
Capítulo 9

Multiple bilateral fractures of the lumbar transverse processes in a roe deer (*Capreolus capreolus*)

Capítulo basado en: ***Multiple bilateral fractures of the lumbar transverse processes in a roe deer (Capreolus capreolus)***. (2001). Montané, J., Marco, I., López, J., Manteca, X. and Lavín, S. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, 32: 387-390.

Abstract

Multiple bilateral fractures of the lumbar transverse processes were radiographically identified postmortem in a recently captured roe deer (Capreolus capreolus). These fractures were probably caused by psoas major avulsion occurring during introduction into the transport box. The deer probably died from shock caused by the fractures, muscle damage, and subsequent hemorrhage. Although easily overlooked, fractured lumbar transverse processes may indicate inadequate postcapture management practices.

Key words: *Transverse processes, lumbar fracture, restraint, roe deer, Capreolus capreolus.*

Introduction

Fractures of the relatively exposed lateral transverse processes of the lumbar vertebrae have been described in large and small domestic animals, especially those in poor physical condition (Hickman, 1964). They rarely merit special consideration because they do not involve the spinal cord directly nor do they cause significant neural dysfunction (Hickman, 1964; Swaim, 1975; Hoerlein, 1978). Paralytic ileus has, however, resulted from fracture of human transverse processes (Crabbe, 1971).

The lumbar transverse processes can fracture from a direct blow, from torsion, or from avulsing muscle action (Swaim, 1981; Tewes *et al.*, 1995). Human fractures are often secondary to psoas avulsion or direct trauma (Krueger *et al.*, 1996). Extreme violence is necessary to cause fractures in the thoracolumbar area of the spinal column because of the strong protection provided by axial muscles (Adams and Fessler, 1988).

One study dealing with lumbar transverse process fractures in professional football players reported no bilateral fractures and no more than three transverse vertebral processes fractured in any one player (Tewes *et al.*, 1995). Another study showed that fractures were bilateral in only two of 39 (5.1%) human patients (Patten *et al.*, 2000).

Case Report

In March 2000, a 10.6 kg 10-month-old female roe deer (*Capreolus capreolus*) was captured with a drive net in the National Game Reserve of Alt Pallars-Aran in north-eastern Spain, placed into a transport box, and translocated to an enclosure in the Cadí-Moixeró Natural Park for scientific purposes. Drive-trapping was conducted for 30 minutes by a line of beaters within visual contact with one another. Captured animals were wrapped in the net, blindfolded, and introduced into a transport net sack (Ziboni Ornitecnica, Bergamo, Italy) after their legs were tied. They were maintained in the net sacks for approximately 1 hour before introduction to transport boxes, where they remained for 5.5 hours until transport began. Transport lasted 2.5 hours.

Blood samples (10 mL) were collected from the jugular vein at capture and just after transport (a 9-hour interval), then placed into tubes containing potassium EDTA as an

anticoagulant and into serum collection tubes. Serum tubes were maintained at room temperature to clot. Serum was kept at -18°C until analysis with an automated analyzer (COBAS MIRA[®], Roche, Nutley, New Jersey, 08876, USA). Packed cell volume was determined with a hematocrit centrifuge (Micro-Haematocrit Centrifuge, Hawksley, Lancing, UK). Heart rate was recorded every minute after capture and during transportation with a Polar Vantage NV[®] (Polar Electro Oy, Kempele, Finland) noninvasive heart rate monitor.

The above mentioned deer was found dead 4 days after capture. The deer was not observed continuously while in the enclosure, although it was seen running normally when it was disturbed by close observation 21 hours after capture.

The deer was necropsied. Tissue samples were fixed in 10% buffered formalin for routine histopathology. An external anal hematoma and approximately 250 mL of retroperitoneal hemorrhagic fluid surrounding the left kidney and covering the ventral axial muscles were identified. Both psoas major muscles were extremely friable. Spinal radiographs showed multiple bilateral fractures of the transverse processes of the second, third, fourth and fifth lumbar vertebrae and a unilateral fracture of the left transverse process of the sixth (Figure 9.1). No lesion was found during gross examination of the brain.

Histopathologic examination revealed hemorrhagic foci in the outer surface of the psoas major but no significant lesion in the myofibers. Additionally, protozoal cysts compatible with *Sarcocystis* sp. were found in the skeletal muscles and in the myocardium. No lesion was found in any other organ.

This deer had increased serum creatine kinase (CK), aspartate aminotransferase (AST), lactate dehydrogenase (LDH), alanine aminotransferase (ALT), serum urea and creatinine levels after transport compared with the other four animals (adult roe deer) submitted at the same capture event (Table 9.1). Increased CK, AST, LDH and ALT levels are usually due to increased muscle cell permeability caused by physical stress but, in this case, may have also been due to psoas major damage. Serum CK levels were still increasing during transport, suggesting recent muscle damage because



Figura 9.1. Ventrodorsal radiographic projection of the spine showing multiple fractures of the lumbar transverse processes. (R: right).

serum CK activity decreases soon after muscular damage has happened, before other muscle enzyme activity decreases (Kramer and Hoffmann, 1997). Increased serum urea and creatinine values can be due to exercise, capture, and physical restraint (Sealander *et al.*, 1975; Harthoorn, 1976). In this deer, however, serum urea after transport was over three times the level reported at capture for 9-12-month-old female roe deer (Jaouen, 1981). Hypovolemia associated with hemorrhage could have resulted in decreased renal perfusion with subsequent prerenal azotemia (Finco, 1997). Packed

cell volume (Table 9.1) did not decrease, possibly because whole blood was lost (Ganong, 1990).

Heart rates after capture and during transport are shown in Figure 9.2. Mean heart rate of the affected deer over the 9-hour period, 156.1 beats per minute (\pm SEM 1.23 bpm), was very high, and it did not decrease as in the other animals after 1-3 hours. Although the high rate could be due to the roe deer's age (it was younger than the others) and the stress response, its persistence suggests that it was a compensatory response to hemorrhage (Ganong, 1990).

The lack of external lesions and the bilateral and multifocal location of the fractures suggest that direct trauma was not the cause, although an unobserved traumatic incident might account for the clinical progression. No pathologic changes in bone density or histopathologic lesions were found to indicate a metabolic process, nor were macroscopic or microscopic lesions typical of capture myopathy observed.

