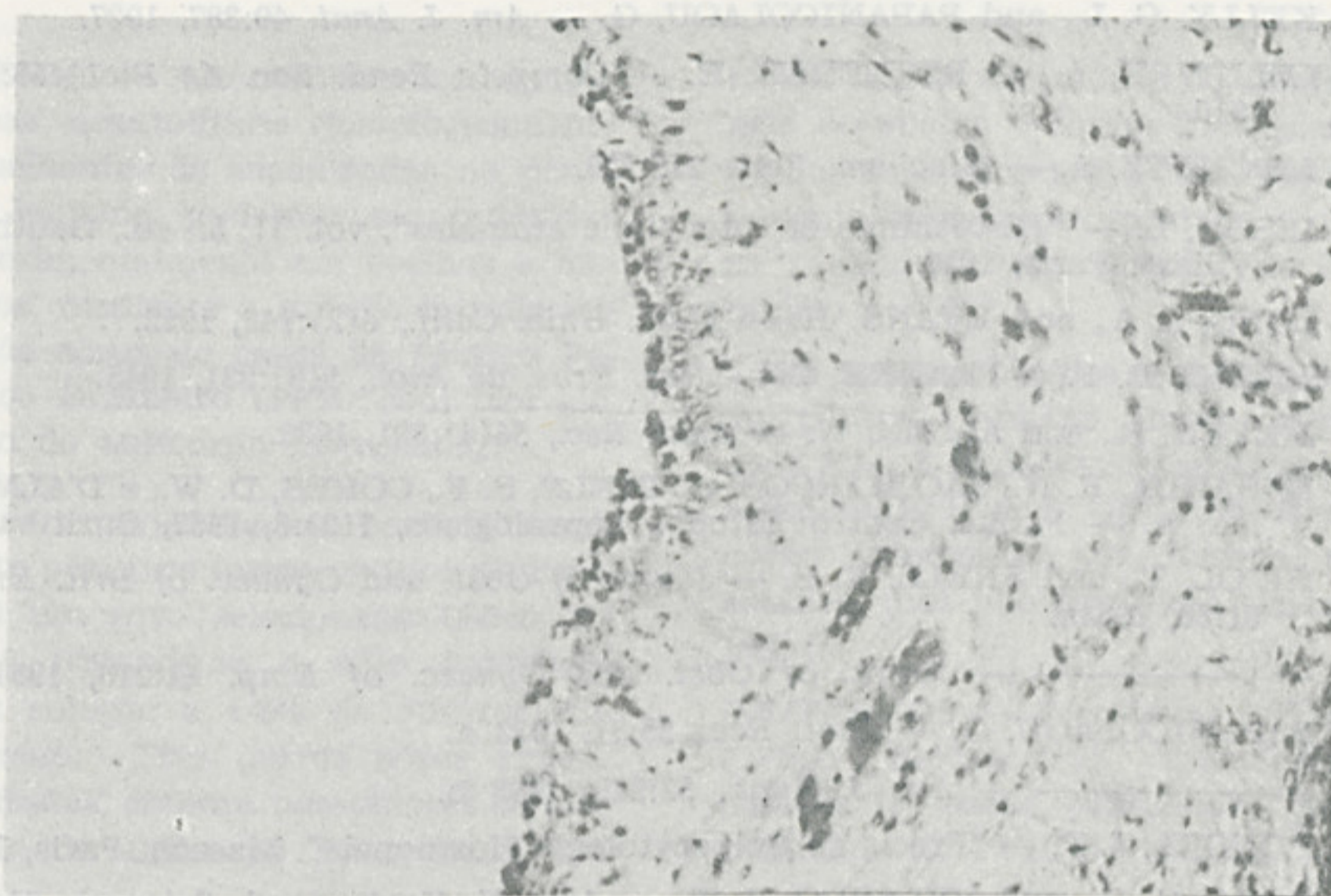


Fig. 7 — Corte transversal da vagina próximo ao cérvix. Aspecto do diestro 2 (8 dias após o estro). Epitélio vaginal extremamente delgado e a presença de leucócitos nas suas células superficiais. (HE, \pm 130 vezes).

