

**Universidad Nacional
Facultad de Ciencias de la Salud
Escuela de Medicina Veterinaria**

Determinación de la etapa del ciclo reproductivo en perezosos de vida libre *Bradypus variegatus* y *Choloepus hoffmanni*, mediante las técnicas de citología vaginal, mediación hormonal (estradiol y progesterona) y ultrasonografía: estudio preliminar

Modalidad: Tesis de grado

Trabajo Final de Graduación para optar por el Grado Académico de Licenciatura en Medicina Veterinaria

Angie Elizabeth Quesada Jiménez

Campus Presbítero Benjamín Núñez

2012

TRIBUNAL EXAMINADOR

María Antonieta Corrales
Decano

Dra. Laura Castro Ramírez
Directora

Dr. Mauricio Jiménez Soto
Tutor

Dra. Julia Rodríguez
Lectora

Nancy Astorga
Lectora

DEDICATORIA

A mi Poder Superior, quien me hizo creer que era capaz de lograr esto, siempre puso las personas adecuadas en el momento indicado y nunca me dejó sola.

A mi madrecita, por todo su amor y dedicación. Mamita: sin tu ayuda mi educación no habría sido posible. Te amo!!

A María, por creer en mí como nadie lo ha hecho, eres como una segunda madre para mí y nunca te voy a estar lo suficientemente agradecida por todo lo que me has enseñado y hecho por mí.

Y por último pero no menos importante, a Danielito por ser una luz en mi vida.

AGRADECIMIENTOS

A Julita, por toda su ayuda en este proceso, sin su guía este trabajo no habría sido posible.

A mi Papá por todo su apoyo durante estos últimos años.

A Abuelita Mary por ser simplemente eso: una Abuelita. Te extraño mucho.

A mi tía Mary por ayudarme y apoyarme en uno de mis momentos más difíciles.

Al Dr. Jiménez por la guía recibida y la ayuda durante todas las giras.

Al Dr. Morales por el financiamiento de todos los exámenes.

A la Dra. Nancy Astorga por instruirme con los ultrasonidos y acompañarme a las giras.

A la Dra. Castro por darle el rumbo más adecuado a este trabajo.

A Chirstopher Vaughan por incluirme en su proyecto de perezosos para lograr realizar este estudio.

A Geovanni Herrera y su equipo por realizar las capturas y dedicarnos su tiempo durante todas las giras.

A Doña Marina Ruíz y su familia por su hospitalidad al prestarnos su patio para hacer los exámenes, su casa para dormir en las giras y su deliciosa comida durante las mismas.

A la Madre Naturaleza por proporcionarme a estas criaturas tan maravillosas como lo son los perezosos para realizar este estudio.

Y a todas las personas que me acompañaron a las giras y me estuvieron apoyando en algún momento que lo necesitara.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

APROBACIÓN DEL TRIBUNAL EXAMINADOR.....	ii
DEDICATORIA.....	iii
AGRADECIMIENTO.....	iv
ÍNDICE DE CONTENIDOS.....	v
ÍNDICE DE FIGURAS.....	vii
ÍNDICE DE CUADROS.....	ix
LISTA DE ABREVIATURAS.....	x
RESUMEN.....	xi
ABSTRACT.....	xiii
1. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1. Antecedentes.....	1
<i>1.1.1. Clasificación taxonómica.....</i>	1
<i>1.1.2. Distribución geográfica.....</i>	2
<i>1.1.3. Características.....</i>	2
1.2. Justificación.....	7
1.3. Objetivos.....	9
<i>1.3.1. Objetivo general.....</i>	9
<i>1.3.2. Objetivos específicos.....</i>	9
2. METODOLOGÍA: MATERIALES Y MÉTODOS.....	10

2.1. Lugar de estudio.....	10
2.2. Animales de estudio.....	10
2.3. Captura y abordaje inicial.....	10
2.4. Toma de muestra de sangre.....	13
2.5. Ultrasonografía.....	14
2.6. Citología vaginal.....	14
2.7. Medición de los niveles hormonales (estradiol y progesterona).....	15
3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	17
3.1. Ultrasonografía.....	17
3.2. Citología vaginal.....	23
3.2.1. <i>Morfología celular</i>	23
3.2.2. <i>Conteo celular</i>	25
3.3. Medición hormonal.....	26
3.4. Citología vaginal vs. Concentración hormonal.....	27
4. CONCLUSIONES.....	40
5. RECOMENDACIONES.....	42
6. REFERENCIAS BIBILOGRÁFICAS.....	43
7. ANEXOS.....	49
7.1. Anexo 1. Ficha clínica.....	49
7.2. Anexo 2. Historia de perezosas <i>B. variegatus</i> de las cuales se obtuvo mayor información.....	50

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Vesícula embrionaria de un <i>B. variegatus</i>	19
Figura 2. Vesícula embrionaria de un <i>B. variegatus</i> en etapa más avanzadas de la preñez.....	19
Figura 3. Feto en desarrollo de un <i>B. variegatus</i> (Cabeza).....	21
Figura 4. Feto en desarrollo de un <i>B. variegatus</i> (Corazón y estómago).....	22
Figura 5. Feto en desarrollo de un <i>B. variegatus</i> (Corazón y costillas).....	22
Figura 6. Células observadas en citologías vaginales de perezosas <i>B. variegatus</i> y <i>C. hoffmanni</i>	24
Figura 7. Comparación individuos <i>B. variegatus</i> con diámetros biparietales de 1,0-1,49cm.....	28
Figura 8. Comparación individuos <i>B. variegatus</i> con diámetros biparietales de 1,50-1,79cm.....	30
Figura 9. Comparación individuos <i>B. variegatus</i> con diámetros biparietales de 1,80-1,99cm.....	31
Figura 10. Comparación individuos <i>B. variegatus</i> con diámetros biparietales de 2,0-2,39cm.....	32
Figura 11. Comparación individuos <i>B. variegatus</i> con diámetros biparietales de 2,40-2,69cm.....	32
Figura 12. Comparación individuos <i>B. variegatus</i> con diámetros biparietales de 2,70cm o mayores.....	33
Figura 13. Comparación individuos <i>B. variegatus</i> no preñadas.....	35
Figura 14. Comparación individuos <i>C. hoffmanni</i> con diámetros biparietales de 1,80-1,99cm.....	36
Figura 15. Comparación individuos <i>C. hoffmanni</i> con diámetros biparietales de 2,40-2,69cm.....	37

Figura 16. Comparación individuos <i>C. hoffmanni</i> con diámetros biparietales de 2,70cm o mayores.....	37
Figura 17. Comparación individuos <i>C. hoffmanni</i> no preñadas.....	39
Figura 18. Comportamiento cronológico para <i>B.variegatus</i> , RC 08.....	52
Figura 19. Cambios en citología vaginal para <i>B.variegatus</i> , RC 08.....	53
Figura 20. Comportamiento cronológico para <i>B.variegatus</i> , RC 23.....	54
Figura 21. Cambios en citología vaginal para <i>B.variegatus</i> , RC 23.....	54
Figura 22. Comportamiento cronológico para <i>B.variegatus</i> , RC 27s.....	56
Figura 23. Cambios en citología vaginal para <i>B.variegatus</i> , RC 27s.....	57
Figura 24. Comportamiento cronológico para <i>B.variegatus</i> , RC 26s.....	59
Figura 25. Cambios en citología vaginal para <i>B.variegatus</i> , RC 26s.....	60

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Medidas de estructuras embrionarias en perezosas <i>B.variegatus</i> , <i>C.</i> <i>hoffmanni</i> y caninos.....	20
--	-----------

LISTA DE ABREVIATURAS

B. variegatus: *Bradypus variegatus*.

C. hoffmanni: *Choloepus hoffmanni*.

E₂: estradiol.

P₄: progesterona.

pg: picogramos.

ng: nanogramos.

ml: mililitros.

cm: centímetros.

kg: kilogramos.

LH: hormona luteinizante.

CITES: Convención sobre el Comercio Internacional de Especies Amenazadas de Flora y Fauna Silvestres.

DB: Diámetro biparietal.

RESUMEN

El presente estudio se realizó en la provincia de Alajuela (San José de Upala). Durante los años 2008 y 2009, se les dio seguimiento a ocho hembras de la especie *Bradypus variegatus* y seis de la *Choloepus hoffmanni* de vida libre durante este período. A cada uno de estos individuos se les realizó un estudio ultrasonográfico con el fin de determinar si se encontraban o no en estado de gestación, en caso afirmativo se tomaron las medidas de la vesícula o diámetro biparietal, eje longitudinal y frecuencia cardíaca fetales. Igualmente se tomaron muestras sanguíneas para medición de los niveles de estradiol (E_2) y progesterona (P_4) sanguíneos, así como hisopados vaginales para la realización de citologías.

Se logró confirmar la presencia o ausencia de preñez en ambas especies de perezosos por medio del examen ultrasonográfico, así como la medición de las distintas estructuras embrionarias. Se observó una concentración alta de E_2 durante la primera mitad de la preñez y un aumento progresivo de la P_4 en la segunda mitad de la misma. Fue posible la observación de la morfología de las células presentes en las citologías vaginales, resultando ser similares a las encontradas en caninos, además de realizar un conteo celular total y lograr obtener la concentración porcentual de cada una de las células presentes en el hisopado.

No fue posible establecer una relación similar a los caninos entre la concentraciones hormonales con las citologías vaginales en *B. variegatus*. En *C. hoffmanni* se encontró cierta relación entre la concentración de E_2 y la presencia de células anucleadas. Se observó una gran diferencia entre la concentración de células vaginales entre las especies

de *B. variegatus* y *C. hoffmanni*. En ambas especies se observa una alta concentración de estradiol durante la primera mitad de la preñez, mientras que la progesterona aumenta en la última mitad de la misma. Se requiere de un monitoreo más prolongado para establecer el estado reproductivo de estas especies así como para determinar la duración exacta de la preñez.

Palabras clave: *B. variegatus*, *C. hoffmanni*, ultrasonografía, niveles hormonales, citología vaginal.

ABSTRACT

This study was conducted in the province of Alajuela (San José, Upala). During the years 2008 and 2009 eight wild life females of the species *Bradypus variegatus* and six of *Choloepus hoffmanni* were evaluated. Each of these individuals underwent an ultrasound study to determine whether or not they were pregnant, measures were taken of the embryonic vesicle or biparietal diameter, crown-rump length and fetal heart rate. Also blood samples were taken to measure estradiol (E₂) and progesterone (P₄) levels and vaginal swabs for the accomplishment of cytology.

The presence or absence of pregnancy was possible to confirm in both species of sloths through ultrasonographic examination as well as the measurement of various embryonic structures. A high concentration of E₂ during the first half of pregnancy and a progressive increase of P₄ in the second half thereof was observed. It was possible to observe the morphology of the cells present in the vaginal smears, proving to be similar to those found in dogs, also a total cell count was taken to obtain the percentage concentration of each of the cells present in the swab.

It was no possible to establish a relationship similar to the canines between hormone levels with the vaginal cytology in *B. variegatus*. Instead, in *C. hoffmanni* a relationship was found between the concentration of E₂ and the presence of anucleate cells. A big difference was observed between the concentration of vaginal cells from species of *B. variegatus* and *C. hoffmanni*. In both species, high concentration of estradiol was observed in the first half of pregnancy, while progesterone levels increase in the latter half. A longer monitoring

time is needed to establish the reproductive status of these species and determine the exact duration of pregnancy.

Keywords: *B. variegatus*, *C. hoffmanni*, ultrasound, hormone levels, vaginal cytology.

1. INTRODUCCIÓN

1.1. Antecedentes

En Costa Rica se encuentran dos especies de perezosos: el *Bradypus variegatus*, conocido como perezoso de tres dedos y el *Choloepus hoffmanni*, conocido como perezoso de dos dedos (Seitz, 2005). Estas especies corresponden a uno de los principales mamíferos observados en los campos de cacao de Costa Rica. Ellos comprenden de un 25-67% del total de la biomasa de vertebrados en varios bosques del neotrópico. Sus hábitos arbóreos, nocturnos y enigmáticos hacen de esta una de las especies de mamíferos menos estudiadas (Vaughan et al., 2007).

El gobierno de Costa Rica ha reconocido al *B. variegatus* como una especie que se encuentra en riesgo de extinción, y junto con el *C. hoffmanni*, se encuentran dentro de las listas de la Convención sobre el Comercio Internacional de Especies Amenazadas de Flora y Fauna Silvestres (CITES), la cual tiene por finalidad velar por que el comercio internacional de especímenes de animales y plantas silvestres, así como la destrucción de su hábitat, no constituyan una amenaza para su supervivencia (www.cites.org). Sin embargo, estas clasificaciones pueden basarse en muy poca información debido a la poca cantidad de estudios enfocados en esta especie (Vaughan et al., 2007).

1.1.1 Clasificación taxonómica

Los perezosos junto con los armadillos y los osos hormigueros, están incluidos en el Orden Xenarthra (Edentata). El *Choloepus* pertenece a la familia Megalonychidae y *Bradypus* a la

familia Bradypodidae (Wetzel, 1985; Nowak, 1999; Gilmore et al., 2000; Taube et al., 2001; Soares y Carneiro, 2002).

1.1.2 Distribución geográfica

El *Bradypus variegatus* es uno de los mamíferos de mediano tamaño más comunes en América Central y América del Sur, se distribuye desde Honduras hasta el norte de Argentina (Nowak, 1999; Gilmore et al., 2000). El *Choloepus hoffmanni*, se extiende desde Nicaragua hasta Perú y el centro de Brasil (Nowak, 1999).

1.1.3 Características

Ambas especies se caracterizan por tener una tasa metabólica baja y temperatura baja y variable (32,7-35,5°C) en comparación con otros mamíferos. La temperatura varía con el ambiente, lo que la convierte en el mayor factor de restricción en la distribución de estos animales (Wetzel, 1985; Nowak, 1999; Gilmore et al., 2000; Taube et al., 2001; Mitchell, 2008). Cuentan con una forma de “adaptación” que consiste en el crecimiento de un alga en su pelaje, la cual forma surcos a lo largo del pelo proveyendo camuflaje y según algunos autores, proporcionando nutrientes necesarios para su desarrollo que se absorben a través de la piel o por el lamido del alga (Aiello, 1985; Nowak, 1999; Gilmore et al., 2000).

Los adultos de *B. variegatus* pesan entre 2.25-6.2 kg (aunque puede variar dependiendo de la cantidad de heces y orina presentes en su organismo), poseen un cabello café grisáceo, una cola corta, gruesa y con punta redondeada y tres dedos funcionales tanto en las extremidades anteriores como en las posteriores. Poseen de ocho a nueve vértebras cervicales, lo que les otorga una gran capacidad rotacional de la cabeza de hasta 270°

(Nowak, 1999; Gilmore et al., 2000; Seitz, 2005; Benirschke, 2007a). Estos animales son estrictamente folívoros y carecen de dientes caninos (Fowler y Miller, 2003; Seitz, 2005).

