

Modelos animales de dolor crónico oncológico

E. SÁNCHEZ-ROBLES, R. GIRÓN MORENO Y D. PASCUAL SERRANO

RESUMEN

La mayoría de los pacientes que sufren cáncer presentan como síntoma más común dolor crónico; este dolor puede aparecer debido a la propia naturaleza de la enfermedad, la invasión del tumor a otros tejidos adyacentes, la compresión de nervios y la neuropatía inducida por la quimioterapia. El tratamiento del dolor es uno de los grandes retos en el ámbito oncológico, ya que, aunque existen diferentes tratamientos disponibles, muchos tienen limitaciones relacionadas con su baja eficacia o los efectos adversos que producen. La necesidad de descifrar y comprender los mecanismos fisiopatológicos implicados en el inicio y mantenimiento de este dolor ha impulsado el desarrollo de modelos animales de dolor oncológico. Estos modelos animales pueden clasificarse en: dolor por cáncer óseo, dolor por cáncer no óseo y dolor inducido por la quimioterapia. Todos ellos permiten identificar nuevas dianas farmacológicas con el fin de diseñar y desarrollar nuevos tratamientos analgésicos, más eficaces y con menos efectos adversos.

Palabras clave: Dolor oncológico. Modelo animal. Rata. Antitumorales. Dolor óseo.

ABSTRACT

Most patients suffering from cancer have chronic pain as the most common symptom. This pain can occur due to the nature of the disease, tumor invasion to adjacent tissue, nerve compression, and chemotherapy induced neuropathy. The treatment of cancer pain is one of the major challenges in oncology because, although there are different treatments available, they have limitations due to low efficacy or adverse effects. The need to decipher and understand the pathophysiological mechanisms involved in the onset and maintenance of this pain has prompted the development of animal models of cancer pain. These animal models can be classified into bone cancer pain; non-bone cancer pain, and pain induced by chemotherapy. They allow to identify new drug targets in order to design and develop new analgesics that are more effective and with fewer side effects. (DOLOR. 2016;31:64-9)

Corresponding author: Eva Sánchez-Robles, eva.sanchez@urjc.es

Key words: Cancer pain. Animal model. Rat. Antineoplastic drugs. Bone pain.

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) del CSIC; Grupo de Excelencia Investigadora URJC-Banco de Santander-Grupo Multidisciplinar de Investigación y Tratamiento del Dolor (i+DOL)

Dirección para correspondencia:

Eva Sánchez-Robles
Farmacología y Nutrición
Facultad de Ciencias de la Salud
Universidad Rey Juan Carlos
Avda. Atenas, s/n
28922 Alcorcón, Madrid
E-mail: eva.sanchez@urjc.es

INTRODUCCIÓN

Actualmente, el diagnóstico precoz del cáncer, el tratamiento antineoplásico y el desarrollo de nuevas terapias han contribuido a aumentar la tasa de supervivencia de los pacientes oncológicos. A pesar de ello, aproximadamente el 70-90% de los pacientes con un proceso tumoral avanzado experimentan dolor¹. El dolor crónico es el síntoma más común e incapacitante que pueden sufrir estos pacientes, y su mal control supone una interferencia en la actividad diaria del paciente y una disminución significativa de su calidad de vida.

El dolor oncológico presenta diferentes orígenes: el tumor puede invadir y comprimir los tejidos adyacentes, como el óseo, el vascular o el nervioso, o puede producir una obstrucción intestinal o la infiltración de las vísceras huecas. Estas situaciones generan dolor, el cual es sumamente complejo debido a que en su desarrollo participan mecanismos tan diversos como los inflamatorios, los neuropáticos, los compresivos y los isquémicos. Por otro lado, el tratamiento quimioterápico puede dañar los nervios periféricos, originando alteraciones en la sensibilidad y dolor neuropático. Todos estos orígenes convierten el dolor oncológico en un dolor único y diferente a otros tipos de dolor crónico.

La terapia analgésica para tratar el dolor oncológico se basa en la escalera analgésica de la Organización Mundial de la Salud (OMS)², que incluye el uso de opioides, antiinflamatorios no esteroideos, corticoides, anestésicos locales, antidepresivos y anticonvulsivantes, solos o en combinación. Aunque el arsenal terapéutico es muy amplio, en muchas ocasiones estos fármacos no son eficaces o producen muchos efectos adversos que limitan la calidad de vida del paciente. La investigación de nuevas dianas farmacológicas y el desarrollo de nuevos tratamientos analgésicos son primordiales para poder ayudar a los pacientes a combatir el dolor y mejorar su bienestar psicológico y social.