Table 9.1. Packed cell volume and biochemical values at capture and after transport of the roe deer affected (animal 1) and mean values (\pm SEM) of four other adult roe deer submitted at the same capture and transport operation.

<i>Parameter</i>	<i>Animal 1</i>		<i>Four other roe deer</i>	
	At capture	After transport	At capture	After transport
PCV (L/L)	0.56	0.56	0.48 (\pm 0.03)	0.46 (\pm 0.03)
Total proteins (g/L)	68.00	71.00	71.00 (\pm 6.40)	79.00 (\pm 6.76)
Creatinine (μ mol/L)	239.56	314.70	209.07 (\pm 17.22)	177.45 (\pm 15.10)
Urea (mmol/L)	15.13	24.99	14.03 (\pm 1.29)	13.37 (\pm 1.11)
ALT (IU/L)	56.00	284.00	67.50 (\pm 2.60)	119.25 (\pm 20.71)
AST (IU/L)	750.00	3,965	353.75 (\pm 113.46)	1,406 (\pm 355.27)
CK (IU/L)	6,755	131,208	3,101 (\pm 1,066)	35,988 (\pm 8,771)
LDH (IU/L)	2,701	11,493	2,101 (\pm 117.94)	4,278 (\pm 778.64)

SEM, standard error of the mean; PCV, packed cell volume; ALT, alanine aminotransferase; AST, aspartate aminotransferase; CK, creatine kinase; LDH, lactate dehydrogenase.

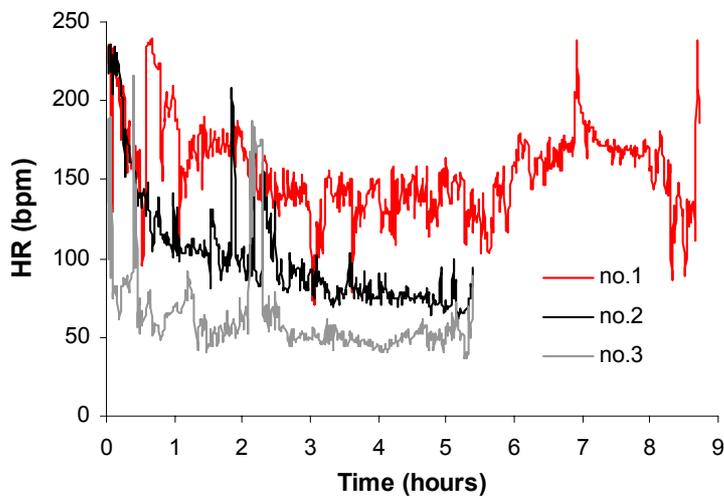


Figure 9.2. Heart rate (beats per minute) after capture and during transport of the affected roe deer (no. 1) compared with those of two adult roe deer (nos.2 and 3) submitted at the same capture and transport event.

Avulsion of the lumbar transverse processes by the psoas major may have been caused by a hyperextension of the hip and the hind limbs and the extension of the dorsum when the animal was placed into the transport box. This is likely because the psoas major originates in the ventrolateral part of the vertebral bodies and in the ventral surface of the transverse processes of lumbar vertebrae and has its insertion in the lesser trochanter and in the neck of the femur (Getty, 1982).

The deer probably died from a combination of factors, including traumatic shock caused by the fractures, muscle damage and subsequent hemorrhage. Traumatic shock seems to result mainly from hypovolemia, although there may also be a moderate degree of concomitant neurogenic shock caused by spinal cord trauma or the pain of trauma (Guyton and Hall, 2000). The spinal cord was not examined but the degree of soft tissue damage seen around the vertebral column suggests that it could have been traumatized. On the other hand, pain can inhibit the vasomotor center, increasing vascular capacity and decreasing venous return (Guyton, 1988). A substantial amount of blood can be lost in apparently small traumatic lesions affecting bone and muscle; muscles of the thigh can contain 1 L of blood while their diameter increases only 1 cm (Ganong, 1990). Experimentally, 100% canine mortality occurs after 7% of body weight (1% every hour) is lost through hemorrhage (Lumeij, 1997). In this deer, although hemorrhage was internal, cavitory fluids could not be regained because

peripheral vasoconstriction, induced by stress and maintained by shock, probably impaired fluid reabsorption.

There are no prior reports of fractured lumbar transverse processes in wild animals. These fractures should be watched for as indicators of inadequate postcapture management practices. Although difficult under field conditions, radiography should be a routine component of wild animal postmortem examinations.

Capítulo 10

Discusión general

10.1. Método de captura

Según Berducou (1993), la validez de un método de captura depende de la seguridad que ofrece tanto a los operarios como a los animales, de su especificidad (porcentaje de los animales de la especie deseada respecto al total de animales capturados), de su rendimiento medio, de su selectividad (por sexos y clases de edad), de su estacionalidad y del coste económico que supone.

En este apartado sólo se van a evaluar las capturas realizadas por nuestro equipo (en bosques subalpinos y de colinas) con motivo del presente trabajo, sin considerar las llevadas a cabo en la Reserva Nacional de Caza y de Fauna de Chizé (llanura cercada).

Seguridad para los operarios y para los animales

La captura mediante redes verticales resultó ser segura para los operarios, ya que no sufrieron ninguna lesión importante. Las abrasiones y las heridas superficiales que se produjeron podrían prevenirse mediante el uso de guantes de trabajo.

Entre los animales sólo se produjo una baja como consecuencia de la captura y el manejo. Un corzo murió cuatro días después de la captura a causa de una fractura bilateral múltiple de las apófisis transversas lumbares (*ver Capítulo 9*). Esto corresponde a una mortalidad del 4,5% (un corzo de los 22 capturados). El resto de corzos sobrevivieron a la captura y al manejo posterior. Durante el periodo siguiente a su liberación no se encontró ningún cadáver, aunque esto no descarta que se produjeran nuevas bajas. Algunos de los corzos fueron observados en perfecto estado en la misma zona donde se realizaron las capturas.

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) registraron una mortalidad significativamente inferior en los 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 en otro lugar (17,2%, 17 de 99). Estos autores registraron una mortalidad total 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'.

Por otro lado, uno de los 16 corzos cautivos (6,25%) murió una vez finalizadas las tres horas de inmovilización que siguieron a la captura física. A este animal se le diagnosticó una neumonía granulomatosa (*ver Capítulo 5*).

