

Edición en Español de:  
Laboratory Animals (1994) **28**, 222-231

# Laboratory Animals

THE INTERNATIONAL JOURNAL OF  
LABORATORY ANIMAL SCIENCE AND WELFARE

## Refinamiento en el uso animal: evaluación y alivio del dolor y sufrimiento.

P. A. Flecknell

Comparative Biology Centre, Medical School, University of Newcastle  
Framlington Place, Newcastle upon Tyne NE2 4HH, UK.

**Este artículo ha sido traducido por:** D<sup>a</sup> Clara Martínez Nistal

**Revisado por:** Dr. José Luís Martín Barrasa

**Coordinador:** D. Jesús Martínez Palacio

Editado por:



Publicación patrocinada por:



Nuestro agradecimiento al Consejo de Dirección de *Laboratory Animals Ltd.* por el patrocinio y colaboración en esta traducción.

# Refinamiento en el uso animal: evaluación y alivio del dolor y sufrimiento.

**P. A. Flecknell**

Comparative Biology Centre, Medical School, University of Newcastle, Framlington Place, Newcastle upon Tyne NE2 4HH, UK.

## Resumen

El refinamiento de las técnicas experimentales representa una oportunidad importante para mejorar el bienestar de los animales de laboratorio. Para poder evaluar procedimientos que afirman ser mejoras, son necesarios métodos objetivos para la evaluación del dolor y el sufrimiento en los animales. Los métodos utilizados en la actualidad para la evaluación y alivio del dolor y el sufrimiento no son satisfactorios, y a menudo se basan en extrapolaciones antropomórficas carentes de sentido crítico. Los desarrollos futuros posibilitarán el establecimiento de sistemas clínicos de evaluación validados, o de identificación de índices bioquímicos o fisiológicos de dolor o sufrimiento. Si pueden desarrollarse métodos fiables de evaluación del dolor, se podrá llevar a cabo una evaluación crítica de los métodos disponibles para el alivio del dolor y el sufrimiento. Este artículo revisa métodos de evaluación clínica del dolor en animales, en referencia a las técnicas que se utilizan para el ser humano. También son revisadas brevemente las técnicas para el alivio del dolor.

**Palabras clave:** dolor, sufrimiento, animal, analgésicos.

*Basado en la presentación del simposio "Developments in laboratory animal science" (Desarrollos en las ciencias del animal de laboratorio) que se celebró el 24 de septiembre de 1993 para celebrar el décimo aniversario del Departamento de las Ciencias del Animal de Laboratorio de la Universidad de Utrecht, Holanda*

La reedición del texto clásico de Russell y Burch *The Principles of Humane Experimental Technique* (Principios de la técnica de experimentación humana) en 1992 nos sirve para subrayar los problemas que aún se plantean a la hora de implementar los tres principios básicos de sustitución, reducción y refinamiento. Russell y Burch definieron *refinamiento* como "simplemente reducir a un mínimo absoluto el nivel de sufrimiento que se provoca a aquellos animales que se están utilizando." A pesar de que se reconoce que los procesos de refinamiento son importantes, el texto dedica un espacio significativamente menor a este concepto, y los autores subrayaron que de los tres principios, el refinamiento era el que presentaba las mayores dificultades al experimentador. Lo que resulta más significativo es que en el debate sobre el refinamiento parece subyacer la suposición de que los procedimientos que causan sufrimiento a los humanos también lo producirán a los animales. A pesar de que muy pocos experi-

mentadores estarán en desacuerdo con la implicación general de esta visión, es importante que esta suposición no se transforme en afirmar, que los procedimientos que causan sufrimiento en los humanos causarán un grado igual de sufrimiento en los animales, o bien, que los procedimientos que no causan sufrimiento en los humanos tampoco lo causarán en los animales. Esta visión está prácticamente injustificada, y en algunos casos podría conllevar la disminución del bienestar en un animal. Fomentar el refinamiento de las técnicas experimentales requiere algo más que la adopción de visiones antropomórficas desprovistas de sentido crítico. Es necesario un acercamiento crítico basado en la cuidadosa evaluación del dolor y el sufrimiento animal.

