

¿Se necesitan modelos animales en el estudio del dolor?

M.I. MARTÍN FONTELLES, A. BAGÜÉS ARIAS Y C. GOICOECHEA GARCÍA

RESUMEN

La experimentación con animales, que el hombre utilizaba ya en la antigüedad, ha evolucionado extraordinariamente a lo largo de la historia y, en la actualidad, está sometida a una estricta regulación, con el fin de conseguir el bienestar de los animales y mejorar la calidad experimental.

Inicialmente, para el estudio del dolor, se evaluaban las respuestas agudas ante los estímulos. Posteriormente, el desarrollo de modelos de dolor, que pretendían reproducir la enfermedad aproximándose más a la clínica, supuso un gran avance. En la actualidad, la investigación básica se sirve tanto de modelos de dolor como de nocicepción, algunos de ellos muy utilizados también en la clínica.

Aunque con los modelos de dolor no se puede reproducir totalmente la complejidad del dolor humano, gracias a estos se han podido obtener grandes avances, como el desarrollo de nuevos fármacos; además, permiten ahondar en los mecanismos fisiopatológicos del dolor, lo que favorecerá el desarrollo de nuevas dianas terapéuticas. Básica y clínica no son dos aspectos independientes de la investigación, sino que deben avanzar de la mano para conseguir el desarrollo de una investigación más traslacional y, por tanto, grandes avances en el tratamiento del dolor.

Palabras clave: Modelos animales. Nocicepción. Dolor. Investigación traslacional.

ABSTRACT

Since ancient history, man has used experimental animals and this usage has evolved dramatically. Today it is strictly regulated, not only to assure animal welfare but also to improve the experimental quality.

Initially, to study pain, acute responses to stimuli were evaluated. Subsequently, the development of pain models resulted in a great breakthrough as with these models, the pathology or at least part of it can be reproduced, getting closer to the clinic. At the moment, basic research uses both pain and nociceptive models; some of these are also being frequently used in the clinic.

Although with basic research it is impossible to totally reproduce the complexity of human pain, thanks to basic research important progress has been possible (such as the development of new drugs) and allows further understanding of the mechanisms of pain, which will permit the development of new therapeutic approaches. So, basic and clinical research are not independent aspects of research; they must progress together to obtain a more translational research and, in turn, progress in the treatment of pain. (DOLOR. 2016;31:53-6)

Corresponding author: Carlos Goicoechea, carlos.goicoechea@urjc.es

Key words: Animal models. Pain. Nociception. Translational research.

Área de Farmacología y Nutrición, Departamento de Ciencias Básicas de la Salud, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Rey Juan Carlos; Unidad Asociada al Instituto de Química Médica (IQM) y al Instituto de Investigación en Ciencias de la Alimentación (CIAL), CSIC; Grupo de Excelencia Investigadora URJC-Banco de Santander-Grupo Multidisciplinar de Investigación y Tratamiento del Dolor (i+DOL)

Dirección para correspondencia:

Carlos Goicoechea
Farmacología y Nutrición
Facultad de Ciencias de la Salud
Universidad Rey Juan Carlos
Avda. Atenas, s/n
28922 Alcorcón, Madrid
E-mail: carlos.goicoechea@urjc.es

¿Se parece un ratón a un paciente con dolor? ¿Realmente se puede obtener de un modelo animal información adecuada para el abordaje del dolor? ¿Tiene sentido invertir cantidades muy importantes de tiempo y dinero en estudiar los efectos de sustancias potencialmente analgésicas en organismos biológicos tan alejados del ser humano? La respuesta a estas preguntas es la misma: sí.

En el siglo VI a.C., Alcmeón de Crotona, gracias a disecciones efectuadas en cadáveres humanos y animales, propuso que el cerebro era el órgano central de las sensaciones. Quizás fuera uno de los primeros investigadores en entender la importancia de la observación y la disección para entender los procesos biológicos. Sin duda, durante siglos la observación fue fundamental para el estudio de la anatomía y del funcionamiento del cuerpo humano en general (¿quién no recuerda los impresionantes trabajos de Vesalio o Leonardo da Vinci, entre otros cientos?), pero fueron François Magendie y sobre todo su discípulo Claude Bernard los primeros en entender que la experimentación animal era fundamental para el avance de la medicina. Bernard manifestó: «¿Cómo puede decirnos la forma de una célula hepática qué hace con el azúcar?»¹. Para Bernard la observación es útil para postular una hipótesis, pero esta posteriormente debe ser refrendada o refutada mediante la elaboración de un experimento que permita extraer conclusiones. De esta forma se sentaron las bases del método científico y la medicina experimental.