Para el *C. hoffmanni*, el peso en adultos va de 7,0 a 9,0 kg (variando también por la cantidad de orina y heces) y su cabello es café grisáceo (Seitz, 2005; Benirschke, 2007b). Cuentan únicamente con dos dedos en los miembros anteriores y tres en los posteriores (Nowak, 1999; Benirschke, 2007). Poseen de seis a siete vértebras cervicales, largos dientes caninos y se alimentan de hojas, frutas y algunos pequeños invertebrados (Nowak, 1999; Seitz, 2005).

A pesar de que la anatomía del sistema reproductivo de los perezosos ha sido estudiada exhaustivamente, aún existen muchas dudas acerca de la biología y la reproducción de estos animales. En el caso del *B. variegatus* se han realizado estudios para determinar las concentraciones de progesterona y estradiol, sin embargo; el tamaño de las muestras era muy pequeño por lo que sólo se pudo considerar como un reporte preliminar (Mühlbauer et al., 2006).

El intervalo entre nacimientos y período de la gestación no son claros en ambas especies, ni tampoco si existe una temporada de apareamiento establecida (Gilmore et al., 2000). Para el *B. variegatus* algunos autores establecieron el tiempo de gestación de cinco a seis meses y se ha comprobado que los machos son fértiles a lo largo de todo el año, sin embargo, sólo una minoría muestra ser sexualmente activo en cualquier momento (Gilmore et al., 1994; Gilmore et al., 2000).

Asimismo autores como Nowak (1999), Fowler-Miller (2003) y Benirschke (2007a) mencionan 8,8 meses para la duración de la preñez mientras, que Mühlbauer y colaboradores (2006) concluyeron en su estudio que la duración de la misma es mayor de siete meses.

Existen también diferencias en cuanto al intervalo entre partos. Gilmore et al. (2000) mencionan que su duración es de un año, mientras que Taube y colaboradores (2001) establecen el período de 10 a 12 meses.

De acuerdo con los estudios de Eisenberg y Maliniak (1985), la duración de la preñez en *C. hoffmanni* es de 11.5 meses, sin embargo; los estudios de Gilmore y colaboradores (2000) indican que el período de gestación iguala o excede los 10,5 meses. En un estudio un poco más reciente, los resultados de Taube y colaboradores (2001) mostraron un estimado de 8 a 11 meses y 10 días como máximo, lo que se basó en el período de contacto entre macho y hembra y el subsecuente nacimiento. En cuanto al intervalo entre partos, se reportan de 15 meses hasta 26 meses (Gilmore et al., 2000; Taube et al., 2001).

A pesar de que no existe concordancia entre la mayoría de los autores con respecto al ciclo estral, así como la duración del tiempo de preñez y el intervalo entre partos, se ha logrado establecer que ambas especies dan origen a una única cría en cada parto (Nowak, 1999; Gilmore et al., 2000; Taube et al., 2001; Mühlbauer et al., 2006; Benirschke, 2007a y b).

Con el paso de los años se han presentado considerables avances en el uso de la ultrasonografía para el estudio del tracto reproductivo de un gran número de especies animales, permitiendo el diagnóstico de preñez (England et al., 2003).

La diferenciación entre un útero con preñez y uno sin preñez es muy sencilla mediante el uso de la ultrasonografía. Este método es de gran ayuda en la caracterización del contenido uterino, la estructura de la pared uterina, así como para determinar el estado de preñez y la viabilidad fetal (Burk y Feeney, 2003).

El primer signo que confirma la gestación es la detección del saco gestacional, que es simplemente un blastocisto maduro dentro del cual está el embrión en desarrollo. El saco gestacional es anecoico y mide unos pocos centímetros de diámetro. La visualización de la actividad cardíaca y del movimiento fetal, son indicativas de viabilidad fetal (Nyland y Mattoon, 2004).

Otro signo de preñez útil para el diagnóstico es la actividad cardíaca, la cual se identifica como un pequeño foco de ecos que palpitan rápidamente dentro del embrión. Esto ocurre antes de que se aprecien las estructuras anatómicas reconocibles macroscópicamente (Nyland y Mattoon, 2004). Una vez confirmado el estado de preñez, se procede a realizar las medidas correspondientes: diámetro del saco gestacional, diámetro biparietal (de un hueso parietal al otro en corte transversal) y eje longitudinal (que se toma desde la primera vértebra cervical hasta la cola).

La examinación citológica, por otro lado, se ha convertido en una herramienta muy útil en la práctica veterinaria. En la mayoría de los casos, las muestras citológicas pueden obtenerse de forma rápida, fácil y con muy poco o nulo riesgo para el animal. El examen de las células exfoliadas de la vagina es una técnica simple que puede ser utilizada para

monitorear el progreso del proestro y el estro de algunas especies animales (Cowell et al., 2008).

El principio de la citología vaginal exfoliativa se basa en la determinación del tipo y cantidad de células de las diferentes etapas del ciclo estral, ya que los cambios hormonales que sufre la mucosa vaginal a lo largo del ciclo se reflejan en la morfología de las células epiteliales (Gobello, 2008). Bajo la influencia de los estrógenos el epitelio vaginal cambia su grosor de una delgada capa de células escamosas estratificadas sin queratina a muchas capas celulares con abundante queratinización (Nelson-Couto, 2003).

El proestro se caracteriza por un aumento de la concentración sérica de estradiol (E_2), generando secreción vulvar, edema, cornificación vaginal y sangrado uterino (Nelson-Couto, 2003).

Durante el proestro temprano las células vaginales predominantes son las parabasales e intermedias (más del 80%). Conforme avanza el proestro, las células exfoliadas maduran gradualmente, desaparecen las parabasales y las células superficiales aumentan su número. Para el proestro tardío, de un 70% a un 80% corresponden a células superficiales y anucleadas (Nelson-Couto, 2003).

La principal características del estro es la aceptación de la cópula. La concentración de estradiol disminuye provocando que las células foliculares ováricas se comiencen a luteinizar y secretar progesterona (P_4). Durante esta etapa del ciclo se produce el pico de LH y 48 horas después se da la ovulación. El epitelio vaginal consiste en un 90% de células superficiales y anucleadas, con ausencia de neutrófilos (Nelson-Couto, 2003).

El inicio del diestro se detecta cuando la hembra rechaza al macho y es la fase luteal del ciclo. En la citología se observa disminución de las células superficiales, glóbulos rojos y bacterias. Por otra parte hay un aumento de células intermedias y glóbulos blancos. Luego del diestro se presenta el anestro, el cual no manifiesta signos. Citológicamente es bastante acelular, con algunas células parabasales e intermedias pequeñas (Nelson-Couto, 2003).

La medición de la concentración sérica de estradiol puede ser de ayuda para el diagnóstico de alteraciones reproductivas tales como quistes ováricos, tumores secretores de E_2 y el monitoreo de celos silentes. La presencia de esta hormona en sangre va de concentraciones mínimas (5-10pg/ml) durante el anestro hasta máximas (50-100pg/ml) durante el proestro tardío o estro temprano, desde donde luego vuelve a disminuir (Nelson-Couto, 2003).

La información proporcionada anteriormente se refiere a la especie canina, esto debido a que no se ha logrado obtener información concreta acerca de los perezosos o sus especies más cercanas como los armadillos y los osos hormigueros.

1.2. Justificación

Como se mencionó anteriormente, hay mucha discrepancia entre cuál es la verdadera duración de la preñez en perezosos. A esto se añade la gran dificultad que existe en detectar la presencia del estro debido a que no hay cambios en las zonas genitales, ni presencia de secreciones (Gilmore et al., 2000).

Este estudio pretende, de manera preliminar, dar a conocer el comportamiento hormonal y su correlación con los cambios celulares vaginales y hallazgos ultrasonográficos.

La utilización del ultrasonido cumpliría una función muy importante como herramienta para el seguimiento de este estado, confirmando o no la preñez y permitiendo visualizar las diferentes etapas de la misma mediante los cambios anatómicos de la cría y teniendo la ventaja de que es un examen no invasivo, considerado completamente seguro tanto para la madre como para la cría en todas las especies estudiadas, por lo que se evita dañar de alguna forma a los animales en estudio (Nyland y Mattoon, 2004).

Se debe tomar en cuenta que no existen estudios citológicos ni ultrasonográficos en esta especie animal, información que puede llegar a ser muy importante debido a la falta de conocimiento acerca de la fisiología reproductiva de los perezosos. Con la examinación citológica se busca dar a conocer la morfología de las células vaginales e intentar determinar en qué estado de su ciclo reproductivo se encuentran. Es importante tomar en cuenta que se ha demostrado que en otras especies animales este examen es seguro y efectivo.

El conocimiento de las diferentes concentraciones de progesterona y estradiol es significativo tanto para respaldar las observaciones de las citologías vaginales, como para poder establecer los distintos rangos normales de estas hormonas en los organismos de estos animales.

Se ha demostrado que es esencial la investigación de los parámetros reproductivos de estos animales antes de que la pérdida de su hábitat -debido a la continua deforestación-, reduzca el número de perezosos de vida libre (Mühlbauer et al., 2006). Además, esta investigación

permitiría en un futuro iniciar estudios reproductivos y un control más riguroso de la preñez, proyectos muy necesarios en una especie en vías de extinción.

1.3. Objetivos

1.3.1. Objetivo General

Determinar mediante técnicas de citología vaginal, medición de estrógenos y progesterona y el monitoreo con ultrasonografía, los diferentes estadios del ciclo reproductivo en perezosos *Bradypus variegatus* y *Choloepus hoffmanni* de vida libre, en la zona de San José de Upala.

1.3.2. Objetivos Específicos

1. Establecer los niveles de estradiol y progesterona en sangre para diferenciar las etapas del ciclo reproductivo en perezosos *Bradypus variegatus* y *Choloepus hoffmanni* de vida libre.
2. Identificar los tipos de células presentes en citologías vaginales de perezosos *Bradypus variegatus* y *Choloepus hoffmanni* con el fin de establecer las diferentes etapas del ciclo reproductivo.
3. Determinar por medio del ultrasonido si hay o no gestación y si la hubiese, realizar la medición del diámetro del saco gestacional, diámetro biparietal, eje longitudinal y establecer, si es posible, una fórmula que indique el tiempo de preñez.
4. Relacionar los niveles de estradiol y progesterona obtenidos con los hallazgos observados en las citologías vaginales en ambas especies.

2. METODOLOGÍA: MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Lugar y duración de estudio

El trabajo se llevó a cabo en la provincia de Alajuela, en el cantón de Upala, en villa San José, cuyas coordenadas geográficas están dadas por 10° 58' 0" latitud Norte y 85° 8' 0" longitud Oeste (maplandia.com, 2005; sitiosdecostarica.com, 2009). El lugar donde se realizaron la toma de las muestras y la ultrasonografía corresponde a una pequeña zona techada construida en el patio de la finca de la señora Marina Ruíz, habitante de este cantón quien facilitó los medios (mesas, fuente de electricidad) para la ejecución del trabajo. Las observaciones se realizaron durante un aproximado de 18 meses.

2.2. Animales de estudio

Para el presente estudio se utilizaron las dos especies de perezosos: *Bradypus variegatus* y *Choloepus hoffmanni*, ambas de vida libre. Se inició con una cantidad de quince *B. variegatus* y diez *C. hoffmanni*. Sin embargo, no todos los especímenes contaban con el radiocollar para su localización los días de los muestreos, por lo que se decidió continuar el estudio sólo con los animales que contaran con uno, reduciendo el número de animales a ocho de la especie *B. variegatus* y seis de la especie *C. hoffmanni*.

2.3. Captura y abordaje inicial

La ayuda fue proporcionada por un equipo de trabajo para la captura y sujeción de los animales en estudio. Este equipo está conformado por Geovanni Herrera, quien es el guía y por diferentes jóvenes del pueblo que han sido capacitados para la tarea. Su ayuda fue

facilitada por la Universidad de Wisconsin, la cual ha realizado ya varios estudios con estas especies de perezosos.

La captura iniciaba con la identificación del animal por medio de radiocollares. Estos collares han sido colocados con el fin de tener control de la ubicación de los individuos y estos puedan ser capturados con facilidad por medio del equipo de GPS, para la realización de los diferentes estudios. Una vez identificado el perezoso, un integrante del equipo entrenado sube al árbol y cuando se trataba de un *B. variegatus*, existían dos opciones: tomar el animal con las manos e introducirlo en un saco o, si se encontraba en un lugar no apto para alzarlo, se corta la rama en que se sostiene y varios miembros del equipo esperaban con una capa para recibirlo e introducirlo al saco. Cuando se trataba de un *C. hoffmanni*, especie sumamente agresiva, lo cual no permitía tomarlo directamente con las manos, se procedía únicamente con la segunda opción para su captura.

Cada saco llevaba una cinta indicando el número de radiocollar para que el equipo tomara los registros de GPS (longitud, latitud), árbol en que fue encontrado, motivo y hora de captura.

En la zona de trabajo, lo primero que se realizó fue la correcta identificación del animal, tomando tanto el número de radiocollar como el de microchip. Todos los datos obtenidos eran anotados en una ficha clínica elaborada para este trabajo (Anexo 1). El peso era medido con una pesola, con el animal dentro de un saco cuyo peso es posteriormente restado.

Para la sujeción de los animales, cuando correspondía a un *B. variegatus*, una persona lo tomaba de sus miembros anteriores y otra de sus miembros posteriores, de forma tal que sus garras no pudieran tener movimiento. La mayoría de estos individuos se mantuvieron quietos y tranquilos durante toda la examinación. Al trabajar con un *C. hoffmanni*, se requirió de la utilización de anestesia. El protocolo anestésico utilizado en la mayoría de las ocasiones fue el de ketamina en dosis de 2,5mg/kg con dexmedetomidina en una dosis de 0,02mg/kg. Esta combinación es considerada como la más adecuada, proporcionando de buena a excelente relajación muscular, buena analgesia, valores altos de saturación de oxihemoglobina y moderada bradicardia (Gilmore et al., 2000). No se ha reportado que este medicamento promueva el aborto en otros animales preñados (WSAVA, 2005; Martin-Bouyer, 2006). Además, la dexmedetomidina cuenta con la ventaja de tener su revertor, el atipamizol (ANTISEDAN[®]), el cual se administró en dosis de 0,1mg/kg, esto una vez terminada la toma de las muestras y el examen ultrasonográfico (Hanley, 2008). Luego de inyectar el revertor se esperaba cierto tiempo para asegurarse que se encontraban bien recuperados (capaces de mantenerse en los árboles), para llevarlos de regreso al árbol del que se tomaron.

Otra opción fue la utilización de tiletamina-zolacepam (Zoletil[®]) en dosis de 1,9-6,0mg/kg. Con dosificaciones de 10mg/kg se ha observado buena relajación muscular, sin embargo, este medicamento produce en algunas ocasiones respiración irregular y/o valores bajos de saturación de oxihemoglobina. Asimismo, el Zoletil[®] tiene la desventaja de que no cuenta con un revertor y los animales tardaban hasta tres horas en recuperarse completamente de la anestesia y poder ser devueltos al sitio de captura. Además carece de efecto analgésico

(Caulkett y Cattet, 2002; Gilmore et al., 2000). No se han reportado efectos secundarios negativos en animales preñados (Virbac.es, 2008).

