

Modelos animales de dolor

J.A. Micó y A. Ortega-Álvarez

Grupo de Investigación en Farmacología y Neurociencias (CTS-510). Departamento de Neurociencias (Farmacología y Psiquiatría). Facultad de Medicina. Universidad de Cádiz. Cádiz. España.

Introducción

Los modelos animales de dolor han permitido que la investigación básica haya generado una gran cantidad de información en lo referente al conocimiento del sistema nociceptivo. Debido a la complejidad del dolor en el ser humano, es muy difícil elaborar un modelo que pueda valorar sus diferentes aspectos. Por ello, los modelos suelen estudiar aspectos concretos y muy específicos en una gran variedad de condiciones experimentales. También hay que tener en cuenta que nuestra incapacidad para conocer las sensaciones del animal de experimentación nos lleva a estudiar sus reacciones a diversos tipos de estimulación nociceptiva. Es por ello que Zimmerman¹ adaptó la definición de dolor de la Asociación Internacional para el Estudio del Dolor (IASP) (disponible en: <http://www.iasp-pain.org>) para que se pudiera aplicar a los animales. Así, el dolor en animales sería “una experiencia sensorial aversiva causada por una lesión real o potencial que produce reacciones motoras y vegetativas progresivas, desencadena un comportamiento aprendido de evitación y puede modificar comportamientos específicos de la especie, incluyendo los sociales”.

A partir de esta definición, se pueden entender los modelos animales de dolor como un medio imprescindible para el estudio del dolor. En este sentido, un modelo de dolor es el procedimiento por el cual se valora la reacción de un animal a un estímulo nocivo de naturaleza variada o situación patológica inducida y que se puede utilizar en circunstancias fisiológicas o patológicas. Sin embargo, es necesario tener una visión crítica de los modelos, ya que en el animal valoramos fundamentalmente la dimensión somática de la respuesta nociceptiva a un estímulo nocivo, mientras que no podemos valorar la di-

mensión afectivo-emocional inherente al dolor en el ser humano y probablemente en los animales. Conociendo sus ventajas y sus inconvenientes, llegaremos a una mejor interpretación de los resultados obtenidos.

Modelos de dolor agudo y crónico

La búsqueda de nuevos tratamientos para el alivio del dolor y de los mecanismos íntimos subyacentes justifica la utilización de los modelos animales de dolor. Bajo el epígrafe de modelos de dolor agudo encuadramos fundamentalmente los modelos que utilizan un estímulo físico o químico que tienen como objetivo determinar una latencia de respuesta del animal a dicho estímulo y tienen un desarrollo temporal breve. Entre ellos tenemos el test de la placa caliente (*hot plate test*), el de retirada de la cola (*tail flick test*) y el de inmersión de la cola en agua caliente (*tail immersion test*), que usan un estímulo térmico; el test de presión de la pata (*paw pressure test*) o de la cola (*tail pressure test*) en la rata, que usan un estímulo mecánico; el test de estimulación eléctrica de la cola (*electric stimulation of the tail*), que usa un estímulo eléctrico; el test del ácido acético (*abdominal constriction test*) y el test de la formalina (*formalin test*) (valoración de la primera fase), que usan un estímulo químico. Utilizando estos modelos, objetivamos el umbral nociceptivo del animal, de manera que los parámetros determinados son consecuencia del mecanismo clásico del dolor como reflejo dentro de un marco fisiológico. Por ello, es posible que ofrezcan poca información sobre la efectividad de un fármaco en una situación patológica en la que se producen cambios en la forma de procesar la información nociceptiva. Por eso es posible que las valoraciones que hacemos del umbral nociceptivo con estos modelos en las situaciones patológicas no sean comparables o vayan en la misma dirección que las realizadas en animales sanos.

Cuando se usan en el animal sano, es indudable que estos modelos detectan el efecto analgésico de los fármacos, pero eso no significa que ese fármaco vaya a ser efectivo en diferentes situaciones experimentales e incluso clínicas. Por ello se sigue utilizando para el cribado de fármacos analgésicos.

Realizado en el marco del proyecto FIS PI-031430.

