

Rev. Soc. Esp. Dolor
8: 542-552; 2006

La evaluación del dolor experimental en el laboratorio: los modelos de dolor neuropático en animales

J. E. Baños¹, G. Ruiz-Barría².

Baños J. E., Ruiz-Barría G.

Evaluation of experimental pain in the laboratory: models of neuropathic pain in animal's

SUMMARY

In spite of the advancement of pain research in the last decade, the therapy of neuropathic pain is still an unresolved issue. Available treatments only adequately improve only a third of patients. Experimental models may contribute to the knowledge of its pathophysiology, as well as to the development of new drugs. Basically, two types of animal models are available: those that cause a lesion in the peripheral nerves and those that injury the central nervous system. Beyond these limitations, animal models may help to improve the knowledge of neuropathic pain and some of them have predictive value on the usefulness of analgesic efficacy of new drugs. Obviously, only well-designed, controlled clinical trials will permit to establish their actual efficacy in the clinical setting. © Sociedad Española del Dolor. Published by SED.

Key words: neuropathic pain, experimental models, basic research.

RESUMEN

Pese a los avances realizados en los últimos años, el do-

lor neuropático constituye aún un serio problema asistencial. Los tratamientos disponibles sólo permiten aliviar adecuadamente un tercio de los pacientes. Los modelos experimentales pueden contribuir a conocer la fisiopatología de este cuadro clínico, así como a probar nuevos fármacos. Existen básicamente dos tipos de modelos, aquellos que realizan una lesión en el nervio periférico y los que causan alteraciones en el sistema nervioso central. A pesar de sus limitaciones, los modelos animales pueden contribuir a avanzar en el conocimiento de este síndrome y algunos de ellos pueden ayudar a predecir la utilidad terapéutica de nuevos medicamentos. Obviamente, sólo los ensayos clínicos bien diseñados permitirán conocer su eficacia real en el ámbito clínico. © Sociedad Española del Dolor. Publicado por la SED.

Palabras clave: dolor neuropático, modelos experimentales, investigación básica.

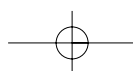
INTRODUCCIÓN

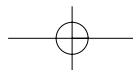
Hay pocas dudas de que el modelo más válido de una enfermedad es la propia enfermedad. En otras palabras, ninguna simulación experimental podrá ser idéntica a la propia realidad por mucho que se reproduzcan al detalle todas las circunstancias que concurren en una determinada situación clínica. Dicho esto, debe recordarse que, hasta el momento, no existen demasiadas alternativas al estudio de la fisiopatología de las lesiones experimentales en animales para intentar discernir lo que sucede en las afecciones que desgraciadamente sufren los pacientes. Quizá en un futuro próximo sea posible investigar qué está ocurriendo en los confines del sistema nervioso para que una lesión de un nervio periférico genere dolor crónico. Pero en el momento de escribir estas líneas, esta esperanzadora posibilidad es sólo un deseo y no una realidad. Dada, pues, la ineludible necesidad de recu-

¹ Departamento de Ciencias Experimentales y de la Salud.
Facultad de Ciencias de la Salud y de la Vida.
Universitat Pompeu Fabra.

² Instituto de Farmacia. Universidad Austral de Chile.

Recibido: 24/04/2006
Aceptado: 15/08/2006





rrir a modelos experimentales animales para estudiar el dolor neuropático, debe advertirse al lector de varias circunstancias antes de que prosiga el texto.

La primera es que la disposición de tales modelos es un hecho relativamente reciente. Si bien el famoso modelo de la retirada de la cola (tail flick) fue descrito por D'Amour y Smith en 1941 y el de la placa caliente (hot plate) por Woolfe y McDonald tres años después, no fue hasta 1979 en que el grupo de Patrick D. Wall describiera el modelo de autotomía por sección nerviosa (1), el primero aceptado para estudiar el dolor neuropático aunque posteriormente sometido a crítica y actualmente poco practicado por razones que se analizan más adelante. Los apenas veinticinco años transcurridos desde la descripción de tal modelo han permitido refinar los métodos pero nunca obtener uno totalmente "creíble" de dolor neuropático humano.

La segunda circunstancia hace referencia a la complejidad de valorar el dolor neuropático experimental. Mientras que en los métodos de dolor agudo, la respuesta que se observa suele ser relativamente clara (retirada de una extremidad o de la cola, salto, sacudida de la pata), en los modelos de dolor crónico la situación es más compleja pues las conductas a evaluar lo son más. No se trata de considerar la llamada respuesta nociceptiva fisiológica (el dolor de tipo I de Cerveró y Laird) sino conductas más sutiles como la hiperalgesia y la alodinia.

La tercera consideración a la que deseáramos referirnos es la dificultad de reproducir algunos de los síntomas de la clínica humana. Si bien alodinia e hiperalgesia pueden ser evaluados con mayor o menor éxito, otros síntomas como el dolor espontáneo son mucho más difíciles de discernir en los paradigmas habitualmente utilizados. Ello es, sin duda, una importante limitación que no puede obviarse en los mo-

delos experimentales más utilizados.

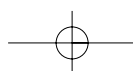
Este capítulo está escrito pensando en los lectores para quienes el laboratorio de medicina experimental, por utilizar la longeva expresión de Claude Bernard, es casi desconocido y que contemplan la investigación básica como algo misterioso e impenetrable para los profesionales asistenciales. Por supuesto, no compartimos esta opinión y creemos que este capítulo puede permitirles comprender la lógica de los modelos expuestos y, por tanto, sus ventajas y limitaciones. Dada la característica de la obra, el capítulo no es, por tanto, una revisión para expertos en algología experimental a los que se recomienda acudir directamente a la lectura de algunas de las revisiones recogidas en la bibliografía de este capítulo (2-6).