La primera revisión a los individuos en estudio consistía en la toma de las medidas que corresponden al diámetro del cuello, largo de fémur, tibia y planta del pie y la distancia entre la nariz y la cola. Se revisaba la condición corporal y las membranas mucosas. Los parámetros fisiológicos obtenidos eran la temperatura corporal por vía rectal, la frecuencia respiratoria y cardíaca, además de tomar en cuenta la observación que se creyera necesaria para el estudio en general, como por ejemplo la presencia de sangre o muco a nivel vaginal. Si la condición del animal no era muy buena, se les administraban fluidos intrabdominales.

El orden de los procedimientos fueron: la extracción de sangre, ultrasonografía y por último la toma de la citología vaginal. Toda la información obtenida se colocó en una ficha clínica.

2.4. Toma de muestra de sangre

Las muestras de sangre para la medición hormonal fueron obtenidas de la vena yugular, con una jeringa de 3ml, colocando al animal de cúbito dorsal, los hombros alineados a la orilla de la mesa y dirigiendo el cuello un poco hacia ventral (Estrada-Rodríguez, 2007). Para este estudio se utilizó 1ml de suero para medir tanto estrógenos como progesterona. La muestra fue depositada en un tubo sin anticoagulante y centrifugada en el sitio con una centrífuga marca Hettich, modelo D-7853, durante 5 minutos a 3000 revoluciones por minuto. El suero obtenido se almacenó en una hielera para su transporte y se mantuvo en

congelación mientras se llevaba al Laboratorio Clínico Echandi-Santa Rita para su debido procesamiento.

2.5. Ultrasonografía

Una máquina de ultrasonido portátil (ALOKA® modelo SSD500) con un transductor transabdominal de 5Mhz fue utilizada para realizar las ultrasonografías a campo. Para este propósito gel de contacto acústico y alcohol se usaron con el fin de eliminar el aire interpuesto entre el transductor y la piel tal como lo recomiendan Nyland y Mattoon, (2004). En algunas ocasiones se imprimieron las imágenes obtenidas con el fin de contar con un archivo de fotos (SONY® Video Graphic Printer, modelo UP-890MD).

Para llevar a cabo este examen se colocó al animal encima de la mesa, en cúbito dorsal, con la cabeza lejos del ecografista con el fin de quedar más cerca del abdomen. La parte superior de la imagen en el monitor representaba la posición del transductor en la piel del abdomen ventral (Nyland y Mattoon, 2004). Una vez identificadas la vesícula o la cabeza del embrión, se tomaban las medidas respectivas

2.6. Citología vaginal

Para el hisopado vaginal, el animal se mantuvo de cúbito dorsal con los dos asistentes sujetando los miembros anteriores y posteriores. Se utilizó un hisopo estéril, el cual se humedeció previamente con solución salina estéril para evitar lastimar la pared vaginal más de lo necesario. Se requirió un asistente que abriera la vagina y en los casos necesarios limpiara el área para evitar que la muestra se contaminara con contenido fecal. Se introdujo un tubo estéril de diámetro pequeño que funcionaba como espéculo y evitaba que el hisopo

se contaminara antes de llegar a la vagina. El hisopo fue llevado hacia craneal e introducido unos 3cm. Por último el hisopo era frotado contra la pared vaginal dorsal, recorriendo un círculo alrededor del lumen vaginal como es indicado en la literatura (Beimborn et al., 2003).

En la colocación de la muestra en el protaobjetos, se rodaba el hisopo sobre este, haciendo de dos a cuatro líneas y se dejaban secar por unos minutos antes de fijar. Las láminas fueron fijadas con alcohol al 90% y almacenadas en una caja porta láminas para llevarlas a teñir al laboratorio de Histología y Embriología de la Escuela de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional.

La tinción utilizada para este fin fue la de Papanicolau. Esta técnica ha sido utilizada ampliamente para la tinción de improntas vaginales con el fin de observar las variaciones presentes en el tejido vaginal, ya que permite realizar una buena diferenciación de las células cervicales. Es importante tomar en cuenta que se realizó un conteo total de las células presentes en la lámina, con el fin de establecer una medición porcentual de su concentración (Lillie y Fullmer, 1975).

2.7. Medición de los niveles hormonales (estrógenos y progesterona)

La medición de estas hormonas se realizó en el Laboratorio Clínico Echandi-Santa Rita, ubicado en San José, Costa Rica, por medio de la utilización del equipo IMMULITE 2000, mediante pruebas que están acreditadas por el Ente Costarricense de Acreditación (ECA). Ambas pruebas corresponden a inmunoensayos utilizados para la medición de la concentración sérica de estrógenos (E_2) y progesterona (P_4) en humanos (Calderón, 2008).

Técnicas similares se utilizaron de forma satisfactoria en un estudio que buscaba medir los niveles de estas hormonas en heces de *B. variegatus* con el fin de establecer un método no invasivo (Mühlbauer et al., 2006).

La prueba de estradiol consistió en un inmunoensayo enzimático quimioluminiscente competitivo de fase sólida, el cual cuenta con una perla recubierta con un anticuerpo policlonal de conejo (anti-estradiol), y un reactivo de estradiol conjugado con fosfatasa alcalina que es inversamente proporcional a la concentración de E_2 en la muestra del individuo (Calderón, 2008).

Para la progesterona el inmunoensayo es competitivo secuencial, conformado por una perla recubierta con un anticuerpo policlonal de conejo (anti-progesterona), y un reactivo de progesterona marcada con un ligando, un diluyente y fosfatasa alcalina conjugada con un anti-ligando y agregando un sustrato luminogénico, en donde la luz emitida va a ser inversamente proporcional a la cantidad de fosfatasa alcalina ligada, mostrando la concentración de P_4 . (Calderón, 2008).

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A continuación se presentan los resultados obtenidos en forma general, para compararlos entre si y con la especie canina, la cual ha sido exhaustivamente estudiada. En el Anexo 2 se presenta una revisión individual a cada perezosa tanto *B. variegatus* como *C. hoffmanni* y su monitoreo durante dicho estudio.

3.1. Ultrasonografía

Debido a la ausencia de estudios ultrasonográficos en las especies animales del orden Xenarthra, la comparación se realizará utilizando datos de referencia de la especie canina, la cual como se mencionó anteriormente, ha sido ampliamente estudiada.

Como es indicado por Simpson y colaboradores (1999) y Wanke y Gobello (2006), el ultrasonido resultó ser un examen seguro y efectivo para la detección de la preñez, ya se tratara de casos iniciales (con presencia de vesícula) como avanzados (feto desarrollado).

Por lo denso del pelaje fue necesario utilizar grandes cantidades de alcohol y gel para ultrasonido, debido a que no se rasuró el área abdominal y pélvica. Al colocar el transductor en la pelvis a pocos milímetros del ano, era fácil determinar si la hembra se encontraba preñada ya que se podía observar el saco gestacional (vesícula) o el feto.

A pesar de la diferencia anatómica entre ambas especies, la vejiga funciona como punto de referencia y cuando la hembra se encuentra vacía, esta era la primera estructura reconocida. Sin embargo, cuando la hembra está gestante, lo primero que se puede observar es el saco gestacional o el feto en desarrollo, dependiendo del estado de preñez en que se encuentre.

En perezosas no preñadas es muy difícil apreciar el útero, sólo en ocasiones se puede observar una región hipoeecogénica o anecóica debido a la presencia de líquido con la pared de un grosor y ecogenicidad medias con los bordes internos irregulares, similar a lo reportado en caninos por Nyland y Mattoon (2006). Además, en esta especie, no fue posible la observación de los ovarios debido a que el estómago ocupaba la mayor parte del espacio abdominal a diferencia de lo reportado en caninos en los que el estómago cuando se encuentra vacío se ubica dentro del tórax, cubierto por el hígado y el diafragma y al llenarse se desplaza a la cavidad abdominal sobrepasando la cicatriz un umbilical, pero sin interferir en la observación de los ovarios (Adams, 1988; Evans y deLaHunta, 2002; Nyland y Mattoon 2006).

En todos los casos, se observaba una única cría por preñez, esto podría deberse a que dentro del orden Xenarthra, tanto los perezosos como los osos hormigueros (*Myrmecophaga tridactyla*), poseen un útero en forma de pera en donde se da la fusión completa de los cuernos uterinos (útero simple) y ambos tienen un prolongado proceso de gestación (al menos 8 meses en perezosos, aproximadamente 6 meses en *M. tridactyla*) (Cetica et al., 2005; Benirschke, 2007a).

El primer signo que confirmaba la preñez en las perezosas (Figuras 1 y 2), así como en las perras, era la observación de la vesícula embrionaria (dentro de la cual se encuentra el embrión en desarrollo), el cual es anecóico con una pequeña área central hiperecóica en su interior (Burk & Feeney, 2003; Nyland & Mattoon, 2006).



Figura 1. Vesícula embrionaria de un *B. variegatus*. Embrión (*Punta de flecha*). ALOKA®.



Figura 2. Vesícula embrionaria de un *B. variegatus* en etapa más avanzada de preñez. Embrión (*Punta de flecha*). ALOKA®.

En un menor grado que en perras y asumiendo que se trata de la misma estructura, se puede observar que el saco gestacional está rodeado por una capa interna del útero (la placenta), que se muestra como una capa delgada, periférica e hipercogénica (Nyland y Mattoon, 2006).

Con respecto al tamaño de la vesícula, como se observa en el Cuadro 1, Nyland y Mattoon (2006) reportan en caninos tamaños menores en comparación a los obtenidos en las perezosas, ya que en las primeras los parámetros se mostraban de 0,20cm a 1,31cm y en *B. variegatus* se obtuvieron valores de 1,90cm hasta 3,40cm. Sin embargo, Thuróczy y Tibold (2008) han reportado vesículas de 1,70cm hasta 3,80cm, esto posiblemente debido a la raza canina utilizada en el estudio.

Cuadro 1. Medidas de estructuras embrionarias en perezosas *B. variegatus*, *C. hoffmanni* y caninos.

	<i>B. variegatus</i>	<i>C. hoffmanni</i>	Caninos ²
Vesícula Embrionaria (cm)	1,90 - 3,40	-	0,20 - 3,80
Diámetro Biparietal (cm)	1,00 - >3,40	1,82 - >2,70	0,90 - 2,90
Eje Longitudinal (cm)	3,47 - >7,27	6,19 ¹	1,50 - 7,00

¹Única medida obtenida.

²Fuente: Nyland y Mattoon, 2006

En *Choloepus hoffmanni* no fue posible obtener medidas de vesículas, debido a que al momento de captura se encontraban en preñeces muy avanzadas, observándose en todo momento con los fetos ya formados.

El grosor de la vesícula observada dependía de cuán avanzada estuviera la preñez. En estadios tempranos se observaba una pared bastante ancha e hiperecólica, con bordes ligeramente irregulares (Figura 1). En preñeces más avanzadas, la pared se hacía cada vez más delgada y los bordes internos más uniformes (Figura 2). El diámetro de la vesícula oscilaba entre 1,90cm a 3,40cm. En la base de la vesícula era posible ver la presencia del

embrión como una estructura pequeña de ecogenicidad similar a la pared de la misma (Figuras 1 y 2) y en algunos de ellos se distinguía la frecuencia cardíaca (como un pequeño foco de ecos que palpitan de forma rápida dentro del embrión), la cual, junto con la observación del movimiento fetal, son signos reportados, en caninos, en la literatura como muestras de viabilidad fetal (Nyland & Mattoon, 2006).

Como se muestra en las Figuras 3, 4 y 5, en un feto en estado más avanzado de desarrollo se observaron claramente la cabeza, columna, costillas, corazón, estómago, miembros anteriores y posteriores, además del movimiento fetal. Las estructuras óseas eran las de mayor ecogenicidad; en dos casos fue posible observar las uñas con una ecogenicidad un poco menor a la ósea. El corazón se observó anecoico con bordes bien definidos y en su interior las válvulas cardíacas hiperecóicas, haciendo posible ver su movimiento y tomar la frecuencia cardíaca (Figuras 4 y 5).

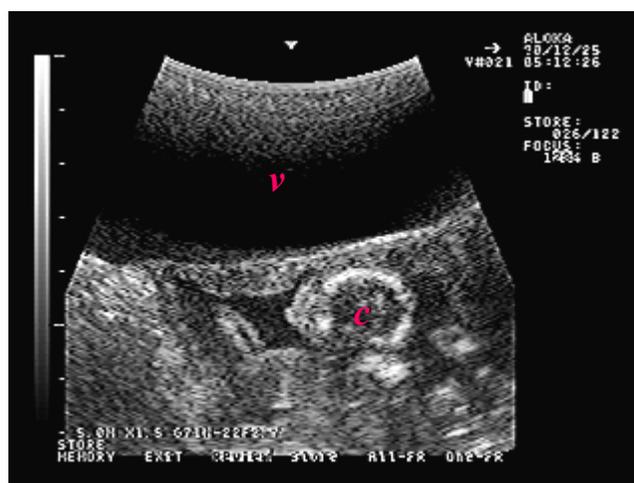


Figura 3. Feto en desarrollo de un *B. variegatus*. Cabeza (c). Vejiga urinaria (v). ALOKA®.

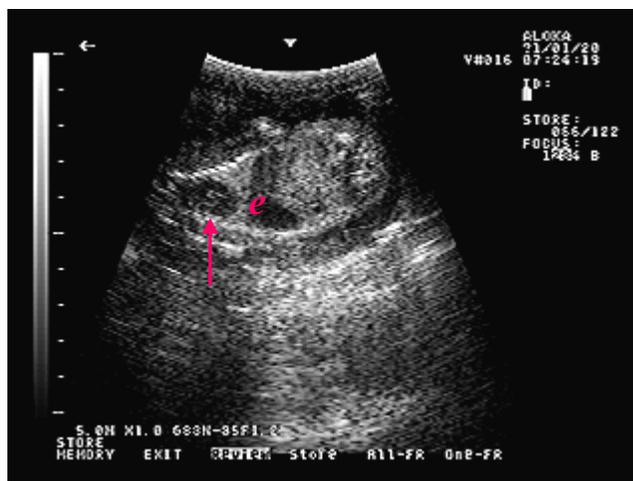


Figura 4. Feto en desarrollo de un *B. variegatus*. Corazón (*flecha*). Estómago (*e*). ALOKA®.

