

BIOLOGIA ESPERMO-VAGINAL *

DR. DANIEL NIETO ROARO

EN los últimos tiempos la ciencia médica se ha interesado de manera especial por los estudios de la vida del espermatozoide dentro de los órganos genitales femeninos, estudios que en general están enfocados hacia la solución de intrincados problemas de esterilidad masculina o femenina. Diversos investigadores han dirigido sus pesquisas hacia el contenido seminal buscando caracteres físicos, organoléuticos, químicos, pH, etc., o bien, estudiando morfológicamente las células espermáticas o atendiendo a sus propiedades fisiológicas: movilidad, vitalidad y resistencia. Otros científicos igualmente ilustres han trabajado en los medios femeninos, tales como el contenido vaginal con sus caracteres (físicos, químicos, citológicos, parasitológicos y bacteriológicos). También se ha investigado sobre las cualidades de las secreciones, muy particularmente la cervical, pero han sido pocos los que se han ocupado del estudio del conjunto, es decir, de los dos elementos por investigar, juntos, tal y como normalmente la naturaleza los pone en contacto.

Puede decirse que han sido muy especialmente los científicos mexicanos y específicamente los ginecólogos los que han tornado, si no prioridad, al menos supremacía en las investigaciones de estos fenómenos. Podemos decir sin temor a caer en petulancia, que hemos aportado conocimientos experimentales unos y teóricos otros, pero todos nuevos e importantes.

A todo esto ha contribuido la aportación que se ha tenido en el recurso

* Trabajo de ingreso, leído el 12 de septiembre de 1956.

de nuevos instrumentos, tales como el microscopio de contraste de fases, o en las modernas técnicas de fluoroscopia microscópica y aún del microscopio electrónico.

Un cuadro general de estas nuevas técnicas de investigación a que me refiero podría resumirse de esta manera:

- 1) Estudio de la esperma depositada en la vagina después del coito. (Este estudio es inmediato.)
- 2) Estudio de la esperma depositada en la vagina dos horas después.
- 3) Estudio de los medios de paso del espermatozoide, muy especialmente el medio cervical.
- 4) Otros estudios complementarios sobre parasitología y bacteriología de la mezcla vagino-espermática.

TÉCNICA: Esta técnica fué inspirada en las necesidades clínicas que en el terreno de la ginecología se presentaron a los medios interesados en el problema de la esterilidad matrimonial. En mi caso personal, el problema me fué expuesto por el Sr. Dr. Carlos Guerrero, quien me sugirió el plan de trabajo y aportó los numerosos casos que pudieron hacer posible la realización de esta investigación.

Detalladamente podemos describir la técnica como sigue:

El matrimonio es ilustrado en los diversos pasos que seguirá la investigación, por escrito, y en una forma clara y sencilla. Será provisto ese matrimonio de una caja de Petri limpia, seca y envuelta. No es absolutamente necesario entregar una caja estéril, porque no se va a efectuar ningún estudio de cultivo. Sin embargo, cuando el caso lo requiera se entregará una caja estéril y se agregarán unas líneas sobre el manejo de esa caja estéril.

Lo que ese matrimonio va hacer es lo siguiente: efectuará un coito en los días cercanos al intervalo menstrual. Inmediatamente después del coito la señora se pondrá en una posición tal, que abriéndose los labios de la vulva caiga la esperma depositada en la vagina, precisamente en la caja de Petri que para esto se ha abierto. Esta caja convenientemente cerrada se trasladará al laboratorio inmediatamente para ser depositada en la estufa y para hacer observaciones inmediatas.

Se cita a la señora para dos horas después del coito, para subsecuentes investigaciones.

INVESTIGACIONES: Los datos que a continuación damos, se refieren a una casuística de 97 matrimonios, que no habiendo procreado familia, estuvieron de acuerdo en practicarse estas investigaciones. Se escogió para el caso especial, el momento del intervalo menstrual por lo que los exámenes citológicos son un tanto monótonos.

Primera prueba: Del resultado del coito se obtendrá una mezcla vagino-espermática formada por las secreciones completas de la esperma en una eyaculación, más las secreciones vaginales y en parte cervicales femeninas. Se hacen los estudios siguientes:

A) *Cantidad:* Desde gotas a 10 c.c., término medio 5 c.c. (Esto es lo que se obtiene en la caja de Petri). (Anormalmente puede sólo haber gotas o no haber ni una gota).