Los modelos animales de dolor oncológico ofrecen la posibilidad de estudiar y comprender los mecanismos moleculares, bioquímicos y neurobiológicos que generan y mantienen este tipo de dolor, lo cual es necesario para el desarrollo de nuevas terapias farmacológicas. En los últimos años se han desarrollado modelos de dolor oncológico en roedores, que pueden clasificarse en varias categorías: dolor por cáncer óseo, dolor por cáncer no óseo y neuropatía periférica inducida por quimioterapia.

MODELOS ANIMALES DE DOLOR POR CÁNCER ÓSEO

El dolor por cáncer óseo es el más frecuente en pacientes con cáncer avanzado, ya que los tumores más comunes (mama, próstata, pulmón) metastatizan al hueso. Los primeros modelos animales para estudiar el dolor oncológico fueron modelos de tumores primarios y de metástasis de hueso.

La mayoría de estos modelos se basan en la inoculación intraósea de células tumorales en ratones o ratas³. Existen diferentes líneas celulares, que condicionan la elección de la cepa del animal, ya que esta ha de ser histocompatible con la línea celular con el fin de evitar un rechazo o de que no se desarrolle el tumor. La inoculación intraósea permite controlar a lo largo del tiempo la localización y el crecimiento del tumor. Los huesos que más frecuentemente se utilizan son los de las extremidades (fémur, tibia, calcáneo y húmero), lo cual permite medir el dolor en el animal valorando su locomoción y sus umbrales nociceptivos a diferentes estímulos térmicos y mecánicos aplicados en las patas. El primer modelo descrito se desarrolló mediante la inoculación de células de fibrosarcoma en el fémur del ratón⁴; la característica de este modelo es que las células están confinadas en la médula ósea y no invaden los tejidos adyacentes. Después de la administración, el animal presenta tanto dolor espontáneo como dolor asociado al movimiento, que se intensifica a medida que las células proliferan y el tumor crece. Estas conductas se correlacionan con la destrucción progresiva del hueso, lo cual se asemeja a la situación de los pacientes con cáncer óseo primario o metastásico. Entre las conductas que se pueden valorar en el animal figuran la vocalización, la protección de la pata afectada y la alodinia mecánica. Además de estos cambios comportamentales, se producen cambios en el asta dorsal de la médula espinal, con proliferación de astrocitos y sobreexpresión de sustancias pronociceptivas (interleucinas 1 y 6 y factor de necrosis tumoral α), que, al igual que ocurre en el dolor neuropático, contribuyen a la generación y mantenimiento del dolor⁵.

A partir de este modelo se han desarrollado otros que han utilizado diferentes líneas celulares (melanoma, mama, próstata e hígado), inoculadas en diferentes huesos y cepas de animales^{6,7}. Los modelos de administración de células tumorales en el hueso calcáneo de ratón muestran más ventajas a la hora de cuantificar la hiperalgesia, acceder al tumor para medir la

Tabla 1. Modelos animales de dolor por cáncer no óseo

Modelo	Tipo de cáncer	Localización
Ratón (transgénico)	Páncreas	Páncreas
Rata (Fischer)	Carcinoma de células escamosas	Encías
Ratón (Icr-scid)	Carcinomatosis peritoneal	Abdomen
Ratón (BALB/c)	Fibrosarcoma	Nervio ciático

liberación de mediadores nociceptivos y registrar la actividad electrofisiológica de los nervios que inervan el tumor⁸.

Los modelos de inoculación de células tumorales dentro del hueso son más sencillos de realizar en ratas que en ratones, debido al tamaño del hueso, pero los modelos de ratón ofrecen una ventaja: se puede desarrollar un tumor en un ratón *knock-out* o transgénico que sobreexpresa o infraexpresa determinadas proteínas cuya posible participación en el dolor oncológico se quiera estudiar.

Los mecanismos de desarrollo del dolor tumoral son diferentes según la especie animal, el tipo de tumor y la localización de que se trate. La elección de un modelo u otro dependerá de la investigación que llevemos a cabo y del mecanismo que queramos estudiar más concretamente. Por otra parte, estos modelos pueden guiar a la hora de buscar nuevas terapias para tratar el dolor y el remodelado óseo, asociado al cáncer o a la metástasis de hueso⁷.