En la actualidad, sería imposible llevar a cabo muchas de las técnicas empleadas por Bernard. Su desprecio hacia los animales le generó muchos problemas (entre otros, la separación de su mujer), y en la actualidad el respeto y el cuidado hacia los animales de laboratorio están respaldados no solo por los convencimientos éticos, sino también por leyes y reglamentos de obligado cumplimiento en los centros de investigación. Sirva como ejemplo la ley de bienestar animal (Ley 32/2007, de 7 de noviembre, para el cuidado de los animales, en su explotación, transporte, experimentación y sacrificio, BOE núm. 268 de 8 de noviembre de 2007), en la que se mencionan específicamente las condiciones en que debe llevarse a cabo la experimentación con animales de laboratorio, así como los requisitos y la formación que deben poseer los investigadores. El concepto de las «tres erres»² (*replacement, reduction, and refinement*, es decir, «reemplazar, reducir y refinar») se ha impuesto en todos los laboratorios que trabajan con animales de experimentación y obliga a valorar y reevaluar

constantemente las necesidades y posibilidades de cada experimento que se realiza, muy especialmente en el caso de los enfocados al estudio del dolor.

Las «tres erres» no solo están dirigidas a valorar el uso de animales de laboratorio, sino también, intrínsecamente, la calidad y la utilidad de los estudios (refinar). Para que un experimento con animales sea válido, para que permita extraer conclusiones aplicables a los humanos, los estudios de conducta deben cumplir ciertas características³:

- Especificidad: en el experimento se debe analizar una única característica; no es lo mismo estudiar estrés que ansiedad o dolor y, en general, deben evitarse situaciones en las que puedan confluir.
- Sensibilidad: se debe seleccionar una variable fácilmente cuantificable (más allá del sí/no, presente/ausente) y que, en la medida de lo posible, pueda «graduarse» y cuantificarse numéricamente.
- Validación: la variable a estudiar, la respuesta del animal, ha de poder asociarse de forma exclusiva con el estímulo aplicado, para poder diferenciar la conducta propia del animal de la producida por el estímulo; por ejemplo, no es lo mismo el lamido de las patas delanteras que el atusamiento facial.
- Fiabilidad: la repetición del mismo experimento, en las mismas condiciones, debe conducir a la misma respuesta en el animal. Es importante comprobar que la exposición repetida no produce alteraciones ni lesiones.
- Reproducción: un mismo experimento, llevado a cabo en distintos laboratorios, bajo las mismas condiciones, debería producir siempre los mismos resultados.

Estas condiciones, aunque siempre se buscan, raramente suelen coincidir todas en un mismo modelo animal. De hecho, podría incluso argumentarse que se alejan de la situación clínica que intentan ayudar a interpretar. En este sentido, es importante diferenciar entre los distintos modelos animales y los objetivos a cumplir con cada uno de ellos.

El primer matiz a abordar a este respecto consiste en las diferencias entre modelo de nocicepción y modelos de dolor. Al hablar de modelos nos referimos siempre a simulaciones que intentan reflejar en animales lo que sucede en el paciente. Desde el punto

de visto histórico, la primera aproximación al dolor experimental se produjo mediante el desarrollo de modelos de nocicepción, es decir, valoración de respuestas reflejas a estímulos nocivos. En 1941 D'Amour y Smith idearon un sistema para valorar las respuestas espinales a estímulos nociceptivos calentando la cola de un ratón con un foco de luz de 30 W; este sistema se denominó test de retirada de la cola, o *tail flick test*⁴. Después se desarrollaron otros sistemas, como el test de la placa caliente, o *hot plate test*⁵, que consiste en la colocación del animal en una plancha mantenida a una temperatura constante de 55 °C, o el test de presión de la pata⁶, entre otros.

En la actualidad, estos sistemas de valoración nociceptiva se emplean en las primeras fases del estudio de fármacos analgésicos y como medida de la validez de los modelos animales de dolor crónico. Los más empleados, por su similitud con los sistemas utilizados en la investigación clínica, son la respuesta a estímulos nocivos en la planta de la pata (*plantar test*) y el test de la alodinia mecánica mediante filamentos de Von Frey. El test de estimulación plantar, una variante del test de la placa caliente, consiste en aplicar una fuente de luz calorífica directamente en un punto de la superficie ventral de la pata de la rata para valorar el tiempo que esta tarda en realizar una conducta de evitación. Este tiempo se toma como valor de respuesta basal y se puede comparar con el que se obtiene después de la administración de un analgésico o tras la realización de un modelo de dolor crónico.

