

**VALORACIÓN DEL ESTRÉS DE CAPTURA, TRANSPORTE
Y MANEJO EN EL CORZO (*Capreolus capreolus*).
EFECTO DE LA ACEPROMACINA Y DE LA CAUTIVIDAD**

Jordi Montané Giralt

Bellaterra

2002



Universitat Autònoma de Barcelona

Departament de Medicina i Cirurgia Animals

SANTIAGO LAVÍN GONZÁLEZ y XAVIER MANTECA VILANOVA,
Catedrático de Universidad del Área de conocimiento de Medicina y Cirugía
Animal y Profesor Titular de Universidad del Área de conocimiento de
Fisiología Animal de la Facultad de Veterinaria de la Universidad Autónoma de
Barcelona,

CERTIFICAN:

Que la memoria con título 'VALORACIÓN DEL ESTRÉS DE CAPTURA, MANEJO Y TRANSPORTE EN EL CORZO (*Capreolus capreolus*). EFECTO DE LA ACEPROMACINA Y DE LA CAUTIVIDAD', presentada por **JORDI MONTANÉ GIRALT** para la obtención del grado de **Doctor en Veterinaria**, ha sido realizada bajo nuestra dirección y, considerándola finalizada, autorizamos su presentación para que sea juzgada por la comisión correspondiente.

Y para que conste a los efectos oportunos, firmamos el presente certificado en Bellaterra, a 15 de Julio de 2002.

Firmado: Santiago Lavín González

Firmado: Xavier Manteca Vilanova

Agradecimientos

Esta es la parte más personal y, sin duda, la más leída de una tesis doctoral. Exactamente no sé a qué atribuir este fenómeno con tan alta repetibilidad y reproducibilidad. ¿Será para comprobar que le han incluido a uno,... será para satisfacer la ‘dosis diaria recomendada’ de morbo para la especie humana, será para ver al desnudo a la fría y distante figura del doctorando, o simplemente será para comprender un poco más al colega, compañero, amigo, hijo, hermano,...? En fin, como les decía, ésta es la parte más personal de una tesis doctoral, por lo que estoy seguro que me permitirán que me exprese en catalán. Ya saben, por eso de la ‘intimidad’.

Ara ja sóc jo de veritat!... I també és veritat que incloure en aquest apartat la gent que m’ha ajudat en aquest estudi mai serà prou per agrair-los el que han fet. Darrera de cada nom hi ha una història, una de molt més interessant que aquest treball.

Res..., això...

Al Doctor Santiago Lavín i al Doctor Xavier Manteca, per haver-me dirigit amb paciència i experiència, en continent i contingut, amb coneixements i coneixement. Per la vostra confiança i dedicació.

A en Pepe Ruiz de la Torre, per haver-me ajudat en els difícils inicis i haver-me aconsellat sàviament a qualsevol hora. A n’Ignasi, per ser el meu guia de camp i per tota la feina feta. A en Beppe Meneguz i a en Luca Rossi, per organitzar les captures fetes a Itàlia i acollir-nos amablement cada vegada que ens hem acostat a casa seva.

Als meus companys de doctorat, per saber que és ‘gaudir’ d’una beca i per compartir amb mi totes les emocions pseudolaborals. Primer va ser la Geni, qui va començar guiant-me al laboratori i ara em demana que qui em guiï sigui un Altре. D’ella he après a mai dir mai. Després en Jorge, qui un cop controlat et pot ensenyar a escoltar i a posar-hi ganes. I l’últim en arribar, encara que hi és des del primer dia, va ser en David ‘Perpi’; ell aconsella anar pel dret i també coneix algun ocell.

A tots els guardes de les Reserves de Caça de l'Alt-Pallars Aran, per participar incansablement en les batudes, així com en la seva planificació i preparació. Especialment, a en Jordi Ricou, en Jordi 'Rambo' i a en Joanet. També, als guardes de la Reserva Nacional de Caça de l'Alt Urgell-Cerdanya i als del Parc Natural del Cadí-Moixeró, per ajudar-nos a empaitar cabirols. També, a la Generalitat de Catalunya, per posar els guardes a la nostre disposició i per finançar la meva 'formació' com a investigador.

A tots els qui heu col·laborat en les captures: Gregorio, Pepe, Willy, Emma, Eli, Pere, Pedro, Cristina, Maile, Encarna, Irene, David, Maribel, Marisol, Lorena, Sandra... Sense vosaltres encara hi seríem.

A tots els integrants de la Unitat de Patologia General i Mèdica, perquè de tots m'enduc alguna cosa bona.

També, i sobretot, als cabirols, per haver-nos patit i haver acceptat, encara que a la força, el paper protagonista.

Als nutròlegs: Jaume, Joaquín i Dani; al mascle reproductor: Joan; a les 'nenes': Elizabeth, Mar i Clara; als bioquímics: Àlex, Iván, Ernesto, Sergio...ja sabeu perquè (...o no?). Als dels esmorzars de les 11... A tots amb els qui he compartit silencis de més de dos minuts i no s'han incomodat. A tots els qui confieu en mi.

A la meva família, per tots els esforços que heu fet per mi i per comprendre el que no sé dir-vos amb paraules.

A l'Anna, per tot.

Al dubte raonable, per permetre'ns anar més enllà i fer ciència.

A tots, ... moltes gràcies.

*'A clear statement of our ignorance does more
to advance science than does an
assumption of knowledge.'*

Karl Popper (1962)

A l'Anna
A la meva família

ÍNDICE

Capítulo 1	Introducción general	1
Capítulo 2	Revisión bibliográfica	5
2.1. El corzo: Características generales		7
2.2. La respuesta de estrés		12
2.3. Indicadores de comportamiento de la respuesta de estrés		21
2.4. Indicadores fisiológicos de la respuesta de estrés		21
2.5. Consecuencias de la respuesta de estrés		40
2.6. Métodos de captura		43
2.7. Cautividad y estrés		49
2.8. Transporte y estrés		50
2.9. Neurolépticos y estrés		53
Objetivos		59
Capítulo 3	Material y métodos general	61
Capítulo 4	Capture stress in roe deer (<i>Capreolus capreolus</i>): effect of a short-acting neuroleptic	69
Capítulo 5	Differences in the capture stress response between captive and free-ranging roe deer (<i>Capreolus capreolus</i>) and its modulation by acepromazine	87
Capítulo 6	Transport stress in roe deer (<i>Capreolus capreolus</i>): effect of a short-acting neuroleptic	113
Capítulo 7	Non-invasive evaluation of the effect of captivity and transport in roe deer (<i>Capreolus capreolus</i>)	131
Capítulo 8	Delayed acute capture myopathy in three roe deer (<i>Capreolus capreolus</i>)	139

Capítulo 9	Multiple bilateral fractures of the lumbar transverse processes in a roe deer (<i>Capreolus capreolus</i>)	151
Capítulo 10	Discusión General	159
10.1. Método de captura	161	
10.2. Efectos de la respuesta de estrés agudo	163	
10.3. Efecto de la acepromacina sobre la respuesta de estrés agudo	170	
10.4. Efecto de la cautividad sobre la respuesta de estrés agudo	176	
10.5. Consecuencias de las operaciones de captura y manejo	178	
Capítulo 11	Conclusiones	179
Capítulo 12	Bibliografía	183
Resumen		209

Capítulo 1

Introducción general

En los últimos años ha aumentado mucho la sensibilidad social respecto al bienestar animal y los temas medioambientales. Estos aspectos confluyen en los planes de gestión de diferentes especies de animales salvajes, algunos de los cuales incluyen operaciones de repoblación o de reintroducción, y en los trabajos científicos que implican la captura y el manejo de estos animales.

El corzo (*Capreolus capreolus*) es un ungulado salvaje con un gran valor ecológico, por su importancia en la recuperación y el mantenimiento de hábitats naturales, y económico, por la actividad cinegética que genera. Se trata de una especie en plena expansión que cada vez con más frecuencia se ve sometida a operaciones de reintroducción y de repoblación en nuestro país, que requieren su captura, manejo y transporte.

La captura, el manejo y el transporte desencadenan en los animales salvajes una respuesta de estrés que causa numerosos cambios fisiológicos y de comportamiento para hacer frente a estas situaciones que perciben como ‘amenazantes’. Sin embargo, si esta respuesta es exagerada puede comprometer la vida del animal y su bienestar. Por ello, un primer paso para optimizar los planes de gestión (reduciendo la morbilidad y la mortalidad asociadas a operaciones de captura, manejo y transporte) y para garantizar el bienestar de los animales es valorar la respuesta de estrés e intentar minimizarla.

Los efectos del estrés, tanto físico como psicológico, pueden reducirse mediante la administración de tranquilizantes. Éstos deberían facilitar el manejo y el transporte de los animales salvajes. Sin embargo, se cree que los tranquilizantes, especialmente los de corta duración, no son efectivos cuando los animales están muy estresados en el momento de administrarlos, lo que suele ocurrir cuando se capturan animales salvajes mediante métodos físicos. Hasta la fecha no se ha incluido el uso de tranquilizantes en los protocolos de manipulación del corzo, pero tampoco existen estudios que hayan evaluado su idoneidad.

Capítulo 2

Revisión bibliográfica

2.1. EL CORZO: CARACTERÍSTICAS GENERALES

2.1.1. Sistemática y distribución geográfica

El corzo (*Capreolus capreolus*) es un rumiante artiodáctilo, de la familia Cervidae. La especie *C. capreolus* y la subespecie *C. c. capreolus* fueron descritas por Linnaeus en 1758 (Grubb y Gardner, 1998). Su peso oscila entre los 15 y los 25 kg. El corzo de Siberia se considera una especie diferente (*Capreolus pygargus*), que sólo se encuentra en Asia y se diferencia por su mayor corpulencia (O.N.C., 1993).

El corzo es una especie presente únicamente en el continente euroasiático (Corbet, 1978), donde su área de distribución se extiende desde los 36° a los 67° de latitud Norte (O.N.C., 1993). En la actualidad se encuentra abundantemente distribuido por toda Europa del Este, Escandinavia y Europa central hasta Francia. También se encuentra en las Islas Británicas (García-Ferré *et al.*, 1995), excepto en Irlanda (Whitehead, 1993).

En España el corzo se distribuye de forma homogénea a lo largo de los Pirineos, la Cordillera Cantábrica, los Montes de León y la mitad norte del Sistema Ibérico, penetrando a lo largo del Sistema Central hasta las proximidades de Gredos. Hacia el sur aparecen poblaciones aisladas de corzos en los Montes de Toledo, Sierra Morena y las sierras de Cádiz y Málaga. En Cataluña se encuentra distribuido por el norte, tanto en el Pirineo como en el Prepirineo, en una franja que se hace más ancha a medida que nos desplazamos hacia el oeste (García-Ferré *et al.*, 1995).

Actualmente el corzo es una especie en plena expansión, aunque el hombre había llegado a extinguirlo (Gosálbez, 1976), y es el cérvido más abundante en Cataluña. El grueso de las poblaciones actuales proviene de varias reintroducciones realizadas con individuos centroeuropeos y peninsulares. En 1995, la población estimada en Cataluña era de más de mil ejemplares distribuidos con densidades desiguales y gradualmente mayores a medida que nos desplazamos hacia el noroeste dentro de su área de distribución (García-Ferré *et al.*, 1995). Su comportamiento huidizo obliga a valorar

las poblaciones a partir de índices de presencia indirecta (rastros) y a partir de las observaciones realizadas durante las batidas de jabalí (*Sus scrofa*).

2.1.2. Determinación del sexo y de la edad

El dimorfismo sexual lo declara la presencia de cuernas en los machos, ausentes en el caso de las hembras. Sin embargo, este rasgo tan claro tiene dos limitaciones, una cuando se trata de corcinos (hasta los tres meses de vida) y la otra durante los dos o tres meses del año (de mediados de octubre a finales de diciembre) en que los machos pierden las cuernas. Durante este periodo, la determinación del sexo se realiza en función de otras características (Sáenz de Buruaga *et al.*, 1991):

- ✓ La *forma del escudo anal*. En los machos tiene forma arriñonada, mientras que en las hembras tiene forma de corazón debido al mechón de pelos que cubre el orificio génito-urinario (Figura 2.1).

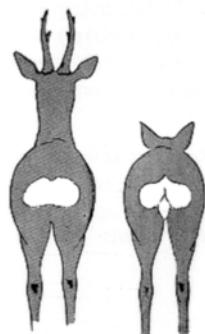


Figura 2.1. Determinación del sexo según la forma del escudo anal (vista caudal).

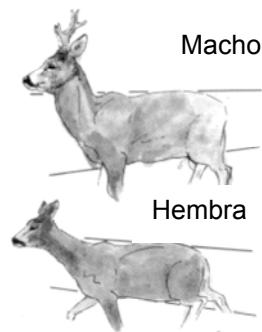


Figura 2.2. Siluetas corporales de ambos sexos.

- ✓ La *silueta*. Los machos tienen el tercio anterior más robusto. Así, si se encuadra el tronco del corzo en un trapecio, en los machos la parte más ancha corresponde al tercio anterior, mientras que en las hembras corresponde al posterior (Figura 2.2).
- ✓ El *cuello* (más voluminoso en los machos), la presencia del *pincel peniano* y la *forma de orinar* (en las hembras la flexión de las extremidades posteriores es muy

marcada -como en las perras-), son características secundarias que pueden ayudar a determinar el sexo.

Para calcular la **edad** en condiciones de campo nos podemos basar en el pelaje moteado de las crías (hasta los 5 meses de edad) y en el desarrollo de las cuernas de los machos (Figura 2.3). Para establecer una clasificación amplia (joven, adulto, viejo) se pueden utilizar criterios secundarios, como el color de la cara, que con la edad se vuelve más gris, o la evolución de la silueta, que cada vez es menos esbelta y más robusta (Sáenz de Buruaga *et al.*, 1991).

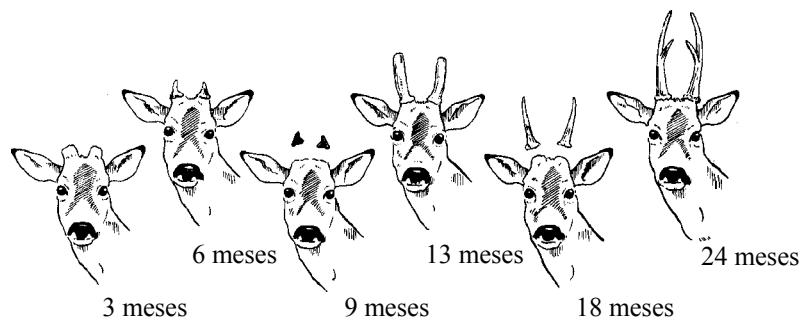


Figura 2.3. Determinación de la clase de edad hasta los dos años por el desarrollo de las cuernas.