MODELOS ANIMALES DE DOLOR POR CÁNCER NO ÓSEO

Los modelos experimentales de dolor por cáncer no óseo son muy diversos (Tabla 1) e incluyen modelos de dolor por cáncer de páncreas, cáncer orofacial y carcinomatosis peritoneal, entre otros; todos ellos reflejan el dolor originado por la invasión del tumor de los nervios periféricos.

El adenocarcinoma pancreático es el tipo de cáncer que presenta mayor mortalidad, y en la mayoría de los pacientes los síntomas iniciales son muy imprecisos y pasan inadvertidos, por lo que la enfermedad es difícil de detectar y cuando se diagnostica el cáncer se encuentra en un avanzado estado de desarrollo; el manejo del dolor supone un desafío en la mejora de la calidad de vida de los supervivientes.

El primer modelo de cáncer de páncreas se desarrolló en ratones transgénicos que desarrollaban el cáncer de forma espontánea⁹. Este modelo define bien los

cambios patológicos que tienen lugar en las etapas iniciales de la enfermedad y que derivan en dolor en las etapas más avanzadas. Los animales presentan signos nociceptivos de dolor visceral (plegamiento y vocalización por palpación en la zona pancreática) en tres etapas distintas: temprana, intermedia y avanzada. Desde las 6 hasta las 21 semanas de edad, cuando los signos nociceptivos son máximos, se han descrito cambios celulares que justifican el dolor: incremento de la densidad microvascular, de los macrófagos que expresan el factor de crecimiento nervioso y de la densidad de las fibras sensoriales y simpáticas que inervan el páncreas. El patrón de dolor que presentan los ratones es muy parecido al de los humanos: posición de encogimiento o retraimiento cuando se tumban para evitar el dolor exacerbado.

El carcinoma de células escamosas aparece en algunos tipos de cáncer, como el orofacial o el de cabeza y cuello¹⁰, y presenta una morbilidad y mortalidad significativas. Esta enfermedad puede surgir en cualquier epitelio del organismo, incluida la cavidad oral, y el dolor es el síntoma que mayor atención médica requiere: se intensifica a medida que el tumor crece y origina metástasis, incapacita a la persona cuando intenta hablar, tragar, comer o beber, y, por tanto, afecta significativamente a su calidad de vida.

El modelo animal de cáncer orofacial se utiliza en ratas a las que se inyectan células escamosas de carcinoma dentro del tejido subperiosteal de la encía inferior¹¹. Los animales presentan una marcada alodinia mecánica y una hiperalgesia térmica en la zona de inyección, que se manifiestan con la retirada de la cabeza o la vocalización al aplicar estímulos nocivos. Estos signos se justifican por la invasión progresiva del tumor y la compresión del nervio alveolar inferior, además de por la resorción ósea mandibular y el aumento de los osteoclastos en la misma. Los síntomas se asocian a un aumento de la expresión del péptido relacionado con el gen de la calcitonina, sustancia P, receptores P2X3 y TRPV1 en los ganglios del trigémino. La identificación del mecanismo de regulación al alza de dichas proteínas contribuye

Tabla 2. Principales fármacos antitumorales utilizados en los modelos animales de neuropatía inducida por quimioterapia

Taxanos	Sales de platino	Alcaloides de la vinca	Otros
Paclitaxel	Cisplatino	Vincristina	Bortezomib
Docetaxel	Oxaliplatino		Talidomida

de manera importante al desarrollo de nuevos medicamentos para el tratamiento del cáncer orofacial.

Otro modelo animal de cáncer no óseo es el de carcinomatosis peritoneal. Los pacientes con este tipo de cáncer sufren un dolor abdominal intenso difícil de tratar que no siempre responde a los opioides. Los modelos animales reproducen esta enfermedad mediante la inoculación de células cancerosas gástricas en la cavidad abdominal de ratones¹². Los animales muestran una hipersensibilidad abdominal a la estimulación mecánica y conductas de dolor espontáneo, con un drástico incremento del grado y tiempo en que se pliegan sobre su propio cuerpo, conducta típica de dolor visceral. El daño progresivo de los nervios periféricos del mesenterio y del peritoneo por el crecimiento del tumor se refleja mediante la liberación de factores neurotróficos y citoquinas inflamatorias; las células cancerosas promueven la síntesis de sustancia P y la regulación a la baja de los receptores opioides μ en los ganglios de la raíz dorsal (DRG) de los ratones, lo cual explica la baja eficacia analgésica de los agonistas de dicho receptor.