La introducción del uso de filamentos de Von Frey para la valoración de la alodinia mecánica en animales es relativamente reciente, puesto que hasta finales del siglo pasado no existían modelos que provocaran la aparición de alodinia. En la actualidad es el sistema preferido para comprobar si un modelo de dolor crónico refleja de forma adecuada los cambios que se producen en situaciones de dolor crónico en humanos. Generalmente los filamentos se aplican en la superficie ventral de la pata de la rata y, de nuevo, se valora la presión que se debe ejercer con el filamento hasta lograr una conducta de retirada.

Un cambio radical en el estudio del dolor experimental se produjo con la irrupción de los modelos animales de dolor. Mientras que los tests de nocicepción valoran las respuestas agudas a estímulos nocivos, para el estudio del dolor crónico se han desarrollado nuevos modelos, de mayor

duración, más próximos a la situación clínica. Estos modelos, más actuales, y que se describirán en esta monografía, pretenden comprender los cambios plásticos que el dolor crónico provoca en el organismo. Además, en estos modelos de dolor crónico se valoran respuestas más integradas, no únicamente reflejos, sino conductas «operantes», indicativas del nivel de «calidad de vida» de los animales tratados. La finalidad de esta monografía no es describir detalladamente cada uno de estos modelos, sino ofrecer una visión de conjunto de cómo se estudian en el laboratorio los distintos tipos de dolor crónico y qué información se puede obtener de cada modelo.

El refinamiento de estos modelos animales de dolor es creciente, sin duda, en un intento de responder a los requerimientos de la experiencia clínica, pero nunca llegarán a corresponderse con el nivel de complejidad que el dolor alcanza en los pacientes. *No brain, no pain* («Sin cerebro no hay dolor»), dicen los anglosajones, y evidentemente el dolor es más que vías nociceptivas y respuestas a estímulos. Los animales no tienen las experiencias vitales de los pacientes con dolor crónico, y se necesitan aún muchos esfuerzos para aproximarse a las situaciones reales (el ejemplo del paciente con dolor es una mujer de edad avanzada, pero los estudios con hembras y animales viejos son muy escasos, por ejemplo).

A pesar de sus limitaciones, gracias a los modelos animales se han podido desarrollar nuevos fármacos analgésicos o combinaciones de fármacos, y están por llegar muchos más. Se han identificado efectos adversos que han permitido prever la respuesta que estos fármacos producirán en los pacientes (tal vez el rigor de las agencias reguladoras sobre los efectos secundarios de algunos de estos fármacos también haya tenido que ver con la escasez de nuevos compuestos analgésicos, pero esta sería una cuestión a debatir en otro lugar). Se ha avanzado en el conocimiento de los procesos de cronificación y sensibilización del dolor, se han caracterizado nuevos receptores (receptores ASIC, TRPV, purinérgicos...) y nuevas rutas metabólicas (el importante papel de los mediadores lipídicos), se ha descrito la participación de sistemas (sistema inmune) y células (células gliales), cuyo lugar en el dolor crónico no se había caracterizado previamente, e incluso se ha demostrado el papel de la epigenética en la cronificación del dolor. Se trata de avances imposibles de imaginar sin la existencia de estos modelos, cuya repercusión en la clínica no puede ser tan inmediata como se desearía, pero que abre

nuevas puertas al conocimiento y al desarrollo farmacológico.

Sin duda, la comunicación entre «básicos» y «clínicos» (el desarrollo real de la investigación traslacional) tiene que ser la piedra angular del próximo salto cualitativo en la investigación del dolor en el animal del laboratorio. La confirmación, o refutación, de hipótesis extraídas de la observación clínica, el método experimental de Claude Bernard, en suma, es el principal objetivo y la razón para el empleo de estos modelos animales, lo cual no es poco, ¿verdad?

BIBLIOGRAFÍA

1. Bernard C. Introduction à l'étude de la médecine expérimentale. París: Flammarion; 1984. p. 161.
2. Russell WMS, Burch RL. The Principles of Humane Experimental Technique. Londres: Methuen & Co. Ltd.; 1959. [Internet] Disponible en: http://altweb.jhsph.edu/pubs/books/humane_exp/foreword.
3. Le Bars D, Gozariu M, Cadden SW. Animal models of nociception. *Pharmacol Rev.* 2001;53(4):597-652.
4. D'Amour FE, Smith DL. A method for determining loss of pain sensation. *J Pharmacol Exp Ther.* 1941;72:74-9.
5. Woolfe G, MacDonald AL. The evaluation of the analgesic action of pethidine hydrochloride (Demerol). *J Pharmacol Exp Ther.* 1944;80:300-7.
6. Randall LO, Selitto JJ. A method for measurement of analgesic activity on inflamed tissue. *Arch Int Pharmacodyn Ther.* 1957;111(4):409-19.