Especificidad

De 25 capturas de corzo, tres (12%) proporcionaron especies 'no deseadas', con un total de cinco animales 'no deseados' (dos rebecos y tres jabalíes), sobre los 27 capturados. Esto corresponde a una especificidad del 81,5%, próxima a la especificidad del 92% descrita por Meneguz *et al.* (1994).

Selectividad por sexos y clases de edad

De los 22 corzos capturados, 18 fueron hembras (dos menores de un año) y cuatro fueron machos (uno menor de un año). La distribución de sexos obtenida fue probablemente debida a la estructura de la población estudiada, en la que abundan más las hembras porque sólo se cazan los machos. Esta distribución puede ser favorable cuando el objetivo de la captura es el de reintroducir la especie en otras zonas, o bien el de repoblarlas. Por otro lado, el bajo número de capturas de animales de menos de un año puede responder al hecho de que éstos no guían la huida y pueden escaparse por el paso que deja la madre al quedar atrapada en la red (Meneguz *et al.*, 1994).

Rendimiento medio

Se obtuvieron corzos en 12 de las 25 capturas (48%), con un rendimiento medio de 0,88 corzos por captura (de cero a tres corzos por captura). El bajo rendimiento medio obtenido en nuestro estudio fue debido principalmente a la baja densidad de corzos en las zonas estudiadas. Meneguz *et al.* (1994) afirman que existe una correlación positiva entre el rendimiento de la batida y la densidad de corzos existente en la zona. También pudo influir el número de batidores que participaron en las batidas ($12,65 \pm 3,20$ batidores/captura). A este respecto, Meneguz *et al.* (1994) indican que son necesarios 50 batidores por cada 100 hectáreas.

Estacionalidad

Las capturas se realizaron entre enero y abril para respetar a las hembras grávidas y para no separar a las crías lactantes de sus madres. No parece existir ninguna contraindicación para el uso de esta técnica de captura en el resto de meses del año, pero teniendo en cuenta su baja selectividad por animales de menos de un año, es preferible que las capturas cuyo fin es la reintroducción/repoblación se limiten al final del invierno-inicio de la primavera, o bien que no se trasladen las madres en lactación sin sus crías (Meneguz *et al.*, 1994)

10.2. Efectos de la respuesta de estrés agudo

La frecuencia cardiaca es un indicador objetivo de la respuesta del sistema simpático-adrenomedular frente a una situación de estrés agudo (Broom y Johnson, 1993). Los monitores cardiacos Polar[®] han demostrado ser eficaces para medir la frecuencia cardiaca en varias especies animales (Evans y Rose, 1986; Sloet van Oldruitenborgh-Oosterbann *et al.*, 1988; Hopster y Blockhuis, 1994). No obstante, estos monitores generaron ocasionalmente líneas rectas en el registro. Esto pudo ser debido al desplazamiento de los electrodos y/o a la pérdida de contacto con la superficie depilada, a artefactos provocados por la contracción muscular o a una elevada variabilidad en la frecuencia cardiaca del animal que el aparato no pudo registrar. Según Hopster y Blockhuis (1994), este fenómeno es debido al desplazamiento de los electrodos y/o a la pérdida de contacto con la piel.

La frecuencia cardiaca aumenta con la actividad física, pero también puede aumentar o disminuir como respuesta emocional ante una situación a la que se ve expuesto el individuo. En algunas especies, la disminución de la frecuencia cardiaca puede ser un mecanismo de adaptación cuando se encuentran frente a un depredador o un individuo peligroso de la misma especie, los cuales se abstienen de atacar a un animal que parece muerto o, al menos, que no intenta huir (Broom y Johnson, 1993). En nuestro estudio, la frecuencia cardiaca fue disminuyendo a partir del momento en que se colocó el monitor para registrarla. Esta disminución fue probablemente debida al cese de la actividad física que comportaba la persecución y del estrés psicológico que comportaban la persecución, la captura y la manipulación. En los animales

transportados, sin embargo, esta disminución se observó únicamente mientras el vehículo permaneció estacionado (fase 'pre-transporte'), pues una vez en marcha las pulsaciones por minuto empezaron a aumentar progresivamente. Este aumento fue debido al estrés psicológico provocado por el movimiento y/o el ruido del camión (Horalek y Jones, 1993), ya que en el interior de las cajas de transporte los corzos permanecían en reposo.

El aumento de temperatura que tiene lugar en las situaciones estresantes se ha atribuido a menudo a la actividad física, pero según Bakken *et al.* (1999) solamente un 7% de este aumento se debe a ella. Existe, por tanto, otro mecanismo responsable de la mayor parte del aumento de la temperatura corporal en estas situaciones. En zorros (Moe y Bakken, 1997; Bakken *et al.*, 1999), ratas, ratones y hombres (Zethof *et al.*, 1994) se ha descrito la llamada hipertermia inducida por estrés (SIH, del inglés 'stress-induced hyperthermia'). La SIH depende del tiempo y en los ratones el aumento de temperatura es de 1 a 1.5°C por encima del nivel basal (Zethof *et al.*, 1994). En los zorros la temperatura corporal vuelve a los niveles basales pasados entre 60 y 90 minutos desde la presentación de un agente estresante de corta duración (Moe, 1996). Los cambios observados en los corzos de nuestro estudio son similares a los de la SIH. La temperatura rectal disminuyó a lo largo del tiempo entre 0,7 y 1,9°C, después de haber registrado su nivel máximo en el momento de introducir la sonda rectal. En los corzos capturados e inmovilizados físicamente, la temperatura rectal se estabilizó, es decir, dejaron de existir diferencias significativas entre valores consecutivos, pasados 45 minutos. En cambio, en los corzos sometidos al transporte la temperatura no se estabilizó hasta pasados 225 minutos. Esto fue debido posiblemente a que el transporte constituyó un agente estresante de mayor duración que la captura y la inmovilización.

El registro continuo de la temperatura proporcionado por la sonda Mätman® nos permitió valorar la evolución de la temperatura rectal minimizando los artefactos provocados por la introducción repetida del termómetro en el recto y por la proximidad del manipulador al animal (Moe y Bakken, 1997). No obstante, los movimientos bruscos de los animales y la defecación pueden hacer salir la sonda del recto. Esto hace necesaria su reintroducción y da lugar a discontinuidades en el registro. Éstos fueron los motivos por los que no se obtuvieron registros completos de

la temperatura rectal en todos los corzos y de que los registros no abarcaran todo el periodo de estudio.

