Modelos animales de dolor neuropático: dolor inducido por antitumorales frente a manipulación de nervios periféricos

C. Goicoechea
Área de Farmacología, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Rey Juan Carlos, Alcorcón, Madrid.

Resumen: *En investigación básica disponemos de algunos modelos para estudiar el dolor neuropático y su tratamiento farmacológico; entre ellos, por su frecuente uso, destacan la manipulación quirúrgica de los nervios espinales, una aproximación desarrollada a finales del siglo XX, y la administración de agentes químicos (antibióticos, antitumorales), desarrollada a principios de este siglo y derivada directamente de la observación clínica, ya que está demostrado que el uso de estos fármacos puede provocar neuropatías periféricas en los pacientes. Si bien muchos de los avances más importantes en el conocimiento del dolor neuropático se han debido al uso del modelo de ligadura del nervio ciático (alteraciones de la concentración de algunos neurotransmisores o activación de células gliales, por ejemplo), en la actualidad los modelos basados en el uso de agentes antineoplásicos están ganando aceptación entre la comunidad científica, en parte por su correlación con la clínica humana. La comparación entre ambos modelos demuestra que las modificaciones que se producen en situaciones de daño nervioso son semejantes a corto y medio plazo (modificaciones en la inervación periférica, liberación de sustancias proinflamatorias...), que ambos son modelos útiles porque nos permiten mejorar nuestro conocimiento sobre el origen y el desarrollo del dolor neuropático, así como el desarrollo de fármacos específicos, y que tal vez puedan suministrarnos datos objetivos para seleccionar el modelo más adecuado para estudiar distintos tipos de dolor neuropático.*

Palabras clave: Dolor neuropático – Antitumorales – Ligadura del nervio ciático – Cannabinoides – Rata.

Introducción

El dolor, "una experiencia sensorial y emocional desagradable asociada a un daño tisular evidente o probable, o descrita en términos coincidentes con esa lesión" (según la Asociación Internacional para el Estudio del Dolor),[1] actúa indudablemente como sistema de alarma, y de su correcto funcionamiento depende la integridad del organismo. Sin embargo, cuando el dolor se cronifica pierde su sentido protector y se convierte en una situación clínica *per se*, provocando además en el paciente sensaciones de estrés, ansiedad e incluso sufrimiento.

De los distintos tipos de dolor crónico, uno de los más problemáticos es el dolor neuropático, que se define como un dolor originado por una lesión nerviosa o disfunción del sistema nervioso central. Aunque afortunadamente presenta una baja incidencia con respecto al total de situaciones de dolor crónico, respon-

de muy mal al tratamiento farmacológico habitual porque no siempre es posible identificar dicha lesión o disfunción,[1] o porque no es posible conocer su etiología. Por ello, el diseño de modelos animales para poder estudiar este tipo de dolor ha sido muy complicado, y sólo recientemente se ha podido empezar a estudiar en el laboratorio.

Aunque existen diferentes aproximaciones experimentales para el estudio del dolor neuropático, nos centraremos en dos modelos de inducción de neuropatía periférica en roedores: la manipulación de los nervios periféricos y la administración de antitumorales. Sin embargo, no son los únicos en imitar una situación de dolor crónico y existen otras posibilidades, como el desarrollo de neuropatía diabética por administración de estreptozotocina en ratas,[2] o las lesiones centrales por administración de un agente químico,[3] aunque estos modelos son menos empleados, en general por la elevada incidencia de modificaciones fisiológicas y conductuales que presentan y que complican considerablemente la valoración de la nocicepción en el laboratorio.

Modelo de la ligadura del nervio ciático

Aunque ya se habían desarrollado previamente modelos de dolor neuropático en animales mediante la sección de troncos nerviosos,[4] el gran avance en el estudio de las neuropatías periféricas se produce gracias al modelo propuesto por Bennet y Xie en 1988.[5] Consiste en aislar el nervio ciático en la zona próxima a la trifurcación y realizar tres ligaduras a su alrededor con hilo catgut crómico, no reabsorbible, con aproximadamente 1 mm de separación entre ellas. Las ligaduras se realizan cuidadosamente para constreñir el nervio, disminuyendo, pero no impidiendo, la circulación sanguínea a través de la vasculatura epidural superficial. Aunque se manifiestan signos a partir de la semana, como por ejemplo conductas de protección de la pata operada, los efectos más significativos aparecen al cabo de 5 a 10 días y, según los diseñadores del modelo, se mantienen al menos tres meses.[5] Entre los parámetros más interesantes para valorar la neuropatía figuran la hiperalgesia térmica y la alodinia mecánica, ya que ambas son situaciones muy frecuentes en la clínica humana. Han aparecido distintas variaciones del modelo original, que incluyen ligaduras parciales del nervio ciático[6] o ligaduras de otros nervios espinales,[7] que aportan pequeñas diferencias funcionales al modelo de Bennet y Xie.

