

87

CITOLOGIA VAGINAL E SEU EMPRÊGO EM GINECOLOGIA  
ENDÓCRINA (\*)

POR

ALVARO MARCONDES SILVA

(Do Laboratório de Endocrinologia do Instituto Butantan, São Paulo, Brasil)

O exame do conteúdo vaginal como processo de investigação da atividade ovariana foi praticamente introduzido em 1917 por STOCKARD & PAPANICOLAOU (1), ao demonstrarem pela primeira vez que era possível determinar a época do estro na cobaia mediante o exame citológico de esfregaços vaginais. As variações que apresentam as células, nas diversas fases do ciclo estral, são tão nítidas nos roedores que permitiram a ALLEN & DOISY (2), alguns anos mais tarde, criar o seu já clássico teste para pesquisa de estrógenos, baseado nas modificações induzidas por tais substâncias na citologia vaginal de camundongas e ratas castradas.

Variações periódicas do conteúdo celular da vagina foram posteriormente comprovadas em outras espécies superiores, inclusive na humana, mas não com a mesma nitidez que a observada nos roedores. Em relação à espécie humana, nem todos os autores concordam com a existência de um paralelismo entre essas variações e a atividade cíclica do ovário, isto é, o ciclo menstrual, embora não se negue a existência de diferenças entre a citologia vaginal da infância e da menopausa e a da mulher adulta em plena atividade ovariana. DI PAOLA (3) que é um dos que negam o paralelismo acima citado, sugere ter o epitélio vaginal um limiar de resposta baixo em relação aos estrógenos, o qual, uma vez atingido, não lhe permite mais apresentar modificações em relação às pequenas variações na concentração de estrógenos da mulher adulta. Todavia, desde que PAPANICOLAOU (4) publicou o seu exaustivo estudo afirmando de modo convincente que as modificações periódicas encontradas na citologia vaginal humana estão diretamente relacionadas à atividade ovariana, muitos foram os autores que o apoiaram nessa afirmação, aduzindo muitas e muitas provas que não poderiam ser desprezadas. Entre estes se destaca RUBENSTEIN (22, 7, 23, 24).

---

(\*) Trabalho apresentado em 9 de fevereiro de 1944 à Seção de Ginecologia e Obstetrícia da Associação Paulista de Medicina.

No presente trabalho são referidos os resultados do exame citológico vaginal num grupo selecionado de casos, durante o ano de 1943, no Serviço Clínico da Seção de Endocrinologia do Instituto Butantan, confrontando-os com os achados de outros autores, afim de julgar do valor do método como meio de avaliação da atividade ovariana.

## MÉTODOS

A colheita de material tem sido feita de modo um tanto diverso pelos diferentes pesquisadores.

PAPANICOLAOU (4), em 1933, preconizou o uso de uma pipeta de vidro curva numa extremidade e provida de uma pera de borracha na outra. A técnica consistia em comprimir a pera, introduzir a porção curva da pipeta na vagina e, então, por aspiração, colher o material e depositá-lo numa lâmina, fixando-o imediatamente. Esse é o processo adotado pela maioria dos autores, inclusive por SHORR, cujo método de coloração adotamos.

SALMON, WALTER & GEIST (5) adotaram um processo diferente. As pacientes eram instruídas para fazer uma lavagem vaginal com água na tarde em que iam se submeter a exame. Este era feito, introduzindo um espécuro na vagina e limpando bem a cervice e os fundos de saco vaginais para, em seguida, ao retirar o instrumento, arrastar com a sua valva posterior o flúido da parede vaginal anterior. O flúido vaginal presente na valva posterior do espécuro era então diluído em uma porção igual de soro fisiológico e espalhado numa lâmina, que se deixava secar ao ar para fixar.

GEIST & SALMON (6), em outro método, introduziam previamente o espécuro na vagina, com o fim de observar a presença ou não de infecção e, por meio de uma pipeta de vidro, aspiravam uma pequena quantidade do flúido vaginal existente na superfície da sua valva posterior.

RUBENSTEIN (7) aconselha o emprêgo de uma alça para a colheita do material, que é feita raspando-se brandamente a parede do fornix posterior da vagina, após a introdução prévia de um espécuro.

DI PAOLA (3) utilizava a mesma técnica de PAPANICOLAOU, apenas introduzindo a pipeta de vidro já com algumas gotas de soro fisiológico no seu interior, que eram expelidas dentro da vagina, de modo a fazer com que o flúido vaginal, então diluído no soro fisiológico, entrasse espontaneamente na pipeta pelo vazio estabelecido.

FOURNIER, MANARO & BLANCO (8), após experimentarem várias técnicas de colheita, deram preferência a uma pipeta de vidro ligada a um tubo de borra-

cha, que por sua vez era ligado a um pequeno tubo de vidro que servia de peça bucal, e dessa forma faziam a aspiração por sucção, argumentando que a vantagem de tal processo era a de se poder graduar a aspiração à vontade. Nos casos de material escasso procediam como DI PAOLA, isto é, introduziam a pipeta já com 0.3 cm<sup>3</sup> de sôro fisiológico no seu interior e expeliam o líquido na luz vaginal para, em seguida, fazer a aspiração.

MACK (9) aconselha introduzir na vagina um bastão de vidro com a ponta envolvida em algodão, fazendo um leve movimento de rotação, cêrca de uma volta completa, contra as paredes vaginais e, em seguida, colocar a extremidade envolta em algodão dêsse bastão sôbre uma lâmina bem limpa e imprimir-lhe um movimento de rotação, evitando a fricção, de modo a produzir um esfregaço fino, com um mínimo de pregueamento e distorção celular.

Depois de experimentar todos êstes métodos e outros de menor importância de que tivemos conhecimento, chegamos à conclusão de que o melhor dêles era o original de PAPANICOLAOU, ligeiramente modificado para se poder graduar a aspiração do flúido vaginal. Utilizamos tubos de vidro esterilizados e secos, com cêrca de 17 cm de comprimento, 4 mm de diâmetro externo e 2 mm de diâmetro interno (correspondente à luz do tubo), apresentando, pois, uma parede de vidro com 1 mm de espessura, que nos pareceu suficientemente forte para não quebrar no interior da vagina durante as manipulações necessárias. O tubo é curvo numa extremidade e apresenta um orifício próximo a outra, orifício êsse situado em direção oposta à do recurvamento da outra extremidade; êsse orifício é por nós chamado "orifício de escapamento" (Fig. 1). Para crianças, usamos tubos semelhantes mas de dimensões menores.

As peras de borracha por nós empregadas são as de tipo Mercúrio n.º 1 (Rio Grande do Sul), que são suficientemente moles para fazer uma sucção moderada; elas são adaptadas à extremidade retilínea do tubo.

O tubo de vidro é introduzido na vagina pela sua extremidade curva, até que se tenha verificado que a mesma tocou o fundo de saco posterior, pois só o material contido nessa porção da vagina é que deve ser colhido. Comprime-se, então, a pera de borracha, fazendo-se sair o ar pelo orifício de escapamento, e, em seguida, oblitera-se êste com o dedo; a pera de borracha passa então a fazer sucção pela extremidade curva do tubo, cuja direção conhecemos, através da posição do orifício de escapamento, que, como dissemos, está situado no lado oposto. Faz-se movimentos de rotação com o tubo, da direita para a esquerda e da esquerda para a direita, afim de aspirar o máximo possível de flúido vaginal e, quando se verificar que não há mais aspiração, destapa-se o orifício de escapamento, fazendo assim entrar o ar para o interior da pipeta e da pera de borracha; esta manobra é útil porque evita o refluxo de material para o interior do tubo de vidro, o que dificultaria a execução posterior do esfregaço. A pi-

peta é então retirada e executa-se o esfregaço, graduando, por uma combinação de pressão na pera de borracha e maior ou menor obliteração do orifício de escapamento, a quantidade de flúido a ser depositada na lâmina. Tivemos sempre a preocupação de fazer um esfregaço muito pouco espesso. Uma vez executado o esfregaço, êste é imediatamente imerso numa mistura de álcool a 95% e éter, em partes iguais.

A coloração dos esfregaços foi feita pelo método de SHORR (10), que nos pareceu o melhor para o fim a que nos propuzemos e que consiste essencialmente no seguinte:

1. Fixar o esfregaço enquanto úmido em álcool 95% — éter (1:1) por 1-2 minutos.
2. Corar 1 minuto com o corante único Shorr 3.
3. Desidratar em alcoois (70% — 95% e absoluto) mergulhando a lâmina cêrca de 10 vezes em cada frasco.
4. Clarificar pelo xilol.
5. Montar em damar ou em balsamo do Canadá.

O corante único recomendado por SHORR (SHORR 3 ou S 3) tem a seguinte composição:

Álcool etílico a 50% .....	100 cm <sup>3</sup>
Biebrich Scarlet (solúvel em água) .....	0,5 g
Orange G .....	0,25 g
Fast Green FCF .....	0,075 g
Ácido fosfotúngstico .....	0,5 g
Ácido fosfomolibdico .....	0,5 g
Ácido acético glacial .....	1,0 cm <sup>3</sup>

Êsse método é o último de uma série de modificações introduzidas por SHORR em seu método original (11, 12) e nele emprega corantes (Biebrich Scarlet e Fast Green FCF) da firma americana "National Aniline and Chemical Company" em virtude da escassez dos produtos originalmente empregados (Ponceau de Xylidene e Licht Grün), que provinham da Alemanha. Nós empregamos o Biebrich Scarlet e o Licht Grün de GRÜBLER, com bons resultados.

Uma vez corada, examinamos a lâmina ao microscópio para analisar a citologia existente e fazer, quando se desejou, a contagem percentual dos diferentes tipos celulares, assim como avaliar a quantidade de leucócitos, hematias, muco e o tipo da flora microbiana encontrada. A diferenciação morfológica das células vaginais foi feita de acôrdo com o critério estabelecido por PAPANICOLAOU (4, 13), que nos pareceu melhor traduzir a realidade, por fugir à complicada

variedade de tipos descrita por outros autores (14, 7). Quanto à interpretação das propriedades corantes dos diversos elementos encontrados, seguimos os dados de SHORR (10); ao invés, porém, de denominarmos as células com citoplasma corado em vermelho-alaranjado de células cornificadas, chamamo-las de células acidófilas, reservando o termo "cornificado" para as células cujas alterações morfológicas permitam essa qualificação. As células com citoplasma corado em verde pelo Licht Grün e que SHORR denomina de células não cornificadas, foram por nós denominadas de células basófilas, embora realmente se trate de elementos não cornificados, e isso apenas para que houvesse harmonia de denominações.

Baseados nesses dados, podemos, então, distinguir 3 tipos de células nos esfregaços vaginais, que, em virtude de sua situação num epitélio vaginal proliferado pela ação de substâncias estrogênicas, foram por PAPANICOLAOU denominadas células basais, células intermediárias e células superficiais. As células basais (outer basal cells), são as mais profundas, situadas próximo a túnica própria, e se caracterizam por serem de pequeno tamanho, núcleo vesiculoso e muito grande em relação ao tamanho da célula e com citoplasma sempre basófilo. As chamadas células basais internas (inner basal cells) não são encontradas em esfregaços e mesmo que o fossem não poderiam ser diferenciadas das chamadas células basais externas (outer basal cells): tal divisão só é justificada em cortes de epitélio.