## La importancia de la evaluación del dolor y el sufrimiento

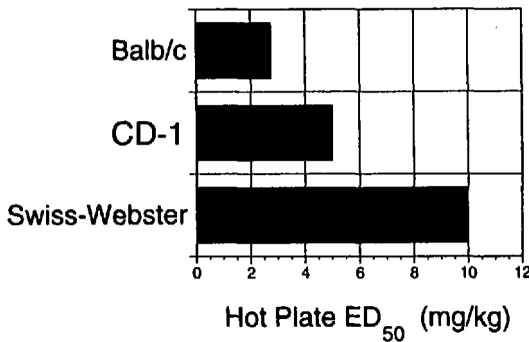
Tal vez no sea evidente a primera vista la razón por la que la evaluación del dolor y el sufrimiento son cruciales para la mejora de las técnicas experimentales. Puede ser de ayuda la consideración de dos ejemplos. La toma de

muestras de sangre en animales es un requisito que forma parte de una amplia variedad de proyectos de investigación. El potencial de refinamiento en las técnicas de toma de muestras de sangre ha sido objeto del reciente informe de un grupo de trabajo (BVA/FRAME/RSPCA/UFAW 1993), que aboga por el uso de procedimientos atraumáticos y poco invasivos. Muchas de las opiniones acerca de la conveniencia de técnicas de toma de muestras de sangre, están basadas no en la evaluación objetiva del grado de dolor o sufrimiento causado por cada técnica, sino en una evaluación subjetiva en la que se usan criterios antropomórficos. Esto dificulta la evaluación de nuevas técnicas, en particular cuando se intenta comparar una técnica invasiva practicada bajo anestesia, con una técnica en apariencia menos invasiva pero que requiere la sujeción manual del animal. Si se pudiera desarrollar un método objetivo de evaluación del dolor o sufrimiento causado por cada técnica, estas comparaciones podrían hacerse de forma más fiable, y acordarse la adopción de mejoras por parte de todos los implicados.

Un segundo ejemplo de la necesidad de evaluar el grado de dolor o sufrimiento, aparece cuando se considera una intervención destinada a paliar el dolor, por ejemplo, la administración, previa a la cirugía experimental, de un analgésico. La decisión de administrar un analgésico puede haberse tomado inicialmente basándose en criterios antropomórficos: si un procedimiento quirúrgico causa dolor en el ser humano, también lo causará en el animal. Sin embargo, la elección del analgésico debe hacerse en función del grado real de dolor presente. Si se hace un uso inapropiado de un analgésico potente, los efectos secundarios indeseados del agente pueden ser mayores que cualquier efecto potencial de alivio del dolor. Para determinar el grado de dolor, y en base a ello establecer un protocolo analgésico, es necesaria alguna forma de evaluación. A falta de un plan de evaluación, es necesario suponer que después de procedimientos idénticos el grado de dolor presente será idéntico en humanos y en animales. La consideración de diferencias anatómicas, posturales y de comportamiento entre animales y humanos demuestra que es poco probable que esta suposición sea acertada. Es más, para poder proporcionar alivio efectivo del

dolor tanto tiempo como sea necesario, si no se hace uso de ningún método de evaluación, será necesario suponer que la duración del dolor después de una intervención es idéntica en el animal y en el hombre, y que el ritmo de disminución en la magnitud del mismo también es idéntico. Incluso, si estas suposiciones fueran ciertas, es necesario suponer que todos los animales experimentarán niveles idénticos de dolor después de someterse a un procedimiento en particular, y que cada animal tendrá una respuesta idéntica frente a una dosis de analgésicos concreta. En el ser humano, está demostrado que diferentes individuos requieren diferentes terapias analgésicas después de intervenciones quirúrgicas aparentemente idénticas (Alexander & Hill 1987). En el ser humano, la dosis de analgésicos administrada y la frecuencia y duración del tratamiento, pueden ajustarse mediante la evaluación del dolor en cada paciente. En los animales, parece razonable suponer que el alivio efectivo del dolor puede llevarse a cabo solamente mediante una evaluación similar. No parece probable que la selección de una dosis inicial de analgésico arbitraria vaya a ser efectiva en todos los casos. Se ha demostrado que la respuesta a una determinada dosis de un compuesto varía considerablemente entre animales de diferente raza, edad y sexo (Lovell, 1986). Estudios sobre las respuestas a opiáceos, utilizando métodos de analgesio-metría experimentales para evaluar la eficacia de los agentes, han demostrado que esta variación en la respuesta tiene lugar con morfina y otros opiáceos (Frommel & Joye 1964, Katz 1980, Moskowitz et al. 1985). El grado de variación es considerable (Fig. 1), y es muy probable que la selección de un determinado protocolo analgésico suponga la sobredosificación en algunos animales y en cambio, proporcione analgesia insuficiente en otros.