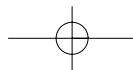
Consideraciones generales

La primera consideración es el hecho de la producción implícita de dolor en los animales. Dada la situación actual de normativas específicas de protección animal en la mayoría de los países, los investigadores deben explicar con mucha claridad qué van a hacer, por qué lo van a hacer, qué justificación tiene y qué salvaguardas van a seguir para evitar que los animales sufran más allá de lo razonable. En nuestra experiencia, los comités éticos de investigación animal de los centros implicados no se oponen a tal investigación siempre que ésta sea rigurosa y se aporten pruebas de que va a realizarse con seriedad. Como mínimo, los investigadores deberán seguir los principios éticos para la investigación en dolor promulgados por la Internacional Association for the Study of Pain (IASP) (7) y que recoge la Tabla I. Asimismo deberá establecerse qué intensidad de dolor se considere aceptable y cuál no, y cómo va a realizarse la

Tabla I. Principios éticos para la investigación experimental del dolor del Committee for Research and Ethical Issues de la International Association for the Study of Pain⁷

- La investigación debe justificar de manera clara su importancia potencial y su beneficio para los seres humanos.
- Un comité ético en investigación animal de la institución formado por científicos y legos debe evaluar los objetivos del estudio y la idoneidad de la metodología.
- El protocolo debe establecer el procedimiento para reconocer la desviación de la conducta del animal de los patrones normales de comportamiento.
- Cuando sea posible, el investigador debería probar en sí mismo el estímulo doloroso.
- El modelo debe emplear los mínimos estímulos dolorosos en intensidad y duración que sean necesarios para los objetivos del estudio.
- El empleo de fármacos o procedimientos analgésicos debe ser obligatorio a menos que interfiera con el objetivo de la investigación.
- La duración del estudio debe ser lo más corta posible y el número de animales debe mantenerse en el mínimo compatible con la certeza experimental.





supervisión de los animales para detectar la presencia de repercusiones biológicas indeseables de la lesión producida. Ello es especialmente importante en el dolor neuropático donde los animales se observarán durante semanas, e incluso meses, tras la producción de la lesión nerviosa. Debe considerarse además que en función de las directrices de la IASP ya citadas, el número de los animales debe limitarse al mínimo compatible con la validez científica. Ello supone un número por grupo que no supera habitualmente los diez animales, lo que obliga a extremar el procedimiento experimental para disminuir una variabilidad que ya es importante de base, pues la conducta nociceptiva es variable de uno a otro animal.

Una segunda consideración hace referencia a las propias características del modelo, concretamente especificidad, validez, sensibilidad, fiabilidad y reproducibilidad (5,6). La especificidad se refiere a que la lesión producida y, por tanto, el estímulo consecuente, debe generar conductas nociceptivas. Aunque esta propiedad parece obvia, no lo es tanto pues algunas respuestas de retirada (reflejo de flexión) no son siempre debidas a estímulos nociceptivos. La misma observación se aplica a situaciones más complejas, como la presencia de determinadas conductas donde su observación puede ser debida a estímulos aversivos más que nociceptivos.

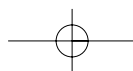
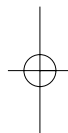
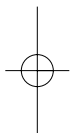
La validez se refiere a si el modelo realmente evalúa dolor y no otra situación como, por ejemplo, distesias no dolorosas (6). También se refiere a si los cambios observados no son debidos a otros estímulos distintos del propiamente nociceptivo. En ocasiones, se considera a la sensibilidad como un tipo de validez. En el caso del dolor, hace referencia a que exista una relación entre la intensidad del estímulo doloroso y el aumento de la respuesta observada entre el umbral doloroso y el de tolerancia. Una segunda, y no menos importante acepción del término, se refiere a que el modelo sea capaz de mostrar cambios de respuesta tras la administración de fármacos analgésicos o distinguir entre analgésicos potentes y débiles. Esta propiedad es especialmente importante en el cribado (screening) de nuevos medicamentos pero se enfrenta con un reto importante que debe tenerse siempre en cuenta. Un fármaco activo en modelos de dolor agudo o inflamatorio no tiene por qué ser eficaz en modelos de dolor neuropático y a la inversa. Por tanto, la ausencia de efecto no desacredita la propiedad analgésica ni del fármaco ni del modelo. Análogamente, debería esperarse que algunos medicamentos, como ciertos antiepilépticos o los antidepressivos tricíclicos, fueran eficaces en modelos de dolor neuropático.

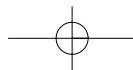
Aunque es así en general, tampoco debe considerarse como un principio inalienable: en el ámbito clínico, puede observarse como una persona con un diagnóstico de un cuadro específico de dolor neuropático no responde a medicamentos establecidos y el siguiente que entra a la consulta con el mismo diagnóstico sí lo hace. No sólo en el dolor neuropático, sino en muchos ámbitos de la biomedicina, demostrar la validez no siempre es tarea fácil.

La fiabilidad es una propiedad del método experimental referida a la capacidad de que las respuestas sean reproducibles en diversas circunstancias (a lo largo del tiempo, tras evaluación por investigadores diferentes) (6). En modelos de dolor crónico, la estabilidad de la medida a lo largo del tiempo es muy importante a fin de establecer la posible alteración de la evolución natural de la lesión y su correlación con cambios morfológicos, neuroquímicos o genómicos. La variabilidad de las respuestas obliga a ser extremadamente cauto en la determinación de las conductas de forma que en muchos modelos se utilizan métodos de doble control, referido al propio animal (puntuaciones de la extremidad lesionada comparada con la intacta) y, en ocasiones, a un grupo de animales intervenidos pero sin lesión (denominados sham o controles).

La reproducibilidad hace referencia, obviamente, a la posibilidad de que un determinado método sea reproducible dentro y fuera del laboratorio en que fue generado (5). Si por su complejidad o exquisitez técnica, el método no puede ser realizado por otros investigadores, se corre el riesgo de que sea pronto abandonado o los resultados mirados con desconfianza al no ser replicados con otros modelos. En ciencia, la reproducción de los resultados es un requisito básico para que el trabajo sea aceptado por la comunidad científica. En el caso de los modelos de dolor neuropático, la necesidad de estimular repetidamente a los animales a lo largo de un período de tiempo largo puede crear disfunciones en los resultados, ya que pueden presentar conductas de aprendizaje por los estímulos repetidos. En la práctica este hecho se solventa con el método del doble control, que significa que las puntuaciones se obtienen en cada animal sustrayendo las latencias de respuesta en la pata lesionada de la propia de la pata control; además, se utiliza un grupo de animales control (sometidos al procedimiento lesivo, pero que reciben una tratamiento de comparación con el disolvente de la solución o con el fármaco estándar).