La elevación del recuento de eritrocitos ocasionada por la captura física es consecuencia de la contracción esplénica provocada por la liberación de catecolaminas, y de la disminución del volumen plasmático (Cross *et al.*, 1988; Jain, 1993). Con el recuento de eritrocitos aumentan también el valor hematocrito y la concentración de hemoglobina, ya que son parámetros directamente relacionados. Wesson *et al.* (1979) describieron una disminución del valor hematocrito a lo largo del tiempo a partir de la descarga de catecolaminas, independientemente de que el método de inmovilización utilizado fuera químico o físico. En nuestros experimentos, el recuento de eritrocitos y la concentración de hemoglobina no disminuyeron después de la descarga inicial de catecolaminas provocada por la captura y el manejo, mientras que el valor hematocrito disminuyó ligeramente sólo en los corzos salvajes. La secreción de catecolaminas en la médula adrenal se produce pasados sólo uno o dos segundos desde la percepción del estímulo desencadenante (McCarty, 1983). Por esta razón, los resultados obtenidos pueden ser debidos a que la misma extracción de sangre provocaba una descarga adrenérgica que impedía observar la disminución progresiva de estos parámetros. Para evitar esto podrían utilizarse unos dispositivos que permiten obtener muestras de sangre por control remoto y así eliminar el efecto del estrés provocado al obtener la muestra (Wilklund *et al.*, 1994; Waas *et al.*, 1999).

El leucograma de estrés se caracteriza por una leucocitosis con neutrofilia, linfocitopenia y eosinopenia (Jain, 1993). La linfocitopenia se observó en todos los animales control excepto en los sometidos al transporte. El recuento total de leucocitos y el recuento de neutrófilos aumentaron con el tiempo en respuesta al estrés de captura tanto en los corzos salvajes como en los cautivos, independientemente del grupo de tratamiento al que pertenecían, pero no aparecieron diferencias entre las muestras tomadas antes y después del transporte. Por lo tanto, la leucocitosis con neutrofilia y linfocitopenia no se detectó pasadas nueve horas desde el inicio del episodio de estrés agudo. Esto puede ser debido a que los picos en el recuento de linfocitos y de neutrófilos se alcanzan pasadas de cuatro a ocho horas (Duncan *et al.*, 1994), y el

intervalo de tiempo transcurrido entre la toma de muestras en los animales transportados fue superior.

El ejercicio físico provoca un aumento en la actividad sérica de las enzimas musculares. Se ha visto que una isquemia moderada transitoria tras realizar ejercicio provoca un incremento en la actividad de la CK (Querengaesser *et al.*, 1994). La actividad sérica de las enzimas musculares aumenta durante la captura y el manejo de los ungulados salvajes debido al incremento de la permeabilidad y/o al daño de las células musculares (Duncan *et al.*, 1994). Por esta razón se ha utilizado como indicador de estrés en numerosas especies (Seal y Hoskinson, 1978; Bush *et al.*, 1981; Kocan *et al.*, 1981; Kock *et al.*, 1987a; Chapple *et al.*, 1991; Peinado *et al.*, 1993). El aumento progresivo de la actividad de las enzimas musculares observado en nuestro estudio coincide con los resultados del trabajo de Jones y Price (1990), en el que la actividad de la isoenzima LDH₅ (específica del músculo esquelético) aumentaba en ciervos que permanecían tumbados y con los ojos vendados después de haber sido capturados. El aumento registrado fue probablemente debido tanto al estrés físico como al psicológico, pues se ha visto que los niveles plasmáticos de varias proteínas aumentan en situaciones desagradables sin que aparentemente exista daño tisular (Adams y Rinnie, 1982).

La respuesta de estrés provoca un aumento en la concentración sérica de urea (Gibert, 1991). Esto se debe principalmente al ejercicio físico y al efecto catabólico de los glucocorticoesteroides liberados durante la respuesta de estrés sobre las proteínas (Finco, 1997). En nuestro estudio, el aumento de la concentración sérica de urea se evidenció claramente en los corzos que fueron sometidos al transporte. No obstante, la captura y la inmovilización también dieron lugar a un ligero incremento de la concentración sérica de urea. Éste coincide con el registrado por Sealander *et al.* (1975) en ciervos de cola blanca inmovilizados físicamente. Otros autores (Wesson *et al.*, 1979; Kocan *et al.*, 1981), en cambio, no han encontrado alteraciones en este parámetro provocadas por la captura (física o química) y el manejo.

Las catecolaminas provocan un incremento de la glucogenólisis, lo que hace aumentar la producción de ácido láctico a nivel muscular. El metabolismo anaerobio de la

glucosa constituye otra fuente de lactato en una situación de estrés físico (Kaneko, 1997a). Hattingh *et al.* (1988) describieron un incremento en los niveles de lactato en impalas salvajes (*Aepyceros melampus melampus*) como consecuencia de la captura y el manejo. En nuestro estudio, el lactato alcanzó su concentración máxima en el momento de la captura debido a que hasta entonces el animal había realizado un ejercicio físico intenso y se encontraba bajo la acción del sistema simpático-adrenomedular. A medida que transcurrió el tiempo, los niveles de lactato disminuyeron, ya que probablemente el metabolismo glucídico había pasado a ser aerobio. Varios autores han utilizado el lactato como indicador de estrés, encontrando valores más elevados en los procedimientos más estresantes (Hattingh *et al.*, 1988; Carragher *et al.*, 1997). Por otro lado, no se observaron diferencias significativas en la concentración sérica de lactato antes y después del transporte, lo que posiblemente fue debido a la gran variabilidad que se observa en este parámetro a lo largo del transporte, que hace que los valores medidos dependan mucho del momento en que se extraen las muestras (Waas *et al.*, 1997).