Para determinar la aparición y el grado de evolución de la hipersensibilidad al dolor (hiperalgesia o alodinia) propia de los modelos de neuropatía periférica, se suelen utilizar dos pruebas de nocicepción: el estímulo térmico de la pata trasera (*plantar test*),[8] para valorar la hiperalgesia térmica, y la utilización de filamentos calibrados en la planta de las patas (test de Von Frey),[9] para valorar la alodinia mecánica.

El *plantar test* consiste en un dispositivo que emite un foco calórico de intensidad regulable hacia la superficie plantar del animal. La intensidad del foco térmico se ajusta para un tiempo de latencia control (tiempo de retirada de la pata trasera) de 8-10 segundos, y se establece un tiempo de corte de 30 segundos. La utilidad de este test, en el modelo de la ligadura del ciático, radica en la posibilidad de tener en el mismo animal una respuesta basal, o control (la pata contraleteral, no operada), y una respuesta a la lesión (la pata ipsilateral, lesionada), de forma que disminuye la influencia de la variabilidad interindividual. Generalmente, las patas traseras se someten al test de forma alternativa, con un intervalo de 1,5-2 minutos entre cada medida. Se suelen realizar tres medidas de cada pata en cada sesión, tomando como valor la media de las tres.

Para la valoración de la alodinia mecánica, generalmente se utilizan los filamentos de Von Frey (calibrados entre 0,9 y 40 g), que se aplican en la superficie plantar de las patas traseras. Estos filamentos son de nailon y están calibrados para ejercer una presión determinada en la pata. Se valora la fuerza que es necesario aplicar para obtener una retirada o movimiento reflejo de la pata de la rata. Se presiona la superficie plantar de ambas patas

traseras, de forma alternativa, con los distintos filamentos de nailon, en orden creciente de presión (desde 0,9 hasta 40 g). Cada medida se repite cinco veces con un intervalo de 1-2 segundos. Si no se obtiene respuesta con el filamento aplicado, el proceso se repite con la siguiente fibra de mayor fuerza, considerando como umbral de respuesta la fuerza que ejerce el primer filamento que produce una respuesta positiva en al menos tres de los cinco estímulos.

Modelo por administración de antitumorales

La introducción en la clínica de agentes antitumorales como la vincristina, el cisplatino o más recientemente el paclitaxel, se vio acompañada, como efecto indeseable de su utilización, de la aparición de neuropatías periféricas, cuyo establecimiento es con frecuencia motivo de interrupción de la terapia por parte del paciente.

La comprobación de que la administración de estos fármacos a roedores provoca la aparición de conductas nociceptivas, hiperalgésicas y alodínicas similares a las observadas en el paciente,[10] ha convertido a este modelo en una alternativa muy popular para el estudio del dolor neuropático, ya que ofrece la posibilidad de recrear en el laboratorio una situación casi idéntica a la ocurrida en la clínica humana.

Aunque puede llevarse a cabo con diversos agentes citotóxicos, nos centraremos en la descripción y el estudio del modelo por administración de paclitaxel. Se administra paclitaxel (1 mg/kg) a las ratas por vía intraperitoneal (i.p.) en cuatro días alternativos (días 1, 3, 5 y 7), con un volumen de inyección de 1 ml.[10] La dosis acumulada final de paclitaxel es de 4,0 mg/kg.

Se observa el comportamiento espontáneo de las ratas y se controla la evolución del peso corporal antes del tratamiento y durante tres semanas después de la primera administración de paclitaxel o vehículo. Se ha descrito una duración de la neuropatía de al menos 35 días.[10] Para valorar la aparición de neuropatía periférica bilateral se utilizan las mismas pruebas que para el modelo de la ligadura: el *plantar test* y el modelo de filamentos de Von Frey.

Se han descrito pequeñas diferencias en función del agente antineoplásico utilizado, y así, por ejemplo, la administración de paclitaxel no provoca la aparición de dolor espontáneo, y la hiperalgesia térmica es menos evidente en el modelo de administración de cisplatino.[11]

Valoración de la neuropatía periférica inducida por ambos modelos: cambios en la conducta, alteraciones ultraestructurales y respuesta farmacológica

Cambios conductuales

La ligadura del nervio ciático en la rata provoca una alodinia mecánica y una hiperalgesia al calor evidentes a los 14 días de la realización de la cirugía. El desarrollo de neuropatía es unilateral, con una diferencia de sensibilidad al estímulo (tanto térmico como mecánico) estadísticamente significativa al comparar la respuesta en ambas patas traseras (Fig. 1).