En resumen, si la validez y la fiabilidad no están claramente establecidas, se corre el riesgo de perder





el tiempo con experimentos que duran semanas y que, con frecuencia, son tediosos de realizar, pues obligan a largas horas de observación de los animales y al consiguiente agotamiento de estos y de los propios investigadores. Si además el método es complejo y de difícil replicación, se le puede augurar una corta vida. Dos de los modelos más empleados en dolor neuropático, el de Wall et al (1) y el de Bennett y Xie (8) debieron su éxito a su facilidad de ejecución y a la clara evaluación de la respuesta.

Pese a que sean de sobras conocidas, desearíamos recordar dos circunstancias clínicas que deben tenerse en cuenta. La primera es la evidencia clínica repetida de que los analgésicos que dan buen resultado terapéutico en el dolor agudo y en algunos dolores crónicos (músculo-esquelético, neoplásico) no se comportan tan positivamente en personas con dolor neuropático. La segunda es el hecho de que el término dolor neuropático se emplea para describir numerosas situaciones clínicas que sólo tienen en común la lesión del sistema nervioso central o periférico. Por tanto, no sería aceptable pedirle a un modelo que se comporte como un paradigma ejemplar para todos los dolores neuropáticos clínicos. Ello obliga, en ocasiones, a dirigir la atención hacia una situación específica, evitar la generalización y a ser muy cauto al considerar la proyección clínica de los resultados obtenidos en un modelo determinado.

Para evaluar el dolor en estos modelos experimentales se emplean generalmente parámetros similares, básicamente la hiperalgesia y la alodinia. No hace falta insistir en lo que significa cada una de ellas, pero sí recordarlo en el contexto de la experimentación animal. La hiperalgesia se evalúa como una respuesta aumentada a estímulos levemente dolorosos, mientras que la alodinia sería la respuesta a estímulos no dolorosos. Se puede determinar la hiperalgesia térmica (calor) y mecánica (a la punción), mientras que la alodinia puede ser también térmica (frío) y mecánica (respuesta a los filamentos de von Frey).

La Tabla II recoge los modelos de dolor neuropático desarrollados en las últimas tres décadas y que tienen interés práctico y/o conceptual. Se incluyen tanto los debidos a lesiones del sistema nervioso central, como los que implican lesión de nervios periféricos. Como puede observarse, estos últimos son más numerosos debido a su accesibilidad y pueden generarse por traumatismo (sección, constricción), física (criogénica, láser de argón), trastorno metabólico (diabetes), neurotoxicidad (cisplatino, paclitaxel) o inducción inmunológica (adjuvante completo de

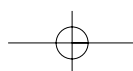
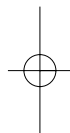
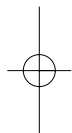
Freund, factor de necrosis tumoral, factor de crecimiento nervioso). Los más relevantes se comentan en las secciones siguientes, pero se recomienda la lectura de las revisiones de Bennett (2,6) para aquellos lectores que deseen más detalles.

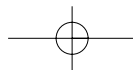
Modelos de dolor neuropático por lesiones del sistema nervioso central

Comparados con los de lesión nerviosa periférica, existen pocos modelos que puedan ser empleados como ejemplos de dolor central clínico, como el síndrome del dolor talámico. La excepción más destacable es el síndrome disestésico que Levitt (9) describió en 1991 en algunos primates. Por el contrario, sí existen diversos modelos por lesión de la médula espinal. El primero fue descrito por el grupo de Wiesenfeld-Hallin (10) y conlleva una lesión isquémica de la médula espinal. El mecanismo de producción se realiza mediando la activación por láser de una sustancia fotosensible, la eritrosina B, que produce una oclusión temporal de los vasos sanguíneos de un pequeño segmento de la médula espinal. La consecuencia es la aparición de una intensa alodinia mecánica en el dermatoma afecto, de modo que estimulaciones muy suaves producen una vocalización intensa por el animal y conductas de evitación. No fue posible observar disestesias o dolor espontáneo, unos síntomas frecuentes en aquellas personas que han sufrido lesiones medulares.

La alodinia mecánica intensa en el dermatoma afecto también aparece en animales a los que se ha administrado ácido quisquálico por vía espinal, como demostraron Yezierski y Park (11). Esta toxina produce lesiones estructurales en la médula espinal (cavidades intraespinales rodeadas de degeneración), mientras que el estudio electrofisiológico de las neuronas espinales contiguas a la lesión muestra un aumento substancial de descargas anormales tras estímulos mecánicos. Asimismo, existe una disminución del umbral de excitación y un grado importante de activación neuronal basal espontánea que podría corresponder a dolor o disestesia en el animal consciente.

Dentro de esta sección también puede incluirse un modelo experimental que implica la sección quirúrgica de varias raíces nerviosas posteriores, descrito inicialmente por Basbaum y Wall (12). Los animales a los que se había practicado tal rizotomía presentaban una conducta de automutilación de la extremidad correspondiente (autotomía) y un rango de conductas que sugerían la presencia de sensaciones dolorosas



**Tabla II.** Principales modelos de dolor neuropático experimental

Modelo	Referencia
Sistema nervioso central	
Rizotomía posterior	Basbaum y Wall (12)
Síndrome disestésico	Levitt (9)
Infarto medular por eritrosina activada por láser	Hao et al (10)
Neurotoxicidad por administración de ácido quisquálico	Yeziarski y Park (11)
Nervio periférico	
Lesión mecánica	
Neuroma o síndrome de autotomía (sección nerviosa)	Wall et al (1)
Constricción nerviosa crónica de ciático (ligadura laxa)	Bennett y Xie (8)
Ligadura nerviosa parcial de ciático (ligadura apretada)	Seltzer et al (13)
Ligadura de nervios espinales	Kim y Cheng (14)
Neuropatía por constricción con manguito de polietileno	Mosconi y Kruger (15)
Lesión física	
Lesión criogénica (crioneurolisis)	DeLeo et al (16)
Lesión por láser de argón	Kupers et al (17)
Lesión por alteración metabólica	
Neuropatía diabética por estreptozocina	Ahlgren y Levine (27)
Courteix et al (18)	
Lesión por neurotoxicidad	
Neuropatía por vincristina	Authier et al (19)
Neuropatía por paclitaxel	Polomano et al (21)
Neuropatía por cisplatino	Authier et al (20)
Lesión por neuroinflamación	
Neuropatía por aplicación local de ACF o carragenina	Eliav et al (23)
Neuropatía por administración de TNF	Wagner y Myers (24)
Neuropatía por administración de NGF	Ruiz et al (25)

ACF: Adyuvante completo de Freund; TNF: Factor de necrosis tumoral; NGF: Factor de crecimiento nervioso.