La hiperglucemia inducida por estrés es debida a la acción sinérgica de los glucocorticosteroides, las catecolaminas y el glucagón (Brearley *et al.*, 1990). El valor máximo de glucemia en los terneros se alcanza dos horas después de una inyección intravenosa de ACTH, momento a partir del cual el nivel de glucosa vuelve a disminuir (Hartmann, 1988). En nuestro estudio, los elevados niveles séricos de glucosa observados antes del transporte son debidos a la hiperglucemia inducida por estrés provocada por la captura y el manejo. Su disminución a lo largo del transporte no sólo fue debida al retorno de la glucemia a los niveles basales después de la acción de las hormonas hiperglucemiantes liberadas en la respuesta de estrés, sino que probablemente también fue debida al ayuno sufrido durante la operación de transporte (Knowles y Warris, 2000). En los corzos cautivos la concentración máxima de glucosa se alcanzó una hora después de la captura, mientras que en los salvajes no varió significativamente a lo largo del tiempo. Teniendo en cuenta que la captura de los animales salvajes precisó más tiempo que la de los cautivos, la diferencia observada pudo deberse a que en los corzos salvajes el valor máximo de glucemia se alcanzara en el tiempo que transcurrió entre la primera y la segunda toma de muestras.

Como en el trabajo de Seal y Hoskinson (1978) y a diferencia del de Franzmann y Thorne (1970), nuestro estudio no puso de manifiesto ningún cambio provocado por el estrés en la concentración sérica de colesterol. Por lo tanto, y de acuerdo con Broom y Johnson (1993), los niveles de colesterol tienen poco valor como indicadores de estrés y de bienestar. Los resultados obtenidos para la concentración de triglicéridos tampoco permitieron extraer conclusiones acerca de su variación durante la respuesta de estrés.

El ejercicio intenso y la necrosis muscular provocan un aumento en los niveles séricos de potasio (Carlson, 1997). La concentración sérica de potasio está controlada tanto por mecanismos renales como extrarrenales. Estos últimos intervienen principalmente durante las cuatro a seis primeras horas después de un incremento agudo de la concentración de potasio. Entre otros, las catecolaminas y los glucocorticosteroides participan en el control extrarrenal de la homeostasis del potasio. Las catecolaminas ejercen un efecto bifásico sobre la concentración sérica de potasio. Inicialmente, en los tres primeros minutos, provocan un incremento transitorio en el nivel de potasio mediante una estimulación α -adrenérgica, que va seguido de una disminución sostenida mediada por los receptores β_2 . Los glucocorticoesteroides, por su parte, aumentan la excreción de potasio a través de la orina, aunque si se administran de forma aguda dan lugar a una hiperpotasiemia transitoria (0.5-1.0 mmol/L en los humanos), que desaparece al cabo de 8-12 horas aunque continúe la administración de glucocorticoesteroides (Bia y DeFronzo, 1981). En nuestro estudio se observó una disminución de los niveles de potasio tras haber aumentado por efecto del ejercicio físico y de las hormonas liberadas en la respuesta de estrés (Van Beaumont *et al.*, 1973; Bia y DeFronzo, 1981).

Los cambios en la concentración de cloruros que no van asociados a un cambio similar en la concentración de sodio suelen estar relacionados con desequilibrios acidobásicos. Un incremento desproporcionado de los cloruros, como en el caso de nuestro estudio de transporte, suele estar asociado a una acidosis metabólica por desequilibrio aniónico, la cual puede aparecer como respuesta compensatoria a una alcalosis respiratoria primaria. La alcalosis respiratoria es debida a una hiperventilación, que puede observarse en animales sometidos a un estrés psicológico y/o en aquellos que

disipan calor mediante procesos de evaporación respiratoria (Carlson, 1997). No obstante, este aumento en la concentración sérica de cloruros no se observó en los animales sometidos a la inmovilización física durante las tres horas siguientes a su captura, por lo que puede afirmarse que el transporte implica un mayor trastorno metabólico que la simple inmovilización.

Tabla 10.1. Cronología de los cambios fisiológicos que se producen durante la respuesta de estrés agudo en el corzo.

Efecto inmediato	Efecto intermedio (1-4 horas)	Efecto tardío (≈ 9 horas)
↑ Frecuencia cardíaca	↑ Recuento de leucocitos	↑ Concentración de cloruros
↑ Temperatura rectal	↑ Recuento de neutrófilos	↑ Concentración de urea
↑ Recuento de eritrocitos	↓ Recuento de linfocitos	↑ Actividad de la ALT
↑ Concentración de hemoglobina	↑ Actividad de la ALT	↑ Actividad de la AST
↑ Valor hematocrito	↑ Actividad de la AST	↑ Actividad de la CK
↑ Concentración de lactato	↑ Actividad de la CK	
↑ Concentración de potasio	↑ Actividad de la LDH	
	↑ Concentración de creatinina	

Algunos autores consideran el cortisol como el mejor indicador único de estrés (Morton *et al.*, 1995), mientras que otros consideran que el uso de múltiples parámetros hematológicos y bioquímicos constituye un indicador más sensible para valorar la respuesta de estrés (Kock *et al.*, 1987a; Chapple *et al.*, 1991). Sin embargo, la gran variabilidad interindividual en la concentración plasmática de cortisol, la existencia de ritmos ultradianos, circadianos y estacionales en la secreción de cortisol (Turner, 1984; Nilssen *et al.*, 1985; Ingram *et al.*, 1999) y el estrés causado por la propia obtención de la muestra pueden enmascarar posibles diferencias en la respuesta de estrés ante un estímulo concreto. Además de estos factores, la ausencia de diferencias significativas en nuestro estudio también pudo ser debida al reducido tamaño de la muestra y al momento en que se tomaron las muestras. No obstante, Kock *et al.* (1987a) tampoco encontraron diferencias significativas en la concentración de cortisol entre muflones de las Rocosas considerados normales, los clasificados como 'estresados' y los que murieron por miopatía de captura.

10.3. Efecto de la acepromacina sobre la respuesta de estrés agudo

La acepromacina produce bradicardia por estimulación vagal. Sin embargo, la frecuencia cardiaca, en valor absoluto, no generó diferencias significativas entre los grupos de tratamiento. Aunque podría esperarse que la frecuencia cardiaca fuera inferior en los animales tratados con acepromacina, se puede producir una taquicardia refleja secundaria a la hipotensión que causa este fármaco que impediría registrar dicha diferencia (Plumb, 1995). Otra posible explicación para estos resultados es la gran variabilidad interindividual que existe en la frecuencia cardiaca (Hopster, 1998). Por otro lado, cuando todos los estímulos desencadenan la respuesta máxima (por ejemplo, la máxima frecuencia cardiaca), no es posible distinguir si la respuesta frente a un estímulo es superior o inferior a otra. En estos casos se deben emplear otras medidas, como por ejemplo el tiempo que tarda la frecuencia cardiaca en alcanzar los niveles basales (Broom y Johnson, 1993). En nuestro estudio, la frecuencia cardiaca se estabilizó antes en los corzos tratados con acepromacina que en los controles, lo que coincide con los resultados de Diverio *et al.* (1996b) en ciervos tratados con una fenotiacina de larga duración. Esta diferencia puede atribuirse al efecto tranquilizante del fármaco.

