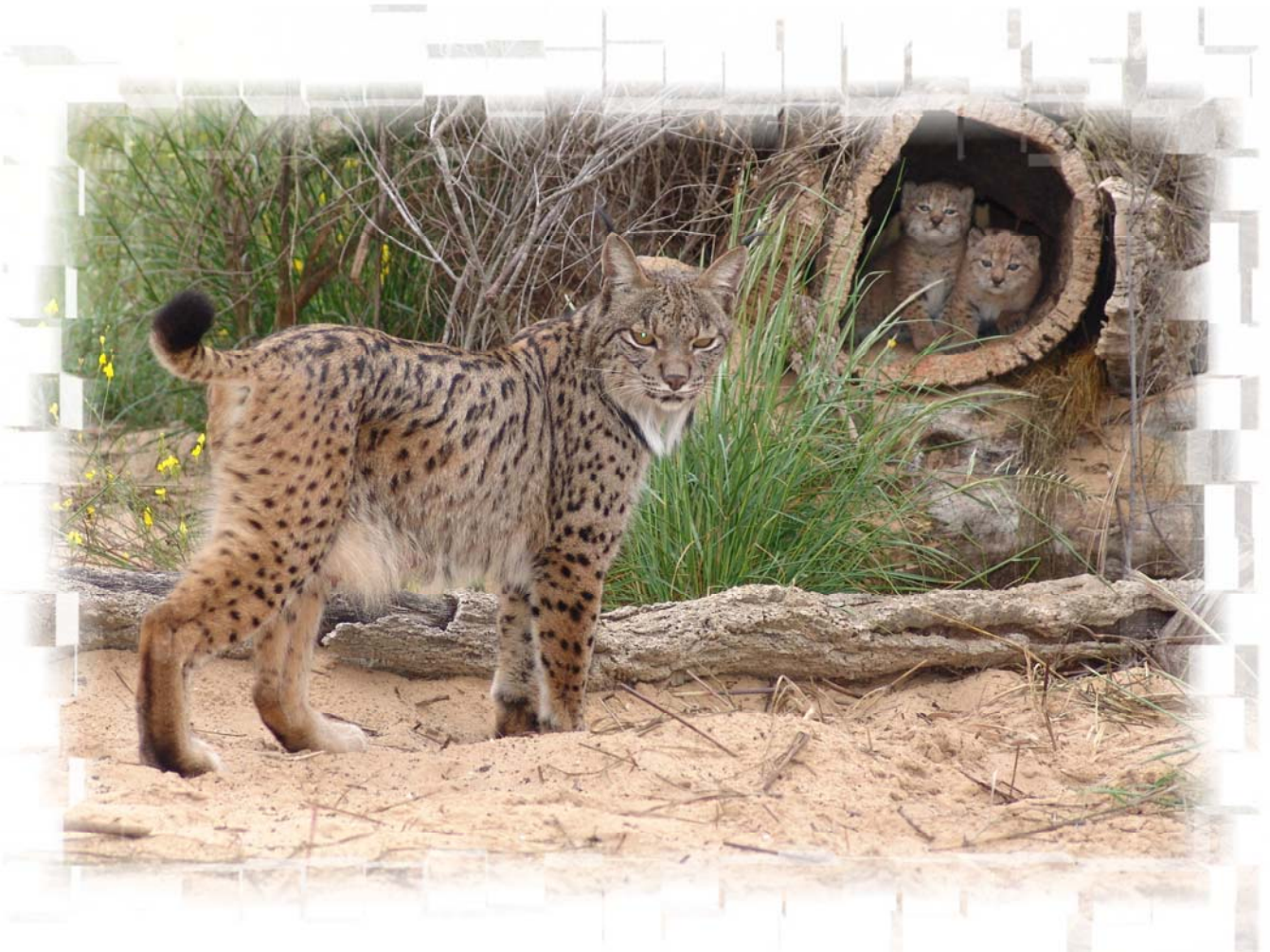


MODIFICACIONES HEMATOLÓGICAS ASOCIADAS A LA ANESTESIA EN EL LINCE IBÉRICO (*Lynx pardinus*)



Trabajo de investigación presentado por la licenciada Ester Bach i Raich para la obtención de 30 créditos ECTS del *Màster Oficial de Recerca en Veterinària i Ciències Alimentàries (Especialitat en Medicina i Cirurgia Animals)*.

Directores: Josep Pastor Milán y Santiago Lavín Gonzalez

Julio 2008



JOSEP PASTOR MILÁN y SANTIAGO LAVÍN GONZÁLEZ, Profesor Titular y Catedrático de Universidad, respectivamente, del Área de Conocimiento de Medicina y Cirugía Animales de la Facultad de Veterinaria de la Universidad Autònoma de Barcelona,

INFORMAN:

Que el trabajo de investigación titulado “MODIFICACIONES HEMATOLÓGICAS ASOCIADAS A LA ANESTESIA EN EL LINCE IBÉRICO (*Lynx pardinus*)” presentado por la licenciada ESTER BACH i RAICH para la obtención de 30 créditos ECTS del *Màster Oficial de Recerca en Veterinària i Ciències Alimentàries (Especialitat en Medicina i Cirurgia Animals)*, se ha realizado bajo nuestra dirección y, una vez finalizado, autorizamos su presentación para que sea evaluado por la comisión correspondiente.

Y para que así conste a los efectos que sean oportunos, firmamos el presente informe en Bellaterra, a 10 de julio de 2008.

Firmado: Josep PASTOR MILÁN

Firmado: Santiago LAVÍN GONZALEZ

*Only after the last tree has been cut down,
only after the last river has been poisoned,
only after the last fish has been caught,
only then will you find that money cannot be eaten.*

Cree Indian Prophecy

Las anestias y muestreos de los linceos ibéricos que aparecen en este trabajo se han realizado gracias a las actividades desarrolladas para la conservación de la especie por la Consejería de Medio Ambiente de la Junta de Andalucía, los proyectos de investigación del grupo de carnívoros de la Estación Biológica de Doñana (CSIC), y los proyectos en el Parque Nacional, Parque Natural de Doñana, y Parque Natural de Andújar y Cardeña.

AGRADECIMIENTOS

A en Josep, gràcies per tot, i sobretot per deixar-me participar en aquest projecte i dedicar-me el teu temps.

A Santiago, gracias “acogerme” en el SEFaS y por enseñarme que en el trabajo siempre hay tiempo para “reunirnos” y para reírnos.

A Rafi, por guiarme en mis primeros pasos como investigadora, y por enseñarme, a tu lado siempre aprendo cosas nuevas.

A Fernando, por hacerme sentir importante en este proyecto. A Astrid, directora del programa de cría, por su fuerza y dedicación. A todo el personal de los centros de cría del lince ibérico, por su trabajo.

A les nenes, Mercè, Pancha, Eva, i al nen, Jaume, per animar-me i recolzar-me aquests últims mesos, i sempre.

A les altres nenes del “lab”, Montse, Eli i Núria, per fer-me més fàcil la realització d'aquest treball; i a la Martina, per compartir mis angustias con el SPSS y con la tesina.

Als meus ecopatòlegs, Encarna, la meva companya de viatges, Grego, Óscar, Laura i Jorge, per aguantar les meves continues interrupcions al despatx demanant i preguntant.

En Carlo, et trobaré a faltar.

A la meva família, sense vosaltres no seria on soc, ni seria el que soc, i a la Sort, per fer-me sortir de casa aquests últims dies d'ordinador i més ordinador.

Segur que em deixo persones importants en el meu treball, espero que no m'ho tindreu en compte, a vosaltres, gràcies.

esto ya se para.....