En el animal capturado vivo o en el animal muerto, la edad se puede determinar de forma más exacta a través de la dentadura, aunque sólo permite hacerlo con precisión hasta los 12-14 meses de edad (Sáenz de Buruaga *et al.*, 1991; O.N.C., 1993). Al nacer tienen 20 dientes deciduos (i 0/4 p 3/3). El cambio de los dientes de leche (indicados con letra minúscula) por los definitivos (indicados con letra mayúscula) y la aparición de los molares se produce de la siguiente manera (Sáenz de Buruaga *et al.*, 1991):

Mes	5°-6°	7°-9°	8°-12°	8°-12°	12°-14°	12°-14°	12°-14°	3 ^{er} -4°	5°-8°	9°-13°
Cambio	i1 I1	i2 I2	i3 I3	i4 I4	p1 P1	p2 P2	p3 P3	M1	M2	M3

I, i = incisivo; P, p = premolar; M = molar

La dentición definitiva consta de 32 dientes (I 0/4 P 3/3 M 3/3). Además, el tercer premolar de leche está formado por tres lóbulos (hasta los 12-14 meses de edad), mientras que el definitivo es bilobulado.

2.1.3. Hábitat

El corzo habita tanto en zonas montañosas como en llanuras. Raesfeld *et al.* (1985) señalan los 2000 m como la altitud límite de su hábitat, mientras que otros autores la sitúan en los 2400 m. El corzo se adapta mejor a altitudes inferiores a 1200 m, ya que es donde se ha registrado la mayor tasa de natalidad (Tarello, 1991).

En el territorio ocupado, la proporción idónea de superficie de bosque en relación a la total es del 70-80% (Tarello, 1991). Por este motivo, los lugares preferidos por los corzos son los ecosistemas bosque-cultivo, bosque-prado o bosque joven-bosque viejo. Los medios supraforestales no parecen muy adecuados para la especie, aunque los aprovechan en el periodo estival (García-Ferré *et al.*, 1995).

2.1.4. Alimentación

El corzo es un herbívoro con un régimen muy variado y su espectro trófico depende de la variedad de especies vegetales presentes en su hábitat. Se alimenta principalmente de plantas herbáceas y de las hojas de diferentes arbustos (García-Ferré *et al.*, 1995). En otoño e invierno la proporción de vegetales leñosos y semileñosos en su dieta aumenta en detrimento de los vegetales herbáceos (O.N.C., 1993).

Los periodos de alimentación (de 6 a 12 cada día) van seguidos por periodos de rumia (de 6 a 8 horas diarias) (O.N.C., 1993). La mayor actividad se registra durante el amanecer (de las 6 a las 9 horas) y durante el atardecer (de las 17 a las 21 horas) (Tarello, 1991).

2.1.5. Reproducción

El corzo es una especie polígama (O.N.C., 1993). Las hembras alcanzan la madurez sexual alrededor de los 14 meses de vida (Tarello, 1991) y los machos al año de edad (O.N.C., 1993). El periodo de celo del corzo tiene lugar entre mediados de julio y

mediados de agosto. En este momento los machos pierden su actitud desconfiada y huidiza, se dejan ver más fácilmente y se producen carreras y persecuciones que normalmente no tienen más intención que la intimidación (García-Ferré *et al.*, 1995).

Una característica importante de la biología reproductiva del corzo es la ovoimplantación diferida (Aitken, 1974), por la cual el desarrollo embrionario se detiene durante unos cinco meses. Aunque la fecundación ocurre inmediatamente después de la cópula, la implantación en la pared del útero se produce entre finales de diciembre y principios de enero (O.N.C., 1993) y, después de cinco meses de gestación propiamente dicha, las crías nacen entre mayo y junio (García-Ferré *et al.*, 1995). El número de crías varía entre uno y tres, con una media de 2.05 en el Pirineo ilerdense (García-Ferré *et al.*, 1995) y de 1.8 en Francia (O.N.C., 1993).

2.1.6. Comportamiento social

El grupo familiar generalmente está constituido por la hembra y sus crías, que se mantienen unidas a la madre desde el nacimiento hasta la edad de diez u once meses. En este momento la hembra, próxima al nuevo parto, rechaza a los jóvenes del parto anterior y los machos jóvenes son alejados de la zona por los machos adultos (García-Ferré *et al.*, 1995). En invierno se pueden juntar varios grupos familiares y algunos machos solitarios (Tarello, 1991), sobre todo cuando viven en medios muy abiertos (O.N.C., 1993).

El macho es marcadamente territorial, especialmente en el periodo comprendido entre el desarrollo total de las cuernas (abril-mayo) y el final de la época de celo (finales de agosto) (García-Ferré *et al.*, 1995). El territorio queda establecido en la fase jerárquica (de febrero a abril), después de dejar el gran grupo con el que han pasado el invierno. La fase territorial en la hembra coincide con el periodo puerperal. El tamaño medio del territorio ocupado por un corzo es de 5 a 30 hectáreas. El territorio de los machos es generalmente más grande que el área de campeo de las hembras, y frecuentemente se solapa con el de varias de ellas (Tarello, 1991).

2.1.7. Gestión

El corzo es una especie de caza mayor. En Cataluña se permite su caza en el Valle de Arán (Zona de Caza Controlada y Reserva Nacional de Caza del Alt Pallars-Aran), en zonas determinadas del Pallars Sobirà (dentro de la Reserva Nacional de Caza del Alt Pallars-Aran) y en la Reserva Nacional de Caza del Cadí-Moixeró. Los planes de caza de la especie se establecen en base a las estimaciones de su población. Éstas permiten confeccionar un Plan de Aprovechamiento Cinegético, directriz teórica que pretende aprovechar racionalmente una parte de la población sin impedir su crecimiento controlado (García-Ferré *et al.*, 1995).

En los últimos años se están llevando a cabo numerosas reintroducciones y repoblaciones de esta especie en diferentes zonas de nuestro país. Estas operaciones suponen la captura, el manejo y el transporte de los corzos, actuaciones que comprometen su supervivencia y su bienestar. Se ha descrito una tasa de mortalidad de entre el 3 y el 13% relacionada con la respuesta de estrés provocada por estos procedimientos (Boutin *et al.*, 1993; Meneguz *et al.*, 1994).

2.2. LA RESPUESTA DE ESTRÉS

2.2.1. Evolución del concepto de estrés

El concepto de estrés es muy complejo y por ello su evolución histórica puede facilitar su comprensión. Walter Cannon (1935) fue uno de los primeros en utilizar el término estrés en el ámbito de la biología para describir las situaciones que provocaban un desequilibrio o una tendencia al desequilibrio en el medio interno de los seres vivos. Los trabajos de Cannon describían la respuesta del sistema nervioso autónomo frente a diferentes estímulos (Cannon, 1929) y en situaciones de peligro (Cannon y De la Paz, 1911). Cannon y De la Paz (1911) demostraron que en la ‘reacción de alarma’ (o de huida-lucha) las glándulas adrenales liberaban adrenalina.

En los años 30, Selye (1936) observó que la manipulación de las ratas en el laboratorio provocaba la secreción de glucocorticoesteroides por parte de la glándula adrenal, bajo el control de la adenohipófisis (eje hipofisario-adrenocortical). En 1946, Selye

desarrolló un modelo general de respuesta llamado Síndrome General de Adaptación (G.A.S., del inglés ‘General Adaptation Syndrome’), en el que afirmaba que independientemente de la naturaleza del agente estresante, el organismo reacciona de forma inespecífica para superar aquella situación desfavorable. Selye (1946) dividió el G.A.S. en tres fases:

- ✓ La *reacción de alarma*, en la que el organismo reacciona con cambios fisiológicos y bioquímicos frente a un estímulo al que no está adaptado cuantitativa o cualitativamente.
- ✓ La *fase de resistencia*, que está compuesta por todas las reacciones sistémicas no específicas debidas a una exposición prolongada a un estímulo, al cual el animal se ha ido adaptando progresivamente.
- ✓ La *fase de agotamiento*, en la que no se pueden mantener las reacciones orgánicas frente a un estímulo prolongado.

Por lo tanto, con los trabajos de Cannon y Selye se puso de manifiesto la participación de los ejes simpático-adrenomedular e hipofisario-adrenocortical en la respuesta de estrés.

A partir de una observación circunstancial de Selye (‘[...] Un simple estrés emocional, por ejemplo, el que se produce al inmovilizar un animal sobre una mesa -evitando causar cualquier lesión física- supone un procedimiento de rutina adecuado para provocar una intensa reacción de alarma’), John W. Mason y otros estudiosos del comportamiento, iniciaron el estudio de los mecanismos psicoendocrinos que participan en la respuesta de estrés. Concluyeron que esta respuesta depende de los componentes psicológicos o emocionales asociados a los agentes estresantes. Mason evidenció también que, aunque tiene un componente inespecífico, la respuesta de estrés varía en función de las características del estímulo y demostró la importancia que tienen sobre ella el comportamiento y el sistema nervioso central (Mason, 1968 a,b; 1971). Paralelamente, Weiss (1972) describió, a partir de un estudio realizado con ratas a las que administraba estímulos eléctricos, cómo la respuesta fisiológica de la glándula adrenal dependía del grado de control y de predicción del individuo sobre el agente estresante.

Kagan y Levi (1974) desarrollaron un modelo en el que dividían la respuesta de estrés en tres fases: el reconocimiento de una amenaza para la homeostasis, la propia respuesta de estrés y las consecuencias biológicas del estrés. En primer lugar, su modelo enfatiza el papel del sistema nervioso central a la hora de percibir o no un estímulo externo como amenazante; este proceso de integración puede verse modificado por factores genéticos y por la experiencia. En segundo lugar, señalan que la respuesta de estrés provoca una serie de cambios fisiológicos y psicológicos que pueden conducir a un estado prepatológico ('precursor de enfermedad') y finalmente, en función de las características del estímulo y del individuo, a una enfermedad.

Moberg (1987) propuso el estado prepatológico del modelo de Kagan y Levi para definir el estrés desde un punto de vista clínico y para poder medir el bienestar animal. Según este autor, la dificultad para establecer una definición clínica del estrés se debe a que no se han podido resolver cuatro grandes problemas: determinar qué parámetro biológico es el mejor para medir el estrés, la falta de una respuesta inespecífica común a todos los agentes estresantes, la variabilidad interindividual en las respuestas biológicas y la incapacidad para establecer una correlación entre las medidas de estrés y su efecto en el bienestar animal.

Los trabajos más recientes destacan la importancia de la hormona liberadora de corticotropina (CRH, del inglés 'Corticotropin-Releasing Hormone'), secretada principalmente por el núcleo paraventricular del hipotálamo y el núcleo central de la amígdala, en la respuesta de estrés (Dunn y Berridge, 1990). Taché y Rivier (1993) afirman que tanto el componente fisiológico como el de comportamiento de la respuesta de estrés son en buena parte debidos a las acciones de la CRH.

Aunque con cierta controversia, muchos autores se decantan por definir el estrés con una connotación negativa como el estado de un individuo cuando es sometido a unos estímulos que sobrepasan su capacidad fisiológica y de comportamiento para adaptarse (Terlouw *et al.*, 1997).

2.2.2. Percepción de un estímulo como factor estresante

Todo estímulo ambiental es procesado y modificado por el individuo que lo percibe (Ladewig, 1987). Por ello, para que un estímulo desencadene una respuesta de estrés tiene que ser percibido como amenazante por el individuo. Así, la respuesta de estrés depende tanto de las características del estímulo como de las características del individuo (Dantzer y Mormède, 1983; Wiepkema y Koolhaas, 1993).

Las características individuales que intervienen en la manera de percibir y de responder a un estímulo son de tipo genético (especie, raza, sexo e individuo) y de tipo ambiental (edad, estado fisiológico y experiencias previas). La variabilidad interindividual hace que individuos de una misma especie, edad y sexo puedan diferir en la respuesta a un mismo estímulo ambiental. Henry y Stephens (1977) distinguieron dos patrones de respuesta frente a una situación desgradable: (1) una respuesta activa de ‘lucha o huida’, caracterizada por un aumento de la actividad simpático-adrenomedular y por una activación comportamental, y (2) una respuesta pasiva de ‘conservación-retirada’, caracterizada por un aumento de la actividad adrenocortical y una inhibición comportamental (Figura 2.4). Esta distribución bimodal de la respuesta de estrés se ha descrito en ratones; unos manifestaban una reacción activa, con una mayor actividad del sistema simpático-adrenomedular, y otros una reacción más pasiva, con una mayor actividad del eje hipotálamo-hipofisario-adrenocortical (Bohus *et al.*, 1987). La existencia de esta dicotomía de estrategias también se ha descrito en cerdos (Hessing *et al.*, 1993). Más recientemente, sin embargo, esta bimodalidad se ha puesto en duda (Forkman *et al.*, 1995; Jensen *et al.*, 1995), aunque se acepta que la variabilidad individual en la respuesta de estrés esté asociada a diferencias de ‘temperamento’ (Manteca y Deag, 1993; Thodberg *et al.*, 1999) o de ‘personalidad’ (Erhard *et al.*, 1999) de los individuos.

Un estímulo puede describirse según sus características cualitativas (térmico, químico, eléctrico, visual, olfativo...) y cuantitativas (intensidad y temporalidad) (Ladewig, 1987). La temporalidad de un estímulo viene definida por la frecuencia con que se presenta, por su duración –estímulos agudos, crónicos o crónicos intermitentes (Burchfield, 1979)- y por la regularidad de su presentación (Broom, 2000).

Los agentes estresantes se pueden dividir en *físicos* (cambios de temperatura, estímulos eléctricos, fracturas, etc.) y en *psicológicos*. Los principales agentes psicológicos son la ansiedad, la agresividad y la frustración. La ansiedad es una forma leve de estrés, pero puede evolucionar a formas más graves, como el miedo o el pánico. Otros animales pueden manifestar agresividad, que puede ir aumentando en magnitud. En estas dos formas de estrés se produce una respuesta de huida y de lucha respectivamente, pero si el animal no puede ni huir ni atacar se produce una situación de frustración, a veces difícil de identificar. Otros agentes psicológicos relacionados con el confinamiento de los animales en condiciones de cautividad son los problemas relacionados con la territorialidad, la jerarquía, las alteraciones del ritmo biológico, las densidades elevadas de animales, el aislamiento, etc. (Fowler, 1995).

El que un estímulo sea percibido como estresante depende, en parte, del denominado componente psicológico o emocional (Cabanac, 1987). Inicialmente, las características principales del componente emocional de los estímulos estresantes fueron descritas como novedad e incertidumbre (Berlyne, 1967). Posteriormente, se describieron como 'predecibilidad' e 'incontrolabilidad' (Wiegkema, 1987). Los estímulos más amenazantes son los impredecibles e incontrolables (Levine y Ursin, 1980). La capacidad de predecir y de controlar los cambios ambientales depende de la experiencia previa del animal, ya que para valorar un estímulo hay que compararlo con otros percibidos con anterioridad (Levine, 1985). Por tanto, la respuesta de estrés depende en gran medida del aprendizaje asociativo (permite establecer relaciones causales y predecir el efecto de los cambios) y del aprendizaje operante (permite controlar los cambios) (Wiegkema, 1987).