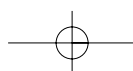
anormales. Esta lesión se acompañaba también de activación nerviosa aumentada en las neuronas somato-sensoriales de la médula espinal y del tálamo.

Modelos de dolor neuropático por lesiones de los nervios periféricos

Los modelos experimentales de dolor neuropático más estudiados son los que implican una lesión del nervio periférico. Pueden clasificarse en traumáticos, metabólicos e inmunológicos y no todos causan las mismas manifestaciones dolorosas (Tabla II).

El primer modelo descrito fue el que conlleva la sección completa del nervio ciático seguido de su ligadura descrito por Wall et al (1). Tal lesión supone una interrupción inmediata e irreversible de la conducción nerviosa periférica a la que sigue la degeneración walleriana axonal y la aparición de sprouting de los axones proximales en un intento para regene-

rar la conducción. Por esta razón se le conoce también como el modelo del neuroma (2). Este modelo contribuyó de forma notable al conocimiento de lo que podría suceder en los individuos que sufrían amputaciones traumáticas de extremidades o sección nerviosa. Así se estableció que la actividad espontánea o estimulada de las terminaciones nerviosas lesionadas podía contribuir a explicar las sensaciones dolorosas anormales, y que también contribuía al aumento de descargas en el cuerpo neuronal situado en el ganglio de la raíz dorsal. También se observó que existía una dependencia de la activación de las neuronas medulares en la respuesta dolorosa final, lo que establecía que ambos mecanismos, periféricos y centrales, contribuían a la neuropatía periférica. Se sugirió que el modelo de neuroma podría ser considerado, razonablemente, como el correlato experimental del dolor del miembro fantasma aunque se carecen de las pruebas en este sentido. Quizá, como ha escrito Bennett (2), porque es imposible obtenerlas.



Pese a su notable importancia para investigar los problemas causados por la lesión nerviosa, el método de evaluación empleado, la escala de puntuación de autotomía, fue pronto motivo de conflicto, pues dicha conducta supone la automutilación de la extremidad afecta. Hay pocas dudas que este comportamiento es fácilmente objetivable, reproducible y, dentro de unos límites, éticamente aceptable. No obstante, ha dado lugar a una notable controversia por varios motivos. En primer lugar, algunos autores han dudado de que representara realmente dolor y no simplemente conductas generadas por la pérdida de la sensación. Esta afirmación ha sido negada por el hecho de que la infusión mantenida de lidocaína, que causa también un cese de los estímulos aferentes, no se acompaña de autotomía. En segundo lugar, la gran mayoría de los dolores neuropáticos humanos presentan hiperalgesia y alodinia causada por estímulos periféricos, por lo que no existe una denervación completa. Esta razón, de más peso que la primera, llevó a un abandono progresivo del modelo del neuroma y a una aproximación a otros modelos que supusieran una lesión nerviosa parcial.

En 1988, Bennet y Xie (8) describieron un nuevo modelo de dolor neuropático generado por la colocación de varias ligaduras de catgut crómico alrededor del nervio ciático de la rata. A fin de evitar la axotomía, las ligaduras apretaban el nervio sin comprimirlo totalmente. Este modelo se conoce con el nombre de constricción crónica (chronic constriction injury) del ciático o de ligadura laxa (loose ligature). Los animales presentan hiperalgesia mecánica y térmica, alodinia mecánica y en ocasiones es posible observar dolor espontáneo. Además, presentan una conducta de protección de la pata ipsilateral (hind paw guarding behaviour) como muestra la (Fig 1). Los síntomas aparecen en la semana siguiente a la colocación de las ligaduras y persisten alrededor de tres meses (Fig. 2). Las propiedades de este modelo le han convertido en uno de los más ampliamente utilizados en la investigación del dolor neuropático.

Dos años más tarde, Seltzer et al (13) describieron otro modelo que se conoce como ligadura parcial del nervio ciático (partial nerve ligature o PNL). Para obtenerlo, se realiza una ligadura apretada de uno de los nervios ciáticos, lo que resulta en dolor espontáneo, alodinia mecánica e hiperalgesia térmica. Otro tercer modelo muy empleado fue descrito por Kim y Cheng (14) mediante la ligadura de los nervios espinales L5 o L5 y L6 que también daba lugar a manifestaciones dolorosas en los animales. Los modelos no son idénticos (Tabla III) pues en el de Bennett y Xie (8) la hi-



Fig. 1. Conducta de protección (hind paw guarding) en una rata con constricción crónica del nervio ciático (reproducido con autorización de Gary J Bennett).