Con el modelo de neuropatía por administración de paclitaxel se obtienen resultados similares. En este caso la neuropatía es bilateral, se manifiesta a partir de los siete días y se mantiene, en nuestras condiciones experimentales, al menos 30 días (Fig. 2).[12]

Alteraciones ultraestructurales

Existen pruebas de las modificaciones provocadas por los modelos animales de dolor neuropático, y muchas de ellas guardan paralelismo con lo evidenciado en la clínica humana. En la rata se han descrito alteraciones en la inervación de la piel tras la ligadura de los nervios periféricos, con aparición de fibras autónomas;[13] en situaciones de dolor crónico en humanos, la modulación farmacológica de las fibras autónomas es una estrategia terapéutica, ya que está comprobada su participación

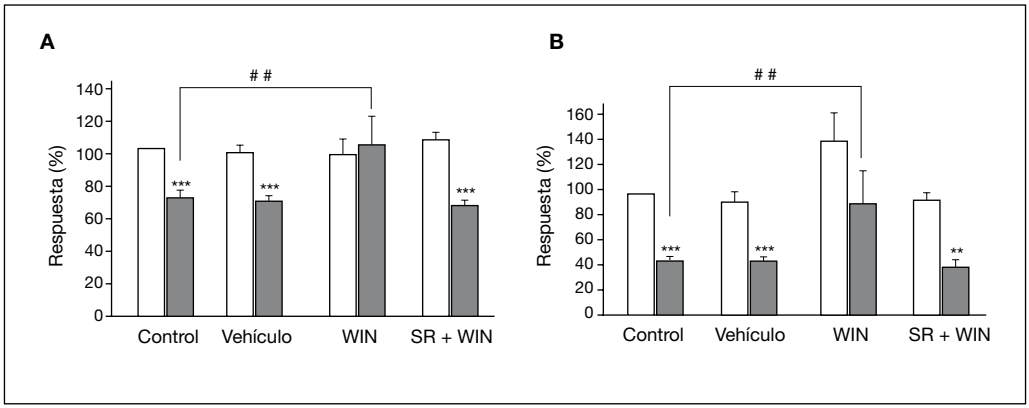

*Figura 1. Valoración de la hiperalgesia (A) y la alodinia mecánica (B) en ratas con ligadura del nervio ciático, a los 14 días de la operación. Las barras muestran la media ± error estándar de la media de los porcentajes de respuesta frente al control obtenidos en grupos de 12 animales. Las barras blancas muestran la respuesta en la pata control y las barras negras en la pata operada. Vehículo = grupos tratados con el vehículo de los cannabinoides; WIN = grupos tratados con 1,5 mg/kg, i.p. de WIN; SR+WIN = grupos tratados con el antagonista SR (1 mg/kg, i.p.) y WIN (1 mg/kg, i.p.). **p < 0.01, ***p <0.001 frente a pata control, ##p <0.01 frente a pata contralateral.*

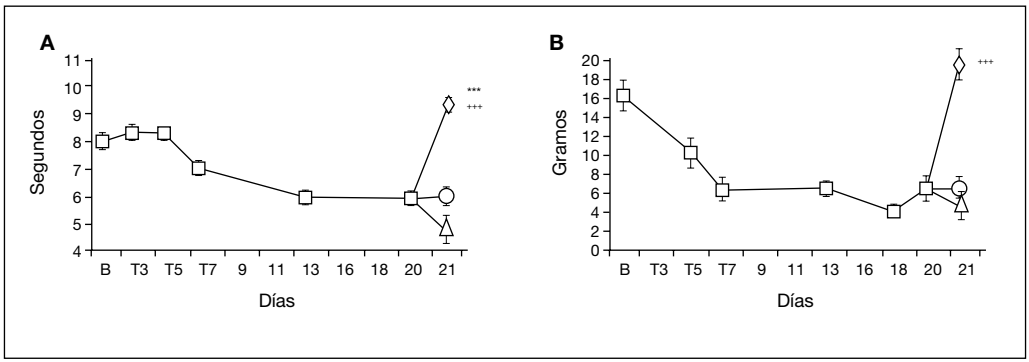

*Figura 2. Valoración de la hiperalgesia (A) y la alodinia mecánica (B) en ratas antes (día B), durante (T3-T7) y después del tratamiento con pacilitaxel. Los cuadrados muestran la media ± error estándar de la media de los valores obtenidos en todos los grupos de 12 animales. El rombo muestra la respuesta del grupo tratado el día 21 con WIN 1,5 mg/kg i.p.; el círculo la respuesta del grupo tratado con el vehículo del WIN; el triángulo la respuesta del grupo tratado con el antagonista SR1 (1 mg/kg i.p.) y con WIN (1,5 mg/kg i.p.). ***p <0.001 frente a día B; +++p <0.001 frente a día 20.*