2.2.3. Descripción de la respuesta de estrés

La respuesta de estrés incluye un componente fisiológico y otro de comportamiento, y ambos se inician con la liberación de CRH a partir del núcleo paraventricular del hipotálamo y del núcleo central de la amígdala (Chappell *et al.*, 1986; Dunn y Berridge, 1990). La aplicación de CRH en el sistema nervioso central da lugar a las respuestas fisiológicas y de comportamiento características del estrés, es decir, a la

activación de los ejes simpático-adrenomedular e hipofisario-adrenocortical, y a cambios de comportamiento (Stratakis y Chrousos, 1997).

1. Respuesta de comportamiento. En la captura y el manejo de los animales salvajes la principal respuesta comportamental de estrés es la motora voluntaria. El desplazamiento del animal hacia otro lugar es la respuesta más simple y biológicamente más económica para superar o evitar una situación desfavorable. Si este desplazamiento no es suficiente, el animal realizará otro tipo de conductas, como vocalizar o correr (Moberg, 1987).



Figura 2.4. Estrategias de adaptación frente a una situación desagradable (Hopster, 1998; adaptado de Henry y Stephens, 1977).

2. **Activación del eje Simpático-Adrenomedular (SA).** La CRH incrementa la concentración plasmática de adrenalina y de noradrenalina (Dunn y Berridge, 1990). Es decir, cuando un animal percibe un estímulo estresante, se activa el hipotálamo y éste, a su vez, activa la rama simpática del sistema nervioso autónomo. Esto provoca la liberación de catecolaminas (adrenalina y de noradrenalina) por parte de la medula adrenal y la activación de las neuronas simpáticas posganglionares, que liberan noradrenalina. La secreción de catecolaminas a partir de la médula adrenal se produce pasados uno o dos segundos desde la percepción del estímulo desencadenante, y su catabolismo es muy rápido -en las ratas su vida media es de 70 segundos- (McCarty, 1983). Por ello, se utilizan como indicadores de este eje los efectos de estas hormonas (Tabla 2.1), principalmente el aumento de la frecuencia cardíaca.
3. **Activación del eje Hipotálamo-Hipofisario-Adrenocortical (HPA).** El efecto más importante de la CRH en la respuesta de estrés es la estimulación de la liberación de corticotropina (ACTH, del inglés ‘Adrenocorticotropic Hormone’) por parte de la adenohipófisis (Oliverio, 1987). La ACTH, a su vez, estimula la secreción de glucocorticoesteroides (cortisol en los corzos) por parte de la corteza adrenal. La producción de ACTH y de CRH está controlada por el nivel de glucocorticoesteroides circulantes por un mecanismo de retroalimentación negativa (Guyton, 1988).

Los efectos de los glucocorticoesteroides (Tabla 2.2), como los de las catecolaminas, van encaminados a incrementar la energía disponible para las células y así poder prolongar la respuesta frente al agente estresante. Los principales son el efecto hiperglucemiante, el gluconeogénico y el lipolítico, además del antinflamatorio y del inmunosupresor (Guyton, 1988).

Junto con la ACTH, durante la respuesta de estrés también se libera la β -endorfina (las dos derivan de la proopiomelanocortina -POMC-) (Guillemin *et al.*, 1977; Rossier *et al.*, 1977). La β -endorfina es un opioide endógeno responsable de la analgesia inducida por estrés (Hughes *et al.*, 1975) y está relacionada con la

aparición de estereotipias (Cronin *et al.*, 1985; Sandman *et al.*, 1990). Las endorfinas también son las responsables del incremento de los niveles de prolactina, hormona luteinizante, hormona del crecimiento (Grossman y Rees, 1983), vasopresina y tirotropina (TSH, del inglés ‘Thyroid-Stimulating Hormone’) (Oliverio, 1987).

Tabla 2.1. Efectos de las catecolaminas en el organismo (adaptado de Verde y Gascón, 1987).

Efectos bioquímicos:

- ✓ Incrementan la glucogenólisis (con incremento de la glucemia, del ácido láctico muscular y del consumo de oxígeno) -receptores β_2 -.
- ✓ Incrementan la gluconeogénesis hepática.
- ✓ Incrementan la lipólisis (aumentan los niveles de ácidos grasos no esterificados en la circulación) -receptores β_1 -.

Efectos cardiovasculares y sobre los músculos:

- ✓ Incrementan la presión sanguínea y la fuerza y frecuencia de la contracción cardiaca (receptores β_1).
- ✓ Incrementan el flujo sanguíneo en el músculo esquelético y vísceras (cerebro, hígado) y dilatan las arterias coronarias.
- ✓ Disminuyen el flujo sanguíneo en la piel.
- ✓ Efectos variables sobre el músculo liso: vasodilatación (receptores β_2), vasoconstricción (receptores α), relajación de la musculatura lisa que no forma parte de los esfínteres (gastrointestinal y uterina), broncodilatación (receptores β_2) y erección del pelo (receptores α).

Efectos sobre el sistema nervioso central:

- ✓ Euforia, ansiedad, cansancio e inquietud.

Efectos sobre la hipófisis:

- ✓ Estimulan la liberación de corticotropina (ACTH) y de tirotropina (TSH).

Efectos sobre el aparato respiratorio:

- ✓ Incrementan la frecuencia y profundidad respiratorias.
-

2.2.4. Carácter aditivo de la respuesta de estrés

El carácter aditivo de la respuesta de estrés se debe a que varios estímulos estresantes pueden tener el mismo efecto que un único estímulo de mayor intensidad (Curtis, 1993). Esta característica de la respuesta de estrés es especialmente importante en la captura, el manejo y el transporte de animales salvajes, ya que en un periodo de tiempo relativamente corto se somete a los animales a un gran número de estímulos estresantes.

Tabla 2.2. Efectos de los glucocorticoesteroides en el organismo (Verde y Gascón, 1987).

Efectos sobre el metabolismo de los hidratos de carbono:

- ✓ Estimulan la gluconeogénesis hepática.
- ✓ Inhiben la capacidad de captación de glucosa por los tejidos periféricos, incrementando la glucemia.

Efectos sobre el metabolismo de las proteínas:

- ✓ Estimulan la síntesis proteica hepática.
- ✓ Incrementan la proteinólisis en tejidos periféricos.
- ✓ Incrementan los niveles de sustancias nitrogenadas de deshecho.

Efectos sobre el metabolismo lipídico:

- ✓ Incrementan la lipólisis.
- ✓ Incrementan la movilización de grasas desde los tejidos de depósito.
- ✓ Incrementan la síntesis de triglicéridos en el hígado.
- ✓ Incrementan la lipemia.

Efectos sobre el equilibrio electrolítico:

- ✓ Incrementan la concentración extracelular de sodio, cloruros y bicarbonato.
- ✓ Disminuyen la concentración plasmática de calcio, fósforo y potasio.

Efectos sobre el sistema eritropoyético:

- ✓ Incrementan la eritropoyesis.
- ✓ Disminuyen el número de linfocitos y eosinófilos circulantes.
- ✓ Incrementan el número de neutrófilos circulantes.

Efectos sobre el sistema óseo:

- ✓ Efecto osteoporótico.
- ✓ Inhiben la hormona paratiroides.

Efectos sobre el sistema nervioso central:

- ✓ Inhiben la síntesis de ácido gamma-amino-butírico, aumentando la irritabilidad del individuo.

Efectos sobre la actividad inflamatoria e inmune del organismo:

- ✓ Estabilizan los lisosomas.
- ✓ Impiden la diapédesis leucocitaria y la función fagocitaria.
- ✓ Disminuyen el número de linfocitos circulantes.
- ✓ Limitan la formación de prostaglandinas.
- ✓ Disminuyen la actividad de los fibroblastos y la formación del granuloma.
- ✓ Incrementan el tono capilar y la permeabilidad selectiva.

Otros efectos:

- ✓ Incrementan la producción de pepsinógeno y de ácido clorhídrico en la mucosa gástrica, y del tripsinógeno pancreático.
- ✓ Inhiben la secreción de corticotropina (ACTH) y de hormona liberadora de corticotropina (CRH).

2.3. INDICADORES DE COMPORTAMIENTO DE LA RESPUESTA DE ESTRÉS

Los efectos de la respuesta de estrés sobre el comportamiento se deben principalmente a la acción de la CRH. Su liberación provoca cambios en la actividad motora (Sutton *et al.*, 1982), en la conducta de ingestión (Morley y Levine, 1982), en la conducta de ‘grooming’, en el comportamiento social (Dunn y File, 1987) y en la conducta sexual. Además de los cambios provocados por la liberación de CRH, existen otros parámetros de comportamiento que se consideran indicativos de estrés crónico o de falta de bienestar, aunque los mecanismos fisiológicos responsables de los mismos no han sido establecidos con claridad. Dichos parámetros son las estereotipias (Mason, 1991), la apatía (Broom y Johnson, 1993), las conductas de desplazamiento y las conductas redirigidas (Dantzer, 1986). Los parámetros de comportamiento se consideran los mejores indicadores de estrés crónico (Broom y Johnson, 1993).

En situaciones de estrés agudo, las medidas de comportamiento utilizadas son la frecuencia, duración e intensidad de las reacciones de orientación, las reacciones de alarma y las respuestas reflejas (defensa o huida). La primera respuesta de comportamiento frente a un cambio ambiental es la orientación sensorial del animal hacia el lugar de donde proviene el cambio (Sokolov, 1960). La orientación por sí misma no nos indica que el animal se vea comprometido, pero sí si va seguida por una reacción de alarma y por una reacción defensiva o de huida. La reacción de alarma comprende cambios posturales y vocalizaciones, que varían mucho en función de la especie estudiada, y precede con frecuencia a una reacción defensiva o de huida. Al valorar estos parámetros es muy importante tener en cuenta las diferencias interindividuales que existen en las respuestas de comportamiento, ya que mientras unos individuos de una misma especie pueden responder de una forma activa otros lo pueden hacer pasivamente (Broom y Johnson, 1993).

2.4. INDICADORES FISIOLÓGICOS DE LA RESPUESTA DE ESTRÉS

La activación de los ejes SA y HPA durante la respuesta de estrés provoca cambios en numerosos parámetros fisiológicos. Por lo tanto, la medición de estos cambios permite valorar de forma directa o indirecta la respuesta de estrés. Los indicadores fisiológicos más utilizados son los que se detallan a continuación.

2.4.1. Constantes clínicas

Frecuencia cardiaca

La frecuencia cardiaca es uno de los indicadores fisiológicos de estrés agudo más utilizados. En general, frente a un estímulo estresante se produce una taquicardia como consecuencia de la estimulación de los receptores adrenérgicos β_1 por acción de las catecolaminas liberadas. No obstante, la utilización de la frecuencia cardiaca como indicador de estrés presenta algunos inconvenientes. En primer lugar, los cambios en la frecuencia cardiaca pueden ser debidos a un aumento en la actividad física del animal (Broom y Johnson, 1993). En segundo lugar, en algunas situaciones estresantes se puede producir una bradicardia. Esta bradicardia secundaria al estrés se ha descrito en roedores (Hofer, 1970), en algunas aves (Gabrielsen *et al.*, 1977) y en ungulados jóvenes (Espmark y Langvatn, 1985). Y, en tercer lugar, la propia manipulación del animal para determinar su frecuencia cardiaca puede provocar taquicardia (Spodick, 1980). No obstante, el uso de sistemas telemétricos no invasivos para medir la frecuencia cardiaca reduce el efecto de la manipulación (Hopster, 1998).

Porges (1985) propone que, en comparación con el valor absoluto de frecuencia cardiaca, su variabilidad se muestra como un mejor indicador del estado del sistema nervioso del individuo y de su capacidad para responder a las demandas ambientales. Goldberger (1991) indica que la actividad competitiva de las ramas simpática y parasympática sobre el nódulo sinusal puede ser registrada como la variabilidad (coeficiente de variación) de la frecuencia cardiaca.

Temperatura corporal

La temperatura corporal es una de las constantes clínicas más importantes y que más se controla durante la captura y el manejo de los animales salvajes, ya que su aumento es uno de los indicadores más útiles del desarrollo de una miopatía de captura (Spraker, 1982).

La temperatura corporal de los mamíferos es relativamente constante. La temperatura interna de los animales sanos proviene del calor generado por las contracciones

musculares, la asimilación de los alimentos y los procesos metabólicos (Lusk, 1989). Con una actividad normal, alrededor de un 25% del calor producido proviene de la contracción muscular, pero durante el ejercicio esta cantidad puede aumentar de 40 a 60 veces (Haskins, 1995). No obstante, el aumento de temperatura corporal que se produce en ciertas situaciones estresantes no se explica sólo por la actividad física (Moe y Bakken, 1997; Bakken *et al.*, 1999), sino que existe otro componente, la denominada hipertermia inducida por estrés (SIH, del inglés ‘stress-induced hyperthermia’), que está relacionada con la activación del sistema simpático-adrenomedular y del eje hipotálamo-hipofisario-adrenocortical (Groenink *et al.*, 1994). La SIH es un cambio regulado en el punto de referencia del mecanismo de termorregulación que, como la fiebre, está mediado por la prostaglandina E (Kluger *et al.*, 1987; Briese y Cabanac, 1990) y las interleuquinas 1 y 6 (Kent *et al.*, 1993; Le May *et al.*, 1990). La SIH se considera una respuesta de anticipación frente a una situación desgradable, que puede ser conocida o no. Esta respuesta se puede suprimir administrando benzodiacepinas o agonistas serotoninérgicos, pero no mediante los neurolépticos (Olivier y Miczek, 1998). La magnitud de la SIH no se ve afectada por la temperatura ambiental (Long *et al.*, 1990).

En determinadas situaciones estresantes, a pesar de aumentar la temperatura interna, la externa puede ser baja debido a la vasoconstricción provocada por la activación del sistema nervioso simpático (Broom y Johnson, 1993).

La temperatura rectal se considera un criterio cuantitativo útil para valorar el grado de estrés agudo (Franzmann y Thorne, 1970; Kock *et al.*, 1987a). Sin embargo, Drew (1996, 1998) propone la utilización de la temperatura timpánica para poder diferenciar el aumento de la temperatura debido al ejercicio del aumento debido a un incremento real en la temperatura interna a causa de un proceso patológico. Este autor afirma que es un método que detecta más rápidamente los cambios en la temperatura interna y que tiene un mayor valor predictivo de la evolución de la salud del animal que la temperatura rectal.

2.4.2. Parámetros sanguíneos

El estrés provocado por la captura y el transporte en los cérvidos afecta a numerosos parámetros sanguíneos (Franzmann *et al.*, 1975; Wesson *et al.*, 1979; Kocan *et al.*, 1981; Cross *et al.*, 1988; DelGiudice *et al.*, 1990; Brelurut; 1991; Chapple *et al.*, 1991), por lo que se han utilizado con frecuencia para valorar los efectos de estas operaciones. No obstante, no se dispone de valores de referencia para muchas de las especies y, a menudo, los datos existentes son difícilmente comparables debido a las diferencias en los diseños experimentales (Kocan *et al.*, 1981). Al utilizar unos determinados valores de referencia debemos considerar el método de captura utilizado (físico o químico), el método de obtención de las muestras sanguíneas y los efectos que éstos tienen sobre los parámetros sanguíneos (Wesson *et al.*, 1979; Mautz *et al.*, 1980; Kocan *et al.*, 1981). Actualmente, se pueden utilizar unos dispositivos que permiten obtener muestras de sangre por control remoto y así eliminar el efecto del estrés provocado al obtener la muestra sobre los parámetros sanguíneos (Wilklund *et al.*, 1994). Existen otros factores asociados a la captura que también pueden influir en los parámetros sanguíneos, como son el tiempo de persecución del animal, la temperatura ambiental y el comportamiento del animal, y que, por tanto, también se deben tener en cuenta al interpretar los datos (Seal y Hoskinson, 1978).