Entre as células basais PAPANICOLAOU descreve, por também apresentarem pequeno tamanho, as células de origem cervical; estas células têm caracteres próprios e deverão ser reconhecidas, pois aparecem geralmente em esfregaços de epitélio vaginal altamente proliferado, ao contrário das células basais típicas que são encontradas em esfregaço de epitélio vaginal pouco ou nada proliferado. As células intermediárias se caracterizam, de um modo geral, por serem alongadas e apresentarem um núcleo comumente alongado e excêntrico; o seu citoplasma é basófilo, podendo, todavia, ser acidófilo. As células superficiais são células chatas, de formato variável, núcleo vesiculoso ou picnótico, citoplasma basófilo ou acidófilo. As células cornificadas apresentam de característico a reabsorção ou fragmentação do núcleo, que poderá estar ausente nas células mais típicas.

Quando o epitélio vaginal está em repouso, isto é, não submetido a ação proliferadora das substâncias estrogênicas, ele é constituído unicamente por células basais, dispostas em um número de camadas muito reduzido, em geral duas. Logo, porém, que ele fique submetido a ação do hormônio folicular, o que se dá é, fundamentalmente, uma proliferação à custa das células basais. À medida que o epitélio se espessa, as células mais superficiais vão, a princípio, se alongando e posteriormente se achatando, de modo a diferenciar as cé-

lulas intermediárias e superficiais. À medida que essas células se vão afastando da camada basal torna-se cada vez mais difícil a sua nutrição e elas vão sendo sede de processos degenerativos, tais como picnose do núcleo, acidofilia do citoplasma e cornificação. Tais processos, juntamente com as modificações de tamanho das células, traduzem a ação das substâncias estrogênicas sobre o epitélio vaginal. A ordem de aparecimento dessas modificações num epitélio sob ação de estrógenos nem sempre é a mesma e a importância desse fenômeno, assim como a do valor da sua maior ou menor intensidade, constitui objeto atual de nossas investigações.

### MATERIAL

Procedemos a exames do flúido vaginal em meninas, em fase comprovadamente pré-puberal, em adolescentes tanto normais como com atraso da menarca ou com amenorréia primária, em mulheres adultas eumenorreicas, em casos de amenorréia secundária (pelo menos um deles acompanhado repetidamente durante o tratamento hormonal pelos estrógenos), em casos de menopausa e em alguns casos de distúrbios menstruais não especificamente aqui mencionados.

Nosso material é ainda escasso, pois compreende apenas 26 casos; tratando-se, porém, de casos bem selecionados, nos quais foi excluída a existência de qualquer infecção do trato genital susceptível de alterar os resultados, parece-nos lícito tirar deles conclusões.

Desejamos, como já foi dito, relatar apenas o que o estudo do nosso material e os trabalhos de outros autores nos sugeriram em relação ao valor do método como meio de se avaliar a atividade ovariana num dado caso. Posteriormente, quando contarmos com maior número de casos, publicaremos dados estatísticos sobre a freqüência do que será dito a seguir.

### RESULTADOS E COMENTÁRIOS

Nos casos de ausência total de atividade ovariana, isto é, de meninas em fase comprovadamente prépuberal, em que não havia nem esboço de caracteres sexuais secundários e a genitália era infantil, obtivemos sempre aquilo que PAPANICOLAOU chama de esfregaço vaginal de tipo atrófico. Achamos mais conveniente denominar este tipo de esfregaço, de *esfregaço de epitélio vaginal em repouso*, isto é, *não submetido a ação estrogênica* e justificamos essa denominação em virtude da insignificante excreção de estrógenos encontrada em meninas impúberes (15), bem como por ser a atividade estrogênica a única que repercute de modo indubitável sobre o epitélio vaginal (16, 17, 18). A ação

da progesterona sobre esse epitélio ainda é discutida, poucas sendo as pesquisas até agora feitas para evidenciá-la (19).

Nesse tipo de esfregaço vaginal a quase totalidade das células encontradas é de tipo basal, havendo apenas uma ou outra célula intermediária ou superficial com citoplasma basófilo, rarissimamente acidófilo. Há, também, regularmente, um grande número de leucócitos e uma quantidade regular de muco (Figs. 2 e 3).

Esfregaços vaginais desse tipo foram também encontrados na menopausa com vários anos de duração por PAPANICOLAOU e SHORR (16), apenas com a diferença de, ao lado da abundância de células basais, haverem aqueles autores encontrado um número relativamente maior de células intermediárias e superficiais do que o observado nos nossos casos de meninas em fase comprovadamente prépuberal. Tais células eram, todavia, em número escasso e com citoplasma raramente acidófilo. TINOCO CABRAL (34) tem o mérito de haver sido o primeiro a descrever esses esfregaços vaginais da menopausa.

Em adolescentes ainda não menstruadas, mas cujos caracteres sexuais secundários estavam se desenvolvendo normalmente e assim como nos primeiros anos da menopausa, isto é, em períodos de transição entre a ausência de atividade ovariana e a plena atividade ovariana da mulher adulta, o aspecto dos esfregaços vaginais que obtivemos foi muito variável, dependendo do grau dessa atividade e da sua repercussão sobre o epitélio vaginal. Como a atividade ovariana é uma atividade cíclica, que se traduz por uma alternância de períodos em que ora há aumento e ora diminuição na concentração de estrógenos do organismo, é possível que ela possa se realizar em níveis subnormais, onde a menstruação ou não exista ou, se existir, se traduza apenas pelo aparecimento microscópico de hemátias. Pelo menos, em relação à menopausa, é o que pode evidenciar PAPANICOLAOU (20, 16), que encontrou, por duas vezes, em um caso de menopausa examinado diariamente durante seis meses, a transformação gradual do esfregaço de tipo atrófico em um esfregaço de tipo folicular, seguido de um pequeno período em que apareciam eritrocitos e do retôrno do esfregaço novamente ao tipo atrófico. É possível, num exame diário de um grande número de casos, não só de menopausa mas também de adolescentes normais não menstruadas, descobrirmos em que extensão tal ocorrência existe e assim contribuir para esclarecer alguns aspectos do fenômeno da menstruação.

Dessas considerações se deduz que a citologia vaginal em tais períodos de transição não só é variável em relação ao nível em que o ovário exerce a sua atividade, mas também, numa mesma paciente, em relação às variações por que passa essa atividade. Todavia, baseado num único exame, pudemos, de um modo geral, encontrar nesses períodos dois tipos de esfregaços vaginais, a que denominamos:

1. *Esfregaço de epitélio vaginal sob pequena ação estrogênica*, em que as células epiteliais encontradas são, na grande maioria, ainda de tipo basal; em número pequeno e variável, de tipo intermediário e superficial, com citoplasma basófilo e, mais raramente, acidófilo (Fig. 4). O número de leucócitos é variável e, de um modo geral, tanto maior quanto menor fôr a porcentagem de células epiteliais superficiais existentes. A quantidade de muco é também variável e, nos casos de menopausa, os esfregaços vaginais deste tipo contêm com freqüência um número maior ou menor de eritrócitos.

2. *Esfregaço de epitélio vaginal sob moderada ação estrogênica*, em que predominam de modo nítido as células epiteliais superficiais, em grande maioria com citoplasma basófilo e algumas vezes acidófilo. A picnose nuclear é rara. As células de tipo basal e intermediário, principalmente as primeiras, são encontradas em quantidade pequena e variável e os leucócitos, em geral, são abundantes. Não há eritrócitos e a quantidade de muco é variável (Fig. 5).

Os dois tipos de esfregaços mencionados representam, todavia, apenas dois pontos de referência, necessários num estudo descritivo como o que estamos fazendo, durante uma série crescente de modificações encontradas desde o esfregaço de epitélio vaginal em repouso até o esfregaço de epitélio vaginal sob franca ação estrogênica, encontrado na maior parte do ciclo menstrual da mulher adulta normal, como veremos mais tarde. Sempre os encontramos em nossos casos de adolescentes ainda não menstruadas, com exceção de um único, em que o esfregaço era nitidamente de tipo folicular, revelando ação estrogênica normal, exatamente igual à encontrada no meio do ciclo menstrual da mulher adulta normal; neste caso, as mamas e a genitália eram bem desenvolvidas, havendo regular número de pêlos pubianos, e é de se pressupôr que o ovário já estivesse desempenhando a sua função em nível normal e que essa nossa paciente estivesse já em vésperas da menarca. Não nos tendo sido possível acompanhar com exames repetidos este caso, não podemos, porém, tirar conclusões a respeito dêle.

Os dois tipos descritos de esfregaços foram por nós também comumente encontrados em casos de amenorréia, tanto primária como secundária, e nos primeiros anos da menopausa. PAPANICOLAOU (21), baseado no exame da citologia vaginal, propôs para as amenorréias em geral uma classificação em 3 grupos: a) em que o esfregaço vaginal é permanentemente atrófico, indicando ausência de atividade ovariana; b) em que o esfregaço vaginal é permanentemente de tipo intermediário entre o atrófico e o encontrado na mulher adulta normal, indicando atividade ovariana subnormal e uniforme e c) em que o esfregaço vaginal revela a existência de modificações cíclicas e irregulares, imitando as que existem no ciclo menstrual normal e traduzindo uma atividade ovariana periódica, todavia, insuficiente para produzir a menstruação. Os casos deste último grupo são em tudo análogos aos de menopausa um pouco atrás relatados, em que foram demonstradas

variações periódicas no esfregaço vaginal. Este fato foi por nós também verificado em u'a mulher solteira de 35 anos de idade, que apresentava amenorréia secundária de 20 anos de duração e obesidade; de acôrdo com PAPANICOLAOU, deve-se supor que o ovário de tal paciente estivesse funcionando em nível subnormal, provavelmente sendo essa a causa da falta de menstruação. Em outro caso de amenorréia secundária, no qual fizemos exames repetidos da citologia vaginal, encontramos sempre esfregaços vaginais de tipo sob moderada ação estrogênica; êste mesmo caso, sendo tratado posteriormente pelos estrógenos, apresentou, ao exame citológico do esfregaço vaginal, modificações características de uma reação folicular, seguidas, alguns dias após à 3a. injeção de 10.000 U. I. de benzoato de estradiol, da eliminação de uma serosidade sanguinolenta. Neste caso havia concomitantemente obesidade do chamado tipo ovariano, antecedentes de hipo e oligomenorréia e esterilidade.

Na mulher adulta eumenorreica é geralmente admitido que o aspecto do esfregaço vaginal varia periódicamente, sendo em número muito pequeno os autores que negam a existência de tais variações. A discussão entre os autores começa, entretanto, como já salientamos, quando se procura saber se tais variações periódicas apresentadas pelo epitélio vaginal e conseqüentemente refletidas no exame do flúido vaginal, estão ou não relacionadas com a função cíclica do ovário, como acontece com a mucosa uterina que indubitavelmente apresenta uma fase de proliferação e uma de secreção em cada ciclo menstrual normal.

Nos casos eumenorreicos, que examinamos diariamente durante um a dois ciclos menstruais completos, constatamos sempre variações periódicas da citologia vaginal que, por se terem repetido com as mesmas características durante cada ciclo examinado e apresentado a mesma duração dêle, consideramos correlatas à função cíclica do ovário. Experimentalmente tal correlação já foi demonstrada em macacas por ALLEN (25).

A nosso vêr, a dificuldade encontrada pelos autores que não puderam interpretar essas variações, considerando-as pouco nítidas, de difícil interpretação e não permitindo precisar o que realmente está se passando no ovário, decorre do uso de métodos que não permitem uma boa diferenciação entre os elementos celulares, como é o caso do primitivo método de PAPANICOLAOU (4), geralmente empregado por todos e hoje substituído até mesmo pelo próprio autor (26, 27). Demos preferência ao método de coloração de SHORR (10), que torna bem evidentes tais variações, corando o citoplasma dos elementos acidófilos (cornificados, segundo o autor) em vermelho-alaranjado e o dos basófilos (não cornificados, segundo o autor) em verde, mais intenso nos elementos mais jovens e mais pálido nos elementos mais diferenciados.