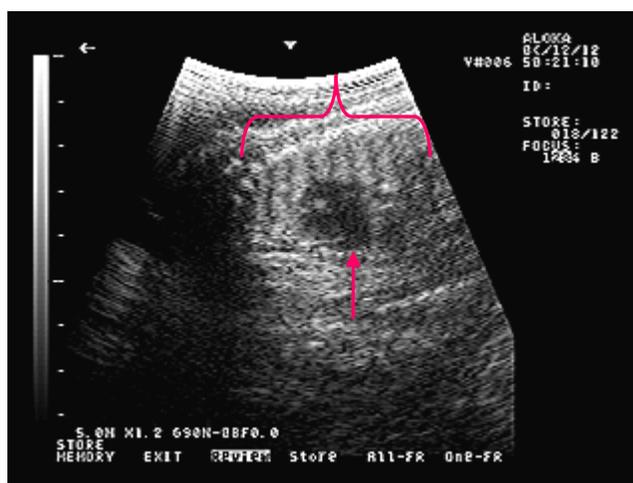


Figura 5. Feto en desarrollo de un *B. variegatus*. Corazón (*flecha*). Costillas (*llave*). ALOKA®.

Los valores del diámetro biparietal en los *B. variegatus* oscilaron entre 1,00cm y más de 3,40cm. Con respecto a los *C. hoffmanni*, las medidas variaron de 1,82cm y más de 2,70cm

(Cuadro1). En el caso de los caninos de diferentes razas se han reportado diámetros biparietales de 0,90cm a 2,90cm (Thuróczy y Tibold, 2008).

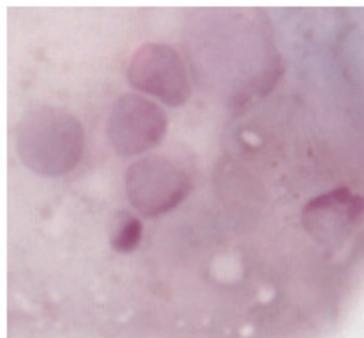
El eje longitudinal (Cuadro 1), en los *B. variegatus* varia de 3,47cm o más de 7,27cm. En el *C. hoffmanni* sólo se obtuvo un reporte de un eje longitudinal de 6,19cm, ya que el resto fue impedido por la posición del feto y la capacidad del transductor. En caninos, la mayoría de la literatura reporta la medición del eje longitudinal como un parámetro importante para la determinación de la edad de gestación, sin embargo, muy pocos reportan las medidas obtenidas; los que las muestran, reportan un rango de 1,50cm (a los 20 días de ovulación) hasta 6-7cm de largo (Simpson et al., 2000; Burk y Feeney, 2003; Nyland y Mattoon, 2006; Thuróczy y Tibold, 2008).

3.2. Citología vaginal

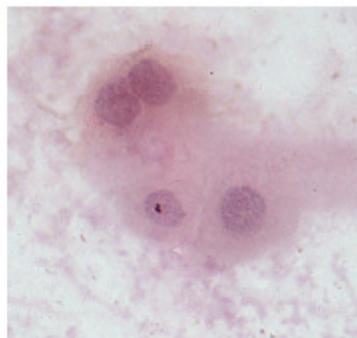
De igual forma que con la técnica ultrasonográfica, no existen estudios de citologías vaginales en el orden de los Xenarthra, por lo cual se utilizó la especie canina como referencia para el análisis de la morfología celular obtenida, además se realizó el conteo total de las células presentes en cada lámina con el fin de proporcionar el porcentaje de concentración de las mismas para el estudio de las muestras.

3.2.1. Morfología celular

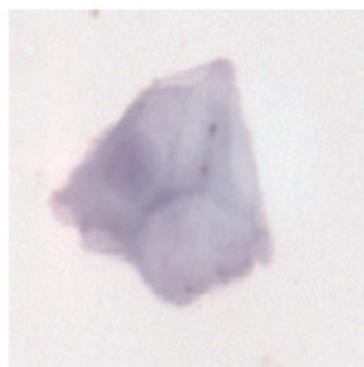
En las citologías vaginales de las perezosas observadas se lograron identificar células parabasales, intermedias, superficiales y anucleadas (Figura 6).



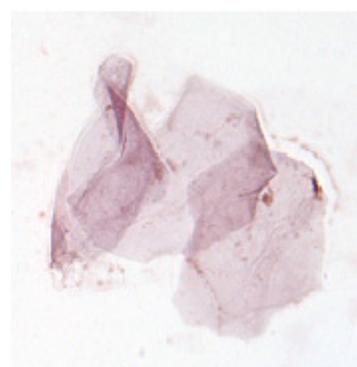
6a. Células parabasales 40x



6b. Células intermedias 40x



6c. Célula superficial 40x



6d. Células anucleadas 40x

Figura 6. Células observadas en citologías vaginales de perezosas *B. variegatus* y *C. hoffmanni*, tinción de Papanicolau, microscopía de luz.

Las células parabasales observadas son redondas, pequeñas con núcleo vesiculado y poca cantidad de citoplasma (Figura 6a). Las células intermedias en las perezosas también pueden variar de tamaño dependiendo de la cantidad de citoplasma que contengan, son más grandes que las parabasales con un núcleo claramente visible (Figura 6b). Las células superficiales se aprecian de un mayor tamaño que el resto, con el núcleo picnótico, citoplasma abundante y con pliegues (Figura 6c); las anucleadas tienen muchos pliegues, sin presencia de núcleo, son también llamadas superficiales anucleadas (Figura 6d). La

morfología observada en las células mencionadas anteriormente es similar a la descrita en caninos por Cowell et al., 2008.

3.2.2. *Conteo celular*

En el caso de *Bradypus variegatus*, el conteo celular obtenido en cada hisopado era muy alto, hasta de 3036 células por lámina, con un mínimo de 102 células; el 50% (n= 8) mostró mayor número de células anucleadas. Mientras que un 37,5% mostraba predominantemente células intermedias. En todos los individuos las células superficiales fueron escasas (menos del 10%) y no variaron en cantidad, por lo que puede que no representen mucha importancia a diferencia de las perras en las cuales durante el estro es común encontrar estas células de un 80% a 90% (Cowell et al., 2008). Sólo en un caso aislado en la perezosa del radiocollar (RC) 08, las células predominantes eran las parabasales. Sin embargo, en el resto de animales estudiados, estas se comportaban similares a las superficiales.

En contraste, en los *Choloepus hoffmanni* los conteos celulares por hisopado eran mucho menores que en las *B. variegatus*, llegándose a reportar como máximo una cantidad de 746 células por lámina y mínimo de 94 células. A diferencia de *B. variegatus* estas presentaron mayor número de anucleadas en el 100% (n=4) de los animales muestreados, mientras que los otros tipos de células se presentaron en poca cantidad en todos los casos, mostrando que entre familias se presentan diferencias en el tipo y número de células presentes en la pared vaginal.

En ambas especies no fue posible asociar los tipos y cantidades de células con el estado reproductivo en que se encontraban, sin embargo es importante realizar estudios más exhaustivos para determinar las utilidades o no de esta técnica para análisis reproductivos en perezosos

3.3. Medición hormonal

En la literatura se han descrito análisis hormonales en especies de perezosos *B. variegatus* en muestras de heces, utilizando un kit de radioinmunoensayo de estradiol de tercera generación del Diagnostic System Laboratories, Inc., Webster, TX, USA, el cual tiene una sensibilidad para el estradiol de 0,60pg/ml y así mismo para la progesterona (Mühlbauer et al., 2005). El método de análisis utilizado en el presente estudio (inmunoensayo competitivo secuencial) tiene una sensibilidad de 20pg/ml hasta 2000pg/ml para el estradiol y de 0,20 a 40ng/ml para la progesterona (Calderón, 2008).

A pesar de que la sensibilidad de la prueba utilizada en esta investigación es más baja que la empleada en el estudio mencionado, en sólo pocas ocasiones se obtuvieron valores menores a 20 pg/ml. Sólo en un caso (RC: 14s), en el cual la hembra se encontraba vacía y con una cría en brazos (que aparentaba ser de muy corta edad), mostró en la mayoría de sus mediciones hormonales resultados menores del rango de sensibilidad, esto debido a que podría encontrarse en un estado de anestro lactacional en donde las concentraciones de progesterona y estradiol permanecen muy bajas (Simpson et al., 1999; Wanke y Gobello, 2006).

Los valores de estradiol en hembras de *B. variegatus* preñadas variaron de <20,0pg/ml hasta 106 pg/ml y en las vacías se reportaron valores de <20,00pg/ml hasta 42,40pg/ml. Por otra parte, en las hembras de *C. hoffmanni* preñadas las medidas de estradiol en sangre mostraron un rango de 34,20pg/ml hasta 50,20pg/ml y en las vacías tenían de 26,20pg/ml como valor mínimo hasta 42,40pg/ml máximo. Se ha reportado en perezosas *B. variegatus* una concentración de estradiol en plasma aproximadamente de 2pg/ml hasta 6pg/ml; sin embargo no se realizó un análisis de las mismas debido a que el número de muestra era muy escaso (Mühlbauer et al., 2006). En el caso de los caninos se reportan niveles basales de estradiol de 2-10pg/ml, esto cuando se encuentran en el diestro o durante la preñez, hasta picos de 50-100pg/ml en las etapas entre el proestro y el estro (Blendinger, 2007).

Las hembras *B. variegatus* preñadas presentaron valores de progesterona de 3,60ng/ml a 72,7 ng/ml, mientras que en las vacías el rango iba de <0,20ng/ml hasta 32,80ng/ml. En el caso de *C. hoffmanni* los valores de esta hormona fueron mucho más altos, desde 40ng/ml hasta 391ng/ml, mientras que al encontrarse vacías la concentración disminuía con valores de 0,56ng/ml a 16,70ng/ml. En caninos los valores de progesterona varían de 0,80ng/ml, cuando se encuentran vacías, hasta 10-20ng/ml durante la preñez (Wanke y Gobello, 2006; Blendinger, 2007).

3.4. Citología vaginal vs. Concentración hormonal

Para la interpretación de los resultados en las figuras es importante mencionar que el estradiol sérico se encuentra en una concentración mil veces menor que la progesterona por

lo cual la E₂ se reporta en picogramos por mililitro (pg/ml) y la P₄ en nanogramos por mililitro (ng/ml)

En hembras *B.variegatus* cuando se observó una vesícula pequeña (2,00cm) se encontraron niveles de E₂ menores de 20pg/ml y concentraciones de P₄ de 4,04-6,30ng/ml, así como células parabasales predominantes en la citología vaginal. Conforme aumentó el tamaño de la vesícula (entre 2,45cm y 3,28cm), los niveles de E₂ aumentaron hasta 38,60pg/ml, mientras que la P₄ aún se mantenía en los mismos niveles.

Posteriormente, conforme avanzaba la preñez y el diámetro biparietal estaba presente (Figura 7), se observó que tanto los niveles de estrógenos como los de progesterona iban en aumento.

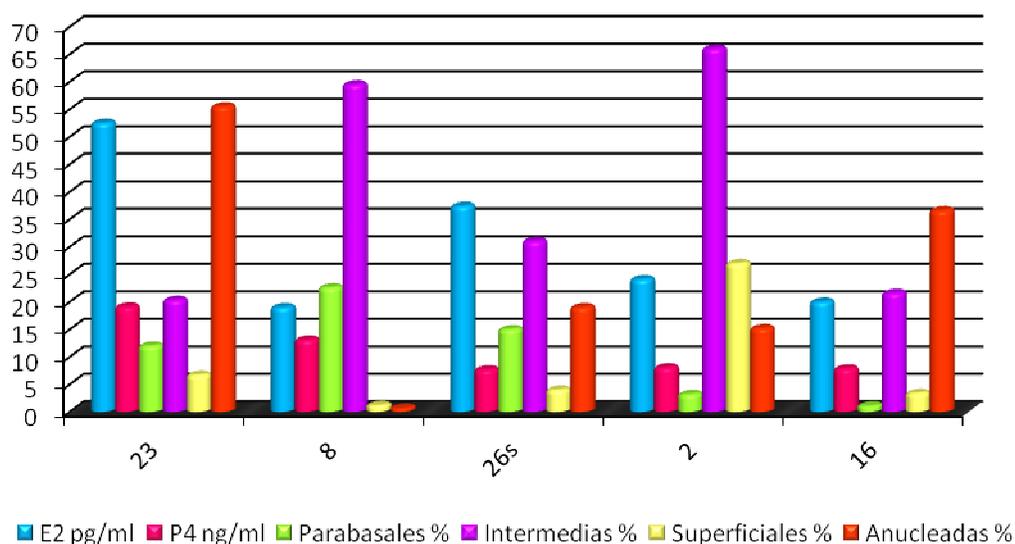


Figura 7. Comparación individuos de *Bradypus variegatus* con diámetros biparietales de 1,0-1,49cm.

Para las hembras (n=5) con diámetros biparietales de 1-1,49cm, en un caso se presentaron altas concentraciones de estrógenos y un porcentaje alto de células anucleadas (RC: 23), pero en las otras observaciones no hay esta relación. Sin embargo, en dos hembras si se observa una tendencia a presentar alto porcentaje de células intermedias cuando los niveles de estrógenos disminuyen. El resto de células se mantienen en porcentajes bajos y no muestran ninguna tendencia. Esto coincide en el primer caso con lo descrito en caninos, en los cuales, cuando hay altas concentraciones de estradiol, las células presentes en las citologías son las anucleadas. Sin embargo, sucede lo contrario con las dos hembras que mostraban una alta cantidad de células intermedias cuando el estradiol también se encuentra alto, opuesto a lo sucedido en caninos que al estar aumentada la concentración de esta hormona, la cantidad de células intermedias disminuye para ser sustituidas por superficiales y anucleadas (Cowell et al., 2008). En estos casos también es posible observar que conforme disminuye la concentración de progesterona, aumenta el conteo de células intermedias y anucleadas, lo que puede indicar que la P₄ también tiene efecto sobre las células vaginales.

Asimismo se observa que el estradiol cumple una función importante durante las primeras etapas de la preñez en perezosas, manteniéndose en cantidades altas, similar a la especie equina en la cual se ha determinado que los estrógenos tienen un efecto importante sobre la viabilidad fetal (Daels et al., 1990; Cunningham, 2003). Situación que no se da en caninos, los cuales al entrar en el diestro o el estado de preñez disminuyen las concentraciones de estradiol a niveles basales (aumentando hasta el final de la preñez e

inicios del parto) y llevan a picos su concentración de progesterona (Blendinger, 2007; Veiga et al., 2010).

Cuando el diámetro biparietal aumenta en un rango de 1,50-1,79 (Figura 8), los niveles de hormonas mantienen la misma relación (ambos en aumento), llegando la progesterona a alcanzar niveles de hasta 25ng/ml, similar a lo que ocurre en caninos en donde, conforme avanza la preñez los niveles de esta hormona comienzan a aumentar (de niveles basales de 15ng/ml hasta 80ng/ml) (Nelson-Couto, 2003).