B) *Aspecto y color:* Normalmente la mezcla vagino-espermática es un líquido turbio y de color gris amarillento. (Anormalmente puede estar semi-transparente cuando no hay espermatozoides, ser de color rosado cuando hay sangre, de color amarillento franco o hasta anaranjado, cuando hay pululación bacteriana excesiva y anormal).

C) *Consistencia:* Normalmente es viscosa. Esta viscosidad se modifica con la permanencia en la estufa, entonces se vuelve flúida. Puede estar excesivamente viscosa cuando hay pululación bacteriana vaginal o flúida aún en frío cuando hay azoospermia. De todas maneras la viscosidad depende esencialmente de las características espermáticas.

D) *pH:* Se determina por el método colorimétrico de Clarck y oscila entre 6.5 y 6.9 normalmente. De manera anormal hay pH más bajo, hasta 6.0 y raramente 5.9. Pocas veces el pH sube por arriba de 7.2 (cuando no hay bacilos de Döderlein).

E) *Cuenta de espermatozoides:* Aunque hemos practicado estas cuentas desde hace mucho tiempo, sin embargo, en la publicación de estos estudios tiene prioridad el Dr. Luis Rodríguez Villa quien ha tratado el asunto de manera muy amplia y técnica e inclusive bajo un aspecto estadístico.

I) *Ventajas de esta cuenta:* Tiene ciertas ventajas practicar la cuenta de esta manera, en primer lugar se elimina el desagradable método de la masturbación, o el igualmente desagradable del coitus interruptus; esto a veces es una barrera infranqueable en ciertos individuos muy escrupulosos. Se elimina también el problema de orden moral o de orden religioso. Las religiones cristianas: católica y protestante se oponen a estas prácticas (la católica aún para fines científicos), la religión hebrea y la musulmana igualmente (sólo de estas religiones tengo yo datos en mis investigaciones). El hecho de hacer la cuenta en la mezcla vagino-espermática elimina estos escollos. Además en términos generales cuando los espermatozoides están en estado normal tanto morfológica, fisiológica, como numéricamente, esta cuenta es más que suficiente para todas las investigaciones.

II) *Desventajas de esta cuenta:* Sin embargo cuando encontramos todos los espermatozoides muertos, o cuando sus movimientos son muy lentos y torpes, o cuando no alcanzan las cifras normales de 50.000,000 a

100.000,000 por c.c., es del todo forzoso practicar una espermobioscopia por masturbación o por coitus interruptus y esto debido a lo siguiente: Los líquidos vaginales demasiado ácidos matan rápidamente a los espermatozoides (nosotros debemos saber si los espermatozoides llegaron vivos a la vagina y ahí se mueren o si ya llegaron muertos). Los líquidos vaginales con gran pululación de bacterias banales grampositivas también los matan; igualmente vaginas infestadas con trichomonas no dejan vivir mucho tiempo a estas células. Cuando hay muchos piocitos tenemos otra causa de muerte, y por último, la aplicación de medicamentos con fines terapéuticos o anti-concepcionales también detiene su vitalidad.

Un estudio directo también es necesario cuando la cantidad es baja pues recordemos que en una mezcla vaginal, a los líquidos de la esperma, se agregan los vaginales en una proporción que ignoramos, así pues cuando hay duda, cuando se obtienen proporciones muy bajas tendremos que recurrir a la espermoscopia directa.

III) Datos de la técnica: Creemos ser los primeros en la aplicación de la microscopia de fases a estas técnicas. El microscopio de fases es en estos casos verdaderamente insustituible por cualquier otro sistema de observación. Con ningún otro método se ve la estructura del espermatozoide tan claramente, ni se pueden hacer cuentas y observar con tanta precisión como con este valiosísimo aparato moderno. Podemos decir que fué nuestra afición a la microscopia de fases la que nos abrió este horizonte sobre la biología del espermatozoide, puesto que fué haciendo observaciones con este microscopio, que descubrimos su gran utilidad en estos estudios. En el extranjero, principalmente en Alemania, Austria y Francia, se han hecho estudios vaginales con el microscopio de contraste de fases. Los espermatozoides han sido magistralmente observados por Van Duijn en Holanda (al grado que es necesario cambiar nuestras ideas antiguas acerca de la morfología de estas células). En cuanto a la aplicación de la microscopia de fases al estudio de la biología espermático-vaginal, creemos que nos pertenece en prioridad porque somos los primeros. Acerca de los instrumentos que empleamos para las cuentas no creemos necesario insistir en pormenores de tan poca importancia, ya que son los mismos que se emplean en todos estos casos. Si alguna de las personas aquí presentes desee saber un poco más de estas técnicas por demás rutinarias, gustosamente haré la explicación necesaria.