As variações encontradas em nossos casos e cuja existência já mencionamos serão descritas pormenorizadamente mais adiante, no estudo de cada fase do ciclo

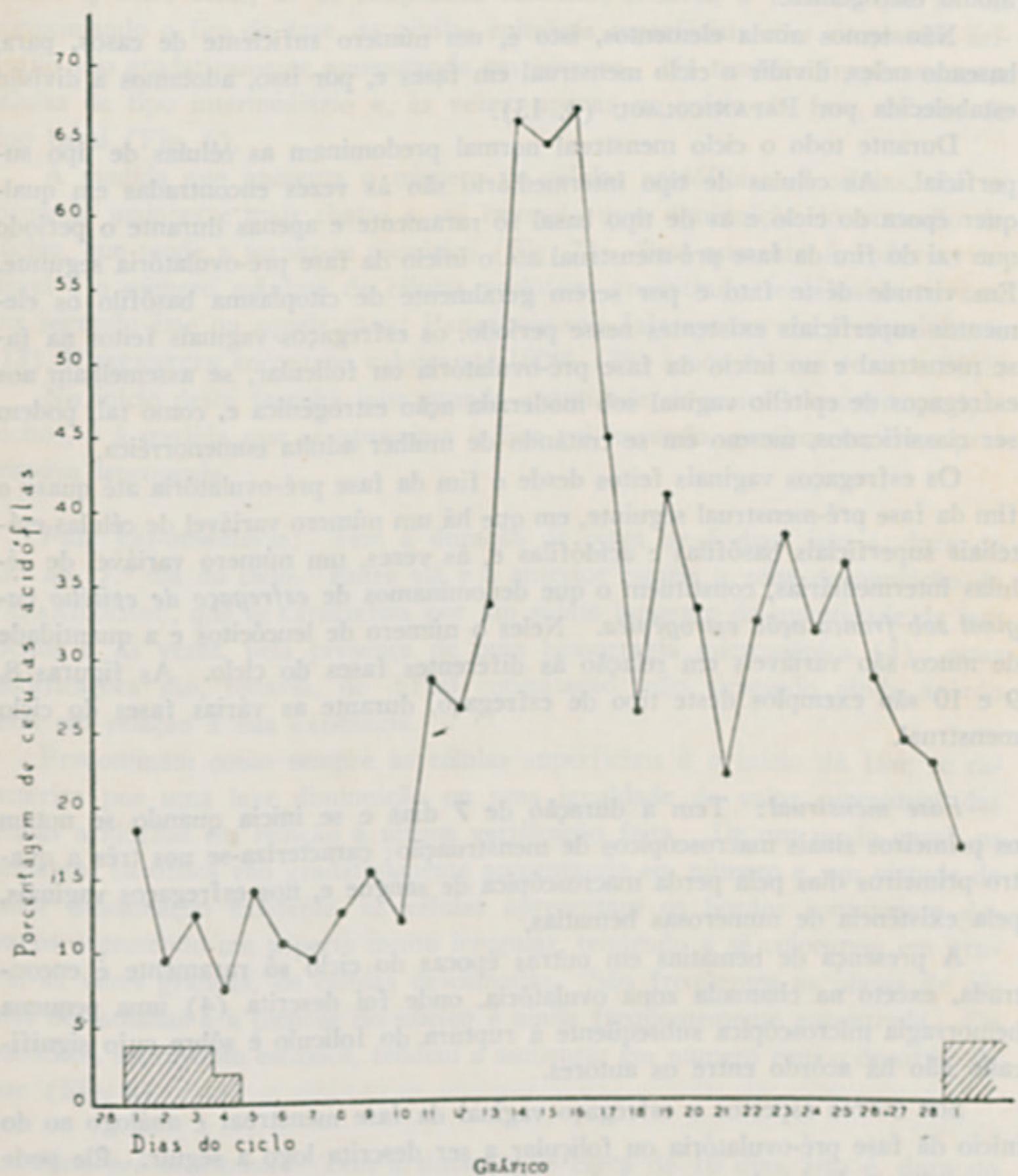
menstrual. O fato que nelas mais chama a atenção é o aumento do número de células acidófilas que ocorre durante a chamada fase folicular; o número dessas células vai aumentando até atingir um valor máximo, mais ou menos no meio do ciclo menstrual, para em seguida decrescer até atingir a um valor mínimo na fase menstrual e no início da fase folicular seguinte. Tal fato tem sido encontrado também por outros autores (13, 28, 14) e portanto repetidamente confirmado. PAPANICOLAOU (13) diz mesmo textualmente: "During the early part of the follicular phase both basophilic and acidophilic superficial type cells are well represented with the basophilic usually in the majority. As the follicular reaction approaches its peak, the superficial squamous cells become larger and more discret, while the acidophilic cells increase in number and often become predominant".

Para êsse aumento do número de células acidófilas adotamos a sugestiva denominação de PAPANICOLAOU, que se vê no texto citado, e que é a de "reação folicular". Durante a fase proliferativa ou pré-ovulatória desse autor, o que há é uma típica reação folicular. Essa reação êle a interpreta como sendo conseqüente a um aumento da quantidade de estrógenos em ação sôbre o epitélio vaginal. Experimentalmente ela tem sido induzida por injeções de estrógenos em casos de menopausa (16) e de amenorréia secundária, conforme relatamos um pouco atrás.

Afim de documentar e demonstrar de uma maneira clara e objetiva as variações da citologia vaginal por nós encontradas, fizemos, durante os ciclos menstruais normais que examinamos, a contagem diária dos elementos epiteliais com citoplasma basófilo e com citoplasma acidófilo, afim de estabelecer o seu valor percentual nas diferentes fases do ciclo. Tal procedimento já foi também empregado por outros autores (14, 28). O seguinte gráfico traduz nitidamente essas variações durante o ciclo menstrual normal de u'a mulher adulta eumonorreica, com intervalos de 28 dias entre as menstruações. A porcentagem de células acidófilas é pequena tanto na fase menstrual, como nos dias subseqüentes, a grande maioria dos elementos epiteliais existentes nessa ocasião apresentando citoplasma basófilo. À medida que decorrem os dias, o número de células acidófilas vai, de um modo geral, com pequenas oscilações diárias, aumentando até às proximidades do meio do ciclo menstrual, quando então apresenta um aumento mais ou menos súbito que, no caso em aprêço, foi de 27 para 68% em 48 horas. O valor percentual das células acidófilas permanece nesse nível máximo por alguns dias, com pequenas oscilações, e daí por diante vai, de um modo geral, através de grandes oscilações diárias, decrescendo, de sorte que na fase menstrual seguinte existem novamente poucas células com citoplasma acidófilo.

A reação folicular traduz o aumento da taxa de estrógenos que se dá durante o período de maturação folicular e o seu ápice, segundo PAPANICOLAOU,

traduz o momento em que a ovulação deve se dar. Por essa razão, é possível que o súbito aumento do número de células acidófilas encontrado neste caso seja o reflexo de uma ruptura folicular recente, com conseqüente súbito aumento



Variações do valor percentual das células acidófilas durante um ciclo eumenorréico de 28 dias.  
 Variations in the percentual value of acidophilic cells during an eumenorrhic cycle of 28 days.

da taxa de estrógenos no organismo e mais intensa atividade estrogênica sobre o epitélio vaginal em constante descamação. Todavia, como tal fenômeno nem sempre é encontrado, o aumento das células acidófilas se fazendo às vezes de

modo gradual, não sabemos por enquanto qual seja a sua importância. O número relativamente alto de células acidófilas encontrado na segunda metade do ciclo menstrual talvez seja devido ao fato de o corpo lúteo também secretar hormônio estrogênico.

Não temos ainda elementos, isto é, um número suficiente de casos, para, baseado neles, dividir o ciclo menstrual em fases e, por isso, adotamos a divisão estabelecida por PAPANICOLAOU (4, 13).

Durante todo o ciclo menstrual normal predominam as células de tipo superficial. As células de tipo intermediário são às vezes encontradas em qualquer época do ciclo e as de tipo basal só raramente e apenas durante o período que vai do fim da fase pré-menstrual até o início da fase pré-ovulatória seguinte. Em virtude deste fato e por serem geralmente de citoplasma basófilo os elementos superficiais existentes nesse período, os esfregaços vaginais feitos na fase menstrual e no início da fase pré-ovulatória ou folicular, se assemelham aos esfregaços de epitélio vaginal sob moderada ação estrogênica e, como tal, podem ser classificados, mesmo em se tratando de mulher adulta eumenorréica.

Os esfregaços vaginais feitos desde o fim da fase pré-ovulatória até quase o fim da fase pré-menstrual seguinte, em que há um número variável de células epiteliais superficiais basófilas e acidófilas e, às vezes, um número variável de células intermediárias, constituem o que denominamos de *esfregaço de epitélio vaginal sob franca ação estrogênica*. Neles o número de leucócitos e a quantidade de muco são variáveis em relação às diferentes fases do ciclo. As figuras 8, 9 e 10 são exemplos deste tipo de esfregaço, durante as várias fases do ciclo menstrual.

*Fase menstrual:* Tem a duração de 7 dias e se inicia quando se notam os primeiros sinais macroscópicos de menstruação; caracteriza-se nos três a quatro primeiros dias pela perda macroscópica de sangue e, nos esfregaços vaginais, pela existência de numerosas hematias.

A presença de hematias em outras épocas do ciclo só raramente é encontrada, exceto na chamada zona ovulatória, onde foi descrita (4) uma pequena hemorragia microscópica subsequente à ruptura do folículo e sobre cujo significado não há acôrdo entre os autores.

Sob outros aspectos o esfregaço vaginal da fase menstrual é análogo ao do início da fase pré-ovulatória ou folicular a ser descrita logo a seguir. Ele pode apresentar, todavia, de característico, células do endométrio exfoliado, principalmente nos 2.<sup>o</sup> e 3.<sup>o</sup> dias quando o sangramento menstrual é mais intenso. Essas células, quando isoladas, são dificilmente reconhecíveis, confundindo-se com os histiocitos, e por isso as percebemos sob a forma de fragmentos de tecido que uma vez encontrados têm valor patognomônico para o diagnóstico da fase.

*Fase pré-ovulatória ou folicular:* Tem a duração de cerca de 4 dias, ou seja, dura do 8.<sup>o</sup> ao 12.<sup>o</sup> dia do ciclo. Predominam as células epiteliais superficiais e, entre estas, as de citoplasma basófilo; todavia, à medida que se vai aproximando o fim da fase, as células epiteliais superficiais com citoplasma acidófilo vão gradativamente aumentando em número. Há também freqüentemente células de tipo intermediário e, às vezes, apenas no início da fase, células de tipo basal (Fig. 6).

À medida que aumenta o número de células acidófilas, as células vão se tornando maiores e mais chatas e vai havendo uma diminuição do tamanho do núcleo, que tende a tornar-se picnótico (Fig. 7). Esse aumento é, todavia, variável e o número máximo de células acidófilas encontrado será maior ou menor segundo este ou aquele caso; PAPANICOLAOU fala apenas em predominância (13), RUBENSTEIN encontrou valores até 100% (28) e nós valores de 60 a 80%.