ÍNDICE

1. RESUMEN	5
2. INTRODUCCIÓN	6
3. MATERIAL Y MÉTODOS	
3.1 Animales y Muestras	11
3.2 Métodos	13
3.3 Análisis Estadístico	14
4. RESULTADOS	15
5. DISCUSIÓN	19
6. CONCLUSIONES	23
7. BIBLIOGRAFÍA	24

2. INTRODUCCIÓN

El lince ibérico es un mamífero de la familia de los felinos, que actualmente se encuentra en Riesgo Crítico de Extinción según la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (UICN, 2004). Ante esta situación se han puesto en marcha diferentes medidas, por parte de la Junta de Andalucía y del Ministerio de Medio Ambiente, entre las cuales encontramos el Programa de Cría en Cautividad del Lince Ibérico. Este programa se plantea dos metas principales:

- Establecer una población ex-situ de lince ibérico, viable desde el punto de vista sanitario, genético y demográfico, que permita el desarrollo de técnicas de reproducción natural y asistida.
- Preparar ejemplares de lince ibérico, adecuados desde un punto de vista etológico, sanitario, reproductivo y genético, para su reintroducción en áreas de distribución histórica (Vargas *et al.*, 2004).

Dentro de este marco cada año, antes de la época de reproducción, que en estos animales suele producirse entre diciembre y enero, se programa un examen sanitario y reproductivo de todos los animales del programa de cría. El análisis de los parámetros hematológicos es un pilar fundamental de este examen, que nos aporta información sobre el estado fisiológico de los animales, además de ayudar a determinar estados de enfermedad, estrés o incluso el estado nutricional (Wolkers *et al.*, 1994; Montane *et al.*, 2003; Perez *et al.*, 2003)

La correcta evaluación y manejo de los carnívoros salvajes requiere la captura y anestesia de los mismos, teniendo en cuenta que estos dos procedimientos siempre deben realizarse minimizando el estrés del animal y el riesgo de daños (Kolbe *et al.* 2003).

Para la captura del lince se han utilizado varios métodos entre los cuales se encuentran los sistemas de inyección a distancia, como las cerbatanas y los rifles, los cepos acolchados o las jaulas trampa (Nybakk *et al.*, 1996; Martínez, 2007). Los sistemas de inyección a distancia son muy utilizados en fauna salvaje, considerándose de los más seguros y menos estresantes para los animales, puesto que no hay un contacto directo entre la persona y el animal. Los problemas de este método aparecen cuando el dardo no

se inyecta en la localización adecuada (Ryser *et al.*, 2005; Martínez, 2007). Las jaulas trampa también son un método seguro para la captura de felinos salvajes y han sido utilizadas en diferentes especies (Kolbe *et al.*, 2003). En este caso la respuesta de estrés de captura es importante y este efecto suele ser más marcado en animales de vida libre, debido a que es frecuente que estén confinados en las jaulas, varias horas antes de la anestesia. La ventaja de este método en los animales en cautividad viene dada por la posibilidad de poder inyectar una dosis exacta de anestésico en una localización concreta, además de poder actuar rápidamente, una vez el animal ha caído en la trampa.

La respuesta de estrés de captura es una respuesta de estrés agudo que se divide en tres fases: la percepción del estímulo como amenaza, la respuesta de estrés propiamente dicha y las consecuencias biológicas del estrés (Kagan y Levi, 1974). Uno de los efectos de la respuesta de estrés es la secreción la hormona liberadora de corticotropina (CRH, del inglés “Corticotropin-Releasing Hormone”), en el hipotálamo. La CRH, activa el sistema nervioso autónomo simpático e induce la liberación de catecolaminas (adrenalina y noradrenalina) desde la médula adrenal y en las neuronas postganglionares del sistema simpático. Éstas aparecen uno o dos segundos después de la percepción del estímulo y se metabolizan rápidamente, por lo que su vida media en el plasma sanguíneo es muy corta, del orden de segundos o minutos (Ganong, 1998). Por otro lado, la CRH también provoca la liberación de corticotropina (ACTH) en la hipófisis (Guyton y Hall, 2000), que a su vez estimula la secreción de corticoesteroides en la corteza adrenal. Las consecuencias biológicas del estrés se deben a los cambios producidos por la liberación de catecolaminas y corticoesteroides y tienen una finalidad adaptativa, de manera que tratan de mantener la homeostasis (Verde Arribas y Gascón Pérez, 1987; Fowler, 1995).

Las catecolaminas provocan el aumento del recuento de eritrocitos, y por lo tanto, del hematocrito y de la concentración de hemoglobina (Cross *et al.*, 1988; Chapple *et al.*, 1991). Este fenómeno provoca el aumento de la viscosidad sanguínea y se debe, principalmente, a la contracción esplénica y, en parte, a la disminución del volumen plasmático por la salida del plasma desde los vasos hacia los tejidos (Jain, 1993). Las catecolaminas estimulan los receptores α -adrenérgicos que provocan la contracción de la musculatura lisa de la cápsula del bazo. El bazo puede almacenar hasta el 25% de los eritrocitos circulantes (Ganong, 1998).

Los recuentos total y diferencial de leucocitos también varían durante la respuesta de estrés, siguiendo un patrón bifásico determinado por la secreción de catecolaminas y de corticosteroides. Las catecolaminas aumentan la circulación sanguínea y de linfa, movilizandolos leucocitos retenidos en vasos capilares y en nódulos linfáticos (reserva marginal) y provocando leucocitosis con neutrofilia y linfocitosis. En esta fase, monocitos y eosinófilos pueden aumentar o disminuir. El efecto de las catecolaminas tiene una duración de entre 20 y 30 minutos, tras los cuales se inicia el efecto de los corticosteroides. Éstos también provocan leucocitosis y neutrofilia, pero linfopenia y eosinopenia (Jain, 1993). Se puede dar o no monocitosis, dependiendo de la especie. Los efectos de los corticosteroides en el sistema eritropoyético incluyen el incremento de la eritropoyesis y del número de neutrófilos circulantes, y la disminución de los linfocitos y los eosinófilos (Jain, 1993).

La mayoría de protocolos anestésicos de felinos salvajes incluyen la utilización de ketamina normalmente en combinación con xilacina, diazepam o medetomidina (Jalanka, 1988; Jalanka, 1989; Roeken, 1990; Lewandowski *et al.*, 2002), aunque también se ha utilizado con éxito la combinación tiletamina-zolazepam, ya sea sola (Meltzer, 1999) o en asociación con la xilacina o la medetomidina (Cattet *et al.*, 1997; Caulkett y Cattet, 1997).

La ketamina pertenece al grupo de las ciclohexaminas, y es un fármaco que se utiliza para inducir la anestesia en gran cantidad de especies animales. Actúa interrumpiendo las vías nerviosas encefálicas y provocando una estimulación del sistema retículo activado, por lo que conduce a un tipo de anestesia característica denominada anestesia disociativa o catalepsia. Los principales efectos de los anestésicos disociativos sobre los sistemas vitales se producen en el sistema cardiovascular, produciendo taquicardia y aumento de la presión arterial, y en el sistema respiratorio, donde generan una respiración apnéstica. La ketamina normalmente se utiliza en combinación con un tranquilizante para aumentar la relajación muscular y obtener una recuperación más suave (Booth y McDonald, 1988; Jalanka y Roeken, 1990; Plumb, 1999; McKelvey y Holligshead, 2003).

La medetomidina, al igual que la xilacina, es un agonista α -2 adrenérgico, que actúa estimulando los α -2 adrenoceptores, provocando una disminución de los niveles del

neurotransmisor noradrenalina, liberado en el cerebro, y causando sedación y analgesia, además de la relajación muscular producida por los efectos inhibitorios en el SNC. La administración de medetomidina está asociada a un riesgo de depresión respiratoria y cardiovascular considerable. En felinos, es frecuente observar una hipertensión transitoria seguida de hipotensión. También puede observarse cianosis, debida a la disminución de riego sanguíneo en los tejidos periféricos y un efecto diurético (Jalanka y Roeken, 1990; Plumb, 1999; McKelvey y Holligshead, 2003).

Una de las principales ventajas de la medetomidina es que cuenta con un antagonista específico, el atipamezol, que revierte completamente todos los efectos clínicos de la medetomidina, los perjudiciales (bradicardia) y los beneficiosos (analgesia) (Jalanka y Roeken, 1990; Plumb, 1999; McKelvey y Holligshead, 2003).

Los animales capturados químicamente o sedados suelen presentar una disminución del recuento de eritrocitos, del valor hematocrito y de la concentración de hemoglobina, así como de las proteínas totales, de la concentración de fibrinógeno y de la viscosidad plasmática, debido principalmente a un efecto de hemodilución. La hemodilución se debe a su vez a una expansión del volumen plasmático con líquido extracelular y al secuestro de eritrocitos que se produce en el bazo a causa de la relajación esplénica que producen numerosos tranquilizantes y anestésicos (Cross *et al.*, 1988; Lopez-Olvera *et al.*, 2007).