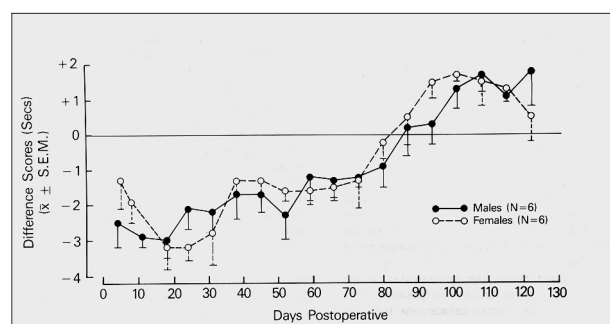


Fig. 2. Evolución temporal de la hiperalgesia térmica medida por las latencias de retiradas de las patas. Los resultados se expresan como diferencias entre las patas ipsilaterales (operadas con constricción) y contralaterales (operadas sin constricción). La puntuación negativa indica hiperalgesia. Los valores se expresan como media \pm desviación estándar de la media (adaptado de Bennett y Xie (8) y reproducido con autorización).

peralgesia térmica es ipsilateral mientras que en los otros dos aparece de forma bilateral. Además, la dependencia del sistema simpático es substancial en los modelos de Seltzer et al (13) y en el de Kim y Chung (14), de forma que la simpatectomía revierte el dolor mientras que ello no sucede en el de constricción crónica (2). Mosconi y Kruger (15) han intentado inducir una lesión nerviosa mediante un método estandarizado que redujera la variabilidad. Para ello colocaron un manguito de polietileno en el nervio ciático lo que causó a alteraciones morfológicas como desmielinización, sprouting regenerativo y colateral, entre otras. Asimismo, aparecieron alteraciones de la marcha, con hiperalgesia mecánica y alodinia al frío.

Entre los métodos dirigidos a crear alteraciones inducidas por métodos físicos, DeLeo et al (16) describieron un modelo que implicaba una lesión criogénica del nervio ciático (crioneurolisis) mediante la aplicación de una sonda enfriada a -60°C en un período de aproximadamente un minuto alternando dos secuencias de congelamiento y una de deshielo. Los animales presentaron alodinia mecánica bilateral y un cierto grado de autotomía, sin hiperalgesia térmica. Kupers et al (17) han probado un nuevo modelo realizando una lesión nerviosa mediante láser con argón.

Una segunda posibilidad es tratar de replicar la situación de una enfermedad que cause dolor neuropático en seres humanos. Las dos más frecuentes son la neuralgia postherpética y la neuropatía diabética. Para la primera no existe aún un modelo adecuado que pueda simular la reactivación del virus varicela-zóster y la lesión nerviosa consecuente. En cambio, sí que existe posibilidad de producir una diabetes en los animales y evaluar su repercusión neurológica. De hecho, la producción de diabetes en ratas es relativamente fácil. Así, la cepa albina de BB/Wistar puede desarrollar la enfermedad de forma espontánea y algunos tipos de jerbos la presentan cuando son alimentados con pienso de rata de laboratorio que es altamente calórico para ellos. También puede causarse de forma rápida y reproducible en ratas por la inyección de una dosis única de estreptozotocina, un fármaco que destruye los islotes de Langerhans (18). Este último modelo es quizá el más estudiado por la facilidad de su obtención y su reproducibilidad. En este modelo se ha demostrado la presencia de hiperalgesia y alodinia mecánica y térmica (Fig. 3), así como su mejoría tras la administración de fármacos que alivian la neuropatía diabética clínica, como los antidepresivos. Este modelo tiene indudables ventajas para estudiar esta situación clínica, pero ha sido criticado cuando los animales tienen una diabetes demasiado grave pues, en esta situación, las ratas están demasiado enfermas para diferenciar claramente entre las consecuencias sistémicas de la enfermedad y la propia neuropatía. Ello obliga a un control adecuado de la glucemia con administración periódica de insulina.

En los últimos años ha crecido el interés por desarrollar modelos que permitan el estudio de los mecanismos por los que algunos fármacos antineoplásicos son capaces de producir neuropatía, pues su aparición constituye un factor limitante del empleo de tales medicamentos en la clínica humana. Existen múltiples estudios publicados en este sentido. Authier et al (19) han descrito la inducción de conductas dolorosas tras

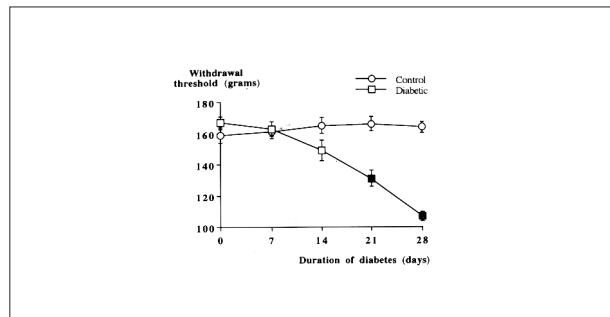
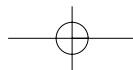


Fig. 3. Aparición temporal de alodinia mecánica en ratas macho diabéticas por la administración de estreptozotocina comparadas con ratas normales. Se observaron diferencias significativas entre las puntuaciones obtenidas a los 21 y 28 días de iniciarse la diabetes. Los valores se expresan en media \pm error estándar de la media (adaptada de Courteix et al (18) y reproducido con autorización).

la administración diaria de vincristina con la aparición de hiperalgesia mecánica, alodinia mecánica e hiperalgesia. También se ha desarrollado un modelo de neuropatía por cisplatino por el mismo grupo con la aparición de hiperalgesia y alodinia con afectación motora leve (20). Finalmente, Polomano et al (21) han descrito una neuropatía experimental periférica por la administración de paclitaxel en el que observaron todo el rango de conductas dolorosas excepto autotomía y dolor espontáneo. Además, no pudieron establecer lesión microscópica alguna en el sistema nervioso central o periférico más allá de edema endoneural. Con este modelo, Flatters y Bennett (22) han demostrado la capacidad de la etosuximida para revertir de forma casi completa la hiperalgesia y alodinia mecánica causada por el paclitaxel. El tiempo dirá si este efecto terapéutico se valida en la práctica clínica como un método para tratar una situación de difícil solución en la actualidad.

En la última década también han despertado interés las posibles interacciones neuroinmunes que podrían contribuir al dolor neuropático. A fin de estudiarlas se han desarrollado modelos que pudieran contribuir a su esclarecimiento mediante la reproducción de situaciones de inflamación o la administración directa de algunos mediadores de ésta. Eliav et al (23) han ideado un modelo que consiste en colocar el adjuvante completo de Freund, una sustancia utilizada clásicamente en modelos de dolor por inflamación y para causar poliartropatías, en la vecindad del nervio ciático de la rata a fin de inducir respuestas inflamatorias. Con este modelo, han descrito la presencia de hiperalgesia mecánica y térmica, así como alodinia



mecánica y al frío en la pata ipsilateral a la lesión. Los efectos fueron transitorios y desaparecieron en la semana siguiente a la aplicación. Podría ser un modelo de interés para estudiar los fenómenos inflamatorios precoces que aparecen tras la lesión nerviosa y que pueden contribuir a la génesis del dolor neuropático.