En los animales capturados mediante anestesia, algunas de las variaciones observadas en los parámetros sanguíneos pueden ser debidas a la excitación previa a la anestesia más que a los efectos del fármaco. Así, en un animal poco estresado, en el que el periodo de inducción de la anestesia ha sido corto, las alteraciones son menos importantes que si el periodo de inducción se ha prolongado, o si el animal se ha resistido mucho a la contención o ha sufrido traumatismos (Kocan *et al.*, 1981).

Además de los factores asociados al estrés, existen otros que también pueden influir en los parámetros sanguíneos. Los más importantes son el sexo, la edad, (Jaouen, 1981; Chapple *et al.*, 1991; Thorn, 2000), la condición general del animal, el estado de salud, la estación del año y el hábitat de los animales (Seal *et al.*, 1972a, 1978; DelGiudice *et al.*, 1990b, 1992). En las Tablas 2.3 y 2.4 aparecen, respectivamente, los valores

hematológicos y bioquímicos descritos por Jaouen (1981) para corzos capturados mediante redes verticales en Francia.

2.4.2.1. Hemograma

Los valores hematológicos varían en función del método de captura utilizado (físico o químico). La captura física da lugar a recuentos de eritrocitos más elevados que la captura química. Por consiguiente, también aumentan el valor hematocrito y la concentración de hemoglobina (Wesson *et al.*, 1979; Cross *et al.*, 1988; Chapple *et al.*, 1991). Cross *et al.* (1988) comprobaron que el aumento medio en el recuento de eritrocitos en los animales capturados físicamente respecto a los animales sedados con xilacina era de un 40%.

El aumento de éstos parámetros se atribuye a la contracción esplénica y, en parte, a la disminución del volumen plasmático. La contracción esplénica es uno de los efectos de las catecolaminas liberadas durante la estimulación simpática (Jain 1993). Ni el estrés físico ni la inyección de adrenalina provocan un incremento del valor hematocrito en los animales esplenectomizados (Walton 1971; Cross *et al.*, 1989; Jain, 1993). La contracción esplénica proporciona a la masa muscular una gran cantidad de eritrocitos oxigenados que permiten al animal una huida rápida y sostenida durante un periodo de tiempo largo (Cross *et al.*, 1988). Hartwig y Hartwig (1985) describieron la presencia de una cápsula bimembranosa con una gran cantidad de músculo liso en el bazo del 'wapiti' (*Cervus elaphus canadensis*). Esto indicaba que su principal función era la de almacenar eritrocitos. Por otra parte, la disminución del volumen plasmático se debe a un movimiento compensatorio del líquido plasmático desde los vasos hacia los tejidos (Jain, 1993). Todo ello produce un aumento de la viscosidad sanguínea (Cross *et al.*, 1988).

La captura química, en cambio, provoca una disminución en el recuento de eritrocitos, el valor hematocrito y la concentración de hemoglobina. Esto se debe principalmente a un efecto de hemodilución causado, por una parte, por una expansión del volumen plasmático con líquido extracelular y, por otra, por el secuestro de eritrocitos en el bazo (Seal *et al.*, 1972; Wesson *et al.*, 1979; Kocan *et al.*, 1981; Wilson y Pauli, 1982; Cross *et al.*, 1988). El efecto relajante de la acepromacina, la clorpromacina, los

barbitúricos y el halotano sobre el bazo hace que los eritrocitos queden retenidos en éste (Turner y Hodgetts, 1960; Jain, 1993).

Tabla 2.3. Valores hematológicos de corzos capturados mediante redes verticales (Jaouen, 1981). Datos expresados como media (desviación típica).

Parámetro	Machos			Hembras		
	9-12 meses (n = 27)	2-3 años (n = 17)	> 4 años (n = 27)	9-12 meses (n = 26)	2-3 años (n = 26)	> 4 años (n = 24)
Eritrocitos ($\times 10^{12}/L$)	10,66 (1,81)	10,23 (1,64)	10,10 (0,79)	10,79 (1,10) ^x	10,72 (0,98) ^x	9,96 (1,49) ^y
Hemoglobina (g/L)	167,0 (15,2)	168,6 (20,9)	168,7 (18,3)	180,0 (13,0) ^{x,y}	183,1 (9,1) ^x	173,7 (15,7) ^y
Valor hematocrito (L/L)	0,47 (0,04)	0,48 (0,04)	0,47 (0,03)	0,50 (0,03)	0,51 (0,03)	0,49 (0,05)
Leucocitos ($\times 10^9/L$)	4,74 (1,93)	4,62 (2,00)	4,66 (1,60)	4,45 (1,26)	4,73 (1,97)	4,81 (1,79)
Linfocitos ($\times 10^9/L$)	2,55 (1,07) ^a	2,20 (0,80) ^{a,b}	1,84 (0,77) ^b	2,45 (0,98) ^x	1,82 (0,69) ^y	1,81 (0,66) ^y
Neutrófilos ($\times 10^9/L$)	1,92 (1,69)	2,16 (1,89)	2,55 (1,54)	1,80 (1,12) ^x	2,65 (2,02) ^y	2,77 (1,67) ^y
Eosinófilos ($\times 10^9/L$)	0,04 (0,04) ^a	0,06 (0,05) ^{a,b}	0,08 (0,10) ^b	0,04 (0,06) ^x	0,10 (0,12) ^y	0,07 (0,06) ^{x,y}
Basófilos ($\times 10^9/L$)	0,09 (0,10)	0,09 (0,09)	0,10 (0,08)	0,08 (0,10)	0,06 (0,08)	0,08 (0,08)

^{a, b} Los valores con superíndices distintos son estadísticamente diferentes entre los grupos de edad en los machos.

^{x, y} Los valores con superíndices distintos son estadísticamente diferentes entre los grupos de edad en las hembras. Los valores sin superíndice no son estadísticamente diferentes.

Los recuentos total y diferencial de leucocitos también se ven afectados por la respuesta de estrés. La secreción de adrenalina hace aumentar la circulación de sangre y de linfa. Esto hace que los leucocitos retenidos en los vasos capilares (reserva marginal) y en los nódulos linfáticos pasen a la sangre periférica, causando una leucocitosis con neutrofilia y/o linfocitosis. Su efecto es transitorio y normalmente dura menos de 30 minutos. Por otro lado, la secreción de corticoesteroides provoca leucocitosis, neutrofilia, linfocitopenia y eosinopenia (Jain, 1993). La neutrofilia se debe a la liberación de neutrófilos maduros a partir de la médula ósea, a la disminución de la diapédesis de los neutrófilos circulantes hacia los tejidos y al paso de neutrófilos desde la reserva marginal hacia la circulación (Smith, 2000). La linfocitopenia inducida por los corticoesteroides se debe a una redistribución de los linfocitos circulantes hacia la médula ósea u otros compartimentos orgánicos. La exposición prolongada a los corticoesteroides puede causar linfocitólisis (Schultze, 2000). Los

mecanismos de la eosinopenia no están claros, pero se cree que está causada por una lisis intravascular (los esteroides inducen la apoptosis de los eosinófilos), a una disminución de la liberación de eosinófilos a partir de la médula ósea, a un secuestro por parte del hígado y del bazo, y a la migración de eosinófilos hacia tejidos linfoides (Jain, 1993; Young, 2000). Estas variaciones leucocitarias aparecen más tarde que los cambios eritrocitarios. El pico de neutrofilia y de linfocitopenia provocado por los corticoesteroides se produce al cabo de 4-8 horas (Duncan *et al.*, 1994).

Se ha descrito que el incremento de linfocitos en los animales capturados físicamente se debe a la contracción esplénica. Sin embargo, los valores inferiores en el número de linfocitos observados en animales sedados con xilacina (Cross *et al.*, 1988) no se pueden atribuir a un secuestro esplénico, ya que el efecto de este fármaco en los animales esplenectomizados no es significativamente diferente del que tiene en los animales intactos (Cross *et al.*, 1989).

El número de plaquetas también se ve afectado por el estrés, aumentando en los animales no tranquilizados a causa de la contracción esplénica (Cross *et al.*, 1988; Jain, 1993).

2.4.2.2. Parámetros bioquímicos

ENZIMAS

Las enzimas musculares aumentan durante el estrés de captura y manejo debido al incremento de la permeabilidad celular y al daño de las células musculares (Duncan y Prasse, 1986; Spraker 1993). En el ganado ovino, Tollesrud *et al.* (1971) atribuyen el aumento de la permeabilidad muscular durante la respuesta de estrés a la reacción endocrina que se produce. En el ganado vacuno, se ha observado un aumento de las enzimas musculares después de la administración de adrenalina y de ACTH (Holmes *et al.*, 1973; Sconberg *et al.*, 1993).

Creatina cinasa (CK)

La creatina cinasa cataliza la fosforilación reversible de la creatina para formar creatinfosfato. Existen cuatro isoenzimas de la CK, que están formadas por la

combinación de dos subunidades diferentes (M y B): la CK₁ (CK-BB), localizada principalmente en el cerebro; la CK₂ (CK-MB); la CK₃ (CK-MM), localizada principalmente en los músculos esqueléticos y cardiaco; y la CK-Mt, localizada en las membranas mitocondriales y que supone un 15% de la actividad total de la CK cardiaca. En las especies domésticas, a diferencia de lo que pasa en el hombre, el análisis de las isoenzimas de la CK no tiene un gran valor diagnóstico (Kramer y Hoffmann, 1997). La hemólisis provoca la liberación de la CK eritrocitaria al plasma y, por tanto, puede dar lugar a valores séricos de CK falsamente elevados (Bush, 1993).

La CK es un indicador muy sensible de daño muscular, por eso sólo tienen importancia clínica los grandes aumentos en su actividad sérica. Los pequeños traumatismos y las inyecciones intramusculares provocan aumentos detectables en la CK sérica. Una isquemia muscular moderada provocada por el ejercicio hace que la actividad de la CK aumente. La corta semivida de la CK en el suero hace que su actividad sérica vuelva rápidamente a los niveles normales después del daño muscular. Utilizando a la vez la actividad de la aspartato aminotransferasa (AST), que es menos específica de daño muscular pero que tiene una semivida más larga en el suero, se puede detectar la existencia de una alteración muscular. Así, un pequeño aumento en la CK sérica combinado con un aumento marcado en la AST indican que ha existido un daño muscular unos días antes de la obtención de la muestra (Kramer y Hoffmann, 1997).

Existen numerosos trabajos en ungulados salvajes que utilizan la actividad sérica de la CK como indicador de estrés físico [antílope americano (*Antilocapra americana*): Seal y Hoskinson, 1978; ciervo de cola blanca (*Odocoileus virginianus*): Kocan *et al.*, 1981; DelGiudice *et al.*, 1990a; muflón de las Rocosas (*Ovis canadensis*): Kock *et al.*, 1987a; ciervo chital (*Axis axis*): Chapple *et al.*, 1991; cabra montés (*Capra pyrenaica hispanica*): Peinado *et al.*, 1993]. En el ciervo de cola blanca, se ha constatado un aumento de la actividad sérica de la CK de 200 veces a consecuencia del manejo (Seal *et al.*, 1972).

Aspartato aminotransferasa (AST)

La AST cataliza la transferencia del grupo amino del L-aspartato al α -cetoglutarato, transformándolos en L-glutamato y oxalacetato, respectivamente. Existen dos isoenzimas, la citosólica y la mitocondrial. Es una enzima poco específica, porque está presente en muchos tejidos, pero es un marcador sensible de lesiones de tejidos blandos. Normalmente se utiliza como indicador de daño hepático en combinación con otros marcadores hepáticos. La AST de los eritrocitos puede ser liberada al plasma antes que la hemólisis sea observable, lo que puede dar lugar a valores séricos de AST falsamente elevados (Kramer y Hoffmann, 1997).

Los niveles séricos de CK y de AST son indicadores más sensibles de daño muscular que los de LDH y ALT (Duncan y Prasse, 1986; Chapple *et al.*, 1991). Los niveles más elevados de CK y de AST en los machos adultos [ciervo común (*Cervus elaphus*): Kent *et al.*, 1980; muflón de las Rocosas: Kock *et al.*, 1987a; ciervo chital: Chapple *et al.*, 1991] sugieren que este grupo reacciona más vigorosamente a la captura y al manejo y que es más susceptible a la miopatía de captura que las hembras y los animales jóvenes. Sin embargo, otros estudios apuntan lo contrario. Sartorelli *et al.* (1991) describieron que las hembras de íbice de los Alpes (*Capra ibex*) eran más susceptibles que los machos a la captura química y al transporte en helicóptero.

Alanina aminotransferasa (ALT)

La ALT cataliza la transferencia reversible de un grupo amino de la L-alanina al α -cetoglutarato, transformándolos en piruvato y glutamato, respectivamente. En los primates, perros, gatos, conejos y ratas la ALT es muy específica del hígado. En estas especies, un incremento en la actividad sérica de la ALT es un indicador sensible y específico de daño hepatocelular. En cambio, en rumiantes, caballos y cerdos la ALT no es suficientemente específica como para tener valor diagnóstico (Kramer y Hoffman, 1997). No obstante, el estrés físico puede elevar la actividad sérica de esta enzima (Barrett y Chalmers, 1977), ya que también se encuentra en las células musculares.

Lactato deshidrogenasa (LDH)

La LDH cataliza la oxidación reversible del piruvato a L-lactato. Es una enzima poco órgano-específica (Kramer y Hoffmann, 1997). Existen cinco isoenzimas de la LDH, cuya distribución tisular varía en función de la especie. En el músculo esquelético de los cérvidos (Jones y Price, 1992; Goddard y Grigor, 1997) predomina la LDH₅, mientras que en el músculo cardiaco predomina la LDH₁. Goddard y Grigor (1997) observaron un incremento específico de la LDH₅ en los ciervos estresados. Este aumento se correlaciona con el aumento sérico de la CK, aunque ésta tiene una semivida más corta que la LDH y vuelve antes a los niveles basales. La hemólisis puede dar lugar a valores séricos de LDH falsamente elevados debido a la liberación de la LDH a partir de los eritrocitos (Bush, 1993).

La LDH aparece como indicador de estrés físico en estudios realizados en el antílope americano (Seal y Hoskinson, 1978), el muflón de las Rocosas (Kock *et al.*, 1987a), el ciervo de cola blanca (DelGiudice *et al.*, 1990a), la cabra montés (Peinado *et al.*, 1993), el ciervo chital (Chapple *et al.*, 1991) y la gacela Dorcas (*Gazella dorcas*) (Bush *et al.*, 1981).