El isoflurano es un anestésico inhalatorio del grupo de los hidrocarburos halogenados. Su mecanismo de acción parece estar relacionado con la interferencia en la función de las células nerviosas del cerebro, actuando sobre la matriz lipídica de la membrana celular. Una de las mayores ventajas de este fármaco, es la rápida inducción anestésica así como su recuperación. Algunos de los principales efectos que se atribuyen a la administración de isoflurano son la relajación muscular, la hipotensión (secundaria a vasodilatación), y la depresión respiratoria que depende de la dosis (Plumb, 1999).

Los procesos anestésicos alteran los mecanismos normales de la homeostasia, producen pérdidas de líquido que los animales no pueden suplementar y reducen la tasa metabólica. Sin embargo, durante el procedimiento anestésico, el animal continúa produciendo orina, saliva, secreta fluidos en el tracto gastrointestinal, y pierde agua a

través del sistema respiratorio. Por ello, todos los animales sometidos a estos procesos deberían recibir fluidos durante el periodo perioperativo, con el objetivo de mantener un balance de fluidos apropiado que contrarreste los cambios fisiológicos asociados a los anestésicos. Además, la fluidoterapia, supone un acceso rápido a la circulación en caso de que surgiera alguna urgencia en el periodo perioperativo. (DiBartola, 2000b). Las soluciones cristaloides, como el Ringer Lactato, son una buena opción para la fluidoterapia de mantenimiento, ya que contienen electrolitos y solutos capaces de entrar en todos los compartimentos de fluido del cuerpo (DiBartola, 2000a).

En algunos casos, la instauración de la fluidoterapia sin que haya una cirugía invasiva, puede afectar a la concentración de las proteínas plasmáticas y de la hemoglobina, el hematocrito y el recuento de eritrocitos, disminuyendo estos parámetros de forma significativa por un efecto transitorio de hemodilución (Greenfield *et al.*, 1989; Grathwohl *et al.*, 1996; Hahn *et al.*, 1997; Tollofsrud *et al.*, 2001). Este hecho no se produce en todos los casos, y depende del estado inicial de los pacientes (Bjorling y Rawlings, 1983).

Los objetivos de este estudio han sido describir la variación de los parámetros hematológicos producidos en el lince ibérico durante los procesos anestésicos; estudiar si existe un efecto de la edad y el sexo en estos cambios; y determinar el momento óptimo para la obtención de muestras de sangre para su posterior análisis.

3. MATERIAL Y MÉTODOS

3.1. ANIMALES Y MUESTRAS

En el examen sanitario y reproductor realizado durante los meses de noviembre y diciembre del año 2007, se anestesiaron un total de 30 lince ibéricos, de los cuales 24 se han utilizado para el presente trabajo. El grupo de animales del estudio lo han formado 11 machos y 13 hembras, de los cuales 16 son adultos (> 2 años de edad) y 8 son subadultos (entre 1 y 2 años de edad). Estos animales se encuentran en los centros de Cría del Lince Ibérico de El Acebuche (Parque Natural de Doñana; Matalascañas, Huelva; 37°03'03.82'' N 6°33'20.75'' O) (11 animales) y La Olivilla (Santa Elena, Jaén; 38°20'44.21'' N 3°32'48.69'' O) (13 animales).

Los animales se capturaron mediante jaula trampa (19 animales), cerbatana (3 animales) o red (2 animales). El método de captura se seleccionó según la instalación o el carácter del animal. En la captura con jaula trampa, se utilizó una jaula, especialmente diseñada para el manejo de lince en cautividad, similar a una jaula Tomahawk que minimiza la posibilidad de trauma asociado a la captura. Para la captura mediante cerbatana con dardo se utilizó material de la casa Tel-Inject (Vet. Med. Spezialger, Germany) y los disparos se realizaron apuntando el tercio caudal del muslo. Finalmente la captura con red se reservó para los animales más jóvenes, ya que conlleva un mayor riesgo para el personal de ayuda; en este caso se utilizó una red montada en un aro poligonal.

Todos los animales estuvieron en ayuno de sólidos durante 24 horas y de agua durante 12 horas.

Para la anestesia se utilizó la combinación de ketamina hidrocloreto a una dosis de 5,24 mg/Kg -IC95% 4,95 a 5,54- (Imalgene 1000, Rhone Merieux, Lyon, France) con medetomidina a una dosis de 51,31 µg/Kg -IC95% 48,11 a 54,51- (Domtor, Orion Corporation, Turku, Finland), suplementando con isoflurano a razón de 1.5% de isoflurano en un flujo de oxígeno de 2L/minuto, a través de un circuito T-Ayres.

Una vez capturados, se trasladaron a la zona de trabajo de cada centro donde se procedió a la intubación y a la conexión al sistema de anestesia inhalatoria para la administración de oxígeno y de isoflurano (éste tan sólo cuando fue necesario prolongar de la anestesia) y al equipo de monitorización anestésica (VetCare® Multiparamétrico de Braun). A los animales se les registró la presión arterial sistólica (PAS) y la diastólica (PAD) durante el procedimiento anestésico. A los animales, se colocó un sistema de infusión a través del cual se administraba la fluidoterapia por vía intravenosa (Ringer Lactato a razón de 20 ml/Kg/hora mediante un sistema de gotero).

Durante el tiempo de anestesia que osciló entre los 90 y los 120 minutos, se hizo un examen físico completo de los animales, que incluía: peso, recogida de muestras de sangre, orina, pelos, heces y una biopsia de piel. Además, se llevó a cabo un examen exhaustivo del aparato reproductor, que incluyó una ecografía transrectal en las hembras y una serie de cuatro electroeyaculaciones en los machos. Finalmente los animales se vacunaron y se desparasitaron.

De los 24 animales anestesiados se obtuvieron dos muestras de sangre T1 y T2 desde el momento de inyección de la combinación anestésica, a los 20 y a los 60 minutos respectivamente. Las muestras de sangre se extrajeron indistintamente de las venas cefálica o safena, pero siempre de una localización diferente de donde estuviese situado el catéter para fluidoterapia, utilizando una aguja de 21G x 1" (0,80 x 25 mm) acoplada a una de jeringa 10 ml. La sangre se transfirió a un tubo de 2 ml con etilendiaminotetraacético tripotásico (EDTA K₃), debidamente rotulado, y el resto de la sangre se procesó para otros fines. Las muestras de sangre se enviaron por transporte urgente al *Servei d'Hematologia Clínica Veterinària* de la *Facultat de Veterinària* de la *Universitat Autònoma de Barcelona*.

El tiempo transcurrido entre la extracción y el análisis de las muestras fue como máximo de 24 horas, tiempo durante el cual estuvieron debidamente refrigeradas en un contenedor diseñado para el transporte de muestras en frío.

3.2. MÉTODOS

Para el recuento total de células y la determinación de los diferentes índices que hemos evaluado se utilizó un autonalizador hematológico ADVIA 120® (Bayer, Fernwald, Germany) que es un citómetro de flujo que utiliza doble láser y cuyo funcionamiento está basado en una combinación citoquímica, física, química, óptica e informática. La combinación estos métodos, en la mayoría de los parámetros, permite contrastar el mismo valor y hace que los resultados sean más fiables y precisos.

El analizador utiliza diferentes métodos de detección dependiendo del tipo celular. Para obtener los parámetros asociados a los eritrocitos, los reticulocitos y las plaquetas, el láser pasa a través del flujo de la muestra, y la luz se dispersa. A través de unos detectores se recogen 2 señales diferentes, generadas por los ángulos altos y bajos de la luz dispersada, que determinan el volumen y la estructura interna de cada célula, respectivamente.

El análisis de los leucocitos se realiza a través de los métodos de la peroxidada y la basófilo/lobularidad. El primer método consiste en una tinción citoquímica de los leucocitos que permite medir la actividad de esta enzima en las células. El segundo determina el tamaño celular o nuclear, y la configuración nuclear (Bach-Raich *et al.*, 2005).