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

- 1) BACSICH, P., and WYBURN, G. M. — *Proc. roy. Edinb.*, 60:33, 1939.
- 2) BUELLER-SOUTO, A. et v. UBISCH, G. — *Revue d'Immunologie*, 5(1):54, 1939.
- 3) CASTRO, A. F. P., SANTA ROSA, C. A. e TROISE, C. — *Arq. Inst. Biol.* 28(23):219, 1961.
- 4) CLARKE, E., and SELYE, H. — *Am. J. Med. Sciences*, 204:301, 1943.
- 5) DELLIAS, P. — "Contribuição para o estudo da biologia da preá (*Cavia aperea aperea*) seu aproveitamento em Fisiologia Experimental e estudo do ciclo estral". Tese Fac. de Farm. e Odont. de S. José dos Campos, 1969.
- 6) HERMRECK, A. S., and GREENWALD, G. S. — *Am. J. Anat.*, 118:861, 1966.
- 7) KELLY, G. L., and PAPANICOLAOU, G. — *Am. J. Anat.* 40:387, 1927.
- 8) LELIÈVRE, A., et RETTERER, E. — *Compte Rend. Soc. de Biol.*, 68:596, 1910.
- 9) LIPCHUTZ, A. — *Biochem. Zeit.*, 215:222.
- 10) LISON, L. — "Histochemie et cytochemie animales", vol. II, 3.^a ed., Gauthier-Villars, Paris, 1960.
- 11) LONG, J. A., and EVANS, H. — *Mem. Univ. Calif.*, 6(2):148, 1922.
- 12) MELLO, R. F., e FRANKE, C. — *Rev. Bras. de Biol.*, 5(2):231, 1945.
- 13) MEYER, R., and ALLEN, W. — *Anat. Rec.*, 56(4):321, 1933.
- 14) MIRANDA, R. N., SÃO MARCOS, A. TARLÉ, S. F., CORES, D. W., e D'ALMEIDA, A. — Public. Centro Estudos Leprológicos, 7(2):8, 1967, Curitiba.
- 15) NICOL, T., and SNELL, R. S. — *Journ. of Obst. and Gynaec. of Brit. Emp.*, 61:86, 1954a.
- 16) ————— — *Journ. of Obst. and Gynaec. of Emp.* 61:216, 1954 b.
- 17) PAPANICOLAOU, G. — *Anat. Rec.*, 55:71, 1933 a.
- 18) ————— — *Am. J. Anat.*, 52:519, 1933 b.
- 19) PUNDEL, J. P. — "Précis de Colpocytologie Hormonale". Masson, Paris, 1966.
- 20) ROSA, C. G., and VELARDO, J. T. — *Ann. N. York. Acad. Sciences*, 83:122, 1959.
- 21) SELLE, C. R. — *Am. J. Anat.*, 30:429, 1922.
- 22) STOCKARD, C. R. — "Fluid of Mammalian vagina": p. 1610; in *Special Cytology*, vol. 3, Editor E. V. Cowdry, Paul B. Hoeber, New York, 1930.
- 23) STOCKARD, C. D., and PAPANICOLAOU, G. — *Am. J. Anat.*, 22:225, 1917.
- 24) ————— — *Biol. Bull.*, 37:222, 1919.
- 25) von UBISCH, G., e AMARAL, J. P. — *Mem. Inst. Butantan*, XX, 17:9, 1935-36.
- 26) von UBISCH, G., e MELLO, R. F. — *Journ. of Heredity*, 31(9):389, 1940.
- 27) YOUNG, W. — *Anat. Rec.*, 67(3):305, 1937.

Recebido para publicação em 10 de novembro de 1971.