Correspondencia: Dr. J.A. Micó.
Departamento de Neurociencias. Facultad de Medicina.
Universidad de Cádiz.
Pl. Fragela, 9. 11003 Cádiz. España.
Correo electrónico: juanantonio.mico@uca.es

En estos modelos de dolor agudo² se requiere que los estímulos nocivos utilizados tengan unas características concretas para conseguir unos resultados homogéneos y fiables. Así, para los estímulos térmicos se consiguen mejores resultados cuando la fuente de calor se concentra en una pequeña zona de la piel y se mantiene una temperatura corporal adecuada en los animales utilizados^{3,4}. En general, para todos los tipos de estímulos nocivos podemos entender que la respuesta varía en función de la intensidad y la duración de la estimulación. Un caso especial se presenta con los estímulos químicos, ya que producen una estimulación lenta que el animal no puede evitar, como sucede en los modelos térmicos, mecánicos o eléctricos. Por ello, para evitar un excesivo sufrimiento de los animales, se los sacrifica una vez realizado el test correspondiente.

Por otra parte, es necesario que los modelos de dolor crónico sean algo más que una prolongación del dolor agudo. Para ello es necesario inducir una lesión, bien inflamatoria, bien neural, que dé lugar a la aparición de una situación patológica que nos ofrezca la posibilidad de objetivar el dolor en el animal. La lesión inflamatoria localizada en articulaciones puede ofrecer un modelo intermedio entre agudo y crónico, mientras que la inducción de artritis generalizada con adyuvante de Freund es un modelo crónico. Sin embargo, los investigadores no realizan una medición sistemática de los comportamientos espontáneos que señalen una estimulación nociceptiva continua cuando utilizan estos modelos de dolor crónico⁵. La práctica generalizada es la utilización de los modelos agudos de dolor en animales que presentan estos tipos de lesión.

Entre los modelos de inflamación localizada, tenemos el test de la formalina, que está a caballo entre los modelos agudos y los crónicos. En este test, la primera fase refleja un dolor nociceptivo debido a la irritación química de la formalina subcutánea y su segunda fase, un dolor de origen inflamatorio. Se puede valorar desde un parámetro postural que comprende diferentes posiciones protectoras de la extremidad afectada, pasando por un trabajo activo para aliviarlo, como puede ser el lamido de la zona afectada, o un parámetro reflejo, como son las sacudidas de la extremidad. Uno de los inconvenientes técnicos de este test es que tiene un período de observación de 1 h por cada animal y requiere del investigador gran concentración y paciencia. Por ello se han realizado intentos de mecanizar esta tarea mediante una valoración computarizada, bien midiendo el grado de agitación global durante el período de observación⁶, bien realizando un análisis de los comportamientos nociceptivos y de la actividad motriz mediante el procesamiento de las imágenes registradas por una cámara de video⁷. En otros modelos inflamatorios, al utilizar los modelos agudos, sobre todo térmicos y mecánicos, detectamos hiperalgesia o alodinia. Para ello sólo cambiamos la intensidad del estímulo de carácter nocivo en la

primera a inocuo en la segunda. La hiperalgesia se caracteriza por una respuesta nociceptiva exagerada ante un estímulo nocivo y la alodinia por una respuesta nociceptiva ante un estímulo inocuo.

En el caso de la lesión nerviosa, los modelos que mediante la sección de los nervios inducían la aparición de comportamientos de automutilación de las extremidades han caído en desuso por motivos éticos, y quedan restringidos a estudios del neuroma de amputación. Esto también ha desarrollado una línea de modelos basados en lesiones nerviosas de menor magnitud, como son las ligaduras flojas del nervio ciático o de raíces posteriores a nivel lumbar. Entre los problemas técnicos de estas ligaduras está conseguir la presión adecuada que no anule el trofismo del nervio, ya que se puede aumentar el grado de lesión nerviosa y llegar hasta la automutilación. También se puede tener un modelo de neuropatía difusa tras la inducción de diabetes por inyección de estreptozotocina en la rata. Otro hecho a tener en cuenta es que en estos modelos hay que esperar un promedio de 2 semanas para poder objetivar las alteraciones del umbral nociceptivo.

Estos signos "clínicos" de difícil valoración por el experimentador podrían ser monitorizados mediante análisis automatizado. Entre ellos podemos encontrar signos posturales como la inmovilidad, la protección del área afectada o posturas anormales, modificaciones motrices como cambios en la actividad espontánea, la retirada de miembros, el salto o la flacidez, la rigidez o la debilidad muscular, que se podría analizar mediante cuantificación del movimiento o reconocimiento de forma por imagen de vídeo. Se podría determinar mediante telemetría las modificaciones vegetativas como la taquicardia, los cambios en la presión arterial, la polipnea y las modificaciones de la temperatura corporal. El aumento de la automatización de los test utilizados supondría una mejora de la objetividad de la medición, la disminución de las interacciones entre el animal y el experimentador que inducen cambios en el comportamiento del animal y el acoplamiento de la medición, tanto de los comportamientos relacionados con el dolor como de otros comportamientos, entre otras ventajas⁸.