Se estudiaron los recuentos y los índices de las tres líneas celulares (eritrocitaria, leucocitaria y plaquetar) que el analizador proporciona.

Los parámetros eritrocitarios que se han estudiado han sido: el recuento total de eritrocitos (RBC), la concentración de hemoglobina y el valor hematocrito (PCV), y los índices eritrocitarios que se derivan de estos tres parámetros, volumen corpuscular medio (MCV), concentración media de hemoglobina (MCH) y concentración corpuscular media de hemoglobina (medida por el analizador (CHCM) y calculada (MCHC)). Se obtuvo además, la anchura de distribución de los eritrocitos (RDW) y la anchura de distribución de la hemoglobina (HDW). Finalmente se midió el porcentaje de reticulocitos y su valor absoluto.

Los parámetros leucocitarios estudiados fueron: el recuento total de leucocitos (WBC), obtenido por el método de la peroxidasa (WBCP) y por el de la basolobularidad (WBCB), y el índice de mieloperoxidasa (MPXI). También se realizó el diferencial leucocitario, y se calculó el valor absoluto de cada una de las poblaciones: neutrófilos, linfocitos, eosinófilos, basófilos y aquellas células, que por sus características morfológicas y de tinción, el analizador no clasifica en ninguna de las poblaciones anteriores, LUC.

Los parámetros plaquetares estudiados fueron: recuento total de plaquetas (PLT), plaquetocrito (PCT), el volumen plaquetar medio (MPV), la anchura de distribución de las plaquetas (PDW), el componente plaquetar medio (MPC) y su anchura de distribución (PCDW), y la masa plaquetar media (MPM) y su anchura de distribución (PMDW).

La concentración de proteínas plasmáticas se obtuvo por refractometría (Portable Refractometer, Shibuya, Japan).

3.3. ESTUDIO ESTADÍSTICO

El estudio estadístico para la comparación de los valores hematológicos, en las muestras de sangre obtenidos en los dos tiempos, considerando todo el grupo, y los subgrupos formados según el sexo y la edad, se realizó mediante el paquete estadístico SPSS (Versión 15.0.1 para Windows, 2006). Se comprobó la distribución de los datos en todo el grupo y subgrupos (edad y sexo) mediante el test de Shapiro-Wilk. Cuando los parámetros seguían una distribución normal se realizó una prueba t de comparación de medias para medidas relacionadas. Cuando la distribución de las muestras no seguía una distribución normal se consideró una distribución binomial y se realizó la prueba de los signos para la comparación de medidas relacionadas.

4. RESULTADOS

Las tablas 1, 2 y 3 reflejan los valores obtenidos, para la serie eritrocitaria, leucocitaria y plaquetar, respectivamente, en todo el grupo y en los subgrupos según el sexo y la edad. La tabla 1 presenta los resultados obtenidos para los parámetros de la serie eritrocitaria y las proteínas plasmáticas. Hemos encontrado diferencias estadísticamente significativas entre T1 y T2 en los siguientes parámetros: RBC, hemoglobina, PCV, reticulocitos (porcentaje y valor absoluto) y concentración de proteínas plasmáticas. En el grupo de subadultos también hemos encontrado diferencias significativas para el RDW y el HDW.

Tabla 1: Valores obtenidos para la serie eritrocitaria y proteínas plasmáticas, a los 20 minutos (T1) y a los 60 minutos (T2) para la media (desviación estándar).

		Grupo (N = 24)	Sexo		Edad	
			Machos (N = 11)	Hembras (N = 13)	Adultos (N = 16)	Subadultos (N = 8)
RBC ($\times 10^6$ cells/ μ L)	T1	9,78 (1,45)*	10,06 (1,47)*	9,50 (1,43)*	9,43 (1,78)*	10,13 (1,08)*
	T2	8,32 (0,96)*	8,77 (0,71)*	7,87 (0,99)*	8,65 (0,91)*	7,95 (0,98)*
Hemoglobina (g/dL)	T1	14,62 (1,74)*	14,78 (2,15)*	14,45 (1,28)*	14,67 (1,79)*	14,76 (1,76)*
	T2	11,83 (1,34)*	12,76 (0,91)*	10,90 (1,01)*	12,04 (1,29)*	11,53 (1,44)*
PCV (%)	T1	43,96 (5,61)*	44,58 (6,52)*	43,33 (4,74)*	42,58 (6,49)*	45,80 (4,64)*
	T2	37,42 (4,62)*	38,75 (2,22)*	36,08 (5,99)*	39,42 (4,60)*	35,30 (4,00)*
MCV (fL)	T1	48,90 (1,37)	48,91 (1,23)	48,89 (1,54)	49,08 (1,50)	48,60 (1,36)
	T2	48,79 (1,62)	49,00 (1,30)	48,58 (1,93)	49,21 (1,74)	48,27 (1,56)
MCH (pg)	T1	15,12 (2,03)	14,77 (1,62)	15,47 (2,39)	15,88 (2,57)	14,55 (0,53)
	T2	14,24 (0,93)	14,54 (0,44)	13,93 (1,19)	13,95 (1,19)	14,49 (0,46)
MCHC (g/dL)	T1	30,88 (3,51)	30,18 (2,83)	31,58 (4,09)	32,27 (4,36)	29,94 (0,46)
	T2	29,23 (2,18)	29,71 (0,94)	28,75 (2,92)	28,45 (2,92)	30,01 (0,24)
CHCM (g/dL)	T1	28,96 (1,04)	29,28 (0,96)	28,63 (1,05)	28,77 (1,43)	29,10 (0,39)
	T2	28,90 (1,09)	29,05 (1,09)	28,75 (1,11)	28,60 (1,45)	29,09 (0,37)
RDW (%)	T1	15,22 (0,58)	15,23 (0,55)	15,22 (0,64)	15,21 (0,56)	15,29 (0,64)*
	T2	15,20 (0,64)	15,17 (0,58)	15,23 (0,71)	15,28 (0,66)	15,15 (0,64)*
HDW (g/dL)	T1	2,11 (0,19)	2,17 (0,24)	2,05 (0,10)	2,18 (0,24)	2,02 (0,07)*
	T2	2,10 (0,33)	2,12 (0,35)	2,09 (0,32)	2,26 (0,42)	1,94 (0,06)*
Reticulocitos ($\times 10^9$ cells/L)	T1	39,80 (26,55)*	31,58 (19,64)*	48,03 (30,67)*	30,27 (15,83)*	55,63 (31,31)*
	T2	17,97 (10,54)*	17,10 (10,05)*	18,83 (11,38)*	18,93 (9,07)*	18,86 (12,56)*
Reticulocitos (%)	T1	0,40 (0,26)*	0,31 (0,18)*	0,49 (0,30)*	0,32 (0,13)*	0,55 (0,32)*
	T2	0,22 (0,12)*	0,19 (0,09)*	0,24 (0,15)*	0,21 (0,08)*	0,25 (0,16)*
Proteínas Plasmáticas (g/dl)	T1	8,26 (0,86)*	8,30 (1,07)*	8,22 (0,64)*	8,09 (1,01)*	8,40 (0,74)*
	T2	7,50 (0,59)*	7,70 (0,44)*	7,30 (0,66)*	7,55 (0,56)*	7,36 (0,66)*

*Diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$) entre T1 y T2

El porcentaje de variación encontrado entre los tiempos T1 y T2, en el grupo de 24 animales, ha sido del 15% para el RBC y el PCV, del 19% para la hemoglobina y del 9% para las proteínas plasmáticas.

Los resultados de los parámetros estudiados de la serie leucocitaria se muestran en la tabla 2. Exceptuando el grupo de subadultos, que presenta diferencias significativas para el porcentaje de neutrófilos y para el porcentaje de linfocitos, no se han encontrado diferencias estadísticamente significativas para el resto de valores en ninguno de los grupos.

Tabla 2: Valores de la serie leucocitaria, obtenidos a los 20 minutos (T1) y a los 60 minutos (T2), en el grupo de los 24 animales del estudio.