No início desta fase há uma grande quantidade de muco e numerosos leucócitos, e à medida que se aproxima o fim vai havendo, geralmente, uma progressiva leucopenia.

*Fase pós-ovulatória:* Tem a duração de cerca de 5 dias, isto é, dura do 13.<sup>o</sup> ao 17.<sup>o</sup> dia do ciclo. Entre ela e a anterior estaria a zona de ovulação de PAPANICOLAOU, que se caracteriza por um súbito aumento da quantidade de leucócitos e, às vezes, pela presença de uma hemorragia microscópica (4); estas modificações são, todavia, de difícil constatação, não existindo ainda acôrdo geral em relação à sua existência.

Predominam como sempre as células superficiais e o início da fase se caracteriza por uma leve diminuição ou uma igualdade do valor percentual das células acidófilas em relação à última verificação feita. De um modo geral, os elementos basófilos vão gradativamente aumentando em número e, em virtude da maior descamação existente, as células apresentam os bordos comumente dobrados oferecendo um aspecto muito irregular, tendendo a se colocarem em grupos, às vezes grandes, de células descamadas. São freqüentes as placas de células descamadas e a picnose do núcleo é ainda freqüentemente encontrada. Os leucócitos, a princípio escassos, tendem a aumentar em número com o decorrer da fase (Fig. 8).

*Fase pré-menstrual:* Tem a duração de cerca de 10 dias, isto é, dura do 18.<sup>o</sup> ao 28.<sup>o</sup> dia do ciclo. As células epiteliais superficiais basófilas predominam francamente sobre as acidófilas e essa predominância é tanto maior quanto mais próxima a fase menstrual, embora seja variável, isto é, maior ou menor, com o decorrer da fase. A picnose nuclear é mais rara e vai gradualmente desaparecendo. O número de leucócitos é muito variável, tanto maior quanto mais próxima a fase menstrual (Fig. 9).

É difícil estabelecer um marco de separação entre esta fase e a anterior, assim como é possível confundir-se um esfregaço feito nesta fase com outro feito no início da fase pré-ovulatória. Por essa razão, às vezes, são necessários 2 a 3 esfregaços consecutivos para se conseguir determinar a fase do ciclo.

*Ação dos andrógenos:* A ação do hormônio androgênico sobre o epitélio vaginal se exerce em sentido contrário ao das substâncias estrogênicas e, por isso, tem sido denominada de antiestrogênica. Tal ação foi pesquisada por vários autores (28), tendo ficado demonstrado que ela determina em mulheres adultas normais, a parada do fluxo menstrual e uma involução do epitélio vaginal que se torna atrófico; estas modificações segundo os referidos autores podem ser acompanhadas pelo exame da citologia vaginal, onde se notará a transição gradual do esfregaço de epitélio vaginal sob franca ação estrogênica da mulher adulta normal para um esfregaço de epitélio vaginal em repouso ou sob ação estrogênica nula.

A maneira pela qual os andrógenos exercem essa ação sobre o epitélio vaginal ainda é discutida; se bem que pareça que eles atuem diretamente sobre o epitélio vaginal (29), é possível que a sua atividade se exerça inibindo a ação gonadotrófica da hipófise, desse modo diminuindo indiretamente o estímulo estrogênico sobre o epitélio vaginal (30, 31).

*Ação do fator gonadotrófico:* A ação da fração gonadotrófica da hipófise sobre o epitélio vaginal se exerce através do ovário e é por isso idêntica à dos estrógenos; ela já foi demonstrada na espécie humana por SHORR e PAPANICOLAOU (32).

O exame da citologia vaginal, em virtude da simplicidade de sua técnica, pode ser utilizado rotineira e intensamente no estudo dos problemas concernentes à fisiologia e patologia ovariana, permitindo não só uma melhor compreensão das diversas ginecopatias endócrinas, como também uma terapêutica melhor orientada das mesmas.

Assim, pelo seu estudo, nos é possível determinar o estado funcional dos ovários em casos de amenorréias, tanto primárias como secundárias, e de menopausa. A existência de variações cíclicas nesses casos revela um ovário funcionante mas não em grau suficiente para que a menstruação se dê.

A terapêutica estrogênica nesses casos poderá ser regulada pelo exame repetido da citologia vaginal, evitando-se conseqüentemente o emprêgo de doses excessivas, superiores às necessárias para a produção de uma reação folicular típica, que, de per si, bastaria ao tratamento, como já foi demonstrado para a menopausa (16).

A terapêutica pelos hormônios gonadotrópicos também de muito se beneficiará sendo acompanhada pelo exame da citologia vaginal; a falta de resposta do ovário, no caso de uma glândula atrófica ou hipoplásica, assim como a insuficiência da dose empregada, poderiam ser precocemente descobertas pelo não aparecimento das alterações de tipo folicular no esfregaço vaginal.

No tratamento androgênico das ginecopatias será útil, através dos esfregaços vaginais, determinar a dose necessária para induzir modificações atróficas no epitélio vaginal e assim evitar o emprêgo de doses excessivas. Do mesmo modo, a castração radiológica poderá ser controlada e avaliada através das modificações que aparecerem na citologia vaginal.

O método dos esfregaços vaginais tem ainda, ao que parece, uma grande aplicação como meio de testar na espécie humana as substâncias estimulantes ou inibidoras da estrogênese, à semelhança do que se faz para a tiróide dessecada, em que se empregam casos de mixedema com metabolismo basal baixo.

Nos problemas de esterilidade, êsse método pode ser usado para a determinação da época em que a ovulação se deve dar. D'AMOUR (33), em trabalho recente, comparando diversos métodos utilizados para a determinação da época da ovulação, dá grande valor ao método dos esfregaços vaginais.

No nosso entender o exame da citologia vaginal é um exame de real valor e com múltiplas aplicações, das quais citamos apenas as principais; de um modo geral, sempre que o estudo da função ovariana se fizer necessário êsse método poderá ser utilizado para refletir, de modo fácil e mais ou menos seguro, as variações da taxa de substâncias estrogênicas, que, em última análise, traduzem fenômenos que ocorrem nos ovários durante o ciclo menstrual e particularmente durante as diversas fases da vida sexual feminina. O exemplo mais recente de um tal estudo é o do emprêgo dos esfregaços vaginais com o fim de traduzir as alterações cíclicas da função ovariana para correlacioná-las com as alterações que se operam no psiquismo e interpretadas à luz da psicanálise (23, 24).

## SUMÁRIO

Foram relatados os resultados obtidos com o exame da citologia vaginal humana durante o ano de 1943, na Seção de Endocrinologia do Instituto Butantan.

Preliminarmente foi estudada a questão técnica, e então apresentada uma modificação da pipeta utilizada por PAPANICOLAOU.

Os casos estudados foram os mais variados de modo a tornar possível uma visão de conjunto. Foram feitos exames em meninas em fase comprovadamente prepuberal, em adolescentes, tanto normais como com atraso da menarca ou com amenorréia primária, em mulheres adultas eumenorréicas, em casos de ame-

norréia secundária, pelo menos um deles acompanhado repetidamente durante o tratamento hormonal pelos estrógenos, em casos de menopausa e em alguns casos de distúrbios menstruais.

Foi sugerida a classificação dos esfregaços vaginais encontrados em 4 tipos gerais: 1.º) esfregaços de epitélio vaginal em repouso, isto é, não submetido à ação estrogênica; 2.º) esfregaços de epitélio vaginal submetido a pequena ação estrogênica; 3.º) esfregaços de epitélio vaginal submetido a moderada ação estrogênica e 4.º) esfregaços de epitélio vaginal sob franca ação estrogênica.

Foram encontradas, confirmando os achados de PAPANICOLAOU, RUBENSTEIN e outros, modificações cíclicas da citologia vaginal durante o ciclo menstrual normal, tendo sido possível, por meio da contagem dos diferentes elementos celulares, tornar mais evidente a chamada reação folicular característica da época em que a ovulação deve se dar.

Finalmente, com base nos resultados obtidos e no de outros autores, foram analisadas as possibilidades do método como meio de estudar a função ovariana e traduzir as variações da taxa de substâncias estrogênicas, durante o ciclo menstrual e as diversas fases da vida sexual feminina.

#### ABSTRACT

The results with the vaginal smear technic in patients from the "Seção de Endocrinologia do Instituto Butantan" are presented. The material was obtained by using a curved glass pipette, a slight modification of that of PAPANICOLAOU, and stained by the Shorr's method.

The cases studied were of normal prepubertal or adolescents girls, with delayed menarche or primary amenorrhea, adult eumenorrheic women, secondary amenorrhea or others disorders of the menstrual cycle and menopause.

A classification of the vaginal smears in four general types was suggested: 1.) smears from vaginal epithelium no submitted to estrogenic action, characterized by cells of the outer basal type and numerous leucocytes; 2) smears from vaginal epithelium submitted to slight estrogenic action, characterized by an increasing number of cells of the intermediate and superficial types with basophilic cytoplasm and vesiculous nucleus; 3.) smears from vaginal epithelium submitted to moderate estrogenic action, characterized by a greater number of superficial cells with still predominantly basophilic cytoplasm and vesiculous nucleus, and, finally; 4.) smears from vaginal epithelium submitted to full estrogenic action, characterized by the greatest number of superficial cells with predominantly acidophilic cytoplasm and picnotic nucleus and a few leucocytes.

In the adult eumenorrheic women, cyclic modifications of the vaginal cytology were encountered, in agreement with the findings of PAPANICOLAOU, RUBENSTEIN and others. The so called follicular reaction was evidenced by counting the cells during all the cycle.

The possibilities of the vaginal smear technics a method of studying the human ovarian function through the variations in organic estrogenic levels and its action in vaginal epithelium were considered.

### BIBLIOGRAFIA

1. Stockard, C. R. & Papanicolaou, G. N. (1917). The existence of a typical oestrus cycle in the guinea pig with a study of its histological and physiological changes. *Amer. J. Anat.*, 22, 225.
2. Allen, E. & Doisy, E. A. (1923). An ovarian hormone. Preliminary report on its localization, extraction, partial purification and action, on test animals. *J. Amer. med. Ass.*, 81, 819.
3. Di Paola, G. (1941). Citologia vaginal y funcion ovarica en la mujer. *Rev. Med. Quir. de Pat. Feminina*, 17, 102.
4. Papanicolaou, G. N. (1933). The sexual cycle in the human female as revealed by vaginal smears. *Amer. J. Anat.*, 52, 519.
5. Salmon, U. J., Walter, R. I. & Geist, S. H. (1938). Effect of testosterone propionate on glucogen content of human vaginal smears. *Proc. Soc. exp. Biol. & Med.*, 39, 467.
6. Geist, S. H. & Salmon, U. T. (1939). Evaluation of human vaginal smear in relationship to the histology of the vaginal mucosa. *Amer. J. Obst. & Gynec.*, 38, 392.
7. Rubenstein, B. B. (1940). The vaginal smear-basal body temperature technic and its application to the study of functional sterility in women. *Endocrinology*, 27, 843.
8. Fournier, J. C. M., J. M. Manaro, S. M. & Blanco, V. (1942). Valor clínico del examen del exudato vaginal. *Arch. Clin. e Inst. de End. da Fac. Med. Montevideo*, 2, 211.
9. Mack, H. C. (1942). A new and rapid method of staining vaginal smears based upon a specific color reaction for glycogen. *Harper Hosp. Bull.*, 1, 54; apud Mack, H. C. (1943). Vaginal smear technic. *J. of Clin. Endocr.*, 3, 169.
10. Shorr, E. (1941). A new technic for staining vaginal smears: III, A single differential stain. *Science*, 94, 545.
11. Shorr, E. (1940). A new technic for staining vaginal smears. *Science*, 91, 321.
12. Shorr, E. (1940). A new technic for staining vaginal smears: II. *Science*, 91, 579.
13. Papanicolaou, G. N. & Traut, H. F. (1943). *Diagnosis of uterine cancer by the vaginal smear*. New York: The Commonwealth fund.
14. Murray, E. G. (1941). *El ciclo vaginal humano, sus modificaciones fisiologicas y patologicas*. Buenos Aires: Editor Amiceto Lopez.
15. Dorfman, R. I., Grenlich, W. W. & Solomon, C. I. (1937). The excretion of androgenic and estrogenic substances in urine of children. *Endocrinology*, 21, 741.