Uno de los efectos adversos de las fenotiacinas es la alteración de los mecanismos de termorregulación, dando lugar a hipotermia (Plumb, 1995). Se ha comprobado que la acepromacina a dosis intramusculares de 1.1 mg/kg y 1.65 mg/kg previene la aparición de la hipertermia maligna inducida por halotano en el 40 y el 73%, respectivamente, de los cerdos susceptibles (McGrath *et al.*, 1981). Sin embargo, los neurolepticos no suprimen la hipertermia inducida por estrés (SIH), a diferencia de las benzodiazepinas y los agonistas serotoninérgicos (Olivier y Miczek, 1998). En el presente estudio, no se llegaron a detectar diferencias en la temperatura rectal provocadas por el tratamiento con acepromacina en los corzos inmovilizados (ni en los salvajes ni en los cautivos). Esto podría ser debido a que, al tratarse de una respuesta de ansiedad anticipatoria, la SIH ya se ha desencadenado en el momento de administrar el tranquilizante. Por lo tanto, parece difícil poder evitar el aumento de la temperatura corporal en este tipo de operaciones de captura. Otra posible explicación para la ausencia de diferencias entre grupos de tratamiento podría ser, simplemente, que sólo se dispuso de registros

completos de una hora de duración. En los corzos transportados, en cambio, los registros fueron más largos y permitieron observar que la temperatura rectal se estabilizaba (es decir, dejaba de haber diferencias significativas entre valores consecutivos) dos horas antes en aquellos animales que recibieron acepromacina. En ambos grupos, la evolución de la temperatura fue paralela y al final alcanzó el mismo nivel mínimo, por lo que la razón de la diferencia observada no puede atribuirse a una alteración de los mecanismos de termorregulación. Teniendo en cuenta la frecuencia cardíaca, el transporte representó una experiencia desagradable para los animales, pero pudiera haberlo sido menos en los animales tratados con acepromacina si se considera la diferencia observada en la temperatura rectal.

En el perro se ha observado una caída significativa en la concentración de hemoglobina 45 minutos después de la administración de acepromacina, efecto que puede persistir durante al menos 2 horas debido principalmente al secuestro esplénico de eritrocitos (Booth, 1982). La acepromacina provoca también una reducción del valor hematocrito, hasta un 50% de los valores iniciales en caballos, por el mismo motivo (Plumb, 1995). En los corzos, la acepromacina provocó una disminución del recuento de eritrocitos y de la concentración de hemoglobina a lo largo del periodo de estudio, tanto en los salvajes como en los cautivos. Los valores de estos parámetros también resultaron ser inferiores en los corzos tratados en comparación con los controles, tanto en respuesta a la captura y a la inmovilización como en respuesta al transporte. Por otro lado, el valor hematocrito, directamente relacionado con los dos parámetros anteriores, dio lugar a resultados más variables. El transporte no provocó diferencias significativas en el valor hematocrito entre grupos de tratamiento, mientras que éste fue inferior en los corzos inmovilizados que recibieron acepromacina (tanto en los salvajes como en los cautivos). No obstante, en ningún caso se evidenció la disminución a lo largo del tiempo que el recuento de eritrocitos y la concentración de hemoglobina mostraron en los animales tratados.

Los cambios en la concentración de proteínas totales acostumbran a ser paralelos a los cambios en el valor hematocrito (Wesson *et al.*, 1979). Turner y Hodgetts (1960) describieron que la administración de clorpromacina en ovejas provoca una disminución de las proteínas plasmáticas a causa de un efecto de hemodilución por

expansión del volumen plasmático con líquido extracelular. Sin embargo, en nuestro estudio no se observaron diferencias en la concentración de proteínas totales provocadas por la administración de acepromacina. Por esta razón, las diferencias observadas en los parámetros eritrocitarios no pueden explicarse por un efecto de hemodilución, ya que en ese caso también habría disminuido la concentración de proteínas totales.

El recuento de linfocitos disminuyó significativamente en la muestra recogida tras el transporte en los animales tratados. Sin embargo, no se observó ninguna variación en los corzos salvajes tratados sometidos a la captura y a la inmovilización física. Estos resultados podrían ser debidos a un retraso en la linfocitopenia inducida por estrés provocado por la acepromacina en los animales salvajes (incluidos los sometidos al transporte), que hiciera que no fuera apreciable en las primeras horas de seguimiento, pero sí pasadas al menos nueve horas. En cambio, la linfocitopenia sí se observó en los dos grupos de corzos cautivos, independientemente del tratamiento recibido. En los cerdos susceptibles al estrés se han descrito recuentos de linfocitos inferiores que en los cerdos resistentes al estrés después de una o dos horas desde la aplicación del agente estresante, lo que sugiere que en los primeros existe una mayor producción y una utilización más rápida de corticoesteroides (Evans, 2000). Es posible que la cautividad actúe como un factor sensibilizante y provoque un efecto similar, ya que en los corzos cautivos la acepromacina no tuvo el mismo efecto que en los salvajes y en el grupo control cautivo la disminución del recuento de linfocitos fue más rápida que en el control salvaje. Hopster *et al.* (1998) indicaron que el estrés puede ser responsable de una disminución repentina del número de linfocitos en vacas susceptibles al estrés. Sin embargo, una disminución tan rápida y de tal magnitud no podía atribuirse al aumento de la concentración plasmática de cortisol. Por ello, estos autores consideran las catecolaminas neurales y los opioides endógenos como posibles responsables de los cambios en la distribución de linfocitos provocados por el estrés.