		Grupo (N = 24)	Sexo		Edad	
			Machos (N = 11)	Hembras (N = 13)	Adultos (N = 16)	Subadultos (N = 8)
WBCP (x10³ cells/μL)	T1	6,46 (2,81)	7,23 (2,86)	5,68 (2,66)	7,03 (2,46)	5,14 (1,31)
	T2	6,81 (2,82)	7,19 (2,42)	6,42 (3,24)	7,12 (2,95)	5,65 (1,93)
WBCB (x10³ cells/μL)	T1	6,62 (2,96)	7,47 (2,86)	5,77 (2,93)	7,22 (2,41)	5,08 (1,57)
	T2	6,94 (2,93)	7,32 (2,36)	6,57 (3,47)	71,15 (14,90)	5,72 (2,06)
Neutrófilos (%)	T1	72,12 (13,52)	75,38 (13,39)	68,85 (13,40)	72,52 (13,85)	69,98 (11,33)*
	T2	74,90 (12,29)	75,29 (13,65)	74,51 (11,36)	23,72 (13,71)	74,39 (8,86)*
Linfocitos (%)	T1	22,99 (12,35)	20,45 (12,96)	25,53 (11,71)	21,83 (10,93)	25,07 (10,30)*
	T2	20,21 (9,78)	19,70 (10,88)	20,72 (9,01)	2,28 (,70)	21,27 (6,46)*
Monocitos (%)	T1	2,28 (0,72)	2,17 (0,63)	2,39 (0,81)	2,49 (1,00)	2,24 (0,83)
	T2	2,37 (0,84)	2,48 (0,96)	2,26 (0,73)	2,56 (3,10)	2,25 (0,71)
Eosinófilos (%)	T1	2,35 (2,91)	1,76 (2,87)	2,93 (2,94)	2,97 (2,99)	2,48 (2,99)
	T2	2,32 (2,80)	2,35 (3,14)	2,29 (2,57)	0,23 (0,11)	1,90 (2,78)
Basófilos (%)	T1	0,20 (0,11)	0,19 (0,10)	0,22 (0,12)	0,17 (0,10)	0,19 (0,12)
	T2	0,14 (0,08)	0,15 (0,09)	0,13 (0,08)	0,08 (0,05)	0,12 (0,06)
LUC (%)	T1	0,06 (0,06)	0,05 (0,05)	0,07 (0,07)	0,07 (0,08)	0,02 (0,04)
	T2	0,07 (0,09)	0,05 (0,07)	0,09 (0,10)	5,38 (2,96)	0,05 (0,07)
Neutrófilos (x10³ cells/μL)	T1	5,02 (2,89)	5,89 (2,81)	4,16 (2,82)	5,45 (2,48)	3,60 (1,36)
	T2	5,38 (2,83)	5,68 (2,35)	5,09 (3,32)	1,38 (0,41)	4,32 (1,75)
Linfocitos (x10³ cells/μL)	T1	1,27 (0,44)	1,26 (0,43)	1,28 (0,47)	1,40 (0,51)	1,21 (0,48)
	T2	1,25 (0,54)	1,30 (0,58)	1,19 (0,52)	0,16 (0,06)	1,17 (0,51)
Monocitos (x10³ cells/μL)	T1	0,15 (0,08)	0,16 (0,07)	0,15 (0,10)	0,17 (0,08)	0,12 (0,07)
	T2	0,16 (0,07)	0,17 (0,07)	0,14 (0,07)	0,18 (0,24)	0,12 (0,06)
Eosinófilos (x10³ cells/μL)	T1	0,15 (0,21)	0,14 (0,24)	0,16 (0,19)	0,20 (0,23)	0,14 (0,21)
	T2	0,15 (0,18)	0,16 (0,24)	0,13 (0,12)	0,02 (0,01)	0,10 (0,13)
Basófilos (x10³ cells/μL)	T1	0,01 (0,01)	0,02 (0,01)	0,01 (0,01)	0,01 (0,01)	0,01 (0,01)
	T2	0,01 (0,01)	0,01 (0,01)	0,01(0,01)	0,00 (0,00)	0,01 (0,01)
LUC (x10³ cells/μL)	T1	0,00 (0,01)	0,00 (0,01)	0,00 (0,01)	0,00 (0,01)	0,00 (0,00)
	T2	0,01 (0,01)	0,00 (0,01)	0,01 (0,01)	12,30 (2,45)	0,00 (0,00)
MPXI	T1	11,37 (3,06)	11,16 (3,31)	11,58 (2,93)	12,96 (2,94)	10,65 (3,69)
	T2	11,95 (3,52)	10,57 (3,02)	13,33 (3,55)	7,03 (2,46)	11,10 (4,19)

* Diferencias estadísticamente significativas (p<0.05) entre T1 y T2

La tabla 3 presenta los valores obtenidos para la serie plaquetar. En todos los grupos hemos hallado diferencias estadísticamente significativas para el parámetro que indica agregación plaquetar.

Tabla 3: Valores de la serie plaquetar, obtenidos a los 20 minutos (T1) y a los 60 minutos (T2), en el grupo de los 24 animales del estudio.

		Grupo (N = 24)	Sexo		Edad	
			Machos (N = 11)	Hembras (N = 13)	Adultos (N = 16)	Subadultos (N = 8)
Plaquetas (x10E03 cells/μL)	T1	312,25 (46,07)	306,42 (41,48)	318,08 (51,41)	316,25 (36,63)	303,60 (56,18)
	T2	315,75 (77,85)	299,17 (69,54)	332,33 (85,07)	319,00 (100,95)	304,90 (48,38)
PCT (%)	T1	0,39 (0,09)	0,38 (0,10)	0,40 (0,07)	0,41 (0,10)	0,36 (0,06)
	T2	0,41 (0,17)	0,38 (0,15)	0,44 (0,20)	0,46 (0,23)	0,35 (0,05)
MPV (fL)	T1	12,47 (1,80)	12,24 (1,91)	12,69 (1,74)	12,94 (2,21)	12,22 (1,16)
	T2	12,74 (3,20)	12,65 (3,08)	12,83 (3,45)	13,96 (4,04)	11,68 (1,43)
PDW (%)	T1	70,15 (7,71)	67,21 (7,19)	73,10 (7,32)*	72,20 (9,21)	68,78 (5,82)*
	T2	66,28 (7,69)	65,00 (8,46)	67,57 (6,96)*	67,98 (9,20)	65,08 (6,12)*
MPC (g/dL)	T1	20,27 (1,52)	20,18 (1,28)	20,36 (1,79)	20,77 (1,11)	19,53 (1,77)
	T2	20,31 (1,25)	20,18 (1,16)	20,43 (1,37)	20,48 (1,32)	19,96 (1,05)
PCDW (g/dL)	T1	4,67 (0,24)	4,73 (0,24)	4,62 (0,24)	4,62 (0,19)	4,72 (0,31)
	T2	4,59 (0,32)	4,64 (0,20)	4,53 (0,40)	4,65 (0,33)	4,53 (0,33)
MPM (pg)	T1	2,13 (0,17)	2,12 (0,15)	2,14 (0,19)	2,20 (0,15)	2,05 (0,17)
	T2	2,15 (0,25)	2,15 (0,23)	2,16 (0,28)	2,25 (0,28)	2,06 (0,20)
PMDW (pg)	T1	0,97 (0,09)	0,94 (0,08)	0,99 (0,09)	0,98 (0,10)	0,95 (0,07)
	T2	0,96 (0,13)	0,95 (0,12)	0,97 (0,15)	1,00 (0,16)	0,91 (0,10)
Macroplaquetas (x10E03 cells/μL)	T1	21,63 (16,74)	19,08 (18,66)	24,17 (14,96)	27,00 (21,70)	17,40 (7,32)*
	T2	26,04 (32,84)	22,75 (28,51)	29,33 (37,65)	39,00 (43,10)	13,70 (5,86)*
Agregados plaquetares	T1	676,71 (390,40)*	729,50 (447,64)*	623,92 (335,03)*	739,08 (461,42)*	676,30 (303,86)*
	T2	501,21 (239,60)*	581,75 (247,69)*	420,67 (211,03)*	533,00 (243,80)*	478,70 (242,13)*

*Diferencias estadísticamente significativas (p<0.05) entre T1 y T2

El análisis de los datos según el sexo ha mostrado tan solo diferencias estadísticamente significativas en el grupo de las hembras para el PDW no encontradas en el grupo de los machos. Cuando se ha comparado según la edad, en el grupo de subadultos también se obtienen diferencias para el PDW, además del valor de las macroplaquetas.