Las diferencias en la actividad sérica de la LDH halladas entre animales adultos, en los que la actividad es superior, y animales jóvenes (Bush *et al.*, 1981; Chapple *et al.*, 1991; Goddard y Grigor, 1997) pueden estar relacionadas con las variaciones en el tamaño de los órganos que tienen una mayor influencia en la actividad sérica total de la LDH (Goddard y Grigor, 1997).

PROTEÍNAS TOTALES (PT)

La síntesis de proteínas séricas está bajo control genético, lo que da lugar a diferencias interindividuales e interespecíficas en sus concentraciones. La edad también afecta a los niveles de proteínas séricas; aumentan con ella hasta alcanzar los valores de adulto. Otros factores que afectan a este parámetro son la gestación, la lactación y los niveles de ciertas hormonas. El cortisol provoca una disminución en la concentración de proteínas totales debido a su efecto catabólico (Kaneko, 1997b). La concentración de

proteínas totales se determina normalmente en el suero. Se debe tener en cuenta que las proteínas séricas no incluyen las que intervienen en el proceso de coagulación.

Las diferencias observadas en la concentración de proteínas totales entre los animales capturados físicamente y los anestesiados (Wesson *et al.*, 1979; Peinado *et al.*, 1993) pueden deberse a diferencias en la presión sanguínea, en la presión osmótica coloidal, en la presión capilar, en la contracción esplénica o a cambios en la circulación linfática (Wesson *et al.*, 1979). Seal *et al.* (1972) atribuyen los niveles más bajos descritos en los animales inmovilizados químicamente al efecto de hemodilución -por el incremento del volumen plasmático a partir del líquido extracelular- que ejercen algunos agentes anestésicos.

METABOLITOS

Urea

La urea es el metabolito resultante del metabolismo nitrogenado, principalmente del catabolismo de las proteínas. Se forma en el llamado ciclo de la urea, que tiene lugar en el hígado. Sus niveles sanguíneos dependen de la tasa metabólica, que a su vez depende de la dieta, y de su excreción renal.

La urea se utiliza como indicador de función renal y hepática. Además, la concentración sérica de urea se considera uno de los mejores indicadores de la condición corporal en los cérvidos (Wolkers *et al.*, 1994), ya que está directamente relacionada con su estado nutricional (Le Resche *et al.*, 1974; Seal y Hoskinson, 1978).

En el ciervo de cola blanca, ni Kocan *et al.* (1981) ni Wesson *et al.* (1979) encontraron aumentos significativos en los niveles de urea provocados por la captura (física o química) y el manejo. En cambio, Sealander (1975) describió un aumento de la concentración sérica de urea provocado por la inmovilización física y por la persecución con perros. Hyvärinen *et al.* (1976) describieron un aumento de la urea debido, entre otros factores, a una actividad muscular intensa en renos sometidos a estrés. Por su parte, Kock *et al.* (1987a), en el muflón de las Rocosas, encontraron

valores de urea más elevados en animales estresados o bajo riesgo de muerte que en los considerados normales.

Creatinina

La creatinina es el producto final de la degradación de la fosfocreatina, un compuesto de alta energía sintetizado principalmente en el tejido muscular (Wolkers *et al.*, 1994). La tasa diaria de producción de creatinina es relativamente constante. La cantidad de creatinina formada diariamente depende de la ingestión diaria de creatina (a través de la carne), de la tasa de síntesis de creatina endógena y de la masa muscular. Existe una relación directa entre la masa muscular y el nivel de creatinina sérica. La concentración de creatinina sérica en los hombres es un 30% superior al de las mujeres. El ejercicio físico también afecta a la producción diaria de creatinina. En los humanos existe una variación circadiana de la concentración de creatinina. En un estudio, las muestras recogidas por la tarde presentaban valores un 10% superiores respecto a las recogidas por la mañana (Finco, 1997).

La creatinina sólo se excreta por vía renal y no se reabsorbe. Por ello, los niveles elevados de creatinina se utilizan como indicadores de alteración de la función renal (Finco, 1997). Wolkers *et al.* (1994) consideran la creatinina, junto con la urea, la relación urea/creatinina y la fosfatasa alcalina, los mejores indicadores de condición corporal en los ciervos.

Lactato

El lactato es un metabolito originado en la glucogenólisis muscular debido a la falta en este tejido de la enzima glucosa-6-fosfatasa, necesaria para la síntesis de glucosa a partir del glucógeno. El lactato formado en el músculo es transportado por la sangre hasta el hígado, donde es transformado en glucosa. Esto constituye el ciclo de Cori o del ácido láctico. Otra fuente de lactato es la glucólisis anaerobia. En ausencia de oxígeno, el piruvato es reducido a lactato por la acción de la lactato deshidrogenasa. La vía anaerobia es menos eficiente que la aerobia desde el punto de vista energético, pero permite seguir obteniendo energía en ausencia de oxígeno. En los rumiantes, además, el lactato es un producto de muchas reacciones de fermentación. El lactato ruminal se absorbe y constituye una fuente indirecta de glucosa sanguínea. No

obstante, la mayor parte del lactato sanguíneo proviene de la glucogenólisis muscular (Kaneko, 1997a).

Hattingh *et al.* (1988) afirman que el estrés de captura y manejo causa un aumento en la concentración de lactato en impalas (*Aepyceros melampus melampus*).

Tabla 2.4. Valores bioquímicos de corzos capturados mediante redes verticales (Jaouen, 1981). Datos expresados como media (desviación típica).

Parámetro	Machos			Hembras		
	9-12 meses (n = 31)	2-3 años (n = 22)	> 4 años (n = 33)	9-12 meses (n = 35)	2-3 años (n = 28)	> 4 años (n = 27)
Urea (mmol/L)	6,61 (1,45) ^a	5,75 (1,14) ^b	6,12 (1,22) ^b	7,00 (1,09)	7,07 (1,36)	6,82 (1,26)
Glucosa (mmol/L)	13,38 (3,08)	12,94 (1,29)	13,50 (2,63)	13,78 (3,53)	13,55 (3,53)	13,44 (2,41)
Proteínas totales (g/L)	61,8 (7,45)	62,7 (5,92)	64,4 (4,54)	60,13 (4,50) ^x	66,74 (3,85) ^y	65,57 (4,13) ^y
Colesterol (mmol/L)	1,48 (0,34)	1,46 (0,31)	1,38 (0,29)	1,27 (0,21) ^x	1,20 (0,21) ^{x,y}	1,17 (0,21) ^x
Sodio (mmol/L)	142,56 (8,8)	143 (7,92)	142,12 (7,04)	141,24 (7,48)	141,24 (7,48)	141,68 (6,60)
Potasio (mmol/L)	5,36 (0,86)	5,38 (0,83)	5,10 (0,82)	5,17 (0,79)	5,33 (0,91)	5,16 (0,77)

^{a, b} Los valores con superíndices distintos son estadísticamente diferentes entre los grupos de edad en los machos.

^{x, y} Los valores con superíndices distintos son estadísticamente diferentes entre los grupos de edad en las hembras. Los valores sin superíndice no son estadísticamente diferentes.

GLUCOSA

La glucosa sanguínea se obtiene a través de la absorción intestinal, o bien proviene de la producción hepática a partir de sus precursores (glucógeno, fructosa, galactosa, lactato, glicerol y aminoácidos) (Kaneko, 1997a). En los rumiantes la glucosa es fermentada por los microorganismos ruminantes y su absorción como tal es prácticamente nula. En las reacciones de fermentación se producen ácidos grasos volátiles (acetato, propionato y butirato) que suponen la principal fuente de energía para los rumiantes. El propionato es el precursor directo de la glucosa sanguínea.

La glucemia está sometida a un control hormonal. Así, el glucagón, los glucocorticoesteroides, la adrenalina, las hormonas tiroideas, la hormona del crecimiento y la progesterona son hiperglucemiantes y actúan activando la gluconeogénesis y la glucogenólisis, o interfiriendo en la utilización de la glucosa por

parte de los tejidos. En cambio, la insulina es una hormona hipoglucemiante que actúa inhibiendo la gluconeogénesis y favoreciendo la captación de glucosa por parte de los tejidos (Kaneko, 1997a).

Existen numerosos trabajos que describen el incremento de los niveles séricos o plasmáticos de glucosa como consecuencia del estrés (Franzmann y Thorne, 1970; Seal *et al.*, 1972; Bush *et al.*, 1981; Kocan *et al.*, 1981; Kock *et al.*, 1987a; Hartmann, 1988; Hattingh *et al.*, 1988; Carragher *et al.*, 1997). Wesson *et al.* (1979) atribuyen la gran variabilidad en los niveles de glucosa descritos en la bibliografía al estrés de captura y manejo. En la respuesta de estrés los niveles de glucosa aumentan debido a la secreción de catecolaminas y de glucocorticoesteroides, pero también pueden disminuir como consecuencia de una actividad intensa.

Según Broom y Johnson (1993), los niveles de glucosa tienen poco valor como indicadores de bienestar si no se recogen muestras seriadas de sangre. Sartorelli *et al.* (1992) afirman que la glucosa no es un buen indicador de estrés en las condiciones experimentales asociadas a un transporte.

COLESTEROL

El colesterol es el precursor de las hormonas esteroideas, de la vitamina D y de los ácidos biliares, y forma parte de las membranas celulares. Se sintetiza y se cataboliza principalmente en el hígado. En la sangre es transportado a través de lipoproteínas (principalmente, de las lipoproteínas de baja densidad -LDL, del inglés ‘Low Density Lipoproteins’- y de las lipoproteínas de alta densidad -HDL, del inglés ‘High Density Lipoproteins’-) (Bruss, 1997).

Franzmann y Thorne (1970) relacionaron el aumento en los niveles de colesterol sérico con el estrés provocado por la captura y el manejo en los muflones de las Rocosas. Estos resultados también se han constatado en el antílope americano (Barrett y Chalmers, 1977). En cambio, Seal y Hoskinson (1978) no encontraron ninguna relación entre el nivel de colesterol y el grado de estrés. Por otro lado, Peinado *et al.* (1993) encontraron valores de colesterol significativamente más elevados en las cabras monteses anestesiadas con una combinación de tiletamina y zolazepam que en las

inmovilizadas físicamente. En cambio, Kocan *et al.* (1981) no encontraron diferencias en los niveles de colesterol entre la utilización de varios anestésicos y la contención física en ciervos de cola blanca criados en cautividad.

Coblentz (1975) relaciona la disminución del nivel de colesterol con la reducción de la calidad de la dieta, mientras que Seal y Hoskinson (1978) encontraron niveles de colesterol más altos en los antílopes americanos que vivían en las zonas más frías.

ELECTRÓLITOS

Sodio

El sodio se encuentra principalmente en el líquido extracelular y determina en gran parte su volumen y su osmolalidad. También interviene en el equilibrio acidobásico, en el mantenimiento del potencial de membrana y en la transmisión del impulso nervioso. La mayor parte del sodio restante se encuentra en los huesos (Carlson, 1997). Las membranas celulares son relativamente impermeables a la entrada de sodio, y su salida de la célula está regulada por la bomba de sodio-potasio. La cantidad de sodio presente en el organismo, y con ella la de agua, está regulada por el riñón. Éste mantiene la concentración plasmática de sodio dentro de un margen estrecho, a pesar de las fluctuaciones debidas a la ingestión a través de la dieta. La aldosterona regula la reabsorción renal de sodio en función de estas fluctuaciones (DiBartola, 1992).

Los niveles elevados de sodio sérico son debidos a un incremento en la ingestión de sodio, a una pérdida excesiva de agua o a una disminución en la ingestión de agua, mientras que los niveles bajos de sodio están causados por las situaciones opuestas (Bush, 1993). Las catecolaminas liberadas por el sistema nervioso simpático pueden incrementar la reabsorción de sodio y de agua de una forma indirecta, mediante sus efectos hemodinámicos, o bien directamente, por sus efectos sobre el túbulo proximal renal (DiBartola, 1992).

Kocan *et al.* (1981) describieron un incremento en la concentración plasmática de sodio como consecuencia del estrés en ciervos de cola blanca, mientras que Peinado *et al.* (1993) encontraron niveles de sodio significativamente más bajos en las cabras

montesas inmovilizadas químicamente respecto a las que se sometieron a una contención física.

Potasio

El potasio es un electrólito principalmente intracelular. La distribución del potasio a ambos lados de la membrana celular, que se mantiene gracias a la bomba de sodio-potasio, tiene una función muy importante en el mantenimiento de la excitabilidad neuromuscular y cardiaca. Los cambios en la concentración de potasio que alteran su proporción intracelular/extracelular alteran el potencial de membrana. En general, la hipopotasemia incrementa el potencial de membrana, provocando una hiperpolarización que da lugar a debilidad o parálisis. La hiperpotasemia disminuye el potencial de membrana, causando un estado de hiperexcitabilidad (Carlson, 1997).

Las catecolaminas ejercen un efecto bifásico sobre la concentración sérica de potasio. Inicialmente, provocan un incremento transitorio en el nivel de potasio mediante una estimulación α -adrenérgica, seguido de una hipopotasemia debida a la estimulación de los receptores β_2 . Este hecho tiene un papel importante en el desarrollo de la fatiga debida al ejercicio en los atletas y en los caballos de competición. Los glucocorticoesteroides, por otra parte, aumentan la excreción de potasio a través de la orina, aunque si se administran de forma aguda dan lugar a una hiperpotasemia transitoria (0.5-1.0 mmol/L en los humanos), que desaparece al cabo de 8-12 horas aunque sigan administrándose glucocorticoesteroides (Bia y DeFronzo, 1981).

El ejercicio intenso y la necrosis muscular provocan un aumento en la concentración sérica de potasio (Carlson, 1997). Los niveles elevados de potasio sérico también se han relacionado con la respuesta de estrés (Kock *et al.*, 1987a; Peinado *et al.*, 1993). Sin embargo, al interpretar los niveles de potasio hay que tener en cuenta posibles errores preanalíticos, ya que debido a la elevada concentración de potasio existente en el interior de los eritrocitos, la hemólisis puede provocar una falsa hiperpotasemia (Carlson, 1997).

En los ungulados salvajes se han descrito también variaciones estacionales en los niveles de sodio y de potasio (DeLiberto *et al.*, 1989; DelGiudice *et al.*, 1992).

Cloruros

El ión cloruro es el anión extracelular más abundante. Determina la presión osmótica del líquido extracelular e interviene en el mantenimiento del equilibrio acidobásico y, si no hay alteraciones en éste, su concentración varía proporcionalmente a la del sodio. En cambio, su concentración varía inversamente a la del bicarbonato cuando hay alteraciones del equilibrio acidobásico (Carlson, 1997).

Peinado *et al.* (1993) encontraron niveles de cloruros significativamente más altos en cabras montesas capturadas físicamente respecto a las inmovilizadas con anestesia.