16. Papanicolaou, G. N. & Shorr, E. (1936). The action of ovarian follicular hormone in the menopause, as indicated by vaginal smears. *Amer. J. Obst. & Gynec.*, 31, 806.
17. Schneider, P. (1939). Prophylactic endocrine therapy in artificial menopause. *Amer. J. Obst. & Gynec.*, 37, 861.
18. Allen, E., Smith, G. M. & Gardner, W. U. (1936). Acentuation of the growth effect of theelin on genital tissues by arrest of mitosis with colchicine. *Anat. Rec.*, 67, 49.
19. Mack, H. C. (1943). Vaginal smear technic. *J. clin. Endocrinology*, 3, 169.
20. Papanicolaou, G. N. (1933). The existence of a "postmenopausae" sexual rhythm in women, as indicated by the study of vaginal smears. *Anat. Rec.*, 55, 71.
21. Papanicolaou, G. N. (1939). Action of gonadotropic hormones in amenorrhea as evaluated by vaginal smears. *Proc. Soc. exp. Biol. & Med.*, 41, 629.
22. Rubenstein, B. B. (1937). The relation of cyclic changes in human vaginal-smears to body temperatures and basal metabolic rates. *Amer. J. Physiol.*, 119, 635.
23. Benedek, T. & Rubenstein, B. B. (1939). The correlations between ovarian activity and psychodynamic processes: I. The ovulative phase. *Psychosomatic Medicine*, 1, 245.
24. Benedek, T. & Rubenstein, B. B. (1942). The sexual cycle in women; cap. 3, p. 31-44, Washington, D. C. National Research Council, *Psychosomatic Medicine Monographs*, 3, 1-2.
25. Allen, E. (1937). The menstrual cycle of the monkey, macacus rhesus: observations on normal animals, the effects of removal of the ovaries and the effects of injections of ovarian and placental extracts into the spayed animals. *Contr. to Embr.* n. 98. *Carnegie Inst. Wash. Pub.* 380: 19, 3.
26. Papanicolaou, G. N. (1941). Some improved methods for staining vaginal smears. *J. Lab. clin. Med.*, 26, 1200.
27. Papanicolaou, G. N. (1942). A new procedure for staining vaginal smears. *Science*, 95, 438.
28. Papanicolaou, G. N., Ripley, H. S. & Shorr, E. (1939). Suppressive action of testosterone propionate on menstruation and its effect on vaginal smears. *Endocrinology*, 24, 339.
29. Shorr, E., Papanicolaou, G. N. & Stimmel, B. F. (1938). Neutralization of ovarian follicular hormone in women by simultaneous administration of male sex hormone. *Proc. Soc. exp. Biol. & Med.*, 37, 759.
30. Robson, J. M. (1938). Quantitative data on the inhibition of oestrus by testosterone, progesterone and certain other compounds. *J. Physiol.*, 92, 371.
31. Zuckerman, S. (1938). The influence of testosterone propionate on the changes induced in monkeys by gonadotrophic hormone. *J. Physiol.*, 93: Proceedings 15 p.
32. Shorr, E. & Papanicolaou, G. N. (1939). Action of gonadotropic hormones in amenorrhea as evaluated by vaginal smears. *Proc. Soc. exp. Biol. & Med.*, 41, 629.
33. D'Amour, F. E. (1943). A comparison of methods used in determining the time of ovulation. *J. clin. Endocrinology*, 3, 41.
34. Cabral, T. (1928). Modificações das células epiteliais da vagina humana na gravidez e na menopausa. *Tese Fac. Med. Univ. S. Paulo.*

(Recebido para publicação em dezembro de 1944).

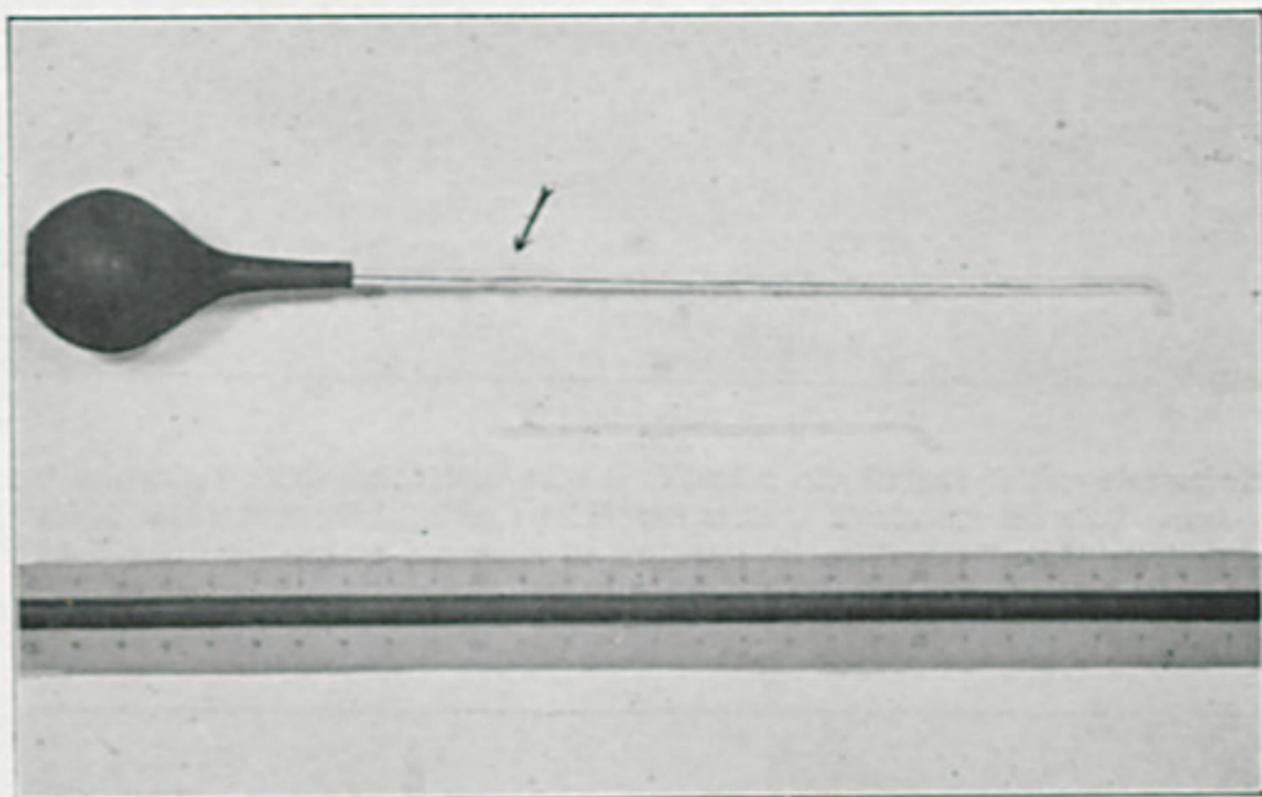


FIG. 1

Pipeta de vidro. Notar o orifício de escapamento.  
Glass pipette. Note the opening for air passage.

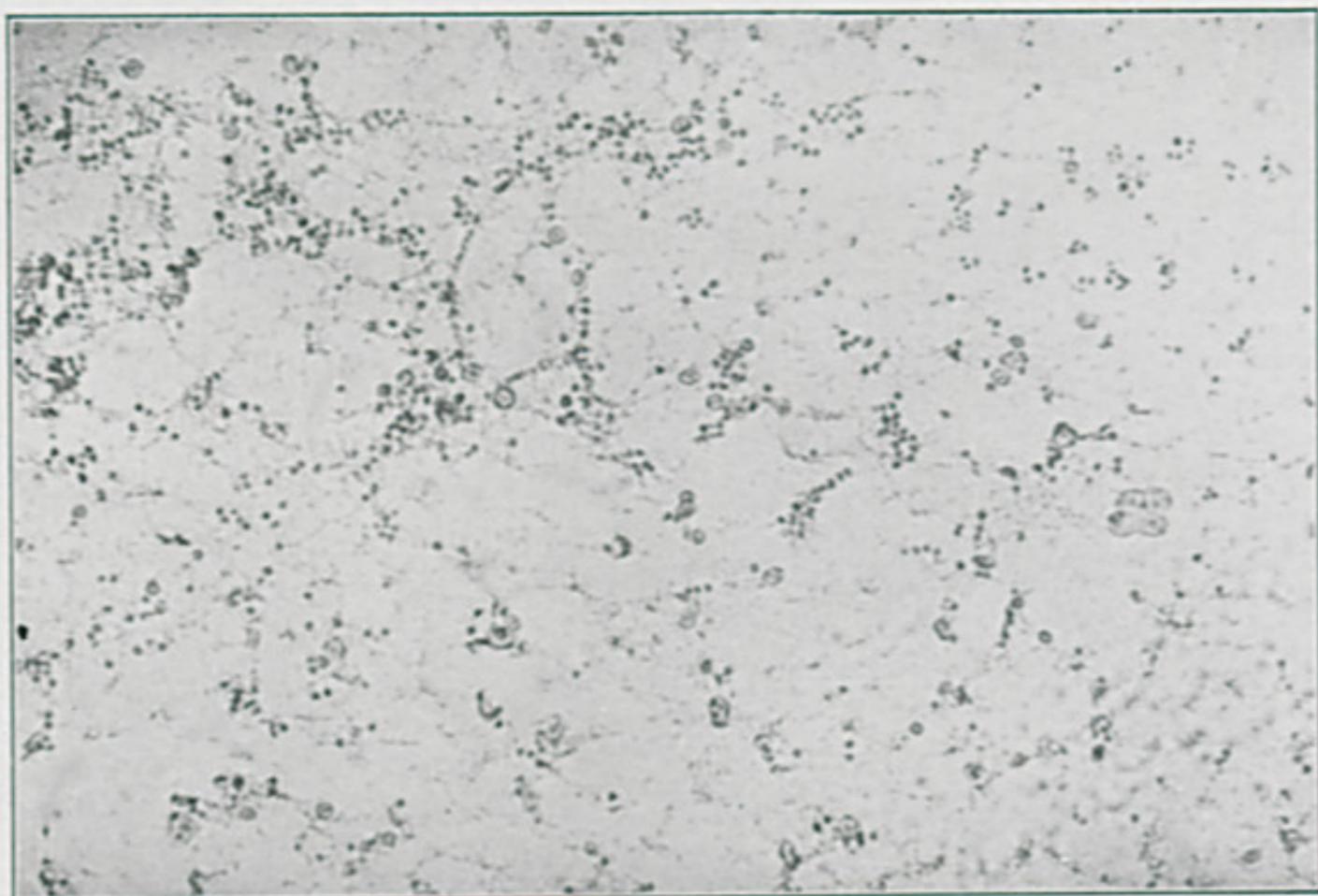


FIG. 2

Esfregaço de epitélio vaginal não submetido à ação estrogênica, obtido de menina impúbere. Pode ser encontrado também nos últimos períodos da menopausa.  $\times 50$ .  
Smear from vaginal epithelium no submitted to estrogenic action, from a girl in the prepubertal state. It is also found in the last periods of menopause.