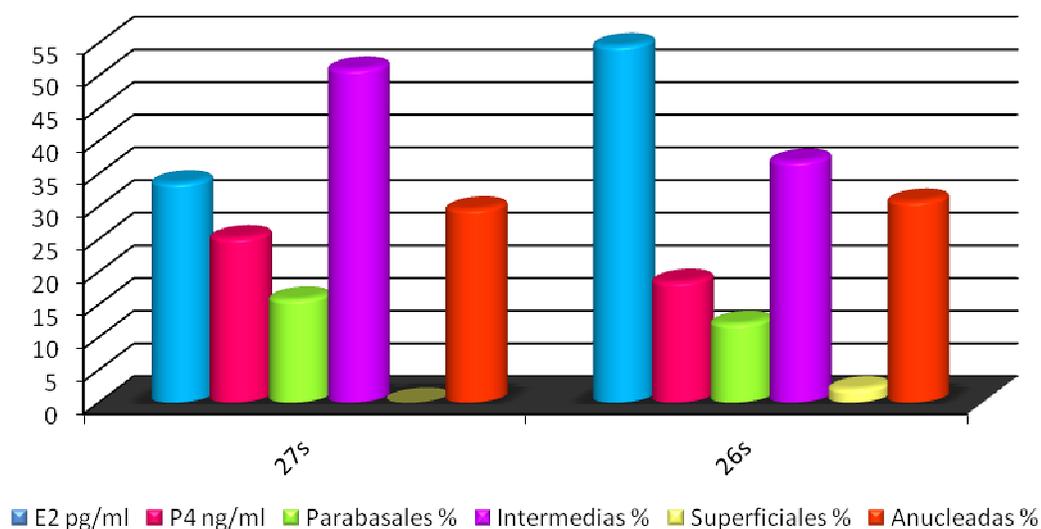


Figura 8. Comparación individuos de *Bradypus variegatus* con diámetros biparietales de 1,50-1,79cm.

Además, se observa que al aumentar los niveles de estrógenos la cantidad de células intermedias se mantiene, alta lo que contradice lo presentado anteriormente por Cowel y colaboradores (2008).

Cuando se observan los datos de las hembras con diámetro biparietal en un rango de 1,80-2,70 o más cm (Figuras 9-12), se observa una tendencia a la disminución de estrógenos (con excepción al inicio en un caso, Radiocollar 23) y un aumento de progesterona. Además, el porcentaje de células superficiales disminuye, esto puede ser debido a que conforme avanza la preñez (y con ello, aumenta el tamaño del diámetro biparietal), la concentración de estradiol va disminuyendo junto con el aumento de la progesterona, lo que posiblemente tenga un efecto directo en la disminución de la cantidad de células superficiales como ocurre en caninos (Blendinger, 2007; Cowel et al., 2008). Asimismo se observa una menor cantidad de células intermedias cuando los niveles de estrógenos disminuyen (en dos de los casos).

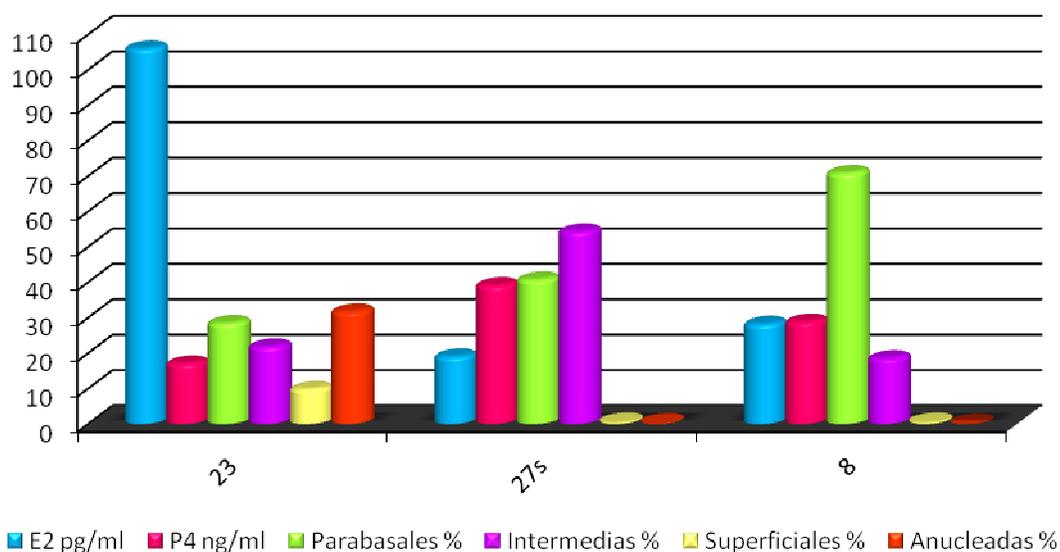


Figura 9. Comparación individuos de *Bradypus variegatus* con diámetros biparietales de 1,80-1,99cm.

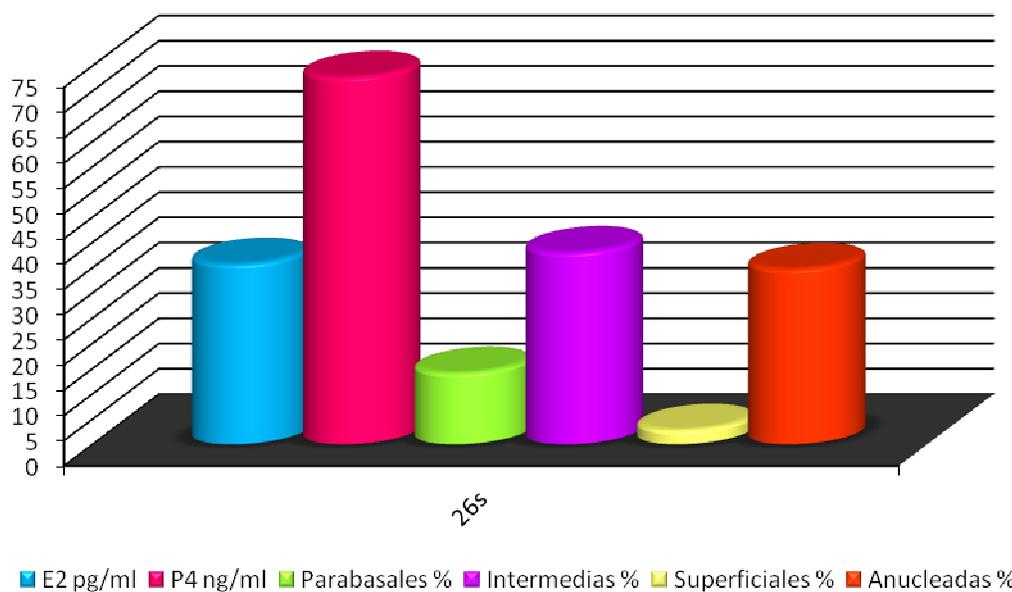


Figura 10. Comparación individuos de *Bradypus variegatus* con diámetros biparietales de 2,00-2,39cm.

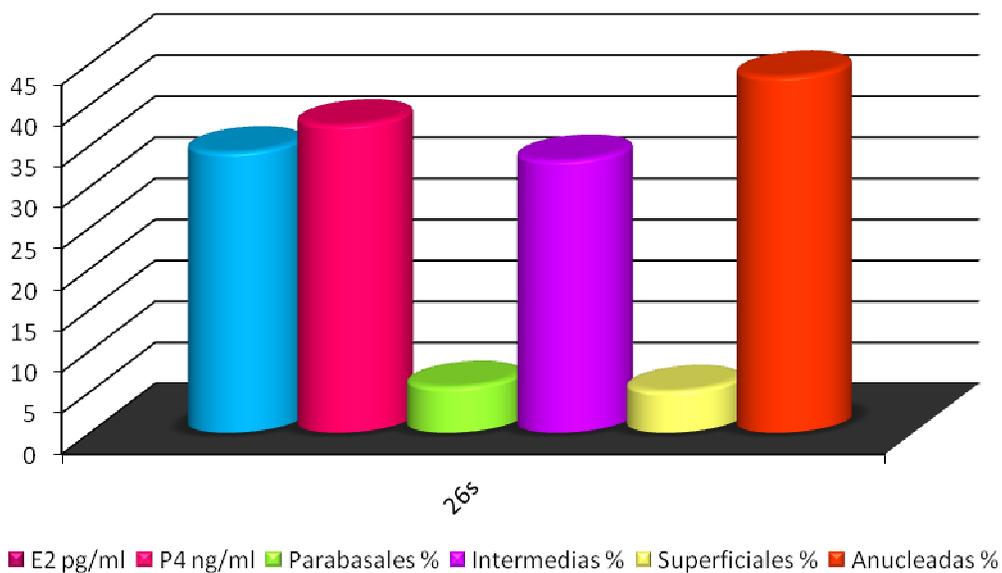


Figura 11. Comparación individuos de *Bradypus variegatus* con diámetros biparietales de 2,40-2,69cm.

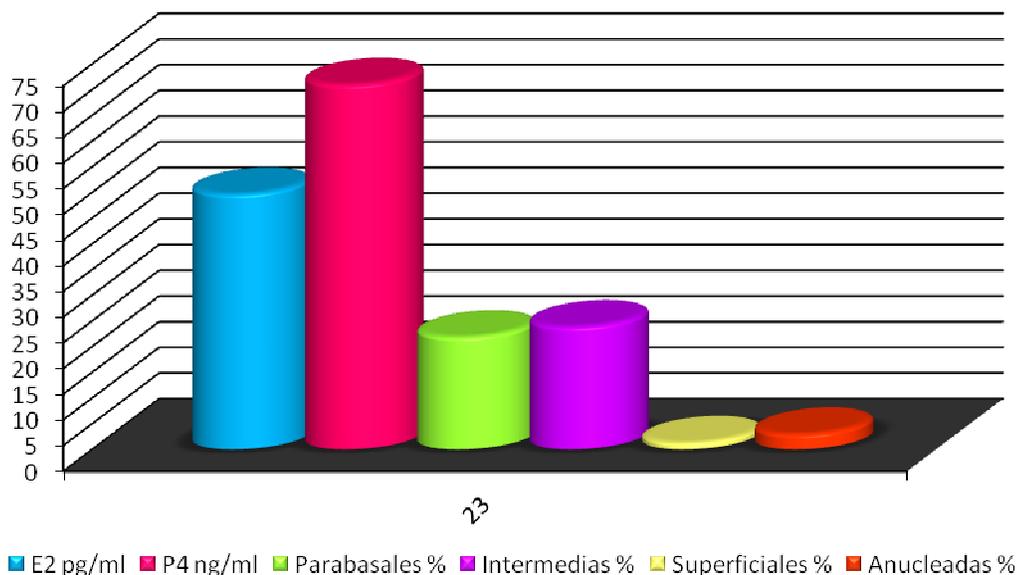


Figura 12. Comparación individuos de *Bradypus variegatus* con diámetros biparietales de 2,70cm o mayores.

En el caso de los caninos, la disminución de la concentración de estradiol junto con el aumento de la progesterona (producida por el cuerpo lúteo) se presenta cuando la hembra entra en diestro o queda preñada y se mantiene de esta forma a lo largo de estos dos procesos (Blendinger, 2007; Günzel-Apel, 2008). Según Superina y colaboradores (2009) en todas las hembras de armadillos *Zaedyus pichiy* utilizadas en el estudio, la concentración de progesterona en heces se mantenía en niveles mínimos durante la primera mitad de la preñez, luego aumentaba hasta picos de 350ng/ml. Esto puede indicar que la principal fuente de progesterona en estas especies sea proporcionada por la unidad placentario-fetal, como ocurre en la especie equina a partir de los 120 días de gestación (Sacristán et al., 1998).

En todos los casos en las perezosas hay un efecto conjunto de los estrógenos y la progesterona durante toda la preñez, lo que las diferencia de los caninos en donde la hormona predominante en este proceso es solamente la progesterona, mientras que los estrógenos se encuentran en concentraciones mínimas (Sacristán, 1998; Cunningham, 2003).

En las hembras no preñadas de *B. variegatus*, como se muestra en la Figura 13, tampoco se observó un cambio entre las concentraciones séricas hormonales y los porcentajes de células observadas en la citología vaginal que pudiera indicar una relación entre ambos parámetros como lo descrito en hembras vacías en caninos en las cuales existe una estrecha relación entre la concentración de estradiol y la presencia de células superficiales y anucleadas, así como entre la concentración de progesterona con la observación de células parabasales e intermedias, lo que sugiere la utilización de ambas pruebas para el establecimiento del estado reproductivo de esta especie (Simpson et al., 1999; Wanke y Gobello, 2006; Blendinger, 2007; Cowel et al., 2008).

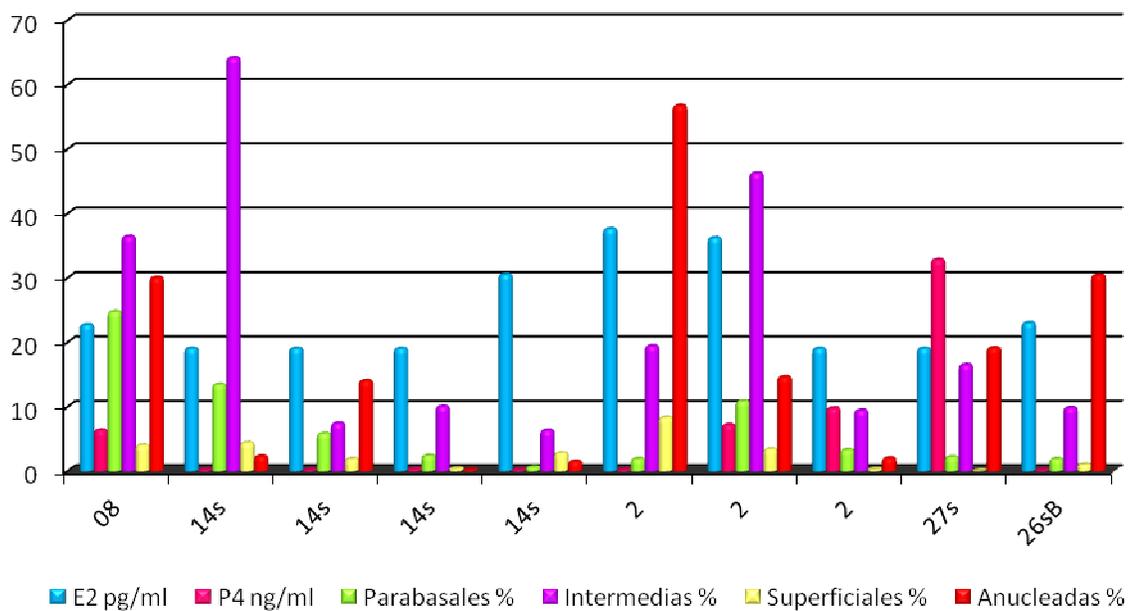


Figura 13. Comparación individuos de *Bradypus variegatus* no preñadas.

Para la hembra de *Choloepus hoffmanni* que tiene un diámetro biparietal de 1,80 a 1,99cm (Figura 14), hay presencia tanto de estradiol como de progesterona de 34,20pg/ml y 40ng/ml respectivamente. A diferencia de las *B. variegatus*, la progesterona siempre se presenta en altas concentraciones. En esta especie las células de mayor predominancia son las anucleadas.