IV) Otras pruebas citológicas, parasitológicas, etc., son de un capítulo siguiente.

Segunda prueba: La señora se presenta una hora después del coito en el laboratorio para la prueba siguiente. Esta se practica unos minutos antes

de que se cumplan las dos horas después del coito. Se extrac el material con una pipeta.

Para la observación de los espermatozoides hemos preferido el del contraste de fases a todos los otros métodos. Creemos haber sido los primeros en haber empleado este método en México muy poco tiempo después de que Fossel M. lo describiera por primera vez en 1951. Algunos autores mexicanos y extranjeros han preconizado el método de los colorantes vitales (principalmente el de la Eosina azul [Eosin-blue] usando este colorante con el cual han hecho buenos trabajos Bloom, quien primero lo utilizó con estos fines; Williams y Pollak, que lo han modificado ligeramente; Burgos y De Paola que lo han mejorado y Rodríguez Villa y González Ramos, que lo han aplicado ampliamente), se aprecia lo siguiente:

A) Los espermatozoides móviles (rápidos o lentos) no toman la coloración.

B) De los inmóviles, unos toman la coloración y otros no.

C) En los frotis fijados y teñidos, todos toman la coloración.

Aparentemente es muy sugestivo este hecho, ya que ha demostrado con mucha razón que el colorante vital sólo tiñe al espermatozoide muerto y respeta al vivo (hay, inclusive, explicaciones bioquímicas de este fenómeno); la coloración nos permitiría conocer aquellos espermatozoides que no siendo móviles, no están muertos y nos ayuda a ser más exactos en las apreciaciones de necrozoopermia. Sin embargo a mi manera de ver, sólo tiene valor verdadero este fenómeno desde un punto de vista teórico (la apreciación real de la necrozoospermia) porque en la práctica nunca hemos visto que los espermatozoides inmóviles que no se tiñen por la eosina azul se recuperen y vuelvan a adquirir su movilidad perdida, así pues espermatozoide inmóvil (muerto o vivo) es espermatozoide perdido. Tiene este método, otra aplicación práctica ya que cuando hay inmovilidad total de los espermatozoides, puede servirnos para saber si están todos muertos o no y de esto depende desde luego un pronóstico diferente para la aplicación de una terapéutica adecuada.

Pocas veces hemos tenido que recurrir a este método porque estimamos que el examen con contraste de fases nos da todos los datos prácticos sobre motilidad y morfología que necesitamos, teniendo además la ventaja de no agregar ningún compuesto extraño, que aunque casi inocuo, tiene forzosamente que influenciar aunque sea poco sobre la vitalidad de esta célula tan débil. El examen con contraste de fases además tiene sus peculiaridades especiales. También aquí se observan dos imágenes en espermatozoides, móviles e inmóviles. Los espermatozoides móviles presentan una cabeza brillante como una lámpara, mientras que los inmóviles tienen la cabeza brillante

unos y otros la tienen opaca. No nos atrevemos a sostener que esta observación (que creemos ser los primeros en hacer) equivalga al fenómeno de la eosina azul, ya que para contarlos, hacemos la dilución con simple agua destilada que inmoviliza a todos los espermatozoides, unos con la cabeza brillante y otros con la cabeza opaca. (Para hacer las cuentas con contraste de fases sólo hace falta agregar agua destilada, puesto que no es necesario hacer ninguna coloración). Hemos observado igualmente, que los espermatozoides con alteraciones protoplásmicas en la cabeza son los que dan una imagen opaca (microcéfalos, cabezas vacuolizadas, etc.). Los microcéfalos, por ejemplo, tienen la cabeza opaca aunque sean móviles. Así pues, nos inclinamos a pensar más bien que la brillantez u opacidad de los espermatozoides se debe a alteraciones de la constitución protoplásmica que secundariamente repercuten en la movilidad o inmovilidad de ellos.

Debemos pues, añadir en los estudios de la morfología del espermatozoide su comportamiento con respecto a la observación con contraste de fases, es decir consideramos a los espermatozoides normales en su constitución físico-química nucleoprotoplásmica como los "claros" al contraste de fases y como alterados en esa misma composición a los "opacos".

Resumimos de paso los datos sobre la morfología del espermatozoide, tanto normal como patológica, basando esta descripción en los trabajos de Van Duijn.