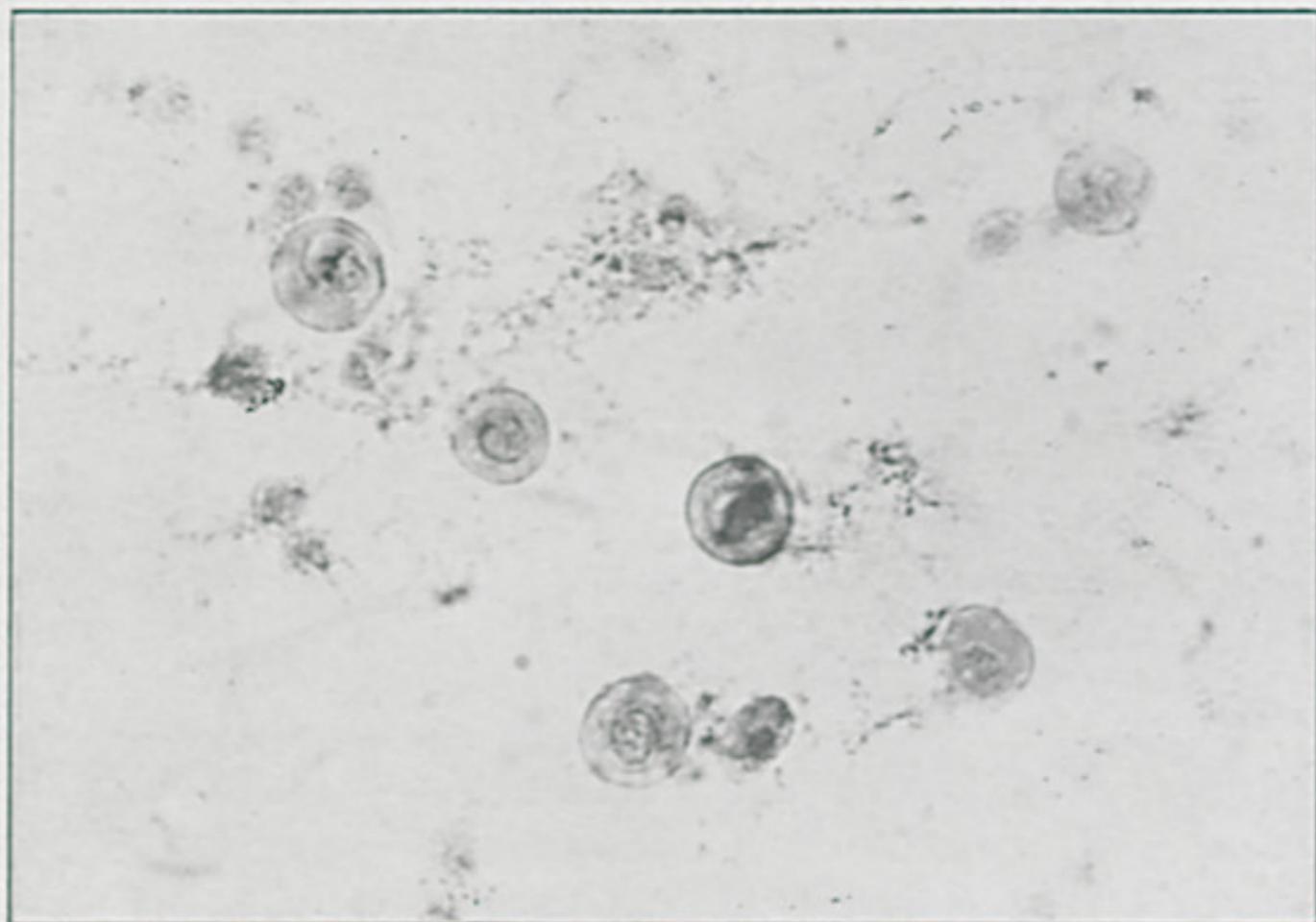


FIG. 3

Esfregaço de epitélio vaginal não submetido à ação estrogênica, em maior aumento para se verificar as células basais.  $\times 300$ .  
Smear from vaginal epithelium no submitted to estrogenic action in higher-power view, to see the outer basal cells.

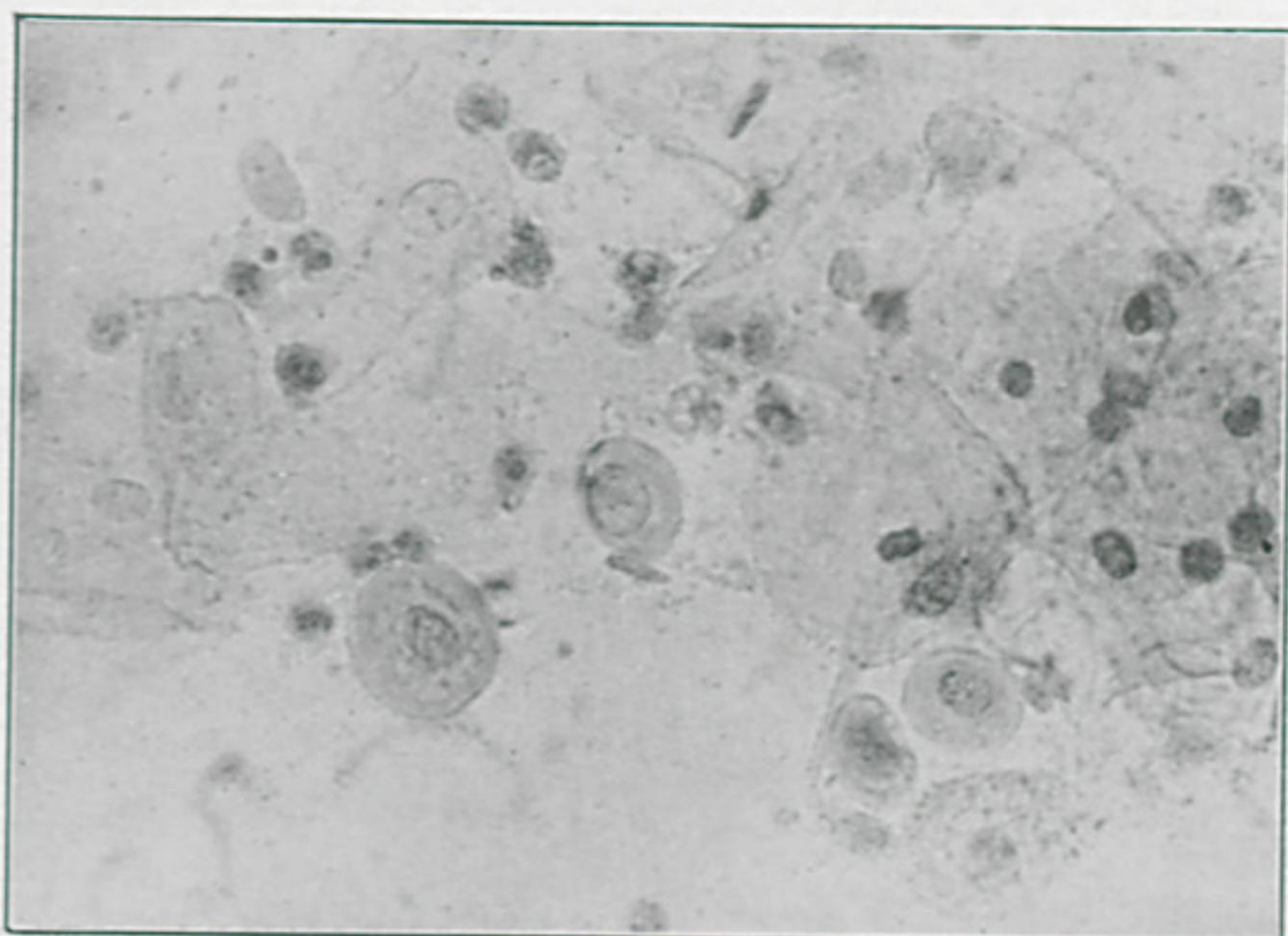


FIG. 4

Esfregaço de epitêlio vaginal sob pequena ação estrogênica, obtido de uma mulher no segundo ano da menopausa. É encontrado também na adolescência.  $\times 300$ .  
Smear from vaginal epithelium submitted to slight estrogenic action, from a woman with two years of menopause. It is also found in adolescent girls.

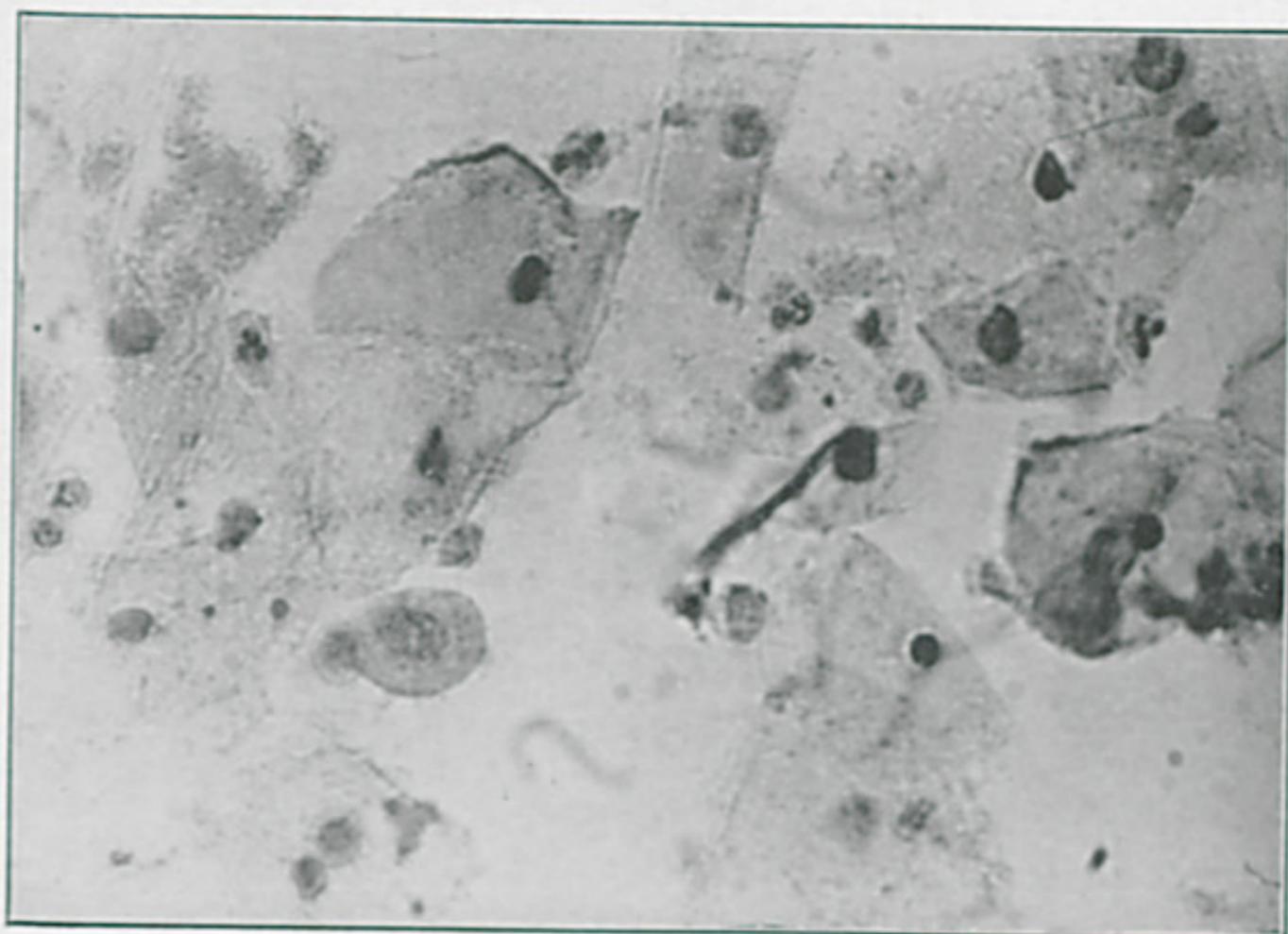


FIG. 5

Esfregaço de epitêlio vaginal sob moderada ação estrogênica obtido em um caso de insuficiência ovariana (amenorrêia). É também encontrado no início da menopausa, na adolescência e no início da fase pré-ovulatória.  $\times 300$ .  
Smear from vaginal epithelium submitted to moderate estrogenic action, from a case of ovarian failure (amenorrhea). It is also found in early menopause, adolescent girls and in the first part of the pre-ovulative phase.