HORMONAS

Glucocorticoesteroides

Los glucocorticoesteroides son hormonas esteroideas producidas por la corteza adrenal. En los primates, los perros, los gatos y en la mayoría de ungulados, el glucocorticoesteroide predominante es el cortisol, mientras que en las aves y en los roedores es la corticoesterona. Antes de que se desarrollasen las pruebas para determinar los glucocorticoesteroides en el plasma (o suero) o en la saliva, se determinaba uno de sus metabolitos, la 17-hidroxicorticoesterona, en la orina (Mason, 1968).

En la sangre, los glucocorticoesteroides pueden ser transportados en forma de moléculas libres, que son las metabólicamente activas, o unidos a proteínas (la transcortina y la albúmina). En condiciones normales, las formas libres del cortisol constituyen un 10% del total, pero en determinadas situaciones, como en caso de estrés, pueden llegar a ser un 20-30% del total (Rijnberk y Mol, 1989). La forma libre atraviesa las membranas celulares, lo que permite detectarla en la saliva (Fell y Shutt, 1985; Greenwood y Shutt, 1992).

El nivel de glucocorticoesteroides se ha utilizado para valorar respuestas agudas de estrés tanto en los animales domésticos (Thurley y McNatty, 1973; Viñas *et al.*, 1989; Hargreaves y Hutson, 1990; Sanhouri *et al.*, 1992) como en los salvajes (Franzmann *et*

al., 1975; Seal y Bush, 1987; DelGiudice *et al.*, 1990a; Hastings *et al.*, 1992; Morton *et al.*, 1995). No obstante, su utilidad en los animales salvajes es controvertido. Algunos autores lo consideran el mejor indicador único de estrés (Franzmann *et al.*, 1975; Bubenik, 1982; Jessup *et al.*, 1982; Spraker, 1982; Morton *et al.*, 1995), mientras que otros consideran que la utilización de múltiples parámetros hematológicos y bioquímicos supone un mejor indicador del grado de estrés (Kock *et al.*, 1987a; Chapple *et al.*, 1991).

La interpretación de la concentración de glucocorticoesteroides, sin embargo, presenta algunos inconvenientes (Rushen, 1991):

- ✓ La concentración plasmática de glucocorticoesteroides sigue un ritmo circadiano, lo que obliga a tomar las muestras siempre a la misma hora del día. Esta periodicidad se ha descrito en el muflón de las Rocosas y en el ciervo común (Turner, 1984; Ingram *et al.*, 1999). En el ciervo se ha descrito, incluso, la existencia de un ritmo ultracircadiano (Ingram *et al.*, 1999). También se han descrito fluctuaciones estacionales en los niveles de glucocorticoesteroides. Nilssen *et al.* (1985) las encontraron en el reno (*Rangifer tarandus*) e Ingram *et al.* (1999) en el ciervo común, pero Seal *et al.* (1978) no las detectaron en el ciervo de cola blanca.
- ✓ El estrés crónico o crónico intermitente provoca una sensibilización del eje HPA. Esto se puede poner de manifiesto mediante la administración de ACTH; los animales que hayan estado sometidos a un estrés crónico mostrarán un aumento en la concentración plasmática de glucocorticoesteroides superior a los animales control (Broom y Johnson, 1993).
- ✓ La propia manipulación del animal para obtener la muestra de sangre provoca un aumento en la concentración de glucocorticoesteroides, enmascarando el efecto real del agente estresante sometido a estudio. Por ello, es importante que la obtención de la muestra sea rápida, ya que en la mayoría de especies el aumento en la concentración de glucocorticoesteroides se produce a partir de los dos minutos del inicio de la manipulación del animal (Broom y Johnson, 1993).
- ✓ En algunos casos, el aumento de la concentración de glucocorticoesteroides puede ser consecuencia de situaciones no estresantes. Por lo tanto, para interpretar los

cambios en su concentración hay que tener en cuenta información adicional que permita evaluar el carácter desagradable de la situación que se estudia.

- ✓ Existen grandes diferencias interindividuales en la concentración plasmática de glucocorticoesteroides inducidos por estrés (Moberg, 1985).
- ✓ Además, Chapple *et al.* (1991) describen un aumento de la concentración sérica de cortisol durante la fase de crecimiento de las cuernas en los machos de ciervo chital.

Brearley *et al.* (1990) no encontraron diferencias en el cortisol plasmático entre vacas inyectadas con suero salino y las que recibieron acepromacina, pero sí entre estos dos grupos y el que recibió xilacina. A este respecto, se ha descrito que la clorpromacina provoca un incremento en la liberación sistémica de adrenalina, lo que provoca a su vez un incremento de la ACTH y, como consecuencia de esto, un incremento en la secreción de cortisol (Bruss, 1980). De esta forma, Brearley *et al.* (1990) justifican que los valores medios de cortisol fuesen más altos, aunque no estadísticamente, en los animales tratados con acepromacina que en los que recibieron suero salino.

Glucocorticoesteroides fecales

La concentración sanguínea de cortisol es un parámetro fisiológico de estrés ampliamente aceptado; sin embargo, como se ha mencionado anteriormente, la propia extracción de la muestra de sangre desencadena una respuesta de estrés adicional que puede interferir en la interpretación de los resultados (Broom y Johnson, 1993). Además, la concentración sanguínea de cortisol está sometida a ritmos estacionales, circadianos y ultracircadianos (Ingram *et al.*, 1999), con lo que una muestra de sangre sólo refleja la concentración de glucocorticoesteroides existente en un momento determinado. Por todo ello, la determinación de la concentración de metabolitos de los glucocorticoesteroides en las heces puede ser especialmente útil como indicador fisiológico de estrés, ya que no es necesario capturar ni inmovilizar a los animales y las fluctuaciones debidas a los patrones de secreción se ven atenuadas en las heces (Goymann *et al.*, 1999).

Las heces contienen múltiples metabolitos de los glucocorticoesteroides y, en cambio, contienen poca cantidad de la hormona original (Palme y Möstl, 1997), ya que los

principales glucocorticoesteroides son rápidamente metabolizados. La determinación de 11,17-dioxoandrostanos (11,17-DOA), un grupo de metabolitos del cortisol, ha resultado ser una técnica apropiada para medir la actividad adrenocortical en el corzo (Dehnhard *et al.*, 2001). Dichos metabolitos también han sido utilizados en otras especies con el mismo fin [primates: Wallner *et al.*, 1999; Bahr *et al.*, 2000; rumiantes domésticos: Palme y Möstl, 1997; Palme *et al.*, 2000; caballos y cerdos: Möstl *et al.*, 1999; liebres (*Lepus europaeus*): Teskey-Gerstl *et al.*, 2000; gatos y perros: Schatz y Palme, 2001; hienas manchadas (*Crocuta crocuta*): Goymann *et al.*, 1999; varios: Wasser *et al.*, 2000].

Adrenalina y noradrenalina

La rápida liberación desde la presentación del estímulo y la corta vida (McCarty, 1983) de estas dos hormonas hacen que sólo sean útiles en condiciones de laboratorio y en animales cateterizados. Las muestras de sangre se deben obtener antes de un minuto desde el tratamiento experimental para evitar artefactos debidos a la manipulación del animal (Broom y Johnson, 1993). A pesar de ello, existen trabajos que describen el aumento de las catecolaminas en los ungulados salvajes como consecuencia del estrés provocado por la captura y el manejo (Hattingh *et al.*, 1988, 1990; Martucci *et al.*, 1992).

2.5. CONSECUENCIAS DE LA RESPUESTA DE ESTRÉS

La respuesta de estrés tiene, sin duda, un valor adaptativo, pero si esta respuesta es exagerada o si el animal no supera la situación que la desencadena puede tener efectos negativos. En los animales salvajes las principales consecuencias de la captura y el manejo son los traumatismos (contusiones, fracturas, luxaciones, hemorragias externas, etc.), los procesos cardiovasculares, las paradas respiratorias, las alteraciones digestivas, los trastornos reproductivos y la inmunosupresión, que incrementa la sensibilidad de los animales a los agentes infecciosos (Gibert, 1991).

Aunque poco frecuentes, los traumatismos son la primera causa de mortalidad en las operaciones de captura de ungulados salvajes (Gibert, 1991). Van Laere y Boutin (1990) registraron una mortalidad del 2,4% (73 de 3005) en corzos capturados con redes verticales, siendo las principales causas de muerte las fracturas de las

extremidades y las mordeduras de perro. Meneguz *et al.* (1994), en cambio, registraron una mortalidad del 13% (18 de 138), de la cual un 27,8% (5 de 18) se atribuyó a traumatismos (una fractura de radio y cuatro fracturas de columna vertebral) y un 72,2% al 'estrés'. Además de los traumatismos, uno de los procesos patológicos más frecuentes provocado por la captura, el transporte y el manejo de los ungulados salvajes es la miopatía de captura. No obstante, en el corzo sólo se ha descrito un posible caso de miopatía de captura (Fairlie, 1964).

Miopatía de captura

Miopatía de captura es el término que con más frecuencia se utiliza para describir el proceso de degeneración de los músculos esqueléticos y cardíacos que sufren muchos mamíferos y aves salvajes durante su captura y manejo. No obstante, se trata de un síndrome que también afecta a los humanos y a los animales domésticos (Bartsch *et al.*, 1977; Young, 1995) y que también se conoce con los nombres de rabdomiolisis de esfuerzo, miopatía de esfuerzo, miopatía por estrés, enfermedad por sobreesfuerzo, polimiopatía degenerativa, miopatía de transporte o necrosis muscular (Bartsch *et al.*, 1977; Chalmers y Barrett, 1982; Williams y Thorne, 1996).

Los animales salvajes en los que se ha descrito con más frecuencia este síndrome son los miembros de las familias Cervidae y Bovidae (Young, 1995). Exceptuando algunas especies, los animales jóvenes son menos susceptibles a sufrir miopatía de captura que los adultos (Basson y Hofmeyr, 1973). Se ha indicado que, en concreto, el sistema de caza propio de los cánidos es lo que induce con más frecuencia la miopatía de captura (Mech, 1975).

Los animales pueden sufrir miopatía de captura independientemente de la época del año (aunque es más frecuente cuando las temperaturas son más elevadas), del estado de salud y del sexo de los animales (Chalmers y Barrett, 1982), y del método de captura física o química empleado (Basson y Hofmeyr, 1973). En los animales salvajes, además del ejercicio físico, el estrés debido al miedo tiene un papel muy importante en el desarrollo de este proceso (Chalmers y Barrett, 1982; Young, 1995). Las miopatías nutricionales, normalmente debidas a la deficiencia de vitamina E o de

selenio, son clínica y patológicamente similares a la miopatía de captura, pero no comparten la etiología (Williams y Thorne, 1996).

Harthoorn (1976) y Spraker (1993) describieron las fases y los síndromes clínicos asociados a la miopatía de captura. Harthoorn clasificó la miopatía de captura en sobreaguda, aguda, subaguda y crónica, según la evolución de los cambios fisiológicos y patológicos que se producían a partir de la 'agresión' desencadenante. La clasificación de Spraker se basaba principalmente en las características fisiopatológicas del síndrome e incluía el shock de captura, el síndrome atáxico mioglobinúrico, el síndrome de ruptura muscular y el síndrome retardado sobreagudo.

El **shock de captura** se observa en animales acabados de capturar y en animales inmovilizados. La muerte se produce entre la primera y la sexta hora después de la captura. Los principales síntomas son depresión, taquipnea, taquicardia, hipotensión e hipertermia. La patogenia es similar a la de un shock vasogénico-neurológico. Una estimulación simpática prolongada provoca un aumento de la capacidad vascular y una disminución de la presión sanguínea. Se produce una congestión capilar que origina una disminución del gasto cardíaco, con la consiguiente hipoxia y posible muerte del animal.

El **síndrome atáxico mioglobinúrico** es probablemente el más frecuente. Se puede observar a partir de varias horas hasta unos cuantos días después de la captura. Los animales presentan ataxia, contracturas musculares en el cuello y mioglobinuria. La supervivencia depende de la gravedad de las lesiones, que se localizan en los riñones y en los músculos. En los riñones, la hipoxia debida a la vasoconstricción (provocada por la activación del sistema nervioso simpático y por las catecolaminas) provoca necrosis tubular, que se ve agravada por la acción de la mioglobina. La necrosis tubular puede ser de leve a grave en función del grado de hipoxia. Si la necrosis tubular es grave, puede dar lugar a una insuficiencia renal. Las lesiones musculares también se deben a la hipoxia, que da paso a un metabolismo anaerobio y a una acidosis que, a su vez, conducen a una necrosis muscular. Estos animales mueren principalmente por insuficiencia renal, azotemia y acidosis.

El **síndrome de ruptura muscular** se manifiesta a partir de las 24-48 horas de la captura. Los síntomas más frecuentes son la flaccidez del tercio posterior y la hiperflexión de los tarsos, debidos a la ruptura uni o bilateral del músculo gastrocnemio. Su patogenia es una continuación del proceso anterior, una vez superados el shock y la azotemia. Las extensas áreas de necrosis muscular hacen que los músculos se rompan cuando tienen que soportar peso. La mayoría de animales afectados mueren al cabo de unas semanas. Las principales causas de muerte son los desequilibrios electrolíticos, la acidosis y la toxemia debida a la necrosis masiva de los músculos esqueléticos.

El **síndrome retardado sobreagudo** es una forma poco frecuente que aparece en animales que han estado en cautividad como mínimo durante 24 horas. Estos animales no muestran ninguna alteración mientras no son molestados, capturados o estresados repentinamente, pero si esto ocurre mueren en pocos minutos. Las causas son la hipertotassemia y la acidosis debidas a una rabdomiolisis inicial no lo suficientemente importante para producir síntomas. La hipertotassemia provoca una reducción del potencial de membrana en las células musculares esqueléticas y cardíacas, lo que impide su repolarización. Cuando el animal se estresa o se captura de nuevo, se libera adrenalina y noradrenalina. Entonces, la adrenalina liberada actúa sobre unas membranas celulares cuyo potencial de membrana está alterado, lo que provoca una fibrilación ventricular y una parada cardíaca. Si estos animales no se volvieran a capturar o a estresar, probablemente sobrevivirían.

2.6. MÉTODOS DE CAPTURA

Muchas de las técnicas de captura utilizadas hoy en día son adaptaciones de las empleadas ancestralmente, habiendo cambiado sólo su objetivo: antes era el de matar al animal que era atrapado y ahora es el de capturarlo vivo e ilesos.

La captura de ungulados salvajes no es un objetivo en sí mismo, sino un medio para llevar a cabo estudios científicos, programas de repoblación, reintroducción, etc. Por ello, en la elección del método de captura deben tenerse en cuenta una serie de factores generales (la seguridad de los operarios, la seguridad de los animales, la comodidad, la

adaptación del método a las condiciones locales del terreno y su especificidad) y otros más concretos que respondan a las necesidades de nuestro proyecto (el rendimiento medio del método, la especie a capturar, la selectividad para capturar animales de un sexo y una edad determinados, la capacidad para obtener grupos sociales o animales individuales, el número de operarios disponibles y el presupuesto del que se dispone) (Berducou, 1993).

Los métodos de captura se pueden clasificar en dos grandes grupos: los métodos físicos y los métodos químicos.