La actividad sérica de la ALT, de la AST y de la CK aumentó a lo largo del transporte en los corzos control, mientras que se mantuvo invariable (o bien volvió a los valores iniciales al terminar el transporte) en los corzos tratados con acepromacina. Por otro lado, la captura y la inmovilización física provocaron el aumento de la ALT, la AST,

la CK y también de la LDH tanto en los controles como en los tratados, pero con valores significativamente más bajos en estos últimos a partir de las dos o las tres horas desde el momento de la captura. En los corzos cautivos, la captura física tuvo el mismo efecto, aunque en los animales tratados con acepromacina no se detectó aumento alguno en la actividad de las enzimas musculares con el paso del tiempo. Esta diferencia podría ser debida a que los corzos salvajes tratados con acepromacina se vieron sometidos a un mayor grado de ejercicio físico que los cautivos, ya que la magnitud del incremento de la actividad sérica de la CK es un marcador cuantificable del ejercicio realizado (Kramer y Hoffmann, 1997). Por otro lado, esta diferencia podría ser debida a que el tranquilizante ejerció un mayor efecto en los corzos cautivos que en los salvajes.

En conjunto, los valores de ALT, AST, CK y LDH obtenidos en este trabajo apoyan la teoría de que la acción vasodilatadora de la acepromacina ejerce un efecto protector frente al daño muscular provocado por la hipoxia. Cuando se inicia la actividad muscular, el flujo sanguíneo en los músculos aumenta pero es intermitente. El flujo sanguíneo disminuye cuando el músculo se contrae, debido a la compresión de los vasos, y aumenta cuando se relaja (Guyton y Hall, 1996). Este proceso se denomina 'bomba muscular'. La bomba muscular actúa mientras el animal está corriendo, pero permanece inactiva cuando es inmovilizado físicamente o cuando está de pie en una caja de transporte. Si no están corriendo, los músculos de los animales estresados están sometidos a un cierto grado de contracción isométrica, lo que dificulta el flujo sanguíneo a través de ellos. Esto provoca una reducción de la perfusión tisular, una disminución de la disipación de calor y una hipoxia (Spraker, 1993). La acepromacina mantendría el flujo sanguíneo durante esta fase de contracción isométrica, lo que garantizaría el aporte de oxígeno a las células musculares. Esto, a su vez, favorecería el metabolismo aerobio, con el consiguiente aumento del pH intracelular. Este aumento de pH es deseable, puesto que la acidosis intracelular destruye los sistemas enzimáticos y los orgánulos, entre ellos las mitocondrias y la bomba de sodio-potasio. Las células también se hinchan, lo que agrava la alteración de la función celular y permite la difusión de potasio, CK, AST y LDH hacia la corriente sanguínea (Spraker, 1993). Todos estos mecanismos intervienen en la fisiopatología de la miopatía de captura (rabdomiólisis por ejercicio), por lo que la administración de acepromacina

parece adecuada para prevenirla. De hecho, 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).

El aumento de la concentración de creatinina después del ejercicio es debido a una mayor liberación de creatinina procedente de los músculos y a una disminución de su excreción renal (Querengaesser *et al.*, 1994). En nuestro estudio, la concentración sérica de creatinina disminuyó durante el transporte en los animales tratados, mientras que la captura y la inmovilización provocaron su aumento a lo largo del tiempo en los corzos control (tanto salvajes como cautivos), permaneciendo invariable en el grupo tratado. Además, en los corzos cautivos, los niveles de creatinina fueron inferiores en los animales tratados que en los controles. Estos resultados pueden explicarse por el efecto anti- α -adrenérgico de la acepromacina sobre las arteriolas renales, el cual provoca la dilatación de las arteriolas y permite que la creatinina siga filtrándose (Jarvik, 1970; Baldessarini, 1996).

La disminución de la perfusión y de la oxigenación tisular aumenta la producción endógena de ácido láctico (Duncan *et al.*, 1994). Tras la captura, el lactato disminuyó más rápidamente en los animales tratados con acepromacina que en los controles, independientemente de si eran cautivos o salvajes. Esto indica que la acepromacina puede disminuir la producción y/o acelerar la eliminación del lactato debido a su efecto vasodilatador (Freestone *et al.*, 1991; Beech, 1994). En los corzos transportados, en cambio, no se observó dicha diferencia entre grupos de tratamiento. Esto pudo ser debido al intervalo de tiempo transcurrido entre muestra y muestra, ya que la disminución en los niveles de lactato tras la captura se observó entre muestras separadas por sólo una hora, y a la gran variabilidad que se observa en la concentración sérica de lactato a lo largo del transporte (Waas *et al.*, 1997).

En varias especies se ha observado que la administración de clorpromacina y de otras fenotiacinas produce hiperglucemia (Booth, 1982). No obstante, en nuestro estudio los corzos cautivos control alcanzaron un nivel máximo de glucosa sérica superior al de los tratados con acepromacina. Este hecho puede atribuirse al efecto tranquilizante del

fármaco, ya que se ha descrito que el nivel de glucosa puede ser un buen índice de la intensidad del estrés agudo experimentado (Armario *et al.*, 1990).

En los corzos salvajes, la concentración sérica de potasio disminuyó más rápidamente en los controles que en los tratados con acepromacina, mientras que en los corzos cautivos y en los sometidos al transporte, la disminución de la concentración de potasio sólo se observó en los controles. Estas diferencias entre grupos de tratamiento podrían deberse también a la vasodilatación periférica producida por la acepromacina. A menor daño muscular por hipoxia, menor liberación de potasio intracelular hacia el líquido extracelular. Por consiguiente, en los animales tratados con acepromacina los mecanismos extrarrenales que controlan la homeostasis del potasio no se activan, o lo hacen en menor medida, lo que hace que no se observe la disminución en la concentración sérica de potasio registrada en los corzos control. El hecho de que en los corzos salvajes tratados también se observara una disminución en la concentración de potasio, se corresponde con los resultados obtenidos para las enzimas musculares, las cuales aumentaron ligeramente a pesar del tratamiento. Por otro lado, se ha propuesto que la acepromacina altera la excitabilidad neuromuscular y previene el desarrollo de la rabiomíolisis por ejercicio al influir sobre el paso de potasio desde el líquido extracelular al intracelular (Freestone *et al.*, 1991), aunque no hay evidencias claras de ello.