en el mantenimiento del dolor crónico. Otro ejemplo es que el modelo de la ligadura del nervio ciático provoca un aumento de la sensibilidad mecánica en zonas cutáneas próximas a la lesión, pero fuera del territorio inervado por el nervio ciático; esta situación se correlaciona fácilmente con las situaciones de dolor extraterritorial que mencionan frecuentemente los pacientes con dolor neuropático.[14-16] La existencia de este tipo de coincidencias permite aventurar que otras modificaciones halladas en el modelo animal podrían también estar presentes en los pacientes aquejados de dolor neuropático. Así, por ejemplo, en el modelo de la ligadura del nervio ciático, se sabe que una de las causas del inicio y el mantenimiento del dolor crónico

es la activación de las células gliales, en particular de la microglía.[17] Éstas liberan una serie de factores pronociceptivos[18,19] que van a favorecer la cronificación del dolor, en particular citocinas proinflamatorias (pero también antiinflamatorias). Esta evidencia ha permitido, por ejemplo, revertir la neuropatía por ligadura del ciático mediante la administración intratecal de interleucina 10, una citocina antiinflamatoria,[20] o de minociclina, una tetraciclina que inactiva la microglía.[21]

En el modelo de neuropatía periférica inducida por paclitaxel y otros quimioterápicos no se han hallado modificaciones importantes en la inervación periférica. Hasta el momento sólo se han descrito pequeñas e inconsistentes alteraciones en los microtúbulos y edema endoneural,[10] y no hay alteraciones de importancia en la conducción de la señal eléctrica en las fibras mielínicas.[22] Tampoco existen modificaciones en marcadores clásicamente alterados en situaciones de dolor neuropático, como el factor de crecimiento nervioso (NGF),[22] y sólo últimamente se ha propuesto la existencia de alteraciones en las mitocondrias de las células nerviosas como una posible justificación de la neuropatía.[23] Recientemente, de forma similar a lo acontecido con el modelo de ligadura del nervio ciático, se ha demostrado que la administración intravenosa de paclitaxel o vincristina favorece la activación de las células gliales y el aumento del número de macrófagos.[24] Para comprobar si el aumento de la reactividad glial está también implicado en el mantenimiento del dolor neuropático en el modelo de paclitaxel, decidimos administrar minociclina durante 14 días, desde el inicio del tratamiento con paclitaxel. Este tratamiento evitó la aparición de la neuropatía periférica, evaluada como desarrollo de hiperalgesia y alodinia (Fig. 3), lo cual sugiere que los fenómenos de hiperreactividad microglial que aparecen en el modelo de ligadura del nervio ciático se producen igualmente en el modelo de paclitaxel.

Modulación farmacológica

Como se ha comentado, el tratamiento farmacológico del dolor neuropático dista mucho de estar bien establecido, ya que con frecuencia los fármacos más eficaces en otros modelos de dolor crónico, como los opioides, son incapaces de aliviar el dolor. Frecuentemente se recurre a tratamientos con los llamados fármacos coadyuvantes, como los antidepresivos o los anticonvulsivantes.

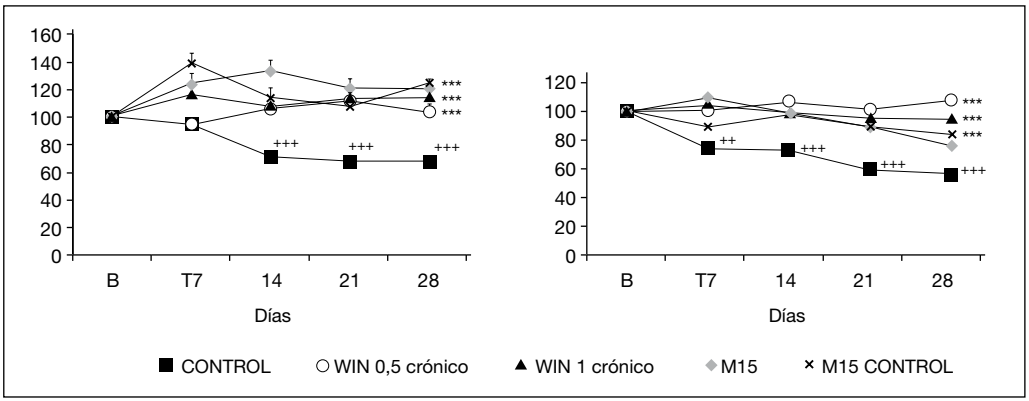

*Figura 3. Efecto del tratamiento crónico diario con WIN (0,5 y 1 mg/kg i.p.) o minociclina (M15; 15 mg/kg i.p.), durante los primeros 14 días, sobre la hiperalgesia (A) y la alodinia mecánica (B) en ratas tratadas con paclitaxel. Las líneas muestran la media ± error estándar de la media de los valores obtenidos en grupos de 12 animales. B indica los valores basales antes del tratamiento con paclitaxel; T7 indica el último día de tratamiento con paclitaxel; 14, 21 y 28 se refieren a los días tras el inicio del tratamiento con paclitaxel. ***p <0.001 frente a grupo control; ++p <0.01; +++p <0.001 frente a día B.*