Otra estrategia que se ha empleado en el mismo sentido consiste en la inyección endoneural de citoquinas que puedan participar en los fenómenos inflamatorios. En este sentido, Wagner y Myers (24) han administrado el factor de necrosis tumoral a en el nervio ciático y han observado la aparición de hiperalgesia térmica y alodinia mecánica en los tres días siguientes, así como diversos cambios morfológicos nerviosos. Siguiendo la misma estrategia, nuestro grupo ha inyectado endoneuralmente factor de crecimiento nervioso, una citocina muy vinculada a la aparición de dolor tras neuritis (25,26). Se observó la aparición de hiperalgesia térmica entre los tres y cinco días de la administración sin alodinia mecánica, lo que podría indicar la diferente contribución de los mediadores celulares a una u otra manifestación clínica.

Contribución de los modelos animales a la comprensión de las entidades clínicas de dolor neuropático

En muchos ámbitos existe una notable desconfianza entre los profesionales clínicos y los investigadores básicos que viene de lejos. Los primeros creen que los segundos contribuyen en el mejor de los

casos al conocimiento biológico general pero que raramente dan soluciones a los problemas de la clínica. Por su lado, los segundos contemplan en la lejanía a los primeros, sorprendidos por su falta de rigor metodológico en sus actividades habituales y por cómo los prejuicios y las tradiciones son frecuentemente los elementos para decidir una pauta terapéutica antes que las pruebas científicas. Por supuesto, unos y otros se equivocan pero sus opiniones no dejan de estar basadas en fundadas sospechas. Estos y otros problemas impiden con frecuencia la situación óptima que permitiría avanzar más rápidamente en el alivio del dolor neuropático: la comunicación sincera entre profesionales clínicos y científicos básicos que permitiera dilucidar los problemas observados por los primeros y contrastar el valor en la clínica de los conocimientos obtenidos por los segundos.

Como se recordaba en el primer apartado de este capítulo, hablar de dolor neuropático es referirse a un número sustancial de cuadros clínicos de muy diverso origen como evidencia un repaso al índice de este libro. Su etiología, fisiopatología, semiología, pronóstico y tratamiento varían considerablemente de unos a otros. Además, no es lo mismo tratar una situación cuando debuta que a los meses o años de establecerse. Aunque no se disponga de pruebas definitivas en este sentido, es muy probable que en el futuro se contemple el dolor neuropático como una entidad clínica de fisiopatología dinámica que precise de diferentes intervenciones terapéuticas según el momento de evolución. Tomando el ejemplo de la neuralgia postherpética, parece lógico pensar que el tratamiento no debe ser el mismo cuando se pretende

Tabla III. Presencia de manifestaciones dolorosas en algunos modelos de lesión de nervio periférico. Modificado de Bennett (2) y reproducido con autorización.

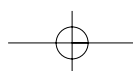
Modelo	Manifestación dolorosa						
	Espontáneo	Autotomía	Hiper M	Alod M	Hiper C	Alod F	Lat
Constricción nerviosa crónica	+	+*	+	+	+	+	uni**
Ligadura nerviosa parcial	+	-	+	+	+	-	bi
Ligadura de nervios espinales	+	-	?	+	+	+	bi
Crioneurolysis	?	+	?	+	-	?	bi

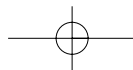
+ = evidencia de la presencia; - = explorado y ausente; ? = sin evidencia

Hiper M = hiperalgesia mecánica; Alod M = alodinia mecánica; Hiper C = hiperalgesia térmica (al calor); Alod F = alodinia al frío; Lat = lateralidad (uni es unilateral y bi es bilateral).

* Ligera autotomía limitada a las uñas en un número reducido de animales

** Se observó un ligero grado de hiperalgesia térmica y alodinia mecánica contralateral en un pequeño grupo de animales.





prevenir el problema, tratarlo al iniciarse la neuritis, o cuando un paciente consulta por dolor a los seis meses de la aparición de la erupción herpética.

En el sentido apuntado en el párrafo anterior, ¿tienen la misma utilidad todos los modelos de dolor neuropático disponibles? Ciertamente no. Parece lógico deducir que los modelos que implican una denervación completa no han de ser comparados estrictamente con los que sólo causan denervación parcial (Tabla III). Tampoco los modelos sobre el efecto tóxico de determinados antineoplásicos deben ser utilizados más allá del marco conceptual en que fueron creados. En nuestra opinión, el debate sobre estos extremos deben centrarse en dos elementos principales: la utilidad de los modelos para comprender la fisiopatología del dolor neuropático y su capacidad predictiva para establecer la eficacia de nuevas alternativas terapéuticas.

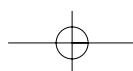
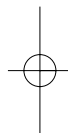
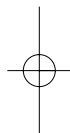
Es difícil contestar la pregunta sobre cuál es el mejor modelo de dolor neuropático. Más allá de las consideraciones señaladas en el párrafo anterior sobre la diferencia en la interferencia de mecanismos fisiopatológicos, los modelos de Bennett y Xie (8) y de Kim y Chung (14) parecen los más estudiados y, por tanto, aquellos recomendables para los estudios experimentales así como la predicción del efecto analgésico de nuevos medicamentos. Quizá el primero por su simplicidad técnica sería preferible al segundo. Más recientemente, Decosterd y Woolf (28) y Bourquin et al (29) han descrito modelos en los que se realiza una lesión nerviosa menos agresiva sobre los nervios perineo común y tibial o sólo tibial, respectivamente. Aún se carecen de datos concluyentes para establecer si estos nuevos modelos tienen ventajas suficientes sobre los más antiguos para considerarlos de elección en el estudio del dolor neuropático experimental.