Cabeza: Tiene esta porción de la célula una forma oval y algo aplastada, mide de 4 a 5 micras pero puede eventualmente ser ligeramente más grande, hasta unas 7 micras. De ancho, mide 3 micras, pero de perfil sólo alcanza un espesor de 2 micras. Sin embargo se aceptan variantes a estas cifras pero sólo cuando son muy ligeras: así se consideran aun normales los que tienen la cabeza ligeramente redonda, o algo estrecha, y también se aceptan como normales las cabezas un poco más grandes o un poco más pequeñas.

Van Duijn agotó todos los métodos de observación, desde las observaciones directas con el microscopio óptico común, con el empleo de colorantes vitales y no vitales, con las técnicas de campo oscuro, iluminaciones coloridas azimutales, empleo de luz ultravioleta y fluorocromos en luminiscencia y técnicas con contraste de fases, aparte de revisar toda la literatura sobre observaciones en microscopio electrónico tanto de espermatozoides humanos como de algunos animales.

Según Van Duijn, la cabeza del espermatozoide tiene en su parte posterior un espesamiento de la membrana (de paso diremos que anteriormente se había negado la existencia de una membrana) y este espesamiento es completamente transparente y no se puede observar en preparaciones frescas.

en microscopio común, pero sí se ve, si se emplea la iluminación oblicua con un gran aparato de iluminación de Abbe. En cambio se nota muy bien el espesamiento cuando se observa con contraste de fases y después de tinción con prefijación con fuchsina de Ziehl. La hematoxilina no tiñe este espesamiento posterior de la cabeza y si se aplica la fuchsina fenicada antes de la fijación con metanol la cabeza se tiñe totalmente. Precisamente este espesamiento y su reacción a la tinción con fuchsina fenicada dió nacimiento a la idea de que el espermatozoide tenía una especie de yelmo que llamaron "gálca capitis", "capuchón cefálico" o "nbenkernen" y que sería precisamente la porción de la cabeza "que no se tiñe" en las preparaciones prefijadas y teñidas con fuchsina fenicada. Debemos admitir pues si creemos en Van Duijn que el espermatozoide carece de *gálea*.

Dentro de esa cavidad oval que forma la membrana de la cabeza del espermatozoide se encuentra un protoplasma (también llegó a creerse que la cabeza contenía puro núcleo) y en el seno de ese protoplasma una vacuola muy anterior (lo que origina esa especie de punto piriforme que han llamado acrosoma) y un núcleo que se ve cuando se observa con contraste de fases pero que no se ve cuando se observa con microscopio común. Mejores resultados se obtienen cuando se deja una gota de esperma secar entre lámina y laminilla, la cabeza entonces se embebe de la albúmina coagulada y el núcleo es perfectamente visible en contraste de fases. Esta técnica debe siempre hacerse cuando se pretende observar núcleo.

También el segmento intermedio presenta algunos puntos que debemos estudiar. Desde luego su constitución normal (según Van Duijn) es la siguiente: Cilindro de 3.5 a 4 micras de largo por 1 micra de diámetro, los antes pretendidos diafragmas no fueron observados por Van Duijn, tampoco el filamento enrollado en espiral, parece que el aparato mitocondrial sería el responsable de ese aspecto en espiral; este condrioma es además perfectamente visible con el microscopio óptico armado de contraste de fases y no es necesario recurrir al electrónico para verlo. Hay dos centriolos, uno proximal (el que está cerca de la cabeza) y otro distal (en la parte opuesta). Son fácilmente visibles en campo oscuro, en contraste de fases y en preparaciones teñidas. En las formas humanas hay además un corpúsculo globuloso situado entre los dos centriolos. Austin y Sapsford que lo han observado también en los espermatozoides de las ratas creen que es un tercer centriolo; así pues si esto es cierto el espermatozoide humano tiene tres centriolos y no dos como antes se creía. Algo también muy novedoso es que según parece el segmento intermedio penetra en la cabeza poniéndose en contacto con el núcleo mismo. Esto sólo es posible observarlo con contraste de fases o en campo oscuro y nunca en preparaciones teñidas (por la

plasta de colorante que se forma cubriendo este fenómeno). Parece del todo seguro que el segmento intermedio es el directamente responsable del movimiento del espermatozoide, porque el movimiento materialmente se ve iniciarse ahí y además porque los espermatozoides acéfalos se mueven si conservan su pieza intermedia. También hay movimientos aunque torpes en espermatozoides sin cauda. Si empleamos un tratamiento de hidrolizado mediante el ácido clorhídrico (reacción de Feulgen) las cabezas se separan del segmento intermedio, tal vez porque la pieza de unión entre el segmento intermedio y la cabeza está hecho de un material que se hidroliza por el ácido clorhídrico.