En los últimos años, la utilización de ratones *knockout* ha irrumpido con fuerza en el estudio tanto de la nocicepción como de las bases genéticas del comportamiento⁹. De hecho, en los últimos 5 años, se han publicado más de 300 artículos que responden a la búsqueda simple en MEDLINE de los términos "*knockout*" y "*pain*". Un *knockout* es un animal modificado genéticamente al que se elimina un gen que codifica una proteína específica que puede participar como segundo mensajero o como receptor de uno de los sistemas de neurotransmisión. En este sentido, es útil para comprobar la participación de neurotransmisores, enzimas, segundos mensajeros y receptores específicos en los mecanismos de la

nocicepción; sin embargo, no lo es para demostrar el efecto analgésico de nuevos fármacos.

A la hora de utilizar los modelos de dolor y en función de nuestro objetivo principal, podemos concluir que al valorar los resultados es necesario tener claro en qué circunstancias (fisiológicas o patológicas) se ha realizado el modelo, si éste es el adecuado para estudiar el efecto buscado, si se ha realizado la técnica de forma adecuada y si se han seguido las guías éticas que recomienda la IASP.

Consideraciones éticas para el estudio del dolor en modelos animales

Las investigaciones en dolor deben realizarse siguiendo las líneas que marca el Comité para la Investigación y la Ética de la IASP¹⁰ en lo concerniente a los aspectos éticos de los experimentos que implican dolor o sufrimiento de los animales. Por ello, las investigaciones con modelos de dolor tienen que tener una adecuada planificación con la intención de minimizar el sufrimiento del animal, ya que el animal no es un objeto para explotar, sino un ser vivo.

Surge así la necesidad de la creación de comités éticos para la experimentación, ya que los protocolos experimentales a desarrollar en animales conscientes deben ser revisados previamente para valorar los posibles beneficios que pueden producir. La Sociedad Española para las Ciencias del Animal de Laboratorio (SECAL)

(disponible en: <http://www.secal.es>) también tiene unos principios éticos para la investigación y docencia con modelos animales, que están en consonancia con los anteriormente descritos. Y además nos recuerda que en España la protección de los animales utilizados para experimentación y otros fines científicos está regulada por diferentes disposiciones legislativas autonómicas, ya que el Real Decreto 223/1988 de 14 de marzo fue derogado. Esta información está disponible en: <http://www.secal.es/pages/leg-aut.htm>

Bibliografía

1. Zimmermann M. Behavioural investigations of pain in animals. En: Duncan IJH, Molony Y, editores. *Assessing pain in farm animals*. Bruxelles: Office for Official Publications of the European Communities; 1986. p. 16-29.
2. Le Bars D, Gozariu M, Cadden SW. Animal models of nociception. *Pharmacol Rev*. 2001;53:597-652.
3. Han JS, Ren MF. The importance of monitoring tail-skin temperature in measuring tail-flick latency. *Pain*. 1991;46:117.
4. Berge OG, García-Cabrera I, Hole K. Response latencies in the tail-flick test depend on tail skin temperature. *Neurosci Lett*. 1988;86:284-8.
5. Mogil JS, Crager SE. What should we be measuring in behavioral studies of chronic pain in animals? *Pain*. 2004;112:12-5.
6. Jett MF, Michelson S. The formalin test in rat: validation of an automated system. *Pain*. 1996;64:19-25.
7. Jourdan D, Ardid D, Bardin L, Bardin M, Neuzeret D, Lanphouthacoul L, et al. A new automated method of pain scoring in the formalin test in rats. *Pain*. 1997;71:265-70.
8. Jourdan D, Ardid D, Eschalié A. Automated behavioural analysis in animal pain studies. *Pharmacol Res*. 2001;43:103-10.
9. Anagnostopoulos AV, Mobraaten LE, Sharp JJ, Davisson MT. Transgenic and knockout databases: behavioral profiles of mouse mutants. *Physiol Behav*. 2001;73:675-89.
10. IASP. Ethical guidelines for investigations of experimental pain in conscious animals. *Pain*. 1980;16:109-10.