Finalmente en el gráfico 1 se presentan las líneas de tendencia de la presión arterial diastólica (PAD) y de la presión arterial sistólica (PAS).

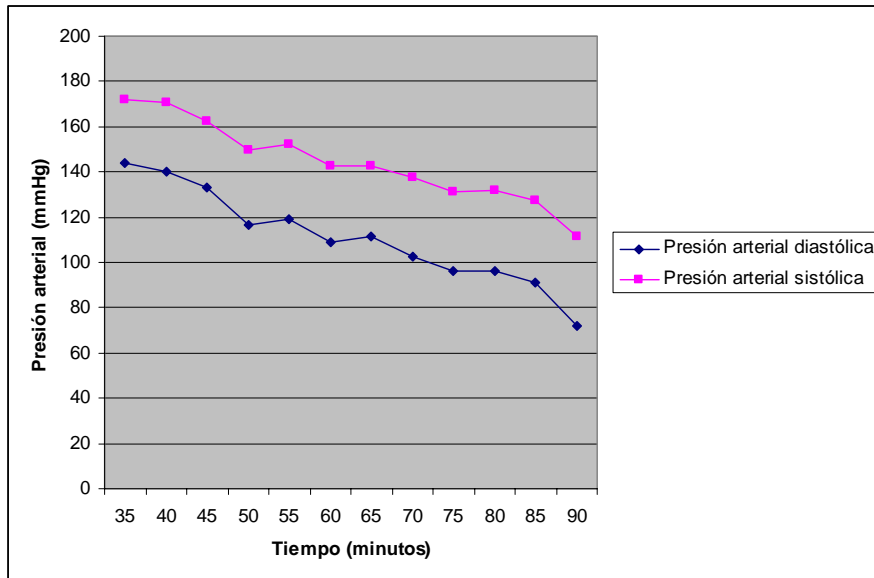


Gráfico 1: Línea de tendencia de la presión arterial diastólica (PAD) y sistólica PAS

5. DISCUSIÓN

La variación en los parámetros sanguíneos debida a la respuesta de estrés por captura ha sido descrita previamente en numerosos estudios (Fuller *et al.*, 1985; Chapple *et al.*, 1991; White *et al.*, 1991; Marco *et al.*, 1997; Montane *et al.*, 2003; López-Olvera *et al.*, 2006). Debido a este hecho, para poder comparar y utilizar los valores hematológicos en animales salvajes se debería considerar el método de captura y los procedimientos posteriores que se llevan a cabo en los animales (Wesson *et al.*, 1979; Alan Kocan *et al.*, 1981).

En nuestro estudio, en la mayoría de los casos, el método de captura utilizado ha sido el físico, que comparado con los métodos de captura química, producen una mayor respuesta de estrés (Ryser *et al.*, 2005). En la respuesta de estrés agudo, los cambios que se desarrollan en la serie leucocitaria se caracterizan por leucocitosis con neutrofilia y linfocitosis. En la serie eritrocitaria, se produce un aumento del valor hematocrito, del recuento total de eritrocitos y de la concentración de hemoglobina. Estos cambios se deben a la acción de las catecolaminas sobre los receptores α -adrenérgicos (Cross *et al.*, 1988; Chapple *et al.*, 1991). En nuestro trabajo sin duda, se ha desencadenado esta respuesta, que no podemos valorar, al no poder contar con una muestra de sangre inicial, previa al proceso anestésico.

El efecto de las catecolaminas tiene una duración de entre 20 y 30 minutos, tras los cuales se produce el efecto de los corticosteroides, caracterizado por una leucocitosis con neutrofilia, linfopenia y eosinopenia. En los gatos hay una menor expresión de los receptores de los glucocorticoides en los tejidos (McDonald y Langston, 1995; Feldman y Nelson, 1996; Day, 2002), cosa que podría explicar el hecho de que no hayamos encontrado diferencias en la serie leucocitaria.

En la serie eritrocitaria hemos observado un descenso del recuento de eritrocitos, de la concentración de hemoglobina, del PCV y de la concentración de hemoglobina. Este descenso podría explicarse por los efectos secundarios de los anestésicos y por la fluidoterapia administrada.

La disminución de los principales parámetros eritrocitarios como efecto de los anestésicos, ha sido descrita previamente por otros autores, tanto en ungulados como en carnívoros salvajes (Cross *et al.*, 1988; Jalanka, 1988; Jalanka, 1989; Greth *et al.*, 1993). Este descenso se ha relacionado con un secuestro de eritrocitos en el bazo por un efecto adrenolítico de la medetomidina (Jalanka y Roeken, 1990), lo que produce una disminución de la masa celular circulante, disminuyendo los valores de los parámetros eritrocitarios (Cross *et al.*, 1988; Lopez-Olvera *et al.*, 2007). En un estudio realizado por Wilson *et al.* (2004) se describe como el bazo aumenta de forma significativa de tamaño cuando se utiliza la combinación medetomidina y ketamina-diazepam, como protocolo anestésico. Este aumento se relaciona con el efecto vasorrelajante de la ketamina y con el efecto sinérgico que se produce con la administración conjunta de la medetomidina y la ketamina.

La administración de medetomidina también tiene un claro efecto sobre el sistema cardiovascular. En diversos estudios (Dobromylskyj, 1996; Langan *et al.*, 2000; Ranheim *et al.*, 2000) se describe una hipertensión inicial, que más tarde se convierte en hipotensión. Este efecto se debe principalmente a la acción del fármaco sobre los receptores α_2 -adrenérgicos. Se conocen tres factores responsables de esta respuesta bifásica; inicialmente se produce una activación de los α_2 -adrenoceptores en el músculo liso vascular, responsable de la fase inicial y transitoria de hipertensión, seguido de la activación de los α_2 -adrenoceptores del tronco cerebral, que conlleva una reducción del tono simpático y la consiguiente disminución de la presión sanguínea y el desarrollo de bradicardia; finalmente, hay una estimulación de los α_2 -adrenoceptores de las terminaciones simpáticas que inervan las células del músculo liso de los vasos, un efecto que aumenta el efecto hipotensor, por la estimulación central de los α_2 -adrenoceptores (Guimaraes y Moura, 2001).

En nuestro estudio, la hipertensión inicial no se pudo corroborar puesto que no dispusimos de los datos de la monitorización anestésica hasta el minuto 35. Sin embargo en la gráfica 1 se observa una disminución de la presión arterial, sistólica y diastólica, durante todo el tiempo registrado. El movimiento de líquido al espacio intravascular, que se deriva de la hipotensión por la activación del sistema renina-angiotensina-aldosterona (Cunningham, 2003), podría también haber contribuido en la disminución de los principales parámetros eritrocitarios y de la concentración de

proteínas. La activación de este sistema también se desencadena con la vasodilatación producida por la acción del isoflurano sobre los receptores β (Plumb, 1999; Cunningham, 2003). En nuestro estudio no todos los animales habían recibido isoflurano en el momento de la extracción de la segunda muestra de sangre, y por tanto no podemos valorar el efecto de este fármaco con precisión.

La fluidoterapia administrada es el otro factor que podría haber contribuido a la disminución del RBC, el PCV, la concentración de hemoglobina y la concentración de proteínas plasmáticas. En medicina humana se han realizado varios estudios (Greenfield *et al.*, 1989; Grathwohl *et al.*, 1996; Hahn *et al.*, 1997; Lobo *et al.*, 2001) con el fin de valorar la cinética del volumen infundido durante la fluidoterapia, y el grado de dilución de los componentes del espacio intravascular. En el estudio de Hahn *et al.* (1997) se concluyó que las soluciones cristaloides tienen una rápida distribución al espacio intersticial, y que el volumen retenido en el espacio intravascular, pasados 30 minutos desde la infusión, es del 15%. El autor de este trabajo propone una tasa de fluidoterapia de mantenimiento de 36 ml/kg/h durante 20 minutos, seguido de 15 ml/kg/h para aumentar el volumen sanguíneo, como máximo, hasta un 5%. Los estudios realizados en animales también indican una rápida distribución de la solución de Ringer Lactato al espacio extravascular, junto con un cierto grado de hemodilución. En el estudio llevado a cabo por Tollofsrud *et al.* (2001) en ovejas normovolémicas, la infusión de Ringer Lactato a razón de 25 ml/kg/h redujo la concentración de hemoglobina una media de 1.5 g/dL durante el tiempo de infusión (60 minutos); se concluyó que en el espacio intravascular permanecía un volumen inferior al 20%.