La reacción de Feulgen en la cabeza, por otra parte nos demuestra que (por su intensidad hacia la región ecuatorial) es ahí donde el núcleo está más concentrado, mientras que en la porción anterior está laxo y dividido en estructuras definidas. Inclusive se cree que sean cromosomas. Si vemos al espermatozoide de perfil, con contraste de fases y aplicándole la reacción de Feulgen, se nota claramente un huso.

La parte anterior además contiene la cariolinfa, y la parte posterior tiene (desde el ecuador) la parte de cromatina condensada. Además se notan hasta tres nucleolos y una bien definida membrana.

Como formas anormales del segmento intermedio tenemos en primer lugar las que se refieren a un trastorno centriolar que según Bloom y citado aquí por Arzac como el culpable de la esterilidad (es de imaginarse ya que el movimiento parte de esos centriolos). Efectivamente las formas que presentan extrusiones en el segmento intermedio dan indicio de un trastorno centriolar. Además se presentan casos de cuerpo intermedio doblado o grueso.

La cauda tiene un tamaño medio de 40 a 60 micras, algunas más cortas son normales. El filamento axial que se encuentra en la pieza intermedia se extiende por 6 a 7 micras (o hasta 10) lo que es perfectamente visible si se tiñe por fuchsina fenicada. La cauda no es cilíndrica sino aplanada como una cinta, mide 0.7 micras de ancho y 0.3 micras de espesor. Esto se hace patente cuando se trata al espermatozoide con ácido acético. El antiguo "involucro" no fué observado por Van Duijn; Bretschneider, Friedländer y Randall que han visto el espermatozoide con microscopio electrónico tampoco lo han visto.

Como anomalías de la cauda tenemos: las caudas dobles, las enrolladas en espiral, las cortas y gruesas y la ausencia de cauda. Todas estas anomalías importantes, puesto que influyen notablemente en la movilidad de la célula.

Poco insistiré en las técnicas de observación por ser del conocimiento común de todo laboratorio bien equipado. Brevemente referiré que los

espermatozoides se cuentan en la cámara cuenta-glóbulos usando las cuadrículas corrientes como la de Neubauer, la de Türck, la de Bürker o la de Schilling; se usa preferentemente la parte de la cuadrícula que se destina a cuentas de leucocitos. Prefiéranse las nuevas cuadrículas delgadas especiales para observaciones en contraste de fases. Hágase una dilución al 1/100 con una pipeta mezcladora de Pappenheim o de otro modelo y al hacer la cuenta anoten exclusivamente las cabezas brillantes no importando que las caudas salgan de los límites de la cuadrícula. Para los exámenes de movilidad y morfología en general basta con el examen en contraste de fases, pero a veces por vías de curiosidad puede aplicarse el colorante vital de eosina-azul u otros colorantes vitales y no vitales: Técnica con fuchsin de Ziehl y azul de toluidina, técnica con azul-agua seguida de eritrosina, o con eritrosina sola o también las muy sugestivas aunque algo complicadas técnicas de la microscopia fluorescente con la corifosphina "H" o con el acridín-naranja al 1/80.000 según recomiendan Strugger y Rosenberger. En general para los estudios de rutina, el examen con contraste de fases es el mejor por más completo, más práctico y más rápido, no siendo necesario emplear otras técnicas.

Segunda prueba: La enferma ya en el consultorio y a las dos horas post-coito será sometida a una exploración vaginal mediante el uso de un espejo convenientemente colocado. Los datos que vamos a recoger de esta exploración son muy parecidos a los del caso anterior. Así pues anotaremos la cantidad de mezcla vagino-espermática, el aspecto y el color, la consistencia, el pH y la observación y cuenta de espermatozoides. A pesar de lo parecido de los datos de todas maneras esta segunda prueba reporta marcados beneficios en nuestra investigación, y que podemos resumir como sigue: registro del cambio de pH con respecto a la primera prueba, casi siempre son más ácidos los medios de la segunda toma que los primeros, lo que se explica perfectamente, si tomamos en cuenta que la primera vez la mayor parte de la masa de mezcla vagino-espermática está constituida por el semen (con un pH superior a 7.5) y en la segunda toma ya la mezcla está más equilibrada y aún excede muchas veces la vaginal a la seminal. Esto se comprueba también porque en esta segunda prueba vemos mucho mayor cantidad de células vaginales que en la primera. El segundo dato importante que recogemos es el de la vitalidad y movilidad de los espermatozoides. Aquí observamos que un gran porcentaje (40%) da imágenes con espermatozoides inmóviles y el hecho de encontrar un porcentaje de espermatozoides móviles alto (siquiera un 30%) ya es un indicio de por sí para asegurar una buena vitalidad espermática y hasta podrá servir (para una comunicación futura) de motivo de experimentación en el terreno de la