No parece razonable poner en duda que gran parte de los conocimientos fisiopatológicos sobre la repercusión anatómica y funcional de las lesiones nerviosas proviene de los estudios con modelos animales. Algunos de éstos han permitido explicar observaciones clínicas que llevaban mucho tiempo sin poder interpretarse. Bennett (2) ha señalado el caso de la inexplicable duración del efecto analgésico de los bloqueos anestésicos. Era una observación clínica repetida que una sola inyección de un anestésico local puede aliviar el dolor durante días o semanas, y este hecho se contradice con la corta semivida de eliminación de tales fármacos. Tampoco estaba muy claro por qué dosis inferiores a las necesarias para bloquear los canales de sodio cardíacos o musculares

tenían eficacia en el dolor neuropático. Para algunos médicos la respuesta observada no podía explicarse más que por un efecto "megaplacebo". Esta creencia fue rechazada por la observación de que el mismo bloqueo realizado en ratas con constricción crónica del ciático igualmente producía una disminución prolongada de las conductas dolorosas y, en este contexto, la hipótesis del placebo era poco plausible. Finalmente, en los últimos años del pasado siglo otros descubrimientos han establecido la presencia de canales de sodio de propiedades biofísicas claramente distintas a los conocidos hasta entonces, que podrían explicar la mayor sensibilidad de los nervios lesionados al bloqueo anestésico. Otro problema clínico de difícil explicación es la aparición de dolor espontáneo y de hiperalgesia y alodinia en áreas que no corresponden al dermatoma afectado. Tales pacientes eran frecuentemente etiquetados de diagnósticos psiquiátricos debido a la incapacidad de aliviarlos con los tratamientos disponibles y a la importante carga emocional que presentaban. De nuevo, los estudios experimentales permitieron explicar el porqué de esta situación y eliminar los problemas derivados de un diagnóstico inadecuado, especialmente para el paciente.

La segunda cuestión, y quizá la de más amplia aplicación, es la posibilidad de que los modelos animales sean utilizados para analizar la eficacia de tratamientos farmacológicos, especialmente de nuevos medicamentos o antiguos utilizados con nuevas indicaciones. No hay duda que ésta es una importante posibilidad que tiene una aplicación práctica inmediata en el proceso de investigación de nuevos fármacos, especialmente aquellos que no tienen un efecto analgésico en las pruebas farmacológicas rutinarias que exploran esta posibilidad. Un ejemplo de esta situación son los antagonistas de los receptores NMDA cuya eficacia analgésica sólo es observable en modelos de dolor neuropático (2) y que también son eficaces en clínica humana, aunque sus efectos indeseables han limitado de forma importante su empleo rutinario. En este sentido cabe destacar que el modelo de constricción crónica del nervio ciático, es sensible a casi todos los fármacos que después han sido eficaces en clínica humana (Tabla IV) con alguna excepción, como los antagonistas de las neurocininas que no han mostrado efecto alguno en la neuralgia postherpética a pesar de que demostraron su eficacia en los modelos animales.

Un punto final que merece ser comentado es la observación en algunos estudios experimentales de que, bajo ciertas circunstancias, los animales hem-



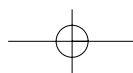


Tabla IV. Eficacia de diversos fármacos en el modelo de constricción crónica del nervio ciático y en al menos algún tipo de dolor neuropático humano (modificado de Bennett* con autorización).

Fármaco	Modelo de constricción crónica	Dolor neuropático clínico
Opioides	+/-	+ (a dosis altas)
Antidepresivos tricíclicos	+	+
Antagonistas del calcio (verapamilo, nifedipino)	+	+
Bloqueantes de los canales de sodio (lidocaína, mexiletina, tocainida)	+	+
Antagonistas de los receptores NMDA (dextrometorfano, ketamina, memantina)	+	+
Bloqueantes de los canales N de calcio (ziconotida)	+	+
Antiepilépticos		
Gabapentina	+	+
Topiramato	+	+/-
Lamotrigina	+	+
Felbamato	+	+

* Consultado en www.neuropathicpain.org/SUMMARY/Section2.htm el 24 de abril de 2006.

bra experimentan dolor neuropático con más frecuencia e intensidad que los machos. Esta observación no es definitiva pero ha sido observada por diversos grupos. Por ejemplo, Coyle et al. (30) observaron que las hembras presentaban alodinia mecánica con más frecuencia que los machos tras la ligadura del ciático. Más recientemente, De Leo y Rotkowski (31) han mostrado en el modelo de Kim y Chung (14) que las hembras presentaban más respuesta a la alodinia mecánica que los machos, pero solo en algunas de las cepas de ratas estudiadas. Finalmente, Bourquin et al. (29) que incluso existían diferencias de base referidas al género en los animales que después serían sometidas a lesiones generadoras de dolor neuropático.

En resumen, los modelos animales suponen una contribución importante al conocimiento de cómo se genera el dolor neuropático y a elaborar estrategias para su prevención y tratamiento. Sin embargo, sería iluso considerar que sólo la información obtenida con tales modelos ayudará a resolver un problema de tal complejidad. Adicionalmente, en la situación actual parece recomendable que cualquier fármaco con posible eficacia terapéutica en el dolor neuropático sea ensayado al menos en los modelos que han demostrado mejor capacidad predictiva. Sin embargo, debe recordarse de nuevo la obviedad de que el mejor modelo de la enfermedad es la propia enfermedad y finalmente sólo los ensayos clínicos bien realizados darán la respuesta adecuada en una población de pacientes. Esta afirmación no ignora la necesidad de co-

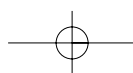
nocer las limitaciones metodológicas de los modelos pero sería escasamente científico despreciar su utilidad en situaciones específicas.

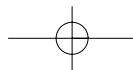
CORRESPONDENCIA:

Josep-E. Baños
 Departament de Ciències Experimentals i de la Salut
 Facultat de Ciències de la Salut i de la Vida
 Universitat Pompeu Fabra
 Dr. Aiguader 80
 08003-Barcelona
 Teléfono: 93 542 29 50
 jbanos@imim.es

BIBLIOGRAFÍA

1. Wall PD, Devor M, Inbal R et al. Autotomy following peripheral nerve lesions. *Experimental anesthesia dolorosa*. *Pain* 1979; 7:103-13.
2. Bennett GJ. Animals models of neuropathic pain. En: Gebhart GF, Hammond DL, Jensen TS (eds.) *Proceedings of the 7th World Congress on Pain, Progress in Pain Research and Management*, Vol. 2. Seattle: IASP Press; 1994. págs. 495-510.
3. Tjølsen A, Hole K. Animal models of analgesia. En: Dickenson A, Besson JM (eds.) *The pharmacology of pain*. Berlín: Springer; 1997. págs. 1-20.