Por último, los modelos de cáncer invasivo mimetizan los síndromes dolorosos neuropáticos que tienen lugar en los seres humanos por la invasión tumoral de los nervios periféricos, que ocurre frecuentemente en pacientes con metástasis vertebrales, linfomas malignos y como consecuencia del avance del tumor hacia los grupos nerviosos circundantes. El modelo más utilizado es el de implantación de células de sarcoma cerca del nervio ciático de ratón¹³, que desarrolla un amplio cuadro nociceptivo, similar al de los seres humanos, ya que incluye nocicepción espontánea, hiperalgesia térmica y alodinia mecánica.

MODELOS ANIMALES DE DOLOR POR NEUROPATÍA INDUCIDA POR QUIMIOTERAPIA

La neuropatía periférica producida por la quimioterapia es un gran problema en la práctica oncológica puesto que cada vez son más los pacientes que sobreviven y superan un cáncer; se trata de un efecto

secundario limitante de dosis, que puede afectar gravemente al pronóstico de la enfermedad. La neuropatía se caracteriza por una combinación de alteraciones sensoriales y motoras que cursa con dolor neuropático, parestesias, entumecimiento, debilidad muscular, etc. En muchas ocasiones la neuropatía es reversible tras la interrupción del tratamiento, pero la recuperación es lenta y puede tardar meses.

En los últimos años se han desarrollado modelos animales de neuropatía periférica inducida por antitumorales que tratan de imitar los síntomas neuropáticos clínicos, con el fin de caracterizar mejor los mecanismos moleculares y celulares implicados, y encontrar así tratamientos más específicos y efectivos¹⁴. Los antitumorales que más se utilizan para desarrollar modelos de neuropatía periférica en roedores aparecen en la tabla 2 y son los que más síntomas clínicos producen en los pacientes¹⁵.

Los estudios preclínicos han contribuido al conocimiento de la fisiopatología de la neuropatía¹⁴. Los antitumorales producen daño y una pérdida neuronal que se caracteriza principalmente por la degeneración del cuerpo celular de los DRG y de los axones de los nervios sensoriales/motores periféricos. El grado de degeneración neuronal está relacionado con el grado de neuropatía y dolor. Los antitumorales pueden afectar a varias dianas celulares para producir la neurotoxicidad, y un mecanismo de neurotoxicidad puede ser compartido por varios fármacos, independientemente de sus propiedades antitumorales (Fig. 1).

El tratamiento quimioterápico produce alteraciones morfológicas en los orgánulos intracelulares de las neuronas que dan lugar a alteraciones funcionales, entre las que destaca la disfunción microtubular que producen los taxanos y los alcaloides de la vinca, lo cual conduce al deterioro en el transporte de vesículas y orgánulos en el axón y a la muerte progresiva de la neurona desde el axón hasta el cuerpo celular. Por otro lado, la acción de los antitumorales produce toxicidad mitocondrial, lo que caracteriza el estrés oxidativo de las neuropatías¹⁷.

La disfunción de los canales iónicos, como la que produce el oxaliplatino, implica una hiperexcitabilidad neuronal al activar transitoriamente canales de sodio