resistencia de estas células. Nosotros hemos notado (y creemos que esto es un dato completamente nuevo) que aquellos espermias que mantienen sus células en un buen porcentaje de movilidad en la segunda prueba con respecto a la primera también *in vitro* en la estufa presentan células que duran varias horas vivas. Aquí por lo demás tienen una mejor aplicación los métodos del colorante de eosina-azul de Bloom o de la eosina eritrosina de Hancock, o las técnicas de microscopio de fluorescencia vital de Strugger y Rosenberger. (Todo esto será el material de mis futuras investigaciones).

Tercera prueba: Inmediatamente se procede a limpiar con algodón estéril el borde del hocico de Tenca y a hacer el examen del contenido cervical. Debido a que esta prueba se practica siempre en la época del intervalo menstrual no tenemos ocasión de apreciar variadas características del moco cervical. Así desde luego nosotros encontramos siempre un moco ligado (10 a 20 centímetros según Clift, Cohen, Stein y Cave). Esta prueba que es la clásica de Hühner y tantas veces se ha modificado, nosotros la hacemos como sigue:

1º Observación de los caracteres microscópicos y organolépticos del moco. Moco abundante, transparente, hilante (10 a 20 centímetros) en resumen el moco acuoso de Bergman. El pH que oscila entre 7.0 a 7.8.

2º Estudio microscópico, anotando principalmente la presencia de células pequeñas, ovaladas, glandulares, que siendo escasas hacia el intervalo son más abundante en el pre y postmenstruo. Hay además escasos polinucleares. Tenemos que anotar aquí la presencia anormal de piocitos (fácilmente diferenciables al contraste de fases) y así mismo la presencia de gérmenes patógenos que requieren para su estudio una técnica especial bacteriológica que no es nuestra intención relatar aquí.

Pero en este caso especial, además de la fórmula citológica, debemos agregar el estudio de las células espermáticas que han pasado de la vagina al cérvix (lo que constituye esencialmente la prueba de Hühner cervical). Este estudio lo podemos dividir en las siguientes etapas:

A) *Presencia o ausencia de espermatozoides.* Dato el más importante de esta prueba y podríamos añadir de todo el trabajo en general, puesto que la finalidad de estas pruebas es la de descubrir las causas de la esterilidad matrimonial.

B) *Cantidad de células espermáticas por c.c.* Aquí podemos decir que este dato es muy variable. Normalmente oscila ampliamente entre 100,000 y 2 millones por centímetro cúbico.

C) *Morfología, vitalidad y motilidad de los espermatozoides.* Sobre este punto creo que he podido comprobar un dato nuevo antes desconocido. Yo he encontrado que en el moco cervical se hace una selección de sperma-

tozoides tanto morfológica como fisiológica. En numerosos casos he visto que espermatozoides que me dieron un alto porcentaje de formas anormales de las ya descritas con anterioridad, sin embargo en la imagen cervical esas formas no se encuentran, el moco a mi entender es un seleccionador de espermatozoides. Huelga decir que las formas inmóviles aquí son excepcionalmente raras. Esto nos hace pensar también que si bien el moco cervical es el medio idóneo para el paso del espermatozoide, también es muy importante en este evento el movimiento y el estado fisiológico de este, puesto que los inadaptados no pasan.

En conclusión dos son los datos nuevos que creo aportar al conocimiento de esta parte de la prueba: La selección espermática del moco cervical y el hecho importante que se desprende del inciso B, es decir que yo practico la prueba de Hühner en condiciones esencialmente diferentes a las que se han venido haciendo hasta ahora, y que en vez de dejar la masa total de esperma en el fondo de saco vaginal y a las dos horas practicar las investigaciones cervicales, yo desalojo el fondo de saco vaginal inmediatamente después del coito y a las dos horas observo el contenido cervical con los espermatozoides que tan sólo han quedado adheridos en débil capa de semen a las paredes vaginales. A pesar de esa pérdida de la gran masa espermática, se nota que pasan los que quedan a la cavidad cervical, que se seleccionan y esto constituye para mí otro dato importante más, que hay que agregar a las relaciones espermático-vaginales. Es decir hago una especie de prueba de Kurzrok Miller intracervical.