Aparte de su aportación al estudio de las modificaciones asociadas al dolor crónico, los modelos de dolor neuropático han permitido profundizar en la búsqueda de fármacos para el tratamiento de este tipo de situaciones. Se ha descrito una buena correlación entre los efectos analgésicos obtenidos en modelos animales de dolor neuropático y la respuesta en clínica humana,[25] lo que permite utilizarlos como modelos de predicción de la respuesta a fármacos (con las limitaciones propias de todos los modelos animales, evidentemente).

En los últimos años se han incorporado al grupo de fármacos analgésicos coadyuvantes los cannabinoides, un conjunto de fármacos derivados del Δ^9-tetrahidrocannabinol (THC), que presentan un buen perfil analgésico[26-28] y que han empezado a utilizarse para algunos dolores crónicos. Por ejemplo, en Canadá está comercializado *Sativex*, una mezcla de THC y cannabidiol (ambos alcaloides de la planta *Cannabis sativa*), para el tratamiento del dolor neuropático en pacientes con esclerosis múltiple. El estudio del sistema endocannabinoide y su participación en el dolor crónico ofrece, por lo tanto, la posibilidad de desarrollar nuevos fármacos eficaces para el tratamiento de estas situaciones.

Nuestro grupo tiene en marcha una línea de investigación sobre el papel de los fármacos cannabinoides en el tratamiento del dolor crónico experimental en roedores. Para valorar el efecto de los agonistas cannabinoides sobre la neuropatía periférica se realizaron dos aproximaciones experimentales: la valoración del efecto agudo del agonista cannabinoide WIN 55,212-2 (WIN) sobre los signos de la neuropatía en ambos modelos experimentales, y la posible prevención del desarrollo de dicha neuropatía con un tratamiento crónico con cannabinoides en el modelo de neuropatía por paclitaxel.

Efecto de la administración aguda del agonista cannabinoide WIN 55,212-2

Aunque el efecto agudo de WIN en la ligadura del nervio ciático ya había sido evaluado previamente por otros autores,[29] nuestro grupo fue el primero en comparar la respuesta del agonista cannabinoide en ambos modelos.[12] Para ello se administró una dosis de WIN de 1,5 mg/kg, por vía i.p., al día siguiente de la última valoración (día 21 en el grupo tratado con paclitaxel y día 14 en el modelo de la ligadura). La administración del agonista cannabinoide WIN revirtió tanto la hiperalgesia como la alodinia mecánica en ambos modelos. Este efecto fue bloqueado por la administración previa de SR141716A, un antagonista cannabinoide selectivo de los receptores CB1 (Figs. 1 y 2).

Intentando analizar el mecanismo de acción de los cannabinoides en ambos modelos, procedimos a administrar el agonista WIN (50, 100 y 250 µg) por una vía tópica, como es la administración intraplantar.

En ninguno de los dos modelos estudiados se encontraron diferencias entre la respuesta de la pata en que se administró WIN y la pata "no tratada" (Figs. 4 y 5), lo que demuestra el efecto antinociceptivo sistémico del agonista cannabinoide y descarta diferencias en el efecto del fármaco en función del modelo experimental.

Efecto de la administración crónica del agonista cannabinoide WIN 55,212-2

Puesto que el efecto del WIN no se debía a una acción periférica, decidimos estudiar el efecto de su administración crónica durante el establecimiento de la neuropatía inducida por paclitaxel. En este caso se administró una vez al día (0,5 y 1 mg/kg, i.p.), durante los primeros 14 días, y a las dos dosis estudiadas consiguió prevenir el desarrollo de la neuropatía periférica en el modelo de paclitaxel, manteniendo en valores control los umbrales de respuesta a la estimulación, tanto térmica como mecánica, desde el mismo momento de inicio del protocolo experimental (Fig. 3), de forma similar a lo ocurrido con el tratamiento previo con minociclina.