El tratamiento con acepromacina no tuvo un efecto significativo sobre la concentración sérica de cortisol. Esto coincide con el trabajo de Brearley *et al.* (1990), en el que no encontraron diferencias significativas entre vacas inyectadas con suero salino y las inyectadas con acepromacina. Se ha descrito que la clorpromacina provoca un incremento en la liberación sistémica de adrenalina, lo que da lugar a un incremento de la ACTH y, por consiguiente, a un incremento en la secreción de cortisol (Bruss, 1980). Así explicaron Brearley *et al.* (1990) que los valores medios de cortisol fueran más elevados, aunque no estadísticamente, en los animales tratados con acepromacina que en los que recibieron suero salino. McKenzie y Snow (1977) afirman que los cambios en la concentración plasmática de 11-hidroxicorticosteroides (11-OHCS) no constituye un buen método para valorar una reducción del grado de estrés cuando se utilizan ciertos sedantes. En cambio, Diverio *et al.* (1996b)

encontraron concentraciones de cortisol más bajas en ciervos tratados con un neuroléptico fenotiacínico de larga duración que en los controles. No obstante, y a diferencia de nuestro estudio, el fármaco había sido administrado antes de la aplicación del agente estresante.

En vista de los resultados obtenidos, parece apropiado incluir el uso de la acepromacina, o de otros neurolépticos con propiedades similares, en los protocolos de manipulación del corzo. Hasta ahora, siguiendo el protocolo de la Reserva Nacional de Caza y de Fauna de Chizè (Francia), no se utilizaba ningún tipo de tranquilizante en las operaciones de captura, manejo y transporte de corzo (Meneguz *et al.*, 1994). A la espera de estudios que evalúen los efectos de otros tranquilizantes, la acepromacina constituye una buena opción para reducir el estrés asociado a estos procedimientos y minimizar sus consecuencias adversas.

10.4. Efecto de la cautividad sobre la respuesta de estrés agudo

Las diferencias observadas en la respuesta de estrés frente a la captura y la inmovilización física entre los corzos cautivos y los salvajes pueden ser debidas básicamente a diferencias en la dieta, al efecto del ‘entrenamiento’ (condición física) y/o a una sensibilización de los ejes simpático-adrenomedular (SA) e hipotálamo-hipofisario-adrenocortical (HPA) provocada por el estrés crónico generado por la cautividad.

Las diferencias en la dieta pueden explicar los niveles invariablemente superiores de colesterol (Hattingh *et al.*, 1990; Peinado *et al.*, 1995) y de glucosa (DelGiudice *et al.*, 1987) registrados en los corzos cautivos, que además de forraje recibían un concentrado. Las diferencias observadas en la evolución de la concentración sérica de urea entre los corzos salvajes y los cautivos podrían ser debidas a diferencias en el contenido de nitrógeno en la dieta, lo que influye en la vía de excreción de la urea en los rumiantes (Duncan *et al.*, 1994).

El efecto del ‘entrenamiento’, es decir, una menor condición física en los animales cautivos, puede explicar las diferencias encontradas en la frecuencia cardiaca (Sneddon *et al.*, 1989), la temperatura rectal (Sneddon *et al.*, 1989; Gatta *et al.*, 1998),

el recuento de eritrocitos, la concentración de hemoglobina (Sneddon *et al.*, 1989, Escribano *et al.*, 1995), la actividad sérica de las enzimas musculares (Tollersrud *et al.*, 1971; Sikarskie *et al.*, 1990; Chapple *et al.*, 1991), la concentración de creatinina (Querengaesser *et al.*, 1994) y la concentración de lactato (Sneddon *et al.*, 1989; Geor *et al.*, 1999).

Sin embargo, existe también la posibilidad de que el estrés crónico causado por la cautividad sea responsable de respuestas más exageradas que las esperables en un principio ante estímulos de presentación aguda. El mayor grado de estrés crónico en los corzos cautivos se evidenció por la mayor concentración de metabolitos de cortisol (11,17-DOA) en sus heces en comparación con la de los corzos que vivían en libertad. Se ha descrito que la exposición repetida a diferentes estímulos desagradables produce una sensibilización de los ejes SA e HPA, de manera que si se somete a dicho animal a un estímulo que no conoce responderá de forma más exagerada que otro que no esté sensibilizado (Broom y Johnson, 1993).

Además, la acepromacina ejerció un efecto más marcado en los corzos cautivos que en los salvajes sobre la frecuencia cardiaca, la actividad de las enzimas musculares, la concentración de creatinina, la concentración de glucosa y la concentración de potasio. Estos parámetros difirieron entre grupos de tratamiento en los corzos cautivos, mientras que no se observaron diferencias en los salvajes. Esto podría ser debido a la diferencia en la dosis recibida entre corzos cautivos y salvajes, aunque la mayoría de fenotiacinas tienen una curva dosis-respuesta muy plana (Baldessarini, 1996). Se ha descrito una disminución dosis-dependiente del valor hematocrito en perros y caballos (Plumb, 1995). Esta disminución del valor hematocrito es la respuesta farmacológica más sensible en el caballo (Ballard *et al.*, 1982). Sin embargo, en nuestro estudio no se observaron diferencias entre corzos salvajes y cautivos tratados con acepromacina en el valor hematocrito, ni tampoco en el recuento de eritrocitos ni en la concentración de hemoglobina. Otra posible explicación sería que ante una respuesta de estrés exagerada, como la registrada en los animales cautivos, el efecto de la acepromacina fuera más marcado.

Se han descrito diferencias significativas en los valores hematológicos (Thorn, 2000) y bioquímicos (Chapple *et al.*, 1991) debidas a la edad y al sexo en varias especies de cérvidos. En nuestro estudio, y debido a que no fue posible separar los grupos de estudio por sexo y edad, estos factores de variación fueron incluidos en los modelos estadísticos para que su efecto no enmascarara o agudizara las diferencias debidas a los factores que interesaba estudiar (tratamiento con acepromacina y cautividad).

10.5. Consecuencias de las operaciones de captura y manejo

Más allá del valor adaptativo de la respuesta de estrés, ésta puede tener efectos negativos si es exagerada o si el animal no supera la situación que la desencadena. No obstante, la intervención del hombre en las operaciones de manejo puede ser tanto o más perjudicial que una respuesta de estrés incontrolada. Esto ha quedado demostrado en nuestro estudio por la fractura bilateral múltiple de las apófisis transversas lumbares en uno de los corzos y por la muerte por miopatía de captura de tres de los corzos introducidos en un cercado con fines científicos. Es por ello que, además del uso de tranquilizantes y de que los animales manipulados sean cautivos o salvajes, las ‘buenas prácticas de manejo’ son esenciales para la supervivencia y el bienestar de los animales. Los tranquilizantes deben utilizarse para facilitar el manejo de las especies salvajes, pero nunca deben sustituir un manejo apropiado (Ebedes y Raath, 1999).