D) *La prueba de la cristalización del moco cervical.* Claro está que en estos estudios no íbamos a pasar por alto la prueba de la cristalización del moco, en la cual seguimos el criterio de Campos Da Paz (que también hizo sus observaciones en contraste de fases). Resumimos así las ideas de Campos Da Paz:

1. Cristalización total típica. Imagen de alfombra de palmas o helechos.
2. Cristalización parcial típica. Imagen en alfombra de helechos pero con zonas en las que se ve cristalización atípica o negativa.
3. Cristalización irregular que muestra grandes zonas negativas, a veces cristales aislados.
4. Cristalización negativa. No hay cristalización alguna.

También puede usarse la clasificación de Bergman como sigue:

- + Cristales aislados y dispersos, formación de pequeños grumos,
- ++ Cristales de moco y en pequeña cantidad formando hojas de espárrago,
- +++ Area total formando hojas de espárrago,

y asimismo se puede desde luego usar una combinación de las dos clasificaciones.

E) *La prueba de Kurtzrok-Miller, que practicamos de manera rutinaria.* Una vez obtenido el moco cervical, de la caja de Petri que tenemos en nuestra estufa tomamos una gota y otra de moco les ponemos un cubre objetos haciendo de tal manera que por el peso del propio cubre objetos se junten las dos gotas y observamos con contraste de fases. Se trata de ver el paso de los espermatozoides a través de la gota de moco cervical. A veces esta prueba tarda, por lo que aconsejamos poner en una caja de Petri la preparación con una ligera cantidad de agua para evitar la desecación y mantenerla en la estufa observándola cada 15 minutos. En ocasiones tardan los espermatozoides hasta una hora en pasar aunque la normalidad es que lo hagan antes de los 15 primeros minutos.

Desde luego que cuando encontramos espermatozoides directamente en el moco cervical resulta un tanto superflua esta prueba, pero de todas maneras nos da idea del tiempo de entrada y en los casos en que no encontramos moco con espermatozoides adquiere gran valor. Por cierto que precisamente cuando ya hay espermatozoides en el moco debemos fijarnos mucho en la zona de separación de las dos gotas para tratar de no confundir los espermatozoides que ya entraron con los que están por entrar, detalle que por lo demás no ofrece grandes problemas técnicos.

Cuarta Prueba. El examen citológico. Para esto hacemos una succión con una pipeta roma y observamos el material obtenido entre lámina y laminilla con contraste de fases y hacemos además una coloración de Shorr. En general y debido a que las observaciones que hago siempre se practican cerca del intervalo menstrual las imágenes que percibo son un tanto monótonas, pero de todas maneras podemos anotar la observación como sigue: Células normales y células atípicas. En este último caso (en mi casuística no he tenido uno solo) deberá hacerse un estudio posterior enfocado desde luego a la evidenciación de tales procesos patológicos. De la serie normal notaremos:

A) *Células basales:* Raras en las observaciones restringidas al intervalo menstrual, son de caracteres morfológicos bien definidos: células esféricas u ovoides, de núcleo central con membrana nuclear lisa y bien definida y con pocos componentes estructurales. La cromatina es finamente granular, el núcleo es regular de forma esférica u oval. El protoplasma presenta bordes bien definidos, en general es limpio y transparente y a veces se le ven claramente vacuolas, lo que es un cierto grado de degeneración; su reacción es basófila aunque algunas veces de reacción acidófila.

B) *Células parabasales*: Casi siempre clipsoides con núcleo frecuentemente fusiforme tienen un protoplasma finamente granular (basófilo).

C) *Células intermedias*: De cuerpo celular aplastado. Son ovales o más frecuentemente con ángulos obtusos, discoidales, con bordes planos finamente dentados que indican el lugar de inserción con la otra célula contigua. Núcleo vesiculoso con cromatina algo condensada. (Basófilas, algunas acidófilas).

D) *Célula superficial*: La más frecuente en nuestras investigaciones; es más aplastada y más grande que la anterior, teniendo francamente la forma de escama. El protoplasma es más granuloso y la forma de la célula es francamente poligonal. Un gran porcentaje de núcleos (todos los de las células de la capa superficial) están picnóticos. Las células precornificadas tienen reacción basófilas, las cornificadas son acidófilas.

E) La escama córnea es la célula superficial completamente cornificada con núcleo picnótico que puede faltar, protoplasma acidófilo y estriación superficial.