Conclusiones

La aparición, en los últimos años, de modelos experimentales válidos para estudiar

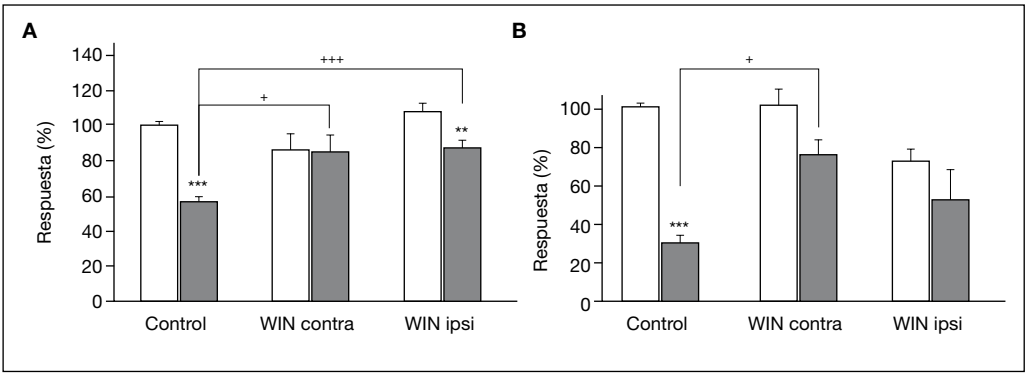

*Figura 4. Efecto de WIN intraplantar (i.pl.) sobre la hiperalgesia (A) y la alodinia mecánica (B) en ratas con ligadura del nervio ciático. Las barras muestran la media ± error estándar de la media de los porcentajes de respuesta frente al control obtenidos en grupos de 12 animales. Las barras blancas muestran la respuesta en la pata control y las barras negras en la pata operada. WIN ipsi= grupo tratado con 250 µg i.pl. en la pata operada; WIN contra = grupo tratado con 250 µg i.pl. en la pata control. **p <0.01; ***p <0.001 frente a pata contralateral; $^{+}$p <0.05; $^{+++}$p <0.001 frente a pata ipsilateral.*

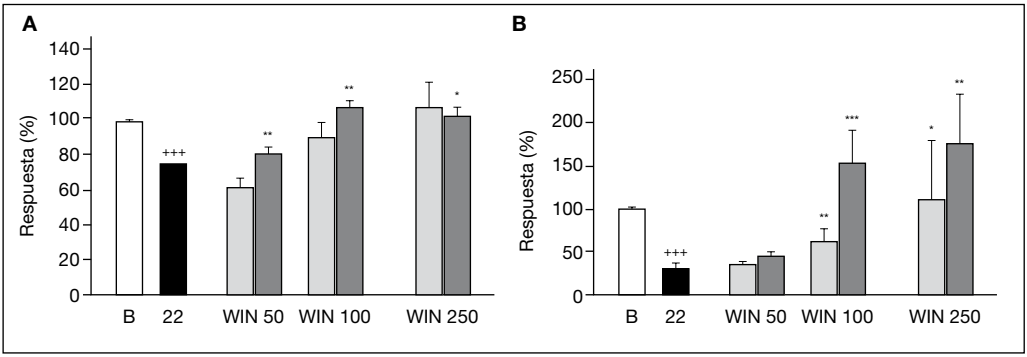

*Figura 5. Efecto de WIN intraplantar (i.pl.) sobre la hiperalgesia (A) y la alodinia mecánica (B) en ratas tratadas con paclitaxel. Las barras muestran la media ± error estándar de la media de los valores obtenidos en grupos de 12 animales. B indica los valores basales antes del tratamiento con paclitaxel; 22 indica los valores el día previo a la administración de WIN. Las barras con rayas horizontales indican el efecto en la misma pata en que se administra WIN (50, 100 y 250 µg); las barras con rayas verticales los valores medidos en la pata contralateral. *p <0.05; **p <0.01; ***p <0.001 frente a día 22; $^{+++}$p <0.001 frente a día B.*

el dolor neuropático en sus distintas facetas (génesis, evolución, modulación farmacológica) abre un amplio campo de trabajo y ofrece atractivas expectativas clínicas.

La comparación de las dos aproximaciones experimentales más empleadas en el laboratorio para inducir dolor neuropático, el modelo de la ligadura del nervio ciático y el modelo de administración de antitumorales, demuestra la existencia de importantes similitudes tanto en el desarrollo y la evolución temporal de la neuropatía como en las modificaciones ultraestructurales que la acompañan, e incluso en su idoneidad para la valoración de estrategias farmacológicas.

Ambos modelos muestran ventajas e inconvenientes a la hora de su utilización en el laboratorio. El modelo de la ligadura del nervio

ciático requiere cierta habilidad manual y experiencia práctica, mientras que el modelo de administración de antitumorales es sencillo y fácilmente reproducible, y aunque este último es más caro (ni el paclitaxel ni la vincristina son precisamente baratos) prácticamente no existen fallos atribuibles al método, lo que siempre puede ocurrir cuando se emplea un procedimiento quirúrgico como la ligadura del nervio ciático.