Estos dos trabajos se ajustarían al nuestro, en referencia a la velocidad de infusión, que fue de 20 ml/kg hora, y según lo descrito no explicarían la disminución de nuestros valores: si consideramos un peso de 10 kg y una anestesia de 1 hora de duración, se habría infundido un volumen aproximado de 200 ml; siguiendo la cinética descrita en estos estudio, pasados 30 minutos el volumen intravascular residual de los líquidos infundidos sería de entre 30 y 40 ml, que sobre un volumen total de sangre de 550 ml no justificarían el grado de “hemodilución” observado (en felinos el volumen estimado de sangre en litros es el producto entre 0.55 y el peso corporal (DiBartola, 2000a)). El efecto negativo de la fluidoterapia en los parámetros eritrocitarios se describe en todos los trabajos mencionados y coincide con los resultados obtenidos en nuestra

investigación, si bien, la magnitud de variación de nuestros valores es mucho más marcada (disminución del 15% para el RBC y el PCV y del 19% para la concentración de hemoglobina).

En el grupo de lince subadultos, además de las diferencias entre los dos tiempos para todo el grupo, ya mencionadas, se observa un aumento significativo en el porcentaje neutrófilos, junto con una disminución en el porcentaje de linfocitos. La respuesta de estrés depende, en gran medida, de la experiencia previa del animal, es decir del aprendizaje asociativo (permite establecer las relaciones causales y llegar a predecir el efecto de los cambios) y del aprendizaje operante (permite controlar los cambios) (Levine, 1985; Wiepkema, 1987). Los animales de nuestro estudio son animales cautivos; probablemente, los animales subadultos, por tener una menor edad y llevar menos tiempo en los centros de cría, estén menos acostumbrados a las capturas y al manejo por parte del personal, y por tanto, en este grupo se desencadena una mayor respuesta de estrés.

Por otro lado, en algunos trabajos (Ranheim *et al.*, 2000; Ebner *et al.*, 2007) se describen diferencias en la respuesta a los fármacos debidas a la edad. En el estudio de Ebner *et al.* (2007) realizado en gatos, se observó que en los animales jóvenes era necesaria una dosis mayor de la combinación midazolán-medetomidina-ketamina para conseguir el efecto de sedación deseado. El autor, atribuía la diferencia al metabolismo más rápido y al nivel de hormonas reproductoras más elevado de los animales más jóvenes. Estos dos factores, una mayor respuesta de estrés y las diferencias en la respuesta a los fármacos, explicarían las diferencias que hemos hallado en el grupo de subadultos.

6. CONCLUSIONES

1. La respuesta de estrés por captura, seguida de un proceso anestésico con la combinación de medetomidina-ketamina, y la administración intravenosa de fluidoterapia, produce una disminución marcada de los principales parámetros de la serie eritrocitaria (RBC, concentración de hemoglobina, PCV y concentración de proteínas plasmáticas).
2. La población de individuos subadultos es la que muestra mayor número de cambios en los parámetros sanguíneos estudiados, lo que puede obedecer a una mayor respuesta de estrés por captura.
3. Debido a las modificaciones observadas durante la anestesia, en los parámetros sanguíneos estudiados, para obtener resultados clínicamente comparables se debería unificar el momento de recogida de sangre.

7. BIBLIOGRAFIA

Bach-Raich, E.; Mesalles, M.; Ferreira, A.C.; Lavin, S.; Cuenca, R. y Pastor, J. (2005). Haematologic changes between Iberian lynx (*Lynx pardinus*) naturally infected with *Cytauxzoon felis* and not infected using a flow cytometer laser analyser (ADVIA 120). Preliminary results. *Workshop on lynx veterinary issues*. Parque Natural de Doñana, Huelva.

Bjorling, D. E. y Rawlings, C. A. (1983). Relationship of intravenous administration of Ringer's Lactate solution to pulmonary edema in halothane-anesthetized cats. *American Journal of Veterinary Research*, 44:1000-1006.

Booth, N. H. y McDonald, L.E. (1988). Intravenous and other parenteral anesthetics. En: *Veterinary Pharmacology and Therapeutics*. 6th edition. Iowa state university press. Ames, Iowa. pp. 252-260.

Cattet, M. R.; Caulkett, N. A.; Polischuk, S. C. y Ramsay M. A. (1997). Reversible immobilization of free-ranging polar bears with medetomidine-zolazepam-tiletamine and atipamezole. *Journal of Wildlife Diseases*, 33:611-617.

Caulkett, N. A. y Cattet, N. A. (1997). Physiological effects of medetomidine-zolazepam-tiletamine immobilization in black bears. *Journal of Wildlife Diseases*, 33:618-622.

Chapple, R. S.; English, A. W.; Mulley, R. C. y Lephherd E. E. (1991). Hematology and serum biochemistry of captive unsedated chital deer (*Axis axis*) in australia. *Journal of Wildlife Diseases*, 27:396-406.

Cross, J. P.; Mackintosh, C. G. y Griffin, J. F. (1988). Effect of physical restraint and xylazine sedation on haematological values in red deer (*Cervus elaphus*). *Research in Veterinary Science*, 45:281-286.

Cunningham, J. G. (2003). *Fisiología veterinaria*. 3ª edición. W. B. Saunders Company y Elsevier Imprint. Madrid, España.

Day, m. J. (2002). Glucocorticosteroids and antihistamines. En: Maddison, J. S., *Small animal clinical pharmacology*. W. B. Saunders Company. Philadelphia, Pennsylvania. pp. 223-232.

DiBartola, S. (2000a). Introduction to fluid therapy. En: *Fluid therapy in small animal practice*. 2nd edition. W. B. Saunders Company. Philadelphia, Pennsylvania. pp. 265-280.

----- (2000b). Perioperative management of fluid therapy En: *Fluid therapy in small animal practice*. 2nd edition. W. B. Saunders Company. Philadelphia, Pennsylvania. pp. 307-329.

Dobromylskyj, P. (1996). Cardiovascular changes associated with anaesthesia induced by medetomidine combined with ketamine in cats. *The Journal of Small Animal Practice*, 37:169-172.

Ebner, J.; Wehr, U.; Busch, R.; Erhardt, W. y Henke, J. (2007). A comparative clinical study of three different dosages of intramuscular midazolam-medetomidine-ketamine immobilization in cats. *Journal of Veterinary Medicine. A. Physiology, Pathology, Clinical Medicine*, 54:418-423.

Feldman, E. C. y Nelson, R. W. (1996). Hyperadrenocorticism in cats. En: *Canine and feline endocrinology and reproduction*. 2nd edition W. B. Saunders Company. Philadelphia, Pennsylvania. pp. 256-261.

Fowler, M. E. (1995). Restrain and handling of wild and domestic animals. En: *Zoo and wild animal medicine*. 2nd edition. Iowa state university press. Ames, Iowa. pp. 38-50.

Fuller, T. K.; Kerr, K. D. y Karns, P. D. (1985). Hematology and serum chemistry of bobcats in northcentral minnesota. *Journal of Wildlife Diseases*, 21:29-32.

Ganong, W. F. (1998). *Fisiología médica*. 19ª edición. El manual moderno S. A. de C. V. Santafé de Bogotá, México D. F.

Grathwohl, K. W.; Bruns, B. J.; Lebrun, C. J.; Ohno, A. K.; Dillard, T. A. y Cushner, H. M. (1996). Does hemodilution exist? Effects of saline infusion on hematologic parameters in euvoletic subjects. *Southern Medical Journal*, 89:51-55.

Greenfield, R. H.; Bessen, H. A. y Henneman, P. L. (1989). Effect of crystalloid infusion on hematocrit and intravascular volume in healthy, nonbleeding subjects. *Annals of Emergency Medicine*, 18:51-55.