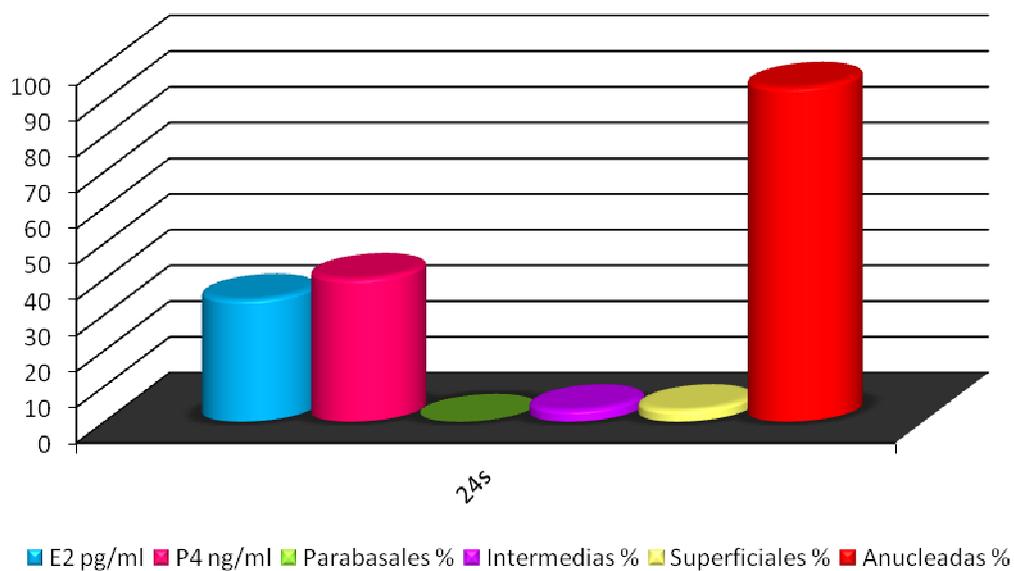


Figura 14. Comparación individuos de *Choloepus hoffmanni* con diámetros biparietales de 1,80-1,99cm.

Como indican las Figuras 15 y 16, conforme avanza la preñez y el tamaño del diámetro biparietal (de 2,40 a más de 2,70cm), el estradiol y la progesterona se incrementan, la última en mayor grado que la primera (importante aclarar que en el caso de la perezosa RC: 35s de la figura 15 no fue posible medirle la P₄).

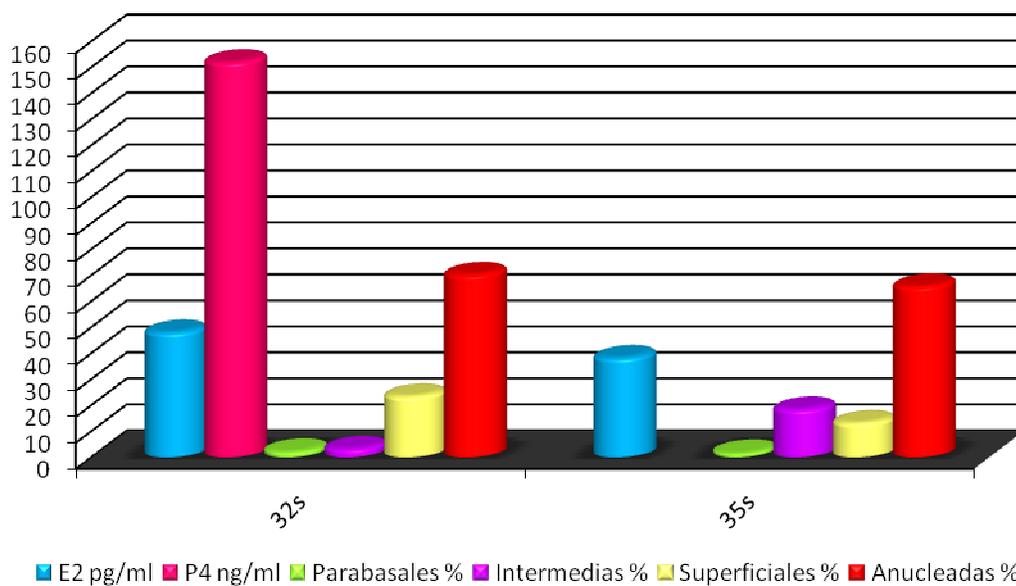


Figura 15. Comparación individuos de *Choloepus hoffmanni* con diámetros biparietales de 2,40-2,69cm.

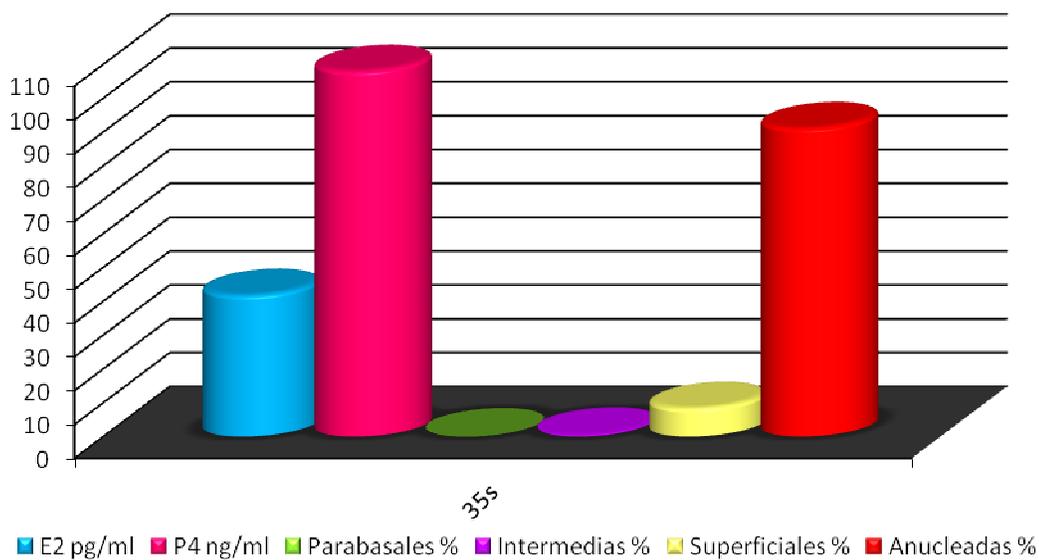


Figura 16. Comparación individuos de *Choloepus hoffmanni* con diámetros biparietales de 2,70cm o mayores.

Estos casos son similares a lo explicado anteriormente en los armadillos *Zaedyus pichiy* y en equinos, en donde al avanzar la preñez la concentración de ambas hormonas aumenta (Daels et al., 1990; Cunningham, 2003; Superina et al., 2009). Las células anucleadas se mantienen en concentraciones altas y las superficiales aumentan levemente, pero sin tener ninguna relación aparente con los cambios hormonales.

A diferencia de lo observado en *B.variegatus*, en las hembras no preñadas de *C. hoffmanni* (Figura 17), sí se observa una relación entre los niveles séricos de estrógenos y la células anucleadas, mostrándose un aumento simultaneo de las mismas, similar a lo descrito en caninos, en los que conforme avanza el proestro y el estro, la concentración sérica de estradiol va en aumento hasta alcanzar su pico, junto con la queratinización del epitelio uterino, observándose progresivamente la presencia de células superficiales y anucleadas (Simpson et al., 1999; Wanke y Gobello, 2006; Blendinger, 2007; Cowel et al., 2008). Además, las concentraciones de ambas hormonas son mayores que en los *B. variegatus*.

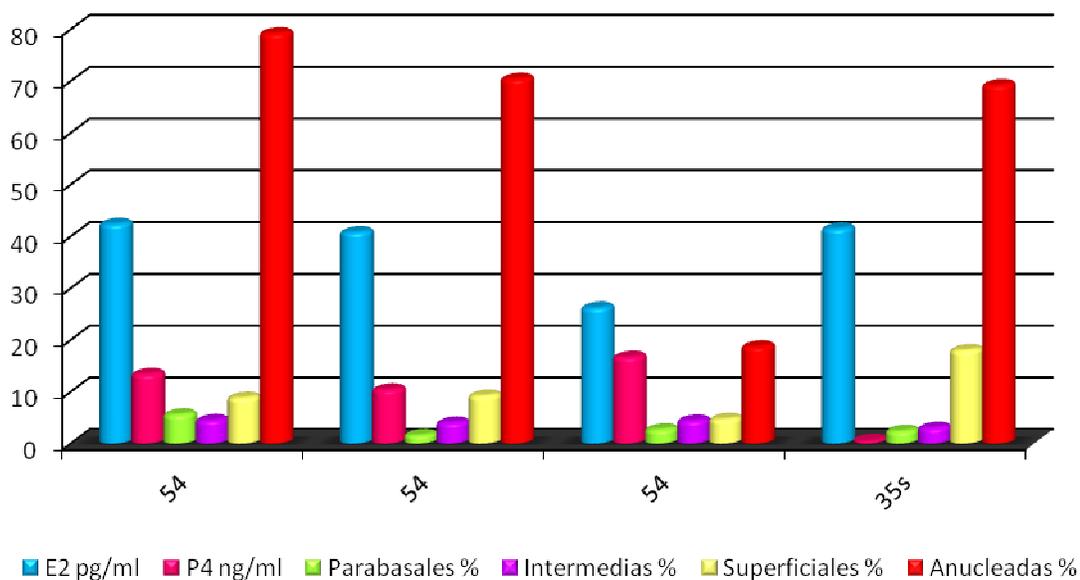


Figura 17. Comparación individuos de *Choloepus hoffmanni* no preñadas.

Debido a que la presencia de células superficiales fue prácticamente nula tanto en *B. variegatus* y *C. hoffmanni*, se podría sospechar que existe alguna particularidad que haga que estas células no se les tiña bien el núcleo y por esto pasen de células intermedias a anucleadas de forma directa, por lo que podría intentarse realizar estudios que utilicen otras técnicas de tinción como el Diff-Quick, Hema 3 o el Wright-Giemsa.

4. CONCLUSIONES

En *B. variegatus* se lograron establecer niveles bajos de E₂ en etapas iniciales de la preñez en donde era posible observar la vesícula embrionaria. Conforme avanzó la gestación los niveles de esta hormona llegaron a aumentar hasta 106pg/ml y luego disminuyeron en etapas avanzadas de la misma. Los niveles de P₄ aumentaron durante toda la gestación, alcanzando un nivel de 72,70ng/ml cuando el feto se encontraba desarrollado.

Las hembras vacías de *B. variegatus* presentaron valores < 20,00pg/ml y máximos de 37,60pg/ml de E₂ y concentraciones menores de 0,20ng/ml y máximas de 9,76ng/ml de P₄.

En *C. hoffmanni* la concentración de E₂ se mantuvo alta durante todas las etapas de gestación observadas, ocurriendo lo mismo con la P₄ hasta niveles mayores que los observados en las *B. variegatus*. Asimismo, las hembras vacías reportaron niveles mayores en ambas hormonas que en *B. variegatus*.

Se identificó la morfología y cantidad celular de la pared vaginal de perezosos *B. variegatus* y *C. hoffmanni* por medio de la utilización de las técnicas de hisopado vaginal y tinción de Papanicolau.

Por medio de la ultrasonografía se diagnosticó la preñez en perezosos *B. variegatus* y *C. hoffmanni*, se logró observar la vesícula y establecer el diámetro biparietal, eje longitudinal, frecuencia cardíaca y movimientos fetales confirmando el estado reproductivo de la hembra y la viabilidad fetal de sus crías.

Se determinó que la gestación es mayor a los 7 meses, ya que no se reportó ningún parto antes de este tiempo en el periodo de estudio (18 meses), sin embargo el establecimiento de una fórmula para el cálculo del tiempo de preñez no fue posible debido a la falta de reportes de los partos posteriores a las visitas y de visitas más frecuentes.

Establecer una relación entre la concentración de estradiol y progesterona en sangre con las citologías vaginales con el fin de establecer el estado reproductivo en hembras de *B. variegatus* no fue posible. Sin embargo, en perezosas *C. hoffmanni*, se logró observar cierta relación entre las células anucleadas y la concentración sérica de estradiol.

Se establecen fuertes diferencias entre las especies *B. variegatus* y *C. hoffmanni* en cuanto al porcentaje de células presentes en el epitelio de la pared vaginal, señalando que como especie y familia su fisiología reproductiva es distinta.

5. RECOMENDACIONES

Realizar un estudio en el cual la revisión de los animales sea de al menos cada quince días y por un mínimo de dos años, con el fin de obtener resultados más específicos y fechas de parto más exactas. En estos casos se podría optar por el análisis hormonal por medio de las heces para disminuir el estrés de los individuos.

Asimismo, realizar estudios citológicos que incluyan diferentes técnicas de tinción con el fin de evacuar la duda de que si con la con la técnica del Papanicolau los núcleos en las células superficiales no logran ser teñidos o que la concentración de células vaginales superficiales es prácticamente nula en estos animales.

6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Adams, D. 1988. Anatomía canina: estudio sistémico. Acribia, España.
- Aiello, A. 1985. Sloth hair: unanswered questions. p.213-218. *In* G., Montgomery (ed.). The evolution and ecology of armadillos, sloths and vermilinguas. Smithsonian Institution Press, Washington.
- Anónimo. 2004. Upala [en línea]. Sitios de Costa Rica, San José. <http://sitiosdecostarica.com/cantones/Alajuela/upala.htm> (Consulta: 14 mar. 2009).
- Anónimo. 2005. Upala google satellite map [en línea]: detailed map of Upala and neighboring regions. Maplandia.com. <http://www.maplandia.com/costa-rica/alajuela/upala/> (Consulta: 14 mar. 2009).
- Anónimo. 2008. Ficha técnica [en línea]. Virbac, España. <http://www.virbac.es/p-virbacespubes/display.aspx?srv=pvirbaces&typ=pub&lang=es&cmd=view&style=styles/specie.xml&select=PRODUCT>. (Consulta: 10 jun. 2009).
- Beimborn, V.R., H.L. Tarpley, P.J. Bain & K.S. Latimer. 2003. The canine estrous cycle [En línea]: staging using vaginal cytological examination. Veterinary Clinical Pathology Clerkship Program, Athens. <http://www.vet.uga.edu/vpp/clerk/Beimborn/index.php>. (Consulta: 07 ene. 2009).
- Benirschke, K. 2007a. Comparative placentation [en línea]: three-toed sloths *Bradypus tridactylus*, *B. torquatus*, *B. variegatus*. International Veterinary Information Service, Ithaca NY. www.ivis.org. (Consulta: 19 feb. 2008).