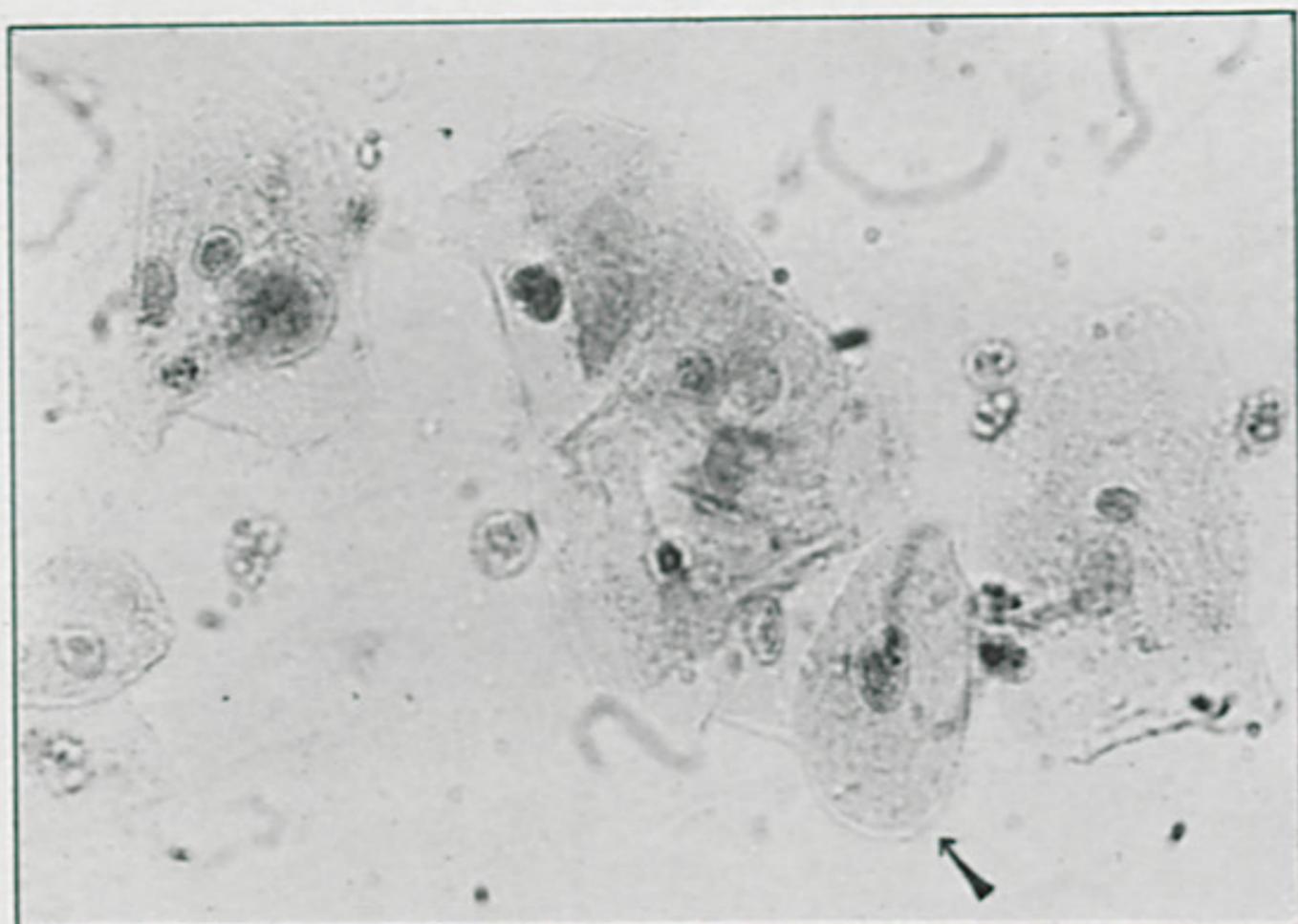


FIG. 6

Esfregaço de epitélio vaginal sob moderada ação estrogênica, do início da fase pré-ovulatória. Assinalada vê-se uma célula intermediária.  $\times 300$ .  
Smear from vaginal epithelium submitted to moderate estrogenic action, from the early part of the pre-ovulative phase. The arrow shows an intermediate cell.

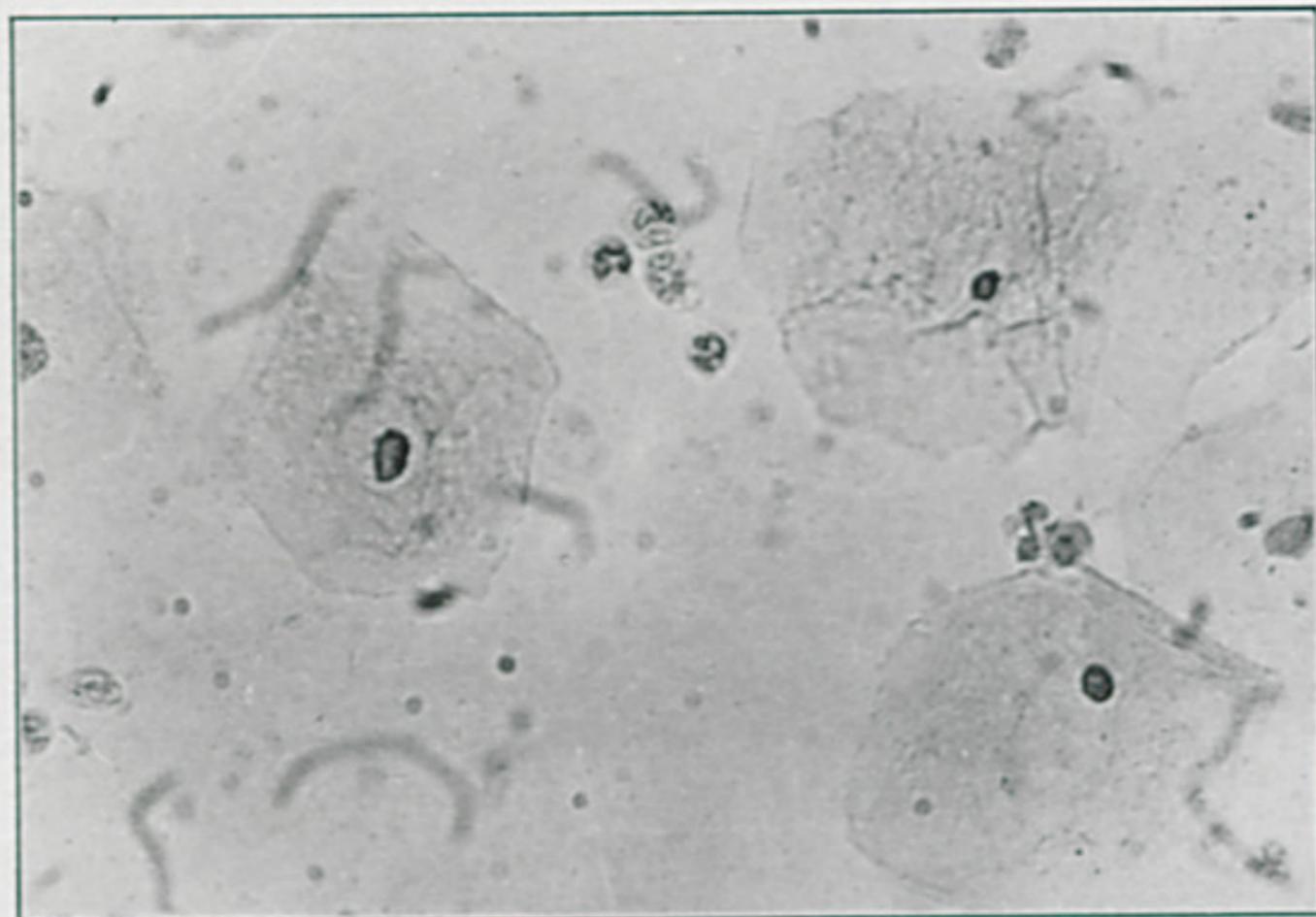


FIG. 7

Esfregaço de epitélio vaginal sob franca ação estrogênica, do fim da fase pré-ovulatória ou folicular, traduzindo o ápice da reação folicular. Vêm-se somente células superficiais, a grande maioria com núcleo cariopcnótico e citoplasma acidófilo.  $\times 300$ .  
Smear from vaginal epithelium submitted to full estrogenic action, from the end of the pre-ovulative or follicular phase, corresponding to the peak of the follicular reaction. There is only superficial cells in the view, the great majority with picnotic nucleus and acidophilic cytoplasm.