F) Los leucocitos que se presentan en variadas cantidades, desde escasos hasta abundantes y que en ocasiones presentan núcleos degenerados y protoplasmas laxos, cuando hay infecciones o infestaciones vaginales. Entonces predominan notablemente los piocitos.

G) Por fin podemos encontrar también normalmente los histiocitos. Células redondeadas o alargadas con núcleos activos que llevan pequeños grumos de cromatina y membrana bien marcada; tienen en general su borde protoplásmico bien definido. Este protoplasma varía en cantidad y en forma pero siempre aparece vacuolado finamente o cuando menos espumoso; es basófilo y en su seno el núcleo es excéntrico, tanto que a veces parece que va a hacer extrusión. No es raro ver histiocitos en cariocinesis, por lo que es necesario tener cuidado y no interpretar estas células como malignas.

Quinta prueba: El examen parasitológico y bacteriológico:

Puede decirse que sólo con el microscopio de contraste de fases se puede tener la absoluta seguridad de que no se escapan de la observación las trichomonas presentes, como ya lo hemos notado por primera vez en México desde hace años, pero que ya Wolfgang Bommer hizo la primera publicación en 1952. Bien claras aparecen las trichomonas o cualquier otro parásito tal como las amibas.

Para la flora bacteriana se hará un frotis teñido por el método de Gram para reconocer de manera sencilla y rápida la flora normal de la vagina. En ese frotis veremos bacterias grampositivas y bacterias gramnegativas, excepción hecha del bacilo de Döderlein que puede identificarse por su agrupamiento en estreptobacilo, por su morfología característica y su

afinidad grampositiva. Debe reportarse la presencia o ausencia de este germen, así como la predominancia de formas gramnegativas o grampositivas. Para estudios bacteriológicos más finos hay que proceder en otro momento y no precisamente después de un contacto sexual con el esposo; por lo tanto la técnica bacteriológica fina no es compatible con este tipo de estudios y merece desde luego un capítulo aparte. A pesar de ello el reporte sencillo que se da de predominancia de flora, de abundancia de la misma y de presencia o ausencia de *Lactobacillus* de Döderlein es muy útil al clínico.

REFERENCIAS

- González Ramos Mario*. Observaciones con el colorante Eosín-Bluish empleado como coloración vital. Est. sobre Esterilidad. Vol. IV N° 1. Pág. 17.
- González Ramos Mario*. Nota de interés sobre el uso del colorante Eosín Bluish. Vol. IV, N° 1. Pág. 40.
- Bloom Erik*. A one Minute Live Dead Sperm Stain by Means of Eosin Nigrosin. Journal of Fertility and Sterility. Vol. I. N° 2. 1950. (Coloración Vital).
- Burgos M. H. y G. di Paola*. Journal of Fertility. Vol. I. 1951. (Coloración Vital).
- Crooke y Mandl*. Investigations of Infertility. Recent Advances in Clinical Pathology, 1951.
- Rodríguez Villa Luis*. Prueba de Huhner, modificación personal. Revista Mexicana de Laboratorio Clínico. Oct. y Nov., 1949.
- Williams W. and Pollak Otakar*. Study of Sperm Vitality with the aid of eosin-nigrosin Stain. Journal of Fertility and Sterility. Vol. I. N° 2. 1950.
- Fossel M*. Spermauntersuchungen und Phasenkontrastverfahren. Mikoskopie Band 6-260. 1951. (Kunde N° 12-52).
- Bommer W*. Der Nachweiss von Trichomonas vaginalis, einschliesslich toter und degenerierter Formen mit Hilfe des Phasenkontrastmikroskops. 1952. Geburtshilfe u Frauenheil.
- Runge H., Stoll P., und Walch E*. Das Phasenkontrastmikroskop in der gynäkologischen Poliklinik. Zeiss Werkzeitschrift N° 15. 1955.
- Vicent Memorial Hospital* (col.) The Cytologic Diagnosis of Cancer. Saunders 1950.
- Van Duijn J. C*. The Structure of Human Spermatozoa. Journal of the Royal Microscopical Society. Vol. LXXII. 1952.
- López Santibáñez Luis Manuel*. Estado actual del estudio del moco endocervical. Estudios sobre esterilidad. Vol. VI. 1955.
- González Ramos M*. Estudio comparativo de dos métodos empleados en la determinación de la vitalidad espermática, Estudios sobre esterilidad. Vol. VI. 1955.
- Rodríguez Villa y González Ramos M*. Actualización de la espermobioscopia. Estudio sobre esterilidad. Vol. VI. 1955.