2.6.1. Métodos físicos

Existen diversos sistemas para la captura física de ungulados salvajes. Éstos se pueden dividir en sistemas de captura física individual y en sistemas de captura física colectiva. Los *sistemas de captura individual* tienen la ventaja de requerir poco personal pero, sin embargo, son poco selectivos por lo que respecta a los animales capturados. Los más utilizados en Europa son los siguientes:

- ✓ *Cajas trampa*. Son jaulas de madera o metálicas con una o dos puertas deslizantes que se cierran mediante un mecanismo de resorte cuando el animal entra. Es recomendable que tengan dos puertas, ya que los animales muestran menos miedo si ven una salida que si la jaula está cerrada por uno de los extremos. Como cebo se utilizan distintos tipos de alimentos (maíz, alfalfa, etc.) o sal (para los cérvidos y los bóvidos). Es por ello que su éxito depende mucho del hambre que tenga el animal y, por lo tanto, este método será más eficiente en invierno, cuando existen menos fuentes de alimento (Jones, 1984). El mayor inconveniente de este sistema es que hay que vigilar constantemente la trampa para evitar que los animales se dañen al intentar escapar. A veces se puede capturar más de un animal por trampa.

Este método se ha utilizado para capturar corzos (Jones, 1984), ciervos (Klein, 1993), íbice de los Alpes (Gauthier y Michallet, 1993), rebecos (*Rupicapra pyrenaica*) (Berducou, 1993), muflones (*Ovis ammon*) (Dubray, 1993) y jabalíes (Jullien *et al.*, 1988; Valet y Cagnelluti, 1993).

- ✓ *Lazos.* Esta técnica consiste en la colocación de un cable metálico que se cierra sobre la extremidad cuando un animal lo pisa. Los lazos se colocan en los pasos que los animales utilizan habitualmente. Acostumbran a tener un dispositivo que evita la estrangulación de la extremidad, lo que hace que a veces el animal pueda escaparse. Se trata de un sistema sencillo, más eficiente en invierno (Berducou, 1993) y adaptable a diferentes tipos de terreno. Sin embargo, requiere una vigilancia constante para reducir el número de posibles lesiones.

Los lazos se han utilizado para la captura de rumiantes de pequeño tamaño como el corzo (Boutin *et al.*, 1993), el íbice de los Alpes (Gauthier y Michallet, 1993), el rebeco (Berducou, 1993) y el muflón (Dubray, 1993).

Para resolver o minimizar el principal problema de estos dos métodos, es decir, la necesidad de vigilar constantemente las trampas, se pueden utilizar transmisores a distancia que avisen cuando cae algún animal.

- ✓ *Redes manuales.* Son redes de poca longitud que, sostenidas por dos personas colocadas en ambos extremos, permiten acorralar al animal hasta que queda enredado. Se emplean para animales en cautividad o capturados mediante trampas de corral (Jones, 1984).

Los *sistemas de captura colectiva* precisan un mayor número de operarios y una mayor inversión en material. Sin embargo, permiten capturar grupos sociales completos. Los más utilizados en Europa son los siguientes:

- ✓ *Cercados fijos o trampas de corral.* Son cercados de tamaño variable hechos de red, reja o madera, que se utilizan como comederos durante el invierno. Como cebo se emplean alimentos o sal. En el momento de la captura, la puerta se cierra a distancia por control remoto, o bien la cierra una persona que espera escondida. Una vez acorralados, los animales pueden atraparse mediante redes manuales o inmovilizándolos químicamente. El material utilizado es aparatoso y pesado, por lo

que es recomendable que se pueda llegar en vehículo al lugar de la captura. Esta técnica es más útil en parques cerrados o en zoológicos grandes (Jones, 1984).

Este sistema se ha utilizado para la captura de ciervos, gamos (Jones, 1984), rebecos (Hansen *et al.*, 1993; Berducou, 1993), muflones (Dubray 1993) y jabalíes (Vassant *et al.*, 1993; Valet y Cargnelli, 1993).

- ✓ *Redes descendentes*. Se trata de un recinto cuadrangular, en el que las redes están enrolladas a unos dos metros de altura mediante un cable fijado a 4 postes colocados en las esquinas. Estos recintos se utilizan como comederos de invierno y el día de la captura se desenrollan las redes, de modo que los animales quedan encerrados en su interior. Cuando intentan escapar quedan atrapados en la red, de donde deben ser retirados rápidamente para evitar complicaciones. El material empleado es pesado y se necesita un número elevado de personas para su transporte y para la captura de los animales. Además, el viento puede hacer que las redes se desenrolle en un momento no deseado. Las redes descendentes se han utilizado para capturar rebecos, muflones y cabras montesas (Hansen *et al.*, 1993).
- ✓ *Redes verticales ('drive-nets')*. Este método de captura consiste en disponer una serie de redes de forma perpendicular al suelo con la ayuda de árboles y palos de madera situados cada 6-10 m. Uniendo distintos tramos de red se puede conseguir una estructura con la forma (rectilínea, semicircular, en zig-zag, de embudo...) y la longitud deseadas (Jones, 1984). Un grupo de personas realiza una batida para dirigir a los animales hacia la red. Mientras, otro grupo (una persona cada 50 m de red aproximadamente) permanece escondido a unos 20-30 m de la red para poder manipular los animales con rapidez cuando quedan atrapados en ella (Jones, 1984).

Este método se ha utilizado para capturar ungulados de pequeño tamaño como el corzo (Boutin *et al.*, 1993; Jones, 1984) y el rebezo (Berducou, 1993), pero también se ha utilizado para la captura del gamo, el ciervo (Jones 1984; Klein, 1993), el muflón (Dubray, 1993) y el jabalí (Vassant *et al.*, 1993).

- ✓ *Redes de cañón.* Se utilizan en campos abiertos, donde anteriormente se han colocado cebos (alimentos o sal). Las redes son disparadas a distancia mediante cañones para que caigan sobre los animales. Se han utilizado para la captura del corzo y del rebeco.
- ✓ *Redes de caída.* Son redes cuadradas o circulares, que cubren una superficie variable de terreno, suspendidas de palos de tres o cuatro metros de altura. Se utiliza un cebo (alimentos o sal) para que los animales se acostumbren a estar debajo de la red. La red se deja caer cuando los animales que se desea capturar están bajo ella (Jones, 1984). Se han utilizado para capturar rebecos (Peracino y Bassano, 1993).

Los métodos físicos descritos en este texto son los utilizados en Europa, pero en las zonas con grandes poblaciones de ungulados salvajes, como en Norteamérica y África, se utilizan otros más sofisticados. Los más importantes e impresionantes son la captura desde helicópteros con anestesia o con redes y la realización de batidas con vehículos todoterreno o helicópteros. Estas técnicas no son viables en nuestro continente, ya que económicamente son muy costosas, no se adaptan a nuestra orografía y la densidad de animales es muy inferior. Jessup *et al.* (1988) consideran que las redes disparadas desde helicópteros son el método de captura de elección para el muflón de las Rocosas si se compara con las redes verticales, las redes descendentes, los cercados o la teleanestesia desde el helicóptero. Sin embargo, ninguno de ellos está exento de producir problemas relacionados con el estrés (Kock *et al.*, 1987b, c).

2.6.2. Métodos químicos

El objetivo de la inmovilización química es el de suprimir el comportamiento de huida o de defensa de un animal. Este sistema es especialmente útil cuando hay que capturar especies agresivas o muy ‘estresables’ (Gauthier, 1993). Se trata de un método de captura individual que permite escoger el animal deseado. Es, por tanto, de una elevada especificidad y selectividad. Además, disminuye mucho el riesgo para los operarios. Sin embargo, la utilización de agentes anestésicos implica un riesgo añadido para el animal, debido a sus posibles efectos secundarios y a la dificultad que supone

dosificar el anestésico para un animal del que se desconoce su peso exacto y su estado de salud. La inmovilización química, así como la física, no está exenta de producir estrés físico (debido al ejercicio) ya que, antes y después de la inyección, el animal es sometido a una persecución (Harthoorn, 1982).

La búsqueda de anestésicos efectivos y seguros todavía continúa. El fármaco ideal sería aquel que tuviera un índice terapéutico (dosis letal/dosis efectiva) elevado, un periodo de inducción corto, que fuera poco irritante a nivel muscular, estable en solución a temperatura ambiente, que dispusiera de un antídoto y que provocara pocos efectos secundarios (Fowler, 1986; Gauthier, 1993).

Al anestesiar a un animal hay que tener en cuenta los siguientes factores: la especie, el estado fisiológico (edad, sexo, gestación), la condición corporal, el estado psicológico (grado de estrés) y las condiciones ambientales (Fowler, 1986; Kreeger, 1997a). Cualquier alteración en uno de estos factores en una especie determinada puede tener una gran influencia en el resultado del procedimiento anestésico. También es necesario tener cierta práctica en estimar el peso de los animales, para poder calcular la dosis necesaria de anestésico, y la distancia a la que se encuentra el animal, en el caso que se empleen sistemas de teleanestesia (Fowler, 1986).

Los anestésicos se inyectan mediante dardos disparados con rifles anestésicos diseñados especialmente para este fin (Fowler, 1986). También se pueden utilizar pistolas o cerbatanas (Jones, 1984), pero su distancia de disparo es más corta, por lo que se usan casi exclusivamente en animales en cautividad.

Durante el procedimiento anestésico, los animales tienen que ser controlados hasta que se despiertan y se incorporan (Kreeger, 1997a). Hasta ese momento no se les debe proporcionar agua ni comida. En los rumiantes salvajes anestesiados hay que vigilar que no se produzca ningún reflujo de contenido ruminal para evitar la asfixia o la neumonía por aspiración. También hay que tener en cuenta el riesgo de que se produzca un meteorismo espumoso.

En nuestro país no se utiliza mucho la teleanestesia para capturar ungulados salvajes, ya que su distancia de huida acostumbra a ser muy grande. Sin embargo, en otros países sí que es muy utilizada, ya sea porque la captura física está prohibida (como, por ejemplo, en Austria), o bien porque los ungulados no son perseguidos ni cazados y permiten que los humanos se les acerquen más.

No existe un protocolo único para la inmovilización química de los animales salvajes debido a la gran variedad de situaciones posibles. Por ello, es aconsejable disponer de un árbol de decisiones que tenga en cuenta la especie, su biotopo y los objetivos de la captura (Gauthier, 1993). En algunos casos, el factor económico también puede influir en la elección.

2.7. CAUTIVIDAD Y ESTRÉS

La principal diferencia entre el estado salvaje y la cautividad se encuentra en la diferente capacidad de control que el animal tiene sobre su entorno. Un animal salvaje es capaz de controlar todos los estímulos que recibe mediante una serie de ajustes en su comportamiento que le permiten conducirlos hasta un nivel aceptable, o bien satisfacerlos. En cambio, un animal en cautividad tiene una capacidad limitada para modificar la estimulación externa a la que se ve sometido, por lo que sólo puede controlarla modificando sus expectativas con relación al entorno (Carlstead, 1996). Weiss (1968) demostró que las ratas que no podían controlar una descarga eléctrica mediante una respuesta activa sufrían más alteraciones fisiológicas (incluidas úlceras gástricas y pérdida de peso) que las que sí podían hacerlo, lo que indicaba que estaban sometidas a un mayor grado de estrés.

La falta de mecanismos naturales de escape hace que los animales cautivos dependan de una respuesta de ‘conservación-retirada’ caracterizada, desde el punto de vista del comportamiento, por la inactividad y la sumisión. Esta respuesta puede permitirles obtener información predictiva sobre la situación y, por lo tanto, modificar las expectativas sobre el estímulo que les afecta. Es decir, la baja ‘controlabilidad’ que caracteriza a las condiciones de cautividad puede hacer que la manera de afrontar los estímulos externos sea reducir la incertidumbre. Uno de los agentes estresantes

crónicos más claros para un animal salvaje confinado es la incapacidad para responder a las situaciones que le causan miedo mediante respuestas de evitación o de escape activas (Carlstead, 1996).

La exposición repetida a diferentes estímulos desagradables puede sensibilizar los ejes hipotálamo-hipofisario-adrenocortical y simpático-adrenomedular, de manera que la aplicación de un estímulo desconocido provoque una mayor respuesta que la que cabría esperar en condiciones normales (Broom y Johnson, 1993). Los animales cautivos pueden ser especialmente susceptibles a sufrir dicha sensibilización. Se ha visto que, aunque los niveles basales de glucocorticoesteroides pueden ser similares en las aves salvajes y en las cautivas, estas últimas tienden a sufrir un aumento más marcado de estas hormonas al ser inmovilizadas (Wingfield *et al.*, 1997). En impalas en cautividad capturados físicamente, Hattingh *et al.* (1988, 1990) encontraron niveles superiores de adrenalina, dopamina y cortisol que en los salvajes. Además, señalaron que estas diferencias eran responsables de otros muchos cambios observados en diversos parámetros sanguíneos.

2.8. TRANSPORTE Y ESTRÉS

Los animales salvajes pueden transportarse mediante cajas de transporte individuales, o bien en contenedores de transporte de vehículos acondicionados para tal fin (Ebedes, 1993b; Joslin y Collins, 1999). Ambos sistemas deben cumplir unos requisitos básicos: deben ser resistentes, estar bien ventilados pero sin corrientes de aire, deben proporcionar oscuridad y deben disponer de un sustrato antideslizante (paja o serrín). Además, en el caso del transporte por carretera, el vehículo debe estar en buenas condiciones para circular y debe ser conducido por una persona experta en el transporte de animales (Ebedes y Raath, 1999). En los viajes largos, los animales deben disponer de suficiente espacio para poder tumbarse sin ser pisados (Ebedes, 1993b). También hay que suministrarles agua (es útil poner bloques de hielo dentro de las cajas o de los contenedores para que los animales puedan lamerlos durante el viaje).

El transporte debe realizarse en el menor tiempo posible. Hay que seguir la ruta más corta, pero a través de las carreteras que estén en las mejores condiciones. Se deben

evitar las carreteras con muchos baches. No hay que pasar a través de las grandes ciudades ni de rutas que impliquen parar y arrancar repetidamente. Los conductores deben conocer perfectamente la ruta. En los traslados de larga duración hay que realizar paradas, de unos 15 minutos, a intervalos regulares (cada dos o tres horas) para inspeccionar a los animales y para que el conductor descance. La inspección de los animales debe hacerse de forma discreta para no molestarlos (Ebedes, 1993b).

Es mejor transportar los animales despiertos, pero es recomendable administrarles tranquilizantes. Estos últimos permiten reducir el impacto que tienen sobre el animal toda una serie de factores estresantes que aparecen durante el transporte, como son el hambre, la sed, la proximidad humana, los conflictos entre los animales, las frenadas repentina, la conducción brusca, etc. Además de reducir el estrés, el uso de tranquilizantes permite reducir el número de lesiones y la mortalidad durante el transporte. Los tranquilizantes deben administrarse lo antes posible una vez capturados los animales (Ebedes y Raath, 1999).