4. Le Bars D, Gozariu M, Cadden SW. Animal models of nociception. *Pharmacol Rev* 2001; 53:597-652.
5. Baños JE. Estudio experimental del dolor. En: Aliaga L, Baños JE, Barutell C, Molet J, Rodríguez de la Serna A (eds.) *Tratamiento del dolor. Teoría y práctica*. 2ª edición. Barcelona: Publicaciones Permanyer; 2002. págs. 57-64.
6. Bennett GJ. Animal models and their clinical implications. En Merskey H, Loeser JD, Dubner R (eds.) *The paths of pain 1975-2005*. Seattle: IASP Press, 2005; págs. 243-52.
7. Zimmermann M. Ethical guidelines for investigations of experimental pain in conscious animals. *Pain* 1983; 16:109-10.
8. Bennett G, Xie YK. A peripheral mononeuropathy in rat that produces disorders of pain sensation like those seen in man. *Pain* 1988; 33:87-107.
9. Levitt M. Chronic dysesthesias of central origin in subhuman primates. En: Hashold BS, Ovelmen-Levitt J, (eds.) *Deafferentation pain syndromes: pathophysiology and treatment*. Nueva York: Raven Press; 1991. págs. 229-38.
10. Hao JX, Xu XJ, Aldskogius N, Seiger A, Wiesenfeld-Hallin Z. Allodynia-like effects in rats after ischaemic spinal cord injury photochemically-induced by laser irradiation. *Pain* 1991; 45:175-86.
11. Yezierski RP, Park SH. The mechanosensitivity of spinal sensory neurons following intraspinal injections of quisqualic acid in the rat. *Neurosci Lett* 1993; 157:115-9.
12. Basbaum AI, Wall PD. Chronic changes in the response of cells in adult cat dorsal horn following partial deafferentation: the appearance of responding cells in a previously non-responsive region. *Brain Res* 1976;116:181-204.
13. Seltzer Z, Dubner R, Shir Y. A novel behavioural model of neuropathic pain disorders produced in rats by partial sciatic nerve injury *Pain* 1990; 43:205-18.
14. Kim S, Chung JM. An experimental model for peripheral neuropathy produced by segmental spinal nerve ligation in the rat. *Pain* 1992; 50: 355-63.
15. Mosconi T, Kruger L. Fixed-diameter polyethylene cuffs applied to the rat sciatic nerve induce a painful neuropathy: Ultrastructural morphometric analysis of axonal alterations. *Pain* 1996; 64:37-57.
16. DeLeo JA, Coombs DW, Willenbring S et al. Characterization of a neuropathic pain model: sciatic cryoneurolysis in the rat. *Pain* 1994; 56:9-16.
17. Kupers R, Yu W, Persson J et al. Photochemically-induced ischemia of the rat sciatic nerve produces a dose-dependent and highly reproducible mechanical, heat and cold allodynia, and signs of spontaneous pain. *Pain* 1988; 76:45-9.
18. Courteix C, Eschalier A, Lavarenne J. Streptozocin-induced diabetic rats: behavioural evidence for a model of chronic pain. *Pain* 1993; 53:81-8.
19. Authier N, Coudore F, Eschalier A, Fialip J. Pain related behaviour during vincristine-induced neuropathy in rats. *NeuroReport* 1999; 6:965-8.
20. Authier N, Gillet JP, Fialip J et al. An animal model of nociceptive peripheral neuropathy following repeated cisplatin injections. *Exp Neurol* 2003; 182:12-20.
21. Polomano RC, Mannes AJ, Clark US, Bennett GJ. A painful peripheral neuropathy in the rat produced by the chemotherapeutic drug, paclitaxel. *Pain* 2001; 94:293-304.
22. Flatters SJ, Bennett GJ. Ethosuximide reverses paclitaxel- and vincristine-induced painful peripheral neuropathy. *Pain* 2004; 109:150-61.
23. Eliav E, Herzberg U, Ruda MA, Bennett GJ. Neuropathic pain from an experimental neuritis of the rat sciatic nerve. *Pain* 1999; 83:169-82.
24. Wagner RR, Myers R. Endoneurial injection of TNF-alpha produces neuropathic pain behaviors. *NeuroReport* 1996; 7:2897-901.
25. Ruiz G, Ceballos D, Baños JE. Behavioral and histological effects of endoneurial administration of nerve growth factor: possible implications in neuropathic pain. *Brain Res* 2004; 1011:1-6.
26. Ruiz G, Baños JE. The effect of endoneurial administration of nerve growth factor on calcitonin gene-related peptide expression in primary sensory neurons. *Brain Res* 2005; 1042:44-52.
27. Ahlgren SC, Levine JD. Mechanical hyperalgesia in streptozotocin-diabetic rats. *Neuroscience* 1993 ; 52 :1049-55.
28. Decosterd I, Woolf CJ. Spared nerve injury: an animal model of persistent peripheral neuropathic pain. *Pain* 2000; 87:148-58.
29. Bourquin AF, Suveges M, Pertin M, Gilliard N, Sardy S, Davison AC, Spahn DR, Decosterd I. Assessment and analysis of mechanical allodynia-like behavior induced by spared nerve injury (SNI) in the mouse. *Pain*. 2006;122:14.e1-14.
30. Coyle DE, Sehlhorst CS, Mascari C. Female rats are more susceptible to development of neuropathic pain using the partial sciatic nerve ligation (PSNL) model. *Neurosci Lett* 1995; 186:135-8.
31. De Leo JA, Rutkowski MD. Gender differences in rat neuropathic pain sensitivity is dependent on strain. *Neurosci Lett* 2000; 282:197-9.