Por todo ello, actualmente no hay datos suficientes que permitan seleccionar un modelo u otro en función del tipo de estudio que se quiera realizar, y no hay una técnica que pueda predecir una respuesta farmacológica determinada, ya que la evolución clínica de las situaciones de dolor neuropático no son predecibles ni constantes. Sin embargo, la gran cantidad de información que se está obteniendo gracias a los distintos modelos utilizados en investigación básica permitirán, así lo esperamos al menos, que en un plazo razonable se puedan obtener nuevos modelos, o perfeccionar los ya existentes, para lograr un buen conocimiento y, lo que es más importante, un adecuado tratamiento del dolor neuropático.

BIBLIOGRAFÍA

1. IASP Task Force on Taxonomy. Part III: Pain terms, a current list with definitions and notes on usage. En: Merskey H, Bogduk N, editors. Classification of chronic pain, 2nd ed. Seattle: IASP Press; 1994. p. 209-14.
2. Ahlgren SC, Levine JD. Mechanical hyperalgesia in streptozotocin-diabetic rats. Neuroscience. 1993;52:1049-55.
3. 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.
4. Wall PD, Devor M, Inbal R, Scadding JW, Schonfeld D, Seltzer Z, et al. Autotomy following peripheral nerve lesions. Experimental anesthesia dolorosa. Pain. 1979;7:103-13.
5. 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.
6. 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.
7. Kim S, Chung JM. An experimental model for peripheral neuropathy produced by segmental spinal nerve ligation in the rat. Pain. 1992;50:355-63.
8. Hargreaves KM, Dubner R, Brown F, Flores C, Joris J. A new and sensitive method for measuring thermal nociception in cutaneous hyperalgesia. Pain. 1988;32:77-88.
9. Chaplan SR, Bach FW, Pogrel JW, Chung JM, Yaksh TL. Quantitative assessment of tactile allodynia in the rat paw. J Neurosci Methods. 1994;53:55-63.
10. 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.
11. Vera G, Chiarlone A, Cabezos PA, Pascual D, Martín MI, Abalo R. WIN 55,212-2 prevents mechanical allodynia but not alterations in feeding behaviour induced by chronic cisplatin in the rat. Life Sci. 2007;81:468-79.
12. Pascual D, Goicoechea C, Suardiaz M, Martín MI. A cannabinoid agonist, WIN 55,212-2, reduces neuropathic nociception induced by paclitaxel in rats. Pain. 2005;118: 23-34.
13. Grelik C, Bennett GJ, Ribeiro da Silva A. Autonomic fibre sprouting and changes in nociceptive sensory innervation in the rat lower lip skin following chronic constriction injury. Eur J Neurosci. 2005;21:2475-87.
14. Ochoa JL, Yarnitsky D. Mechanical hyperalgesias in neuropathic pain patients: dynamic and static subtypes. Ann Neurol. 1993;33:465-72.
15. Baron R. Peripheral neuropathic pain: from mechanisms to symptoms. Clin J Pain. 2000;16(2 Suppl):S12-20.
16. Jensen TS, Gottrup H, Sindrup SH, Bach FW. The clinical picture of neuropathic pain. Eur J Pharmacol. 2001;429:1-11.
17. Watkins LR, Milligan ED, Maier SF. Glial activation: a driving force for pathological pain. Trends Neurosci. 2001;24:450-5.
18. Marchand F, Perretti M, McMahon SB. Role of the immune system in chronic pain. Nat Rev Neurosci. 2005;6:521-32.
19. Tsuda M, Inoue K, Salter MW Neuropathic pain and spinal microglia: a big problem from molecules in “small” glia. Trends Neurosci. 2005;28:101-7.

20. Milligan ED, Langer SJ, Sloane EM, He L, Wieseler-Frank J, O'Connor K, et al. Controlling pathological pain by adenovirally driven spinal production of the anti-inflammatory cytokine, interleukin-10. Eur J Neurosci. 2005;21:2136-48.
21. Ledeboer A, Sloane EM, Milligan ED, Frank MG, Mahony JH, Maier SF, et al. Minocycline attenuates mechanical allodynia and proinflammatory cytokine expression in rat models of pain facilitation. Pain. 2005;115:71-83.
22. Persohn E, Canta A, Schoepfer S, Traebert M, Mueller L, Gilardini A, et al. Morphological and morphometric analysis of paclitaxel and docetaxel-induced peripheral neuropathy in rats. Eur J Cancer. 2005;41:1460-6.
23. Flatters SJ, Bennett GJ. Studies of peripheral sensory nerves in paclitaxel-induced painful peripheral neuropathy: evidence for mitochondrial dysfunction. Pain. 2006;122:245-57.
24. Peters CM, Jiménez-Andrade JM, Jonas BM, Sevcik MA, Koewler NJ, Ghilardi JR, et al. Intravenous paclitaxel administration in the rat induces a peripheral sensory neuropathy characterized by macrophage infiltration and injury to sensory neurons and their supporting cells. Exp Neurol. 2007;203:42-54.
25. Bennett, GJ. Animal models of neuropathic pain and its treatment. The Fifth International Conference on the Mechanisms and Treatment of Neuropathic Pain, 2002. Disponible en: http://www.neuropathicpain.org/SUMMARY/home.htm (consultado el 28 de noviembre de 2007).
26. Jhaveri MD, Sagar DR, Elmes SJ, Kendall DA, Chapman V. Cannabinoid CB2 receptor-mediated anti-nociception in models of acute and chronic pain. Mol Neurobiol. 2007;36:26-35.
27. Liang YC, Huang CC, Hsu KS. The synthetic cannabinoids attenuate allodynia and hyperalgesia in a rat model of trigeminal neuropathic pain. Neuropharmacology. 2007;53:169-77.
28. Ware M, Beaulieu P. Cannabinoids for the treatment of pain: An update on recent clinical trials. Pain Res Manag. 2005;10(Suppl A):27A-30A.
29. Herzberg U, Eliav E, Bennett GJ, Kopin IJ. The analgesic effects of R(+)-WIN 55,212-2 mesylate, a high affinity cannabinoid agonist, in a rat model of neuropathic pain. Neurosci Lett. 1997;221:157-60.