No hay que transportar juntos animales de especies diferentes ni los animales agresivos. En estos casos, hay que separarlos mediante cajas individuales o separaciones sólidas. En general, las hembras, los jóvenes y los machos subadultos pueden transportarse juntos (Ebedes, 1993b). Los machos adultos y los subadultos agresivos deben ser tranquilizados y transportados en cajas individuales. En el caso de que haya que mantenerlos en un mismo grupo, hay que tranquilizarlos todos a la vez, ya que los animales no tranquilizados pueden agredeir y lesionar a los que ya lo están. Para reducir los conflictos entre los animales, hay que capturar y transportar juntos a los miembros de una misma familia o grupo social. En los grupos familiares sólo suele ser necesario tranquilizar a los animales adultos, ya que así su actividad se reduce y los jóvenes se calman. A veces hay que administrar una dosis baja de tranquilizante a los animales jóvenes cuando están hiperexcitados o son separados temporalmente de sus madres (Ebedes y Raath, 1999).

Para transportar cérvidos grandes (gamos y ciervos), es recomendable cortarles las cuernas cuando están completamente formadas y osificadas, ya que suponen un peligro para los manipuladores y para los otros animales si se transportan juntos. En el caso de

los corzos, únicamente sería necesario cortarles las cuernas si se transportaran varios animales en una misma caja o contenedor. Es peligroso transportar a los animales si las cuernas aún están desarrollándose, ya que son estructuras muy vascularizadas y se pueden producir fácilmente heridas y hemorragias. En el Real Decreto 66/1994, por el que se establecen las normas relativas a la protección de los animales durante el transporte, se prohíbe transportar a los cérvidos durante el periodo de renovación de las cuernas (Anexo, Capítulo IV, 43.9).

Meneguz *et al.* (1994) encontraron una mortalidad significativamente inferior en corzos capturados y liberados al cabo de una o dos horas en la misma zona (3,4%; 1 de 29) que en los corzos capturados, transportados por carretera y liberados al cabo de 7-10 horas (17,2%; 17 de 99).

Efecto del transporte sobre los indicadores fisiológicos de estrés

Existen numerosos trabajos en ungulados salvajes que describen los cambios provocados por el transporte sobre los indicadores fisiológicos de estrés más utilizados.

Varios trabajos realizados con ciervos describen una disminución de la frecuencia cardiaca durante el transporte (Waas *et al.*, 1997; Waas *et al.*, 1999; Grigor *et al.*, 1998) y la relacionan con una habituación de los animales a la nueva situación. Por el contrario, Horalek y Jones (1993) describieron un aumento de la frecuencia cardiaca, también en ciervos, que asociaron al efecto del movimiento del vehículo.

Grigor *et al.* (1998) encontraron que el valor hematocrito disminuía después de un transporte de dos horas, pero en cambio no lo hacía después de un trayecto de seis horas. Esto podría ser debido a que los ciervos se deshidrataban más a medida que aumentaba la duración del trayecto pero, sin embargo, no se podía deducir lo mismo a partir de otros parámetros sanguíneos asociados con la deshidratación (osmolalidad del plasma y concentración plasmática de sodio y de proteínas totales).

Grigor *et al.* (1998) también describieron un incremento en la concentración sérica de CK durante el transporte, lo que atribuyeron a la demanda física que suponía el trayecto para los ciervos.

Waas *et al.* (1997) obtuvieron una disminución en la concentración de lactato en ciervos transportados durante dos horas. Marco *et al.* (1997), en cambio, no encontraron diferencias en este parámetro entre las muestras recogidas antes y después de transportar muflones durante nueve horas. En el trabajo de Waas *et al.* (1997) no se encontraron diferencias significativas en función del tiempo en la concentración de glucosa.

El efecto del transporte sobre los niveles de sodio es variable. Grigor *et al.* (1998) no encontraron variación alguna en la concentración sérica de sodio en ciervos transportados durante seis horas. Por el contrario, Waas *et al.* (1997) sí observaron un pequeño aumento de la concentración de sodio después de transportarlos durante un periodo de dos horas.

Waas *et al.* (1997) encontraron que la concentración de cortisol en ciervos se duplicaba a lo largo de un transporte de dos horas de duración. Lo mismo observaron Grigor *et al.* (1998) en transportes de dos y de seis horas. Anderson *et al.* (1999) también hallaron un incremento de la concentración sérica de cortisol en alpacas (*Llama pacos*) transportadas durante 30 minutos.

2.9. NEUROLÉPTICOS Y ESTRÉS

Uno de los principales problemas de la captura y el transporte de los ungulados salvajes es la mortalidad debida a la respuesta de estrés y a los traumatismos. Además, la agresividad entre los machos de una misma especie dificulta las operaciones de transporte y la adaptación a la cautividad de estos animales. La utilización de neurolépticos durante estas operaciones tiene como objetivo reducir los efectos tanto del estrés físico como del psicológico sobre los animales y facilitar su manejo, transporte (Hofmeyr, 1981) y adaptación a la cautividad (Ebedes, 1993a; Atkinson y Blumer, 1997). En los animales salvajes, la administración de neurolépticos también

incrementa el éxito de los tratamientos clásicos de superovulación, ya que reducen el estrés provocado por las capturas repetidas que éstos implican (Fernández-Arias, 1996).

El nombre de neuroléptico hace referencia a un síndrome caracterizado por la supresión de los movimientos espontáneos y de las conductas complejas, mientras que los reflejos espinales y las conductas no condicionadas de rechazo nociceptivo permanecen intactos (Kreeger, 1997b). Los neurolépticos (o antipsicóticos) incluyen los llamados tranquilizantes mayores, es decir, las fenotiacinas (acepromacina, clorpromacina, perfenacina, pipotiacina, etc.), las butirofenonas (haloperidol, droperidol y azaperona) y los tioxantenos (zuclopentixol). Los tranquilizantes menores, como las benzodiacepinas, se incluyen en el grupo de los fármacos ansiolíticos (Rang y Dale, 1991).

Según la duración de su efecto, los neurolépticos se clasifican en neurolépticos de corta duración y en neurolépticos de larga duración (Ebedes y Raath, 1999):

- ✓ *Neurolépticos de corta duración* (SAN, del inglés ‘Short-Acting Neuroleptics’). Tienen un efecto inmediato, que dura desde unas pocas horas hasta 18 horas. Entre otros, en este grupo se incluyen el maleato de acepromacina, el haloperidol, el droperidol, la azaperona y el acetato de zuclopentixol en solución acuosa. En la Tabla 2.5 aparecen las características de los neurolépticos de corta duración utilizados hasta la fecha en los cérvidos.

Tabla 2.5. Características de los neurolépticos de corta duración utilizados en los cérvidos.

Nombre	Inicio del efecto	Duración del efecto	Dosis descritas	Especies
Clorpromacina	-	5-6 horas	1,8-2,4 mg/kg IM	<i>Odocoileus</i> spp. ¹
Acepromacina	15 minutos IV	3-8 horas	1,1-8,2 mg/kg IM	<i>Odocoileus</i> spp. ¹
Azaperona	< 10 minutos IV	< 6 horas	0,3 mg/kg IV o IM	Ciervo de cola blanca ²

¹ Cowan *et al.* (1962). ² Read (2002); ciervo de cola blanca (*Odocoileus virginianus*).

- ✓ *Neurolépticos de larga duración* (LAN, del inglés ‘Long-Acting Neuroleptics’). Su efecto permanece durante 3 a 21 días. Se trata de derivados esterificados de las fenotiacinas o de los tioxantenos, presentados en una solución oleosa. Pertenecen a este grupo el enantato de perfenacina y el palmitato de pipotiacina en aceite de sésamo, y el acetato de zuclopentixol en viscóleo. La administración se tiene que hacer por vía intramuscular, nunca intravenosa. Estos neurolépticos han resultado ser muy eficaces para el transporte y para la adaptación a la cautividad de los animales salvajes. En la Tabla 2.6 aparecen las características de los neurolépticos de larga duración que han sido utilizados en los cérvidos.

Tabla 2.6. Características de los neurolépticos de larga duración utilizados en los cérvidos.

Nombre	Inicio del efecto	Duración del efecto	Dosis descritas	Especies
Acetato de zuclopentixol	1 hora	3-4 días	1 mg/kg IM	Ciervo común ¹ , wapiti ² , ciervo de cola blanca ³
Enantato de perfenacina	12-16 horas	7-10 días	1mg/kg IM	Ciervo común ¹

¹ Diverio *et al.* (1993; 1996a, b); ciervo común (*Cervus elaphus*). ² Read *et al.* (2000); wapiti (*Cervus elaphus canadensis*). ³ Read (2002); ciervo de cola blanca (*Odocoileus virginianus*).

Los efectos de los neurolépticos en los animales salvajes son los siguientes (Ebedes y Raath, 1999):

- ✓ Efecto tranquilizante generalizado
- ✓ Indiferencia por el entorno
- ✓ Pérdida del miedo hacia los humanos
- ✓ Disminución del comportamiento agresivo y de dominancia.

2.9.1. Fenotiacinas

Las fenotiacinas son antagonistas de los receptores dopaminérgicos excitatorios (DAe) posinápticos, que actúan sobre todo en el ganglio basal (Booth, 1982). Se cree que deprimen las zonas del sistema reticular activante que participan en el control de la temperatura corporal, de la tasa metabólica basal, del vómito, del tono vasomotor, del equilibrio hormonal y del grado de alerta. Además, las fenotiacinas tienen efectos

anticolinérgicos, antihistamínicos, antiespasmódicos y anti- α -adrenérgicos en grado variable según el compuesto (Plumb, 1995).

A dosis terapéuticas disminuyen la actividad motora espontánea, suprimen el comportamiento de evitación condicionado y disminuyen el comportamiento agresivo de los animales. También tienen un efecto antiarrítmico debido al bloqueo de los receptores adrenérgicos β_1 y a su efecto depresor directo sobre el miocardio (Booth, 1982). La mayoría de fenotiacinas tienen una curva de dosis-respuesta relativamente plana y pueden utilizarse en un amplio intervalo de dosis (Baldessarini, 1996).

Los efectos indeseados de las fenotiacinas son la hipotensión, la alteración de los mecanismos de termorregulación, los síntomas extrapiramidales (catatonía, temblores, aquinesia, ingestión compulsiva de alimentos o pérdida del apetito, movimientos laterales de la cabeza, etc) y los trastornos endocrinos (Booth, 1982).

Maleato de acepromacina

La acepromacina es la 2-acetil-10-(3-dimetilaminopropil) fenotiacina. Su farmacocinética ha sido estudiada en el caballo. Este fármaco posee un volumen de distribución bastante grande (6.6 L/kg) y más del 99% se une a proteínas (Ballard *et al.*, 1982). La acepromacina se metaboliza en el hígado y los metabolitos resultantes (tanto los conjugados como los no conjugados) se eliminan a través de la orina. El efecto máximo se observa de 30 a 60 minutos después de la administración intravenosa (Plumb, 1995). Los efectos clínicos de la acepromacina generalmente empiezan a regresar a las tres o cuatro horas, pero pueden aún estar presentes pasadas siete horas (Booth, 1982).

La acepromacina puede reducir la frecuencia respiratoria, pero los estudios realizados demuestran que no provoca alteraciones significativas en la presión parcial de dióxido de carbono, la presión parcial de oxígeno, el pH ni en la saturación de oxihemoglobina. Además de provocar una disminución de la presión arterial (no dosis-dependiente), la acepromacina provoca un aumento en la presión venosa central, una bradicardia vagal y una parada sinoauricular transitoria (Plumb, 1995). Tiene efectos

antiarrítmicos y protege frente a la fibrilación ventricular causada por el halotano y la adrenalina (Muir *et al.*, 1975).

Debido a su efecto hipotensor, la acepromacina está relativamente contraindicada en pacientes con hipovolemia o shock. Sus efectos sobre la termorregulación hacen que deba utilizarse con precaución en los animales muy jóvenes o debilitados (Plumb, 1995).

Además de las aplicaciones habituales que se le atribuyen, la acepromacina se ha utilizado en caballos para el tratamiento de la rabdomiólisis aguda (Andrews, 1994) y para la prevención de la rabdomiólisis intermitente crónica (Beech, 1994), debido al efecto beneficioso que ejerce la vasodilatación provocada por la acepromacina a nivel muscular.

La dosis de acepromacina recomendada para los cérvidos es de 0.05-0.1 mg/kg (Arnemo *et al.*, 1993). Cowan *et al.* (1962) afirman que la respuesta a una determinada dosis de acepromacina en ciervos del género *Odocoileus* es impredecible y que varía en función del estado emocional inicial del animal. En vacas hiperexcitadas o poco acostumbradas al manejo, se ha visto que la acepromacina no induce un nivel de tranquilización suficiente. En el perro se ha descrito cierta variación individual en las respuestas inducidas por la acepromacina (Booth, 1982).

2.9.2. Butirofenonas y tioxantenos

Las *butirofenonas* bloquean la acción central de la dopamina, la noradrenalina y otras catecolaminas. Actúan sobre el sistema extrapiramidal imitando las acciones del ácido aminobutírico o bloqueando el efecto del ácido glutámico en las uniones sinápticas (Booth, 1982). También reducen la actividad motora y tienen actividad antiemética (Plumb, 1995). Su efecto hipotensor es menos marcado que el de las fenotiacinas (Booth, 1982) y no producen hipotermia (Pienaar, 1968). Sus principales efectos indeseables son los síntomas extrapiramidales (Hofmeyr, 1981).

Los *tioxantenos* son muy parecidos química y farmacológicamente a las fenotiacinas alifáticas (Rang y Dale, 1991). Al igual que éstas, los tioxantenos provocan menos

síntomas extrapiramidales que las butirofenonas y su efecto sedante es mayor (Baldessarini, 1996). En psiquiatría humana, el efecto sedante de los antipsicóticos es un efecto no deseado que, sin embargo, es ventajoso cuando se trata de animales salvajes.

Objetivos

Los estudios presentados en este trabajo forman parte de un proyecto financiado con fondos CICYT (Ref. AGF97-0493). El objetivo genérico del proyecto era valorar la respuesta de estrés de captura, manejo y transporte en el corzo en distintas condiciones reales. Para responder a esta cuestión general se definieron los siguientes objetivos específicos:

1. Evaluar y comparar la respuesta de estrés agudo provocada por la captura con redes verticales en corzos salvajes y cautivos.
2. Evaluar la respuesta de estrés agudo provocada por el transporte por carretera.
3. Determinar los parámetros más útiles como indicadores de estrés agudo en el corzo.
4. Determinar el efecto de un tranquilizante fenotiacínico (acepromacina) sobre la respuesta de estrés agudo.
5. Poner a punto técnicas no agresivas para el registro telemétrico de la frecuencia cardíaca y de la temperatura rectal, con el fin de reducir el número de manipulaciones sobre el animal, y así mejorar la calidad de los datos experimentales y facilitar su interpretación.
6. Evaluar la idoneidad de la determinación de metabolitos del cortisol en heces como método no agresivo para medir la actividad adrenocortical en el corzo.
7. Evaluar la eficacia de la captura de corzo mediante redes verticales en zonas subalpinas.