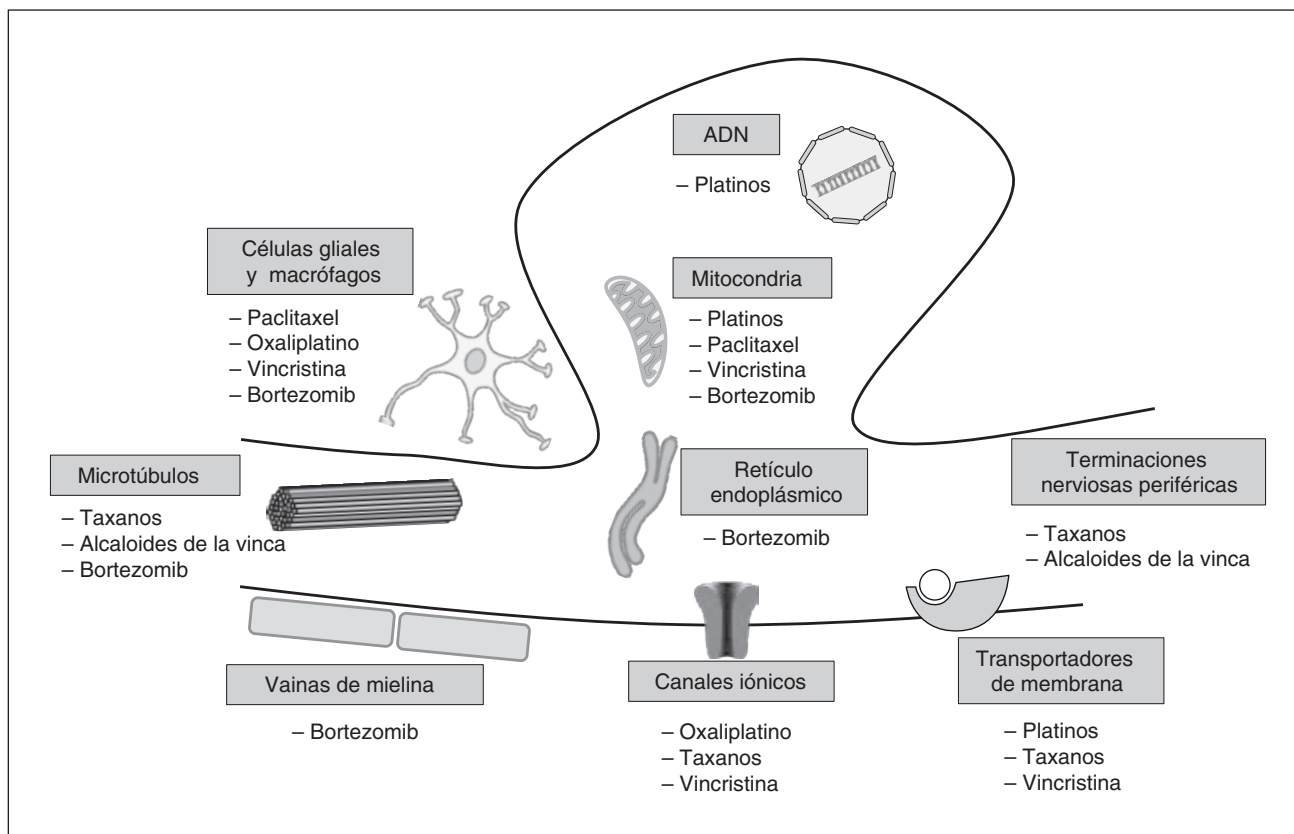


Figura 1. Neurona del DRG: puntos de actuación de los antitumorales en que producen efectos neurotóxicos (*adaptado de Ferrier, et al.¹⁶*).

y potasio dependientes de voltaje. La sobreexpresión, en los DRG y la médula, de canales TRPV, TRPM, TRPA, entre otros, está relacionada con la hipersensibilidad térmica y mecánica, que caracteriza al dolor típico de las neuropatías producidas por los platinos, los taxanos y la vincristina¹⁸.

En los últimos años, los procesos inflamatorios a través de la activación de las células gliales han cobrado un gran protagonismo. Los platinos y el paclitaxel producen la activación de las células gliales y de los macrófagos en las células de los DRG y la médula espinal, lo cual desencadena el reclutamiento de más células inflamatorias y el aumento de la expresión de citoquinas proinflamatorias. La inflamación neuronal y ganglionar origina un mayor daño tisular y contribuye al dolor neuropático¹⁸.

Estos modelos se desarrollan tanto en ratas como en ratones. Para cada antitumoral existen diferentes modelos según el modo de administración, la dosis y la duración del tratamiento. Los resultados obtenidos hasta ahora con estos modelos muestran una gran variabilidad debido al gran número de factores que

pueden modificar el desarrollo o no de la neuropatía, como la especie y fondo genético del animal, el sexo y la edad, el tipo de antitumoral, la dosificación y las vías y protocolos de administración.

CONSIDERACIONES FINALES

Los modelos animales de dolor oncológico son representaciones útiles del dolor que presenta el paciente con cáncer, ya sea provocado por el propio tumor, ya sea debido a la terapia antitumoral. Estos modelos permiten descifrar los mecanismos moleculares y celulares que originan el dolor crónico. Su uso ha proporcionado nuevas dianas de actuación en el abordaje del dolor. Dado que tanto el desarrollo de cáncer como el del dolor que lo acompaña son procesos dinámicos y progresivos, podría ser más efectivo aliviar el dolor basándose en la progresión de la enfermedad que simplemente tratándolo en las fases tardías del proceso.