Greth, A.; Vassart, M. y Anagariyah, S. (1993). Evaluation of medetomidine-induced immobilization in Arabian oryx (*Oryx leucorx*): clinical, hematologic and biochemical effects. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, 24:445-453.

Guimaraes, S. y Moura, D. (2001). Vascular adrenoceptors: an update. *Pharmacological Reviews*, 53:319-356.

Guyton, A. C. y Hall J. E. (2000). *Textbook of medical physiology*. 10th edition. W. B. Saunders Company. Philadelphia, Pennsylvania.

Hahn, R. G.; Drobin, D. y Stahle, L. (1997). Volume kinetics of Ringer's solution in female volunteers. *British Journal of Anaesthesia*, 78:144-148.

Jain, N. C. (1993). *Essentials of veterinary hematology*. Lea and Febiger. Philadelphia, Pennsylvania.

Jalanka, H. H. (1988). Evaluation of medetomidine- and ketamine- induced immobilization in markhors (*Capra falconeri megaceros*) and its reversal by atipamezol. *Journal of Zoo Animal Medicine*, 19:95-105.

----- 1989. Medetomidine- and medetomidine-ketamine-induced immobilization of snow leopards (*Panthera uncia*): doses, evaluation, and reversal by atipamezole. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, 20:154-162.

Jalanka, H. H. y Roeken, B. (1990). The use of medetomidine, medetomidine-ketamine combinations, and atipamezol in nondomestic mammals: a review. *Journal of Zoo Animal Medicine*, 21:259-282.

Kagan, A. R. y Levi, L. (1974). Health and environment - psychosocial stimuli - review. *Social Science and Medicine*, 8:225-241.

Kocan, A. A.; Glenn, B. L.; Thedford, T. R.; Doyle, R.; Waldrup, K.; Kubat, G. y Shaw, M.G. (1981). Effects of chemical immobilization on hematologic and serum chemical values in captive white-tailed deer. *Journal of the American Veterinary Medicine Association*, 179:1153-1156.

Kolbe, J. A.; Squires, J. R. y Parker, T. W. (2003). An effective box trap for capturing lynx, *Wildlife Society Bulletin*. 31:980-985.

Langan, J. N.; Schumacher, J.; Pollock, C.; Orosz, S. E.; Jones, M. P. y Harvey, R. C. (2000). Cardiopulmonary and anesthetic effects of medetomidine-ketamine-butorphanol and antagonism with atipamezole in servals (*Felis serval*), *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*. 31:329-334.

Levine, S. (1985). A definition of stress? En: animal stress. Waverly press. Baltimore.

Lewandowski, A. H.; Bonar, C. J. y Evans, S. E. (2002). Tiletamine-zolazepam, ketamine, and xylazine anesthesia of captive cheetah (*Acinonyx jubatus*), *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*. 33:332-336

Lobo, D. N., Stanga, Z.; Simpson, J. A.; Anderson, J. A.; Rowlands, B. J. y Allison, S. P. (2001). Dilution and redistribution effects of rapid 2-litre infusions of 0.9% (w/v) saline and 5% (w/v) dextrose on haematological parameters and serum biochemistry in normal subjects: a double-blind crossover study. *Clinical Science*, 101:173-179.

Lopez-Olvera, J. R.; Marco, I.; Montane, J.; Casas-Diaz, E. y Lavin, S. (2007). Effects of acepromazine on the stress response in southern chamois (*Rupicapra pyrenaica*) captured by means of drive-nets. *Canadian Journal of Veterinary Research*, 71:41-51.

-----; -----; ----- y Lavin, S. (2006). Haematological and serum biochemical values of southern chamois (*Rupicapra pyrenaica*). *Veterinary record* 158:479-484.

Marco, I.; Viñas, L.; Velarde, R.; Pastor, J. y Lavín, S. (1997). Effects of capture and transport on blood parameters in free-ranging mouflon (*Ovis ammon*). *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, 28:428-433.

Martínez, F. (2007). Inmovilización reversible en el lince ibérico (*Lynx pardinus*) con la combinación ketamina y medetomidina. Trabajo de Investigación. UAB, Barcelona, España.

Mcdonald, R. K. y Langston, V. C. (1995). Use of corticosteroids and nonsteroidal antiinflammatory agents. En: Textbook of veterinary internal medicine. 4th edition. W. B. Saunders Company. Philadelphia, Pennsylvania. pp 284-293.

Mckelvey, D. y Holligshead, K. W. (2003). Manual de anestesia y analgesia veterinaria. Multimédica ediciones veterinarias. Sant Cugat del Vallès, España.

Meltzer, D. G. A. (1999). Medical management of a cheetah breeding facility in South Africa. En: Zoo and Wild Animal Medicine: Current Therapy 4. W. B. Saunders Company. Philadelphia, Pennsylvania. pp. 415–435.

Montane, J.; Marco, I.; Lopez-Olvera, J.; Perpignan, D.; Manteca, X. y Lavin, S. (2003). Effects of acepromazine on capture stress in roe deer (*Capreolus capreolus*). *Journal of Wildlife Diseases*, 39:375-386.

Nybakk, K.; Kjoerstad, M.; Overskaug, K.; Kvam, T.; Linnell, J.; Andersen, R. y Berntsen, F. (1996). Experiences with live-capture and radio collaring of lynx (*Lynx lynx*) in Norway. *Fauna Norvegica, Series A*, 17:17-26.

Perez, J. M.; Gonzalez, F. J.; Granados, J. E.; Perez, M. C.; Fandos, P.; Soriguer, R. C. y Serrano, E. (2003). Hematologic and biochemical reference intervals for Spanish ibex. *Journal of Wildlife Diseases*, 39:209-215.

Plumb, D. C. (1999). *Veterinary drug handbook*. 3th edition. Iowa state university press. Ames, Iowa.

Ranheim, B.; Horsberg, T. E.; Soli, N. E.; Ryeng, K. A. y Arnemo, J. M. (2000). The effects of medetomidine and its reversal with atipamezole on plasma glucose, cortisol and noradrenaline in cattle and sheep. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 23:379-387.

Ryser, A.; Scholl, M.; Zwahlen, M.; Oetliker, M.; Ryser-Degiorgis, M. C. y Breitenmoser, U. (2005). A remote-controlled teleinjection system for the low-stress capture of large mammals. *Wildlife Society Bulletin*, 33:721-730.

Tollofsrud, S.; Elgjo, S. I.; Prough, D. S.; Williams, C. A.; Traber, D. L. y Kramer, G. C. (2001). The dynamics of vascular volume and fluid shifts of lactated Ringer's solution and hypertonic-saline-dextran solutions infused in normovolemic sheep. *Anesthesia and Analgesia*, 93:823-831.

Vargas, A.; Rivas, T.; Klink, L. D. y Perez-Ayla, J. M. (2004) Web del programa de conservación ex-situ del lince ibérico: <http://www.lynxexsitu.es>

Verde Arribas, M. T. y Gascón Pérez, M. (1987). Mecanismo de estrés en animales domésticos. *Medicina Veterinaria*, 4:455-464.

Wesson, J. A.; Scalon, P. F., Kirpatrick, R. L. y Mosby, H. S. (1979). Influence of chemical immobilization and physical restraint on packed cell volume, total protein, glucose, and blood urea nitrogen in blood of white-tailed deer. *Canadian Journal of Zoology*, 57:756-767.

White, J.; Kreeger, T. J.; Seal, U. S. y Tester, J. R.. (1991). Pathological responses of red foxes to capture in box traps. *The Journal of Wildlife Management*, 55:75-80.

Wiepkema, P. R. (1987). Behavioural aspects of stress. En: *Biology of stress in farm animals: an integrative approach*. Martines nihjoff publishers. Dordrecht, Holanda. pp. 113-133.

Wilson, D. V.; Evans, A. T.; Carpenter, R. A. y Mullineaux, D. R. (2004). The effect of four anesthetic protocols on splenic size in dogs. *Veterinary Anaesthesia and Analgesia*, 31:102-108.

Wolkers, H.; Wensing, T. y Schonewille, J. T. (1994). Effect of undernutrition on haematological and serum biochemical characteristics in red deer (*Cervus elaphus*). *Canadian Journal of Zoology*, 72:1291-1296.