- Benirschke, K. 2007b. Comparative placentation [en línea]: two-toed sloths *Choloepus didactylus* & *C. hoffmanni*. International Veterinary Information Service, Ithaca NY. www.ivis.org (Consulta: 19 feb. 2008).
- Blendinger, K. 2007. Physiology and pathology of the estrous cycle of the bitch. . International Veterinary Information Service, Ithaca NY. www.ivis.org (Consulta: 03 nov. 2011).
- Burk, R.L. & D.A. Feeney. 2003. Small animal radiology and ultrasonography: a diagnostic atlas and text. 3rd. ed. Elsevier Science. United States.
- Calderón, M. 2008. Estradiol en suero: IMMULITE 2000. Laboratorio Clínico Echandi-Santa Rita, San José, CR.
- Calderón, M. 2008. Progesterona en suero: IMMULITE 2000. Laboratorio Clínico Echandi-Santa Rita, San José, CR.
- Caulkett, R.L. & M.R.L. Cattet. 2002. Anesthesia of bears [en línea]. International Veterinary Information Service, Ithaca NY. www.ivis.org (Consulta: 19 feb. 2008).
- Cowell, R.L., R.D. Tyler, J.H. Meinkoth & D.B. DeNicola. 2008. Diagnostic cytology and hematology of the dog and cat. 3rd. ed. Elsevier, United States.
- Cunningham, J.G. 2003. Fisiología veterinaria. 3a. ed. Elsevier, Madrid, España.
- Daels, P.F, S. Shideler, B.L. Lasley, J.P. Hughes & G.H. Stabenfeldt. 1990. Source of oestrogen in early pregnancy in the mare [en línea]. International Veterinary Information Service, Ithaca NY. www.ivis.org (Consulta: 30 may. 2012).

- Eisenberg, J.F. & E. Maliniak. 1985. Maintenance and reproduction of the two-toed sloth *Choloepus didactylus* in captivity. p.327-331. In G.G. Montgomery, (ed.). The evolution and ecology of armadillos, sloths, and armadillos. Smithsonian Institution, Washington.
- England, G., A. Yeager & P.W. Concannon. 2003. Ultrasound imaging of the reproductive tract of the bitch [en línea]. Linde-Forsberg C. (eds). International Veterinary Information Service, Ithaca, NY. www.ivis.org (Consulta: 15 jul. 2008).
- Estrada Rodríguez, A.C. 2007. Identificación de los parásitos de *Bradypus variegatus* y *Choloepus hoffmanni* (Xenarthra: Bradypodidae y Magalonychidae) en vida libre en Guácimo de Limón. Tesis de Licenciatura, Universidad Nacional, Heredia, C.R.
- Evans, H.E. & A. deLaHunta. 2002. Diseccción del perro. McGraw-Hill Interamericana, México.
- Fowler, M.E. & R.E. Miller. 2003. Zoo and wild animal medicine. 5th. ed. Elsevier Science, United States.
- Gilmore D.P., C.P. Da-Costa, A. Cabral, D.P.F. Duarte, I. Montgomery & C.A. Wilson. 1994. Further studies on reproductive function in the three-toed sloth, *Bradypus tridactylus*. Med. Sci. Res. 22: 255-256.
- Gilmore D.P., C.P. Da-Costa & D.P.F. Duarte. 2000. An update on the physiology of two- and three-toed sloths. Braz. J. Biol. Res. 33: 129-146.

- Gobello, C. 2008. Citología vaginal canina [en línea]: diagnóstico del ciclo estral en la perra. Foyel mascotas, Buenos Aires. http://www.foyel.com/cartillas/20/citologia_vaginal_canina.html (Consulta: 10 abr. 2009).
- Günzel-Apel, A.R. 2008. Influence of progesterone withdrawal on pregnancy related parameters during post-implantation early pregnancy loss. International Veterinary Information Service, Ithaca, NY. www.ivis.org (Consulta: 03 nov. 2011).
- Hanley, C.S. 2008. Immobilization of free-ranging Hoffmann's two-toed (*Choloepus hoffmanni*) and brown-throated three-toed (*Bradypus variegatus*) sloths using medetomidine-ketamine: a comparison of physiologic parameters. J. Wild Dis. 44: 938-945.
- Lillie, R.D. & H.M. Fullmer. 1975. Histopathologic technic and practical histochemistry. 4th. ed. McGraw-Hill, United States.
- Martin-Bouyer, V. 2006. Medetomidine, Dexmedetomidine and Romifidine in Small Animals. p. 2-11. In International Congress of the Italian Association of Companion Animal Veterinarians. May 19-21. SCIVAC, Italy.
- Mitchell, A. 2008. The three-toed sloth of Costa Rica [en línea]: an exercise in taking it easy; the slowest moving mammal. Suite101.com, Columbia Británica. http://mammals.suite101.com/article.cfm/the_three_toed_sloth_of_costa_rica (Consulta: 11 abr. 2009).

- Mühlbauer, M., D.P.F. Duarte, D.P. Gilmore & C.P. da Costa. 2006. Fecal estradiol and progesterone metabolite levels in the three-toed sloth (*Bradypus variegatus*). *Braz. J. Med. Biol. Res.* 39: 289-295.
- Nelson, N.W., G. Couto. 2003. *Small animal internal medicine*. 3rd. ed. Elsevier, Inc. United States.
- Nowak, R.M. 1999. *Walker's Mammals of the World*. 6th ed. Johns Hopkins Press, Baltimore.
- Nyland, T.G. & J.S. Mattoon. 2004. *Diagnóstico ecográfico en pequeños animales*. 2nd. ed. Multimédica Ediciones Veterinarias. Barcelona.
- Sacristán, A.G., F.C. Montijano, L.F. Palomino, J. González, M.D. López de Silanes & G. Salido. 1998. *Fisiología veterinaria*. McGraw Hill Interamericana. Madrid.
- Seitz, A. 2005. An introduction to the sloths of Costa Rica [en línea]: their ecological significance and adapta. Jrscience, Miami.
<http://jrscience.wcp.muohio.edu/fieldcourses05/PapersCostaRicaArticles/AnIntroductiontotheSloths.html> (Consulta: 19 feb. 2008).
- Simpson, G.M., G.C.W. England & M.J. Harvey (Eds.). 2000. *Manual de reproducción y neonatología en pequeños animales*. Ediciones Harcourt, Madrid.
- Soares, C.A. & R.S. Carneiro. 2002. Social behavior between mothers x young of sloths *Bradypus variegatus* Schinz, 1825 (Xenarthra: Bradypodidae). *Braz. J. Biol.* 62: 249-242.

- Superina, M. & G.A. Jahn. 2009. Seasonal reproduction in male pichis *Zaedyus pichiy* (Xenarthra: Dasypodidae) estimated by fecal androgen metabolites and testicular histology. *Anim. Repro. Sci.* 112: 283-292.
- Taube, E., J. Keravec, J.C. Vié & J.M. Duplantier. 2001. Reproductive biology and postnatal development in sloths, *Bradypus* and *Choloepus*: review with original data from field (French Guiana) and from captivity. *Mammal Rev.* 31: 173-178.
- Vaughan, C., O. Ramírez., G. Herrera & R. Guries. 2007. Spatial ecology and conservation of two sloths species in a cacao landscape in Limón, Costa Rica [en línea]. Springer Science, USA. <http://www.springerlink.com/content/v7258pw37m7un001/> (Consulta: 20 mar. 2009).
- Wanke, M.M. & C. Gobello. 2006. Reproducción en caninos y felinos domésticos. Intermédica. Buenos Aires.
- Wetzel, R.M. 1985. The identification and distribution of the recent Xenanthra (=Edentata). p. 5-21. *In* G.C. Montgomery (ed.). The evolution and ecology of armadillos, sloths and vermilinguas. Smithsonian Institution, Washington.
- WSAVA (World Small Animal Veterinary Association). 2005. Proceedings of the World Small Animal Veterinary Association. IVIS, Ithaca NY.

ANEXOS

Anexo 1. Ficha clínica**Control de Citologías y Ultrasonido**

Nº: ____

Fecha: _____

Lugar: San José, Upala

Microchip: _____

Radiocollar: _____

Especie: *B. variegatus* *C. hoffmanni* Sexo: ♀ ♂

Peso: _____

CC: Buena Regular Mala Medidas:

MM: Rosadas Pálidas Cianóticas Nariz-cola: ____ cm

FR: _____ resp/min Cuello: ____ cm

FC: _____ lat/min Fémur: ____ cm

Tº: _____ °C Tibia: ____ cm

Plantar : ____ cm

Observaciones generales:

Muestras Obtenidas:

Citología

Suero

Ultrasonido:

Preñez

Observaciones:

ANEXOS

Anexo 2. *Historia de perezosas B. variegatus observadas de las cuales se obtuvo mayor información*

Radiocollar 08

Las primeras observaciones de este individuo iniciaron a partir del 14 de marzo del 2008, sin embargo no se había tomado la iniciativa de la realización de citologías vaginales y mediciones hormonales, por lo que solamente se cuenta hasta el 03 de febrero del 2009 con ultrasonografías, dando información insuficiente para el estudio en general. Desde el 20 de febrero del 2009, se tomaron las muestras para los respectivos exámenes, por lo que se tomará este como el día de inicio para el reporte de resultados, hasta el 25 de agosto del 2009 que fue el último día de observación, datos que se presentan a continuación.

- 20 de febrero del 2009: vacía, tanto los niveles de estradiol como de progesterona fueron de 22,7pg/ml y 6,3ng/ml respectivamente.
- 25 días posteriores: presencia de una vesícula de 2,0cm de diámetro
- 53 días: vesícula de 3,28cm.
- 81 días: diámetro biparietal (DB) de 1,17cm.
- 130 días: DB de 1,9cm.
- 186 días (última observación): no fue posible medir el DB debido a la posición del feto, eje longitudinal de más de 6,2cm.

- 307 días: Según reportes del personal de observación de Upala, fue vista con una cría muy pequeña el 24 de diciembre del 2009.

Durante el tiempo de preñez en el cual había presencia del saco gestacional (Figura 18), los niveles séricos de E_2 aumentaron de menos de 20,0pg/ml hasta 26,8pg/ml y la P_4 oscilaba entre 4,52ng/ml y 5,82ng/ml. Conforme avanzaba la preñez y aparecía el DB, el estradiol llegó a concentraciones de 28,2pg/ml para luego disminuir a menos de 20,0 pg/ml, mientras que los niveles de P_4 fueron aumentando hasta alcanzar un pico de 28,8ng/ml 130 días después, desde donde inició su descenso a valores de 23,2pg/ml a los 186 días



Figura 18. Comportamiento cronológico para *Bradypus variegatus*, RC 08

En cuanto a las citologías vaginales (Figura 19), las células parabasales e intermedias (las segundas en menor medida) fueron aumentando y disminuyendo junto con la progesterona y las anucleadas disminuían al aumentar esta hormona a pesar de que los niveles de estradiol no cambiaban de forma importante. La cantidad de células superficiales durante todo el tiempo fue poca.

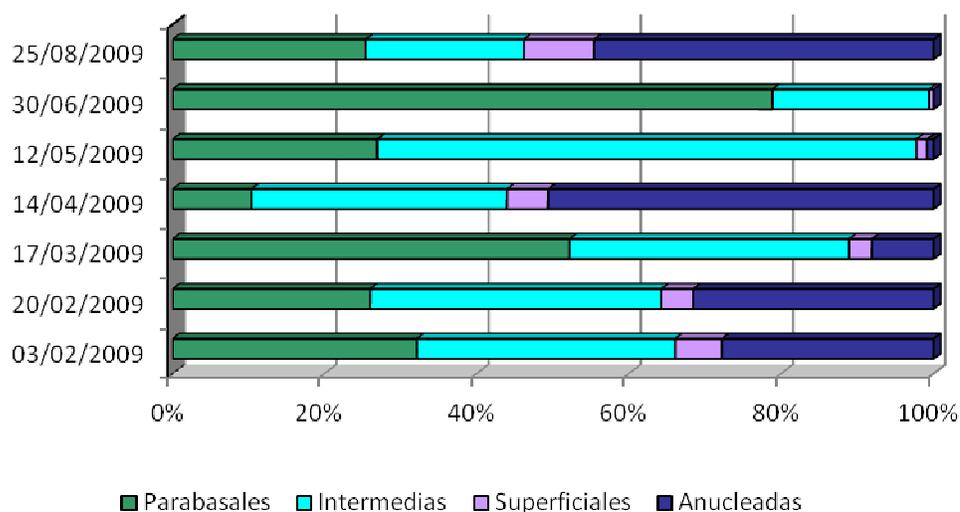


Figura 19. Cambios en citología vaginal para *Bradypus variegatus*, RC 08

Otro parámetro obtenido fue la frecuencia cardíaca fetal, esta se comportaba de forma inversamente proporcional al tamaño del feto, ya que entre más grande era este, menor era la cantidad de latidos por minuto, por lo que a los 81 días del inicio de su observación, tenía una frecuencia de 132 lat/min, a los 130 días fue de 120 lat/min y por último la frecuencia se reportó en 108 lat/min a los 186 días.

Es importante rescatar que durante el tiempo que se observó esta hembra (en total un año, cinco meses y 11 días), fue posible la observación de dos preñeces diferentes y entre ellas un aproximado de un mes y catorce días en que se encontró vacía.

Radiocollar 23

- 14 de marzo del 2008 hasta el 30 de junio del 2009: inicio de observación.
- 04 de febrero del 2009 (reportes completos): saco gestacional de 2,45cm de diámetro.
- 16 días: saco gestacional 2,45cm.
- 69 días: presencia de diámetro biparietal de 1,83cm y eje longitudinal de 3,47cm;
- 146 días (última observación): DB de 3cm.
- 293 días: Según reportes proporcionados la hembra había parido (24 de noviembre del 2009).

Con respecto a los niveles hormonales y las citologías (Figuras 20 y 21), mientras se encontrara en etapas tempranas de preñez, el individuo llegó a reportar valores de estradiol de hasta 106pg/ml y progesterona de 6,3 a 19,1ng/ml, además de una concentración mayor de células anucleadas. Con el paso del tiempo y el progreso de la preñez, los niveles de estradiol fueron cayendo, así como la cantidad de células anucleadas en la citología, con un aumento progresivo de la concentración de progesterona (de 6,3ng/ml hasta 71,0ng/ml) y

células parabasales. Tanto las células superficiales como las intermedias no sufren cambios de importancia durante todo el tiempo de estudio.

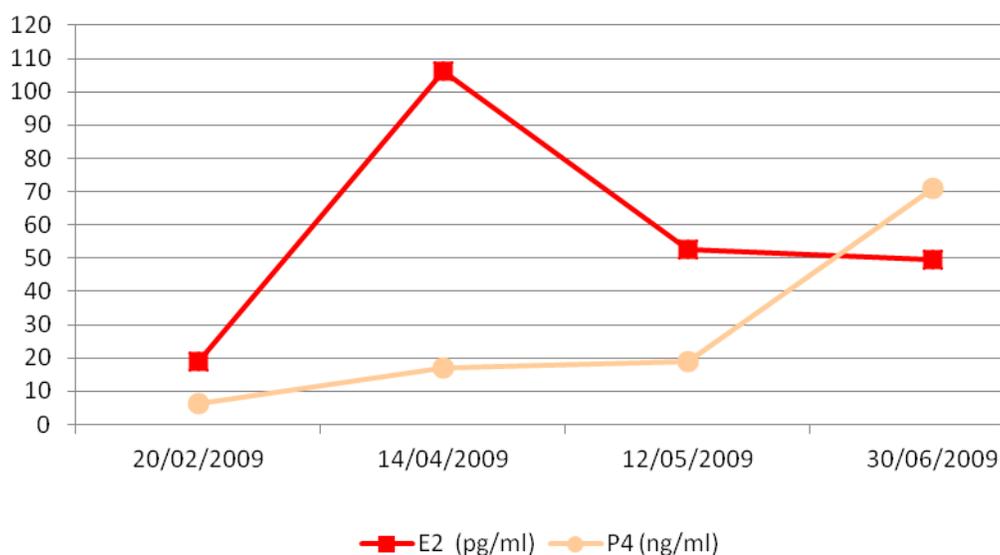


Figura 20. Comportamiento cronológico para *Bradypus variegatus*, RC 23.