Los estudios realizados hasta la fecha demuestran que la sensibilización periférica y central contribuye a la cronificación del dolor. Estos procesos se deben a diferentes mecanismos que conllevan la sobreexpresión de receptores implicados en la modulación del dolor (glutamatérgicos, purinérgicos, TLR-4, etc.), la activación de células gliales, la liberación masiva de sustancias proinflamatorias (citoquinas, quimioquinas), etc.

Por todo ello, los modelos animales de dolor oncológico permiten caracterizar los mecanismos moleculares y celulares que desencadenan el desarrollo y cronificación del dolor, así como estudiar la progresión del daño a lo largo del tiempo, investigar nuevas dianas farmacológicas para desarrollar fármacos más específicos y efectivos, y mejorar la traslacionalidad a la clínica.

BIBLIOGRAFÍA

- Honore P, Rogers SD, Schwei MJ, et al. Murine models of inflammatory, neuropathic and cancer pain each generates a unique set of neurochemical changes in the spinal cord and sensory neurons. *Neuroscience*. 2000;98(3):585-98.
- Cancer pain relief and palliative care. Report of a WHO Expert Committee. *World Health Organ Tech Rep Ser*. 1990;804:1-75.
- Currie G, Delaney A, Bennet M, et al. Animal models of bone cancer pain: systematic review and meta-analyses. *Pain*. 2013;154(6):917-26.
- Schwei MJ, Honore P, Rogers SD, et al. Neurochemical and cellular reorganization of the spinal cord in a murine model of bone cancer pain. *J Neurosci*. 1999;19(24):10886-97.
- Honore P, Schwei J, Rogers SD, et al. Cellular and neurochemical remodeling of the spinal cord in bone cancer pain. *Prog Brain Res*. 2000;129:389-97.
- Currie GL, Sena ES, Fallon MT, Macleod MR, Colvin LA. Using animal models to understand cancer pain in humans. *Curr Pain Headache Rep*. 2014;18(6):423.
- Pacharinsak C, Beitz A. Animal models of cancer pain. *Comp Med*. 2008;58(3):220-33.
- Khasabov SG, Hamamoto DT, Harding-Rose C, Simone DA. Tumor-evoked hyperalgesia and sensitization of nociceptive dorsal horn neurons in a murine model of cancer pain. *Brain Res*. 2007;1180:7-19.
- Lindsay TH, Jonas BM, Sevcik MA, et al. Pancreatic cancer pain and its correlation with changes in tumor vasculature, macrophage infiltration, neuronal innervation, body weight and disease progression. *Pain*. 2005;119(1-3):233-46.
- Lam DK, Dang D, Zhang J, et al. Novel animal models of acute and chronic cancer pain: a pivotal role for PAR2. *J Neurosci*. 2012;32(41):14178-83.
- Nagamine K, Ozaki N, Shinoda M, et al. Mechanical allodynia and thermal hyperalgesia induced by experimental squamous cell carcinoma of the lower gingiva in rats. *J Pain*. 2006;7(9):659-70.
- Suzuki M, Narita M, Hasegawa M, et al. Sensation of abdominal pain induced by peritoneal carcinomatosis is accompanied by changes in the expression of substance P and μ -opioid receptors in the spinal cord of mice. *Anesthesiology*. 2012;117(4):847-56.
- Zhu Z, Friess H, diMola FF, et al. Nerve growth factor expression correlates with perineural invasion and pain in human pancreatic cancer. *J Clin Oncol*. 1999;17(8):2419-28.
- Authier N, Balayssac D, Marchand F, et al. Animal models of chemotherapy-evoked painful neuropathies. *Neurotherapeutics*. 2009;6(4):620-9.
- Höke A, Ray M. Rodent models of chemotherapy-induced peripheral neuropathy. *ILAR Journal*. 2014;54(3):273-81.
- Ferrier J, Pereira V, Busserolles J, Authier N, Balayssac D. Emerging trends in understanding chemotherapy-induced peripheral neuropathy. *Curr Pain Headache Rep*. 2013;17(10):364-72.
- Miltenburg N, Boogerd W. Chemotherapy-induced neuropathy: a comprehensive survey. *Cancer Treat Rev*. 2014;40(7):872-82.
- Cashman C, Höke A. Mechanisms of distal axonal degeneration in peripheral neuropathies. *Neurosci Lett*. 2015;596:33-50.