DISCUSIÓN

A.M. Planas: ¿Observáis diferencias temporales en la respuesta de los astrocitos y de la microglía?

C. Goicoechea: En el dolor neuropático primero se produce reactividad microglial y luego una activación de los astrocitos. Dado que la minociclina bloquea la microglía y no actúa sobre los astrocitos, nos llamó la atención observar una modificación de la actividad de los astrocitos. Suponemos que al administar minociclina durante 15 días, la acción sobre la microglía acaba repercutiendo sobre los astrocitos.

M.I. Colado: ¿Por qué elegisteis el modelo de ligadura del ciático en lugar de la denervación directa del ciático? ¿Observáis autotomía en este modelo?

C. Goicoechea: La principal crítica de los modelos de ligadura fuerte del nervio ciático era que producía incapacidad motora de la pata. Por un lado conllevaba cuestiones éticas y, por otro lado, no respondía a las necesidades de los clínicos porque los pacientes pueden mover el brazo, no lo tienen inmovilizado. El modelo propuesto por Bennett y Xie, en vez de atar o seccionar el nervio, se basa en provocar una neuroinflamación y una degeneración de los axones que afectan la movilidad de la pata, pero sin producir autotomía.

A.G. Fernández: Me han sorprendido gratamente, en tus resultados, los bajos valores que muestran las medidas de dispersión, lo que sugiere una gran robustez del modelo en un campo como es el dolor, caracterizado por una amplia variación en la respuesta individual. Me preguntaba si esa reducida variación intraexperimento se mantiene a lo largo del tiempo entre distintos experimentos.

C. Goicoechea: El modelo por administración de antitumorales implica poca manipulación

y sólo depende de la administración del fármaco, que no es complicada, por lo que es un modelo bastante reproducible. El modelo de ligadura del nervio ciático, una vez has desarrollado la técnica, es absolutamente reproducible y no existen variaciones.

J.M. Vela: En el modelo de paclitaxel habéis utilizado WIN, un agonista no selectivo. Has comentado que el efecto antihiperalgésico y antialodínico es revertido por rimonabant, un antagonista CB1. ¿También lo revierten los antagonistas CB2? En cambio, parece que los antagonistas CB2 están más implicados en la inhibición de la reactividad microglial; en tal caso, ¿el rimonabant revierte esos efectos?

C. Goicoechea: Ciertamente, WIN no es un agonista selectivo y utilizamos el antagonista del receptor CB1 porque era un estudio preliminar. Ahora hay más argumentos a favor de la utilización de antagonistas CB2 porque este receptor es minoritario en el sistema nervioso central. El objetivo es buscar un fármaco con efectos analgésicos sin alteraciones conductuales, y por eso existe esta tendencia hacia los CB2. Respecto a tu segunda cuestión, todavía no lo hemos probado.

J.M. Baeyens: Entre el modelo de ligadura laxa del ciático y el de antitumorales, ¿cuál prefieres?

C. Goicoechea: A mí me gusta el modelo de ligadura del ciático básicamente por cuestiones prácticas: cada animal es su propio control porque se mantiene una pata sana y otra lesionada, hay poca variabilidad en un mismo individuo y entre individuos, y es más barato.

J.M. Baeyens: Parece que cada vez se pone más de manifiesto que el pretratamiento es muy importante para evitar la cronificación del dolor. No sé si estás de acuerdo.

C. Goicoechea: Sí, para el dolor agudo está claro que un tratamiento analgésico previo a la cirugía disminuye la necesidad de analgésicos después de ésta, y el riesgo de cronificación del dolor. Aunque también tengo que decirte que no todos los clínicos están convencidos.