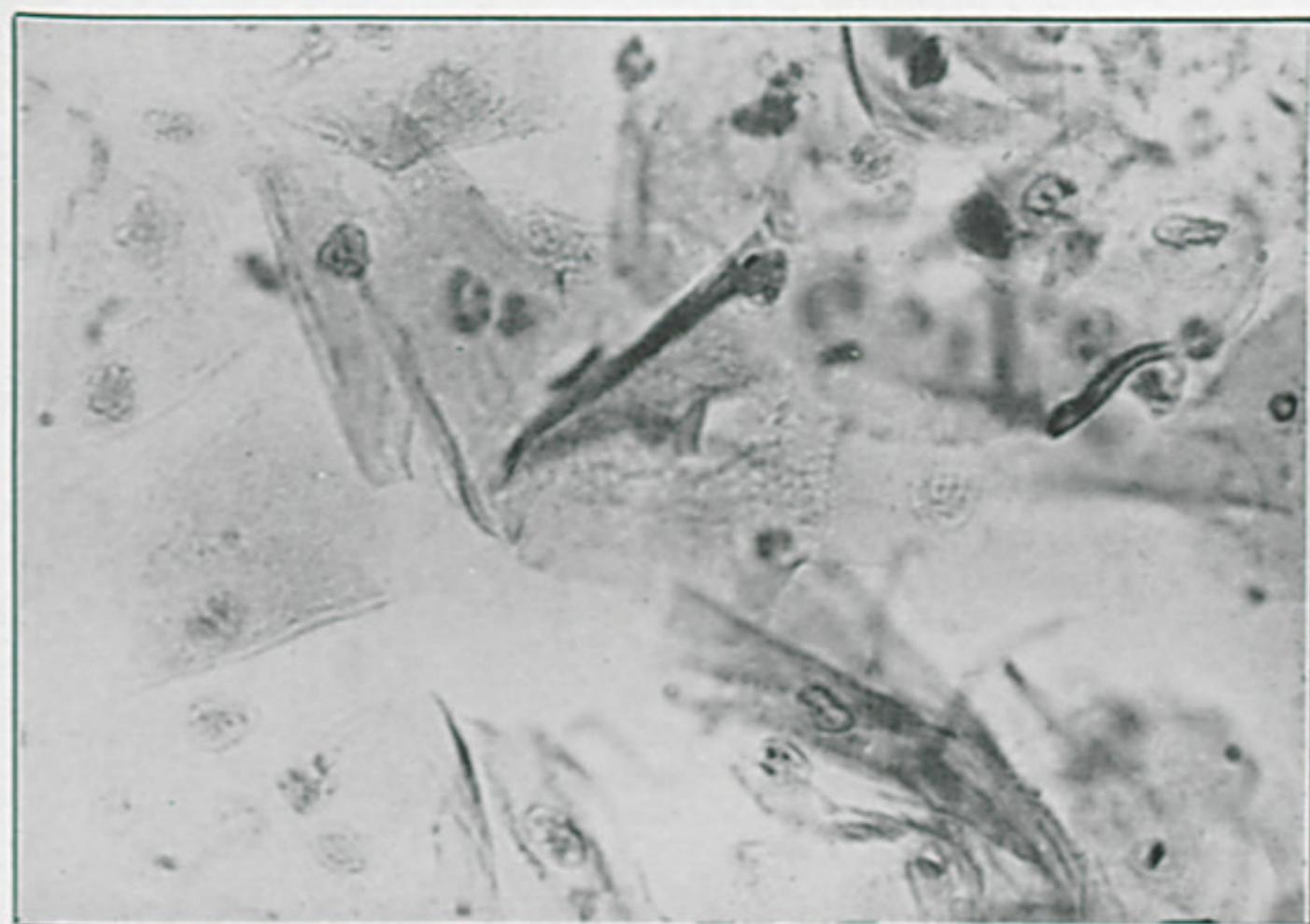


FIG. 8

Esfregaço de epitélio vaginal sob franca ação estrogênica, da fase post-ovulatória. Nota-se grande número de células dobradas, traduzindo grande descamação.  $\times 300$ .

Smear from vaginal epithelium submitted to full estrogenic action, from the post-ovulatory phase. There is a greater number of folded cells, corresponding to great desquamation.

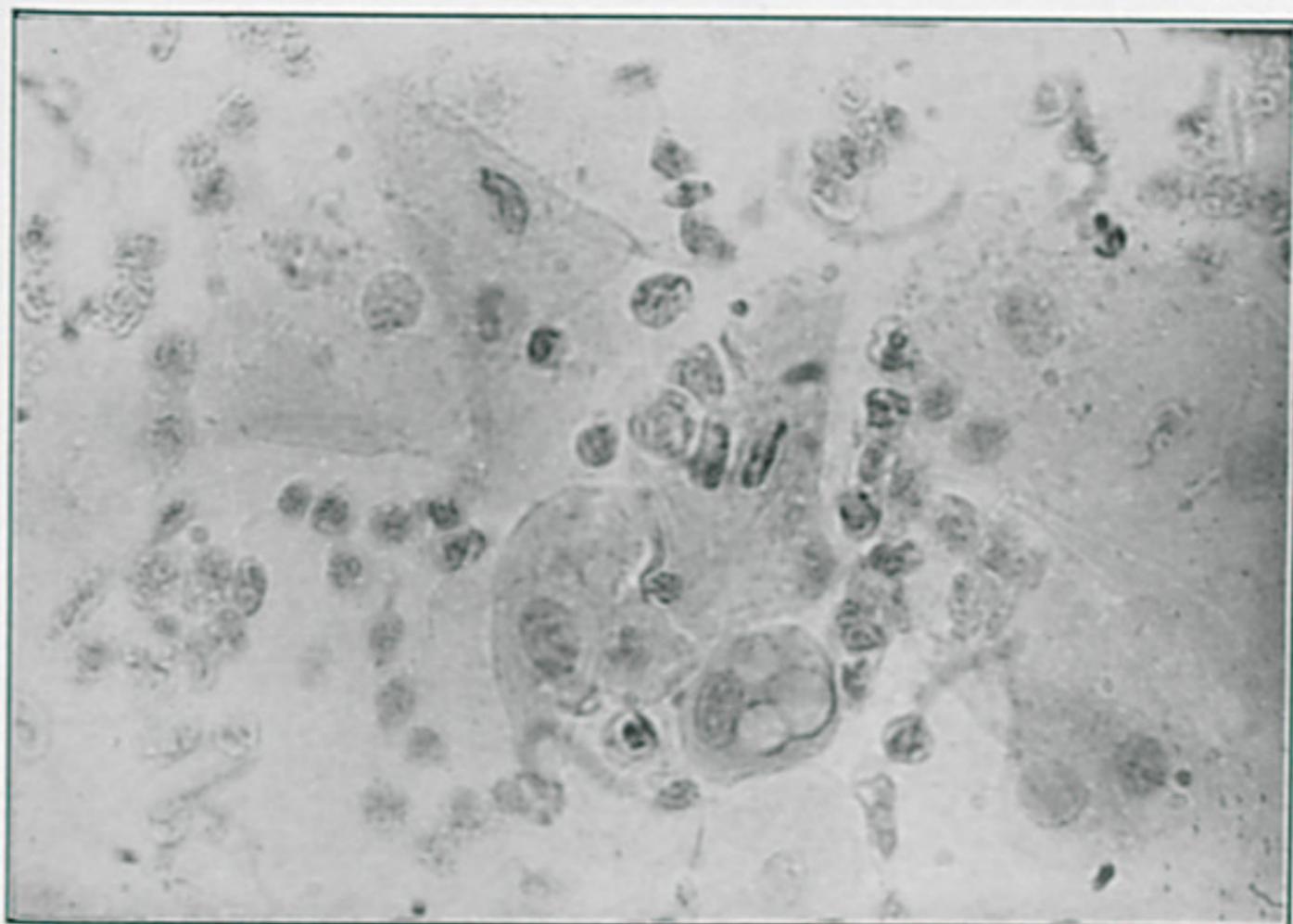


FIG. 9

Esfregaço de epitélio vaginal sob franca ação estrogênica da fase pré-menstrual. Notar o grande número de leucócitos.  $\times 300$ .

Smear from vaginal epithelium submitted to full estrogenic action, from the premenstrual phase. There is numerous leucocytes.



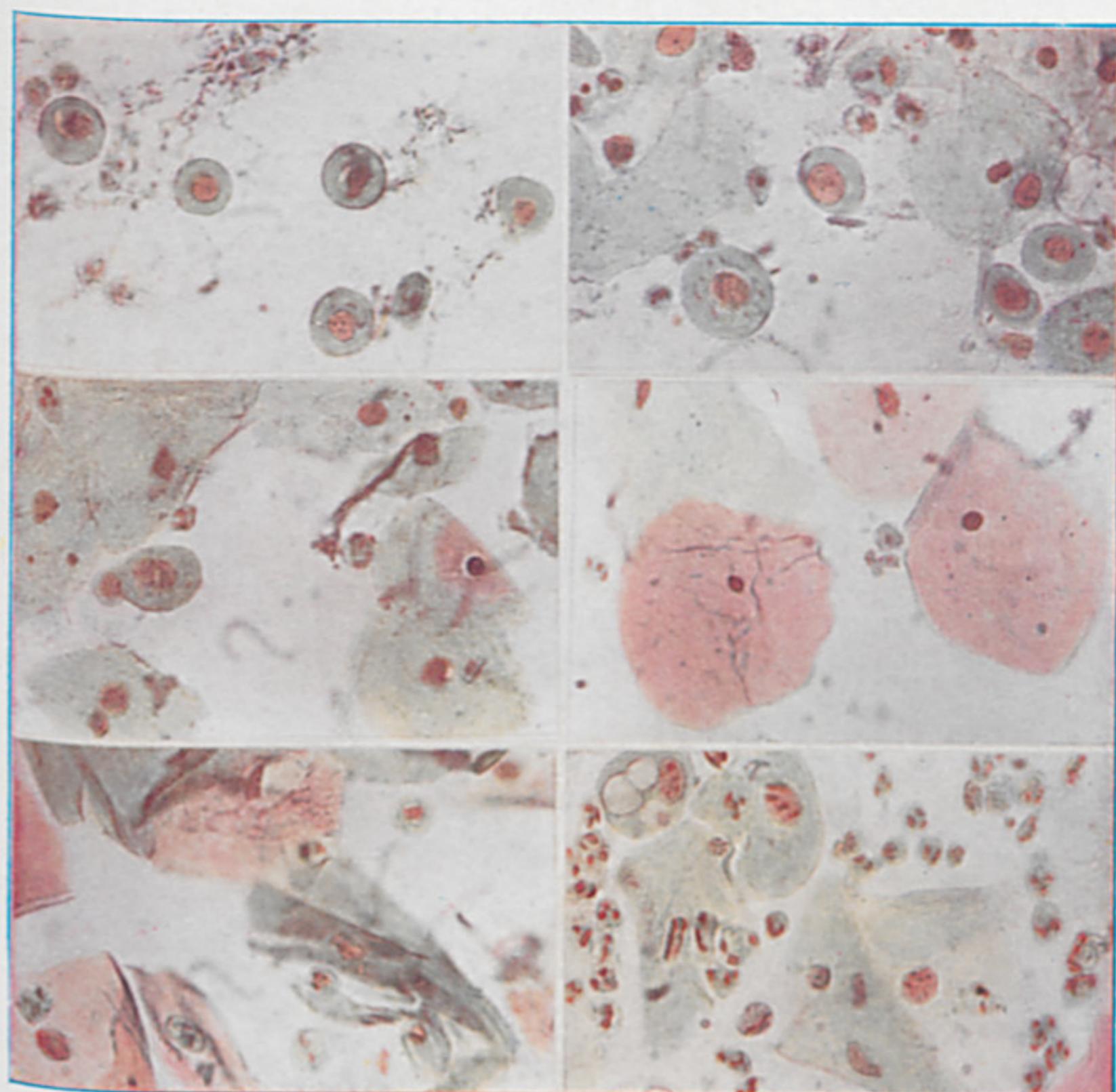


FIG. 10

Pequenos trechos a cores das microfotografias apresentadas. O número ao lado é o mesmo da figura da microfotografia correspondente. Os números 3, 4, 5 e 7 traduzem os 4 tipos gerais de esfregaços vaginais, a saber:

- 3 — Esfregaço de epitélio vaginal em repouso.
- 4 — Esfregaço de epitélio vaginal submetido a pequena ação estrogênica.
- 5 — Esfregaço de epitélio vaginal submetido a moderada ação estrogênica.
- 7 — Esfregaço de epitélio vaginal submetido a franca ação estrogênica.

Os números 5, 7, 8 e 9 traduzem as modificações cíclicas da citologia vaginal durante o ciclo menstrual normal:

- 5 — Início da fase pré-ovulatória.
- 7 — Fim da fase pré-ovulatória ou ápice da reação folicular, indicando o momento em que a ovulação deve se dar.
- 8 — Fase post-ovulatória.
- 9 — Fase pré-menstrual.