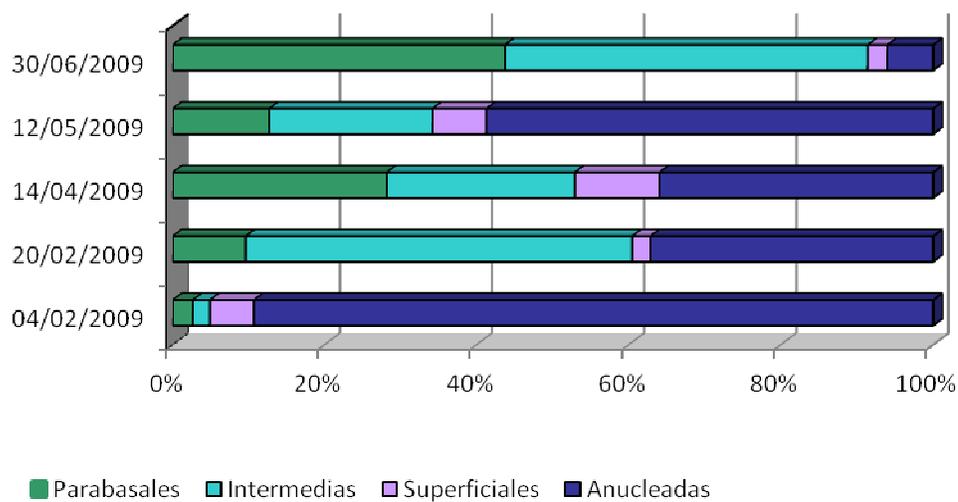


Figura 21. Cambios en citología vaginal para *Bradypus variegatus*, RC 23.

La frecuencia cardíaca fetal tuvo varios cambios, cuando era la vesícula lo que se observaba, hubo una frecuencia de 128lat/min, que disminuyó cuando se midió junto al primer chequeo con DB a 96lat/min. Para 69 días, sufrió un aumento hasta 120lat/min para luego bajar a 100lat/min en la última gira de estudio (293 días).

Es posible que se trate de una hembra juvenil debido a que desde el 14 de marzo al 23 de octubre del 2008, esta siempre se encontraba vacía. La preñez reportada, luego de al menos 10 meses, se cree que fue su primera, pues el equipo de observación no reporta haberla observado anteriormente con una cría.

Radiocollar 27s

- 14 de marzo del 2008 (primera observación): vacía con cría en brazos.
- 102 días: diámetro biparietal de 2,4cm.
- 172 días: DB de 2,52cm, eje longitudinal de 5,86cm.
- 223 días: DB 2,3cm (más pequeña que la fecha anterior lo más seguro siendo una medida errónea debido a la posición del transductor) y eje longitudinal de 6,2 cm.
- Aproximadamente 261 días: Se reportó parto (primeros días de diciembre), cría fue hallada muerta en el suelo.
- 4 de Febrero 2009 (dos meses después): preñada, vesícula de 2,5cm
- 41 y 69 días posteriores: no fue posible medir el DB debido a la posición del feto.
- 111 días: diámetro biparietal de 1,7cm y eje longitudinal de 4,8cm.

- 146 días: el DB había aumentado de 1,9cm.
- 202 días: vacía, sin datos acerca de la posible fecha del parto, pero sí fue reportada la muerte de la cría.

Únicamente se obtuvieron dos reportes de la frecuencia cardíaca fetal, que han sido distintos a los otros individuos, pues a los 111 días de la observación de la segunda preñez, el feto tenía una frecuencia menor (112lat/min) que a los 146 días, donde el feto estaba más desarrollado.

La citología vaginal y la medición hormonal iniciaron a partir del 17 de marzo del 2009 (Figura 22), ya estaba preñada, con niveles de estradiol de 31,1pg/ml y progesterona de 4,14ng/ml. Similar a las otras perezosas, mientras más avanzaba la preñez, la progesterona iba en aumento alcanzando un pico a los 111 días posteriores a la observación de su segunda preñez (39,1ng/ml) y a partir de ese momento, vuelve a disminuir.

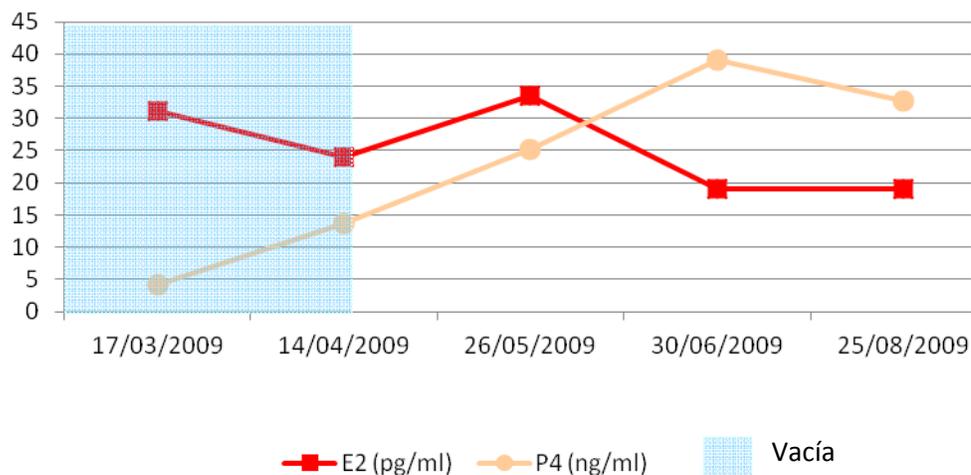


Figura 22. Comportamiento cronológico para *Bradypus variegatus*, RC 27s.

Junto a esta hormona, las células intermedias y parabasales (Figura 23) (las primeras en cantidades mayores) sufrían cambios directamente proporcionales a los de la P₄ y el estradiol empezaba a disminuir junto con la concentración de células anucleadas. Las células superficiales siempre se mantuvieron en niveles muy bajos, sin ningún cambio que mostrara alguna relación con la preñez y /o la concentración de las hormonas en sangre.

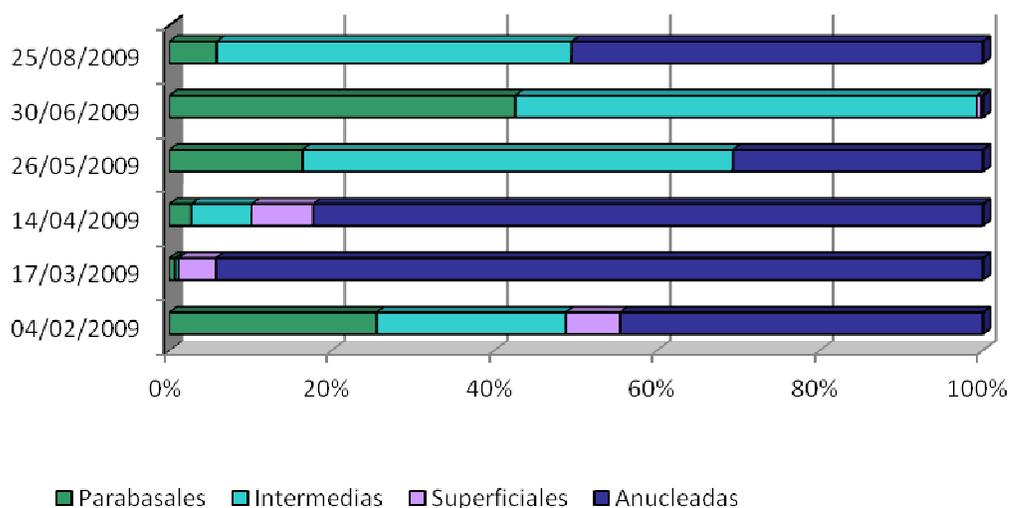


Figura 23. Cambios en citología vaginal para *Bradypus variegatus*, RC 27s.

Radiocollar 26s

Se observó desde el 14 de marzo del 2008 hasta el 25 de agosto del 2009, pero es a partir del 21 de febrero del 2009 que se tienen los datos hormonales.

- 4 de febrero: saco gestacional 2,4cm de diámetro.
- 17 días: saco gestacional de 2,9cm.

- 41 días: medida de saco gestacional menor a la anterior (posiblemente no se logró obtener una toma correcta de la vesícula).
- 69 días: diámetro biparietal de 1,13cm.
- 97 días: diámetro biparietal de 1,51cm, eje longitudinal de 5,02cm.
- 146 días: diámetro biparietal de 2,1cm, eje longitudinal de 6,9cm.
- 202 días: diámetro biparietal de 2,5cm
- 320 días: Según reportes proporcionados parió (21 de diciembre).

Con respecto a la frecuencia cardíaca fetal, se observó a partir de los 41 días y se mantuvo en 140lat/min hasta los 69 días. Para los 97 días después, disminuyó a 120lat/min y se mantuvo así hasta los 146 días, para finalmente disminuir hasta 104lat/min en los 202 días.

Los primeros reportes hormonales a los 17 días (Figura 24), mostraban concentración de P₄ que iban de 5,21 a 7,67ng/ml, mientras que la concentración de E₂ iba de 38,6 a 37,4pg/ml hasta alcanzar un pico de 54,6ng/ml a los 97 días. Al ir avanzando la preñez los niveles séricos de progesterona iban en aumento llegar a un nivel máximo de 72,7ng/ml (a los 146 días) y a partir de ahí caen hasta 37,5ng/ml.

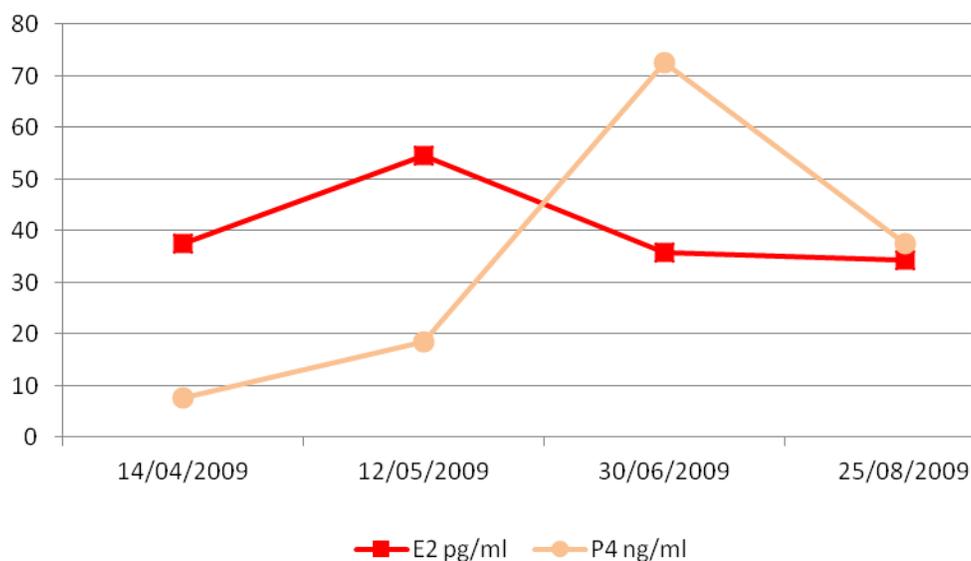


Figura 24. Comportamiento cronológico para *Bradypus variegatus*, RC 26s.

En este caso, la citología vaginal (Figura 25) se comporta diferente al resto de los individuos descritos anteriormente. Las células intermedias aumentaban y disminuían acorde a los cambios en la progesterona; sin embargo las parabasales tenían un comportamiento completamente contrario a lo generalmente observado ya que su concentración era alta cuando el E₂ estaba alto y disminuía cuando aumenta la progesterona. Cuando el 12 de mayo se da un aumento de estradiol, el porcentaje de células anucleadas también aumenta pero se mantiene así a pesar de la baja en los niveles de esta hormona. Como se da en todos los casos, las células superficiales no cumplen un papel importante en el análisis.

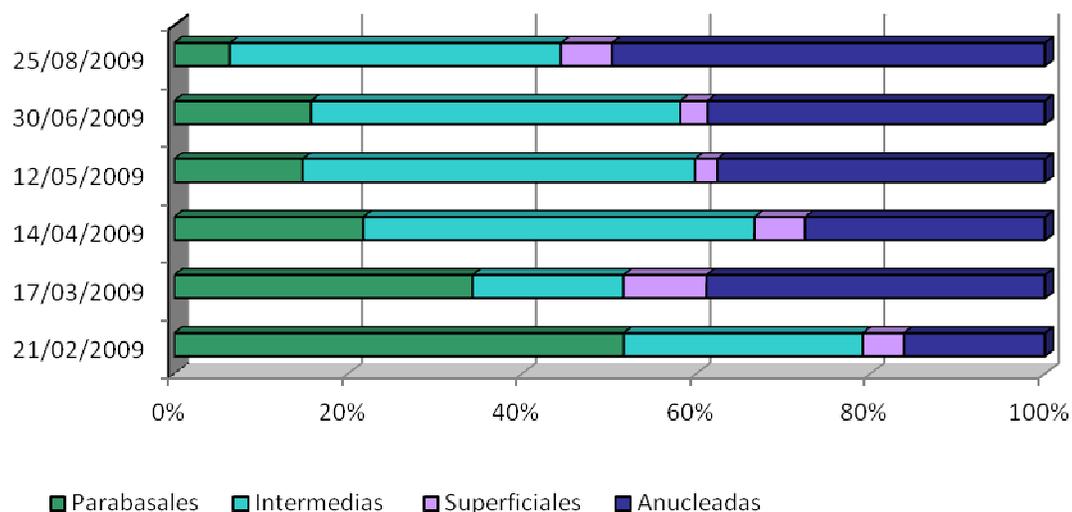


Figura 25. Cambios en citología vaginal para *Bradypus variegatus*, RC 26s.

En los días que no se obtuvo información completa, el 14 de marzo del 2008 se observó un diámetro biparietal de 2,5cm; fue reportado que el parto ocurrió aproximadamente para el 14 de mayo, un mes después de ser capturada. La siguiente fecha estudiada y hasta el 23 de octubre de ese mismo año (alrededor de 8 meses), la hembra se mantuvo vacía.