Una complicación final se deriva de la información que se ha usado para determinar las dosis de analgésicos recomendadas para animales de laboratorio. En muchos casos estas se han extraído de estudios que utilizan pruebas de analgesia como el método de superficie caliente (*hot-plate test*) o el test de la retirada de la cola ante un estímulo térmico (*tail-flick test*) (Flecknell 1984, ILAR 1992, Liles & Flecknell 1992b). Aunque la eficacia en pruebas de analgesia proporciona una



**Fig 1: Método del plato caliente ED<sub>50</sub> de morfina en 3 razas de ratones de laboratorio (datos extraídos de Pick *et al.* 1991)**

predicción razonable de la potencia de un analgésico en el hombre (Taber 1974), la dosis que se requiere para aliviar el dolor postoperatorio puede variar considerablemente respecto a la dosis efectiva en una prueba de analgesia. Los resultados de estas pruebas proporcionan por tanto, indicaciones útiles de la potencia relativa de los analgésicos en animales, pero para determinar las dosis de analgésicos apropiadas para procedimientos experimentales particulares es necesario evaluar de algún modo el dolor clínico. Es por tanto de fundamental importancia que se desarrollen métodos objetivos de evaluación del dolor y el sufrimiento. Esto permitirá comparar diferentes técnicas experimentales o modificar las ya existentes, y seleccionar aquellas variaciones o métodos que causan menos dolor o sufrimiento al animal. Permitirá asimismo, el desarrollo y evaluación de técnicas de refinamiento como la administración de analgésicos, siempre con el objetivo de aliviar el dolor o sufrimiento.

## Métodos de evaluación del dolor y el sufrimiento

La evaluación del estrés y sufrimiento en los animales de laboratorio ha sido estudiada ampliamente (ILAR 1992, Manser 1992), por lo tanto, en este trabajo se considerará principalmente la evaluación del dolor. El dolor ha sido definido como “una experiencia sensorial y emocional desagradable asociada a un daño tisular, real o potencial, o descrita en términos de dicho perjuicio” (IASP

1979). Un concepto clave en esta definición es la subjetividad de la experiencia. Al menos, en el ser humano puede intentarse la transmisión, verbal o escrita, de estados emocionales, pero en los animales la falta de cualquier medio de comunicación directa hace imposible este intercambio. Puede ser de ayuda considerar cómo se evalúa el dolor en aquellos pacientes humanos que no pueden utilizar la comunicación verbal o escrita: bebés y niños pequeños. El dolor en niños neonatos, como objeto de estudio significativo, es relativamente reciente (Anand 1990). El interés por proporcionar alivio del dolor postoperatorio a niños ha ido en aumento movido por puras razones humanitarias, y por el hecho de haberse demostrado que el dolor tiene como consecuencia un detrimento de la respuesta frente al estrés Anand *et al.* 1987, Beyer & Bournaki 1989).

Se han llevado a cabo diferentes enfoques para evaluar el grado de dolor y la eficacia de diversos regímenes analgésicos en niños (McGrath & Unruh 1989). Las técnicas más utilizadas han hecho uso de sistemas de puntuación del dolor basados en criterios como el llanto, la expresión facial, comportamiento y postura. Un observador entrenado, por ejemplo un enfermero pediátrico, utiliza un sistema de puntuación para generar, o bien un valor numérico, o bien para completar una gráfica de analogía visual en nombre del niño (McGrath & Unruh 1989). Las escalas visuales análogas (EVA) tienen un uso muy extendido para evaluar el dolor en el ser humano, y consisten simplemente en una línea vertical u horizontal, marcada en un extremo con la frase “nada de dolor” y en el otro “máximo dolor”, o similar. El paciente marca en la línea la intensidad del dolor que siente en ese momento. Una serie de estudios han evaluado el dolor en niños comparando diferentes tratamientos analgésicos utilizando estas técnicas (Mather 1983).

La utilización en animales de este tipo de sistema de puntuación del dolor y el sufrimiento fue propuesta por Morton y Griffiths (1985), y las propuestas de estos autores influenciaron los informes y estudios de muchos otros grupos de trabajo en años posteriores (Association of Veterinary Teachers and Research Workers 1986, LASA 1990, Flecknell 1991, ILAR 1992, Sanford 1992). Como señalaban en su artículo inicial (Morton & Griffiths 1985), el problema de la evaluación del dolor

y el sufrimiento radica tanto en la falta de indicadores específicos del dolor, como en la naturaleza subjetiva del sistema de evaluación. Aunque parte del éxito de la aplicación de sistemas de puntuación del dolor (Leese et al. 1988) ya han sido publicados, la investigación rigurosa de este tipo de esquema ha puesto de manifiesto las dificultades prácticas asociadas con su aplicación. Algunos de los problemas particulares que se han señalado han sido las considerables variaciones entre observadores y el escaso valor predictivo de ciertos signos clínicos en circunstancias particulares (Beynen et al. 1987, 1988). Las variaciones en la puntuación del dolor según observadores son un problema común en la evaluación del dolor humano, pero que puede superarse hasta cierto punto mediante un entrenamiento cuidadoso para un proyecto de investigación clínico concreto. La aplicación de este entrenamiento para cada procedimiento potencialmente doloroso que se lleve a cabo en animales de laboratorio no parece muy viable, a menos que se desarrolle un pequeño número de índices del dolor fácilmente evaluables.

A pesar de estas dificultades, la puntuación del dolor ha sido utilizado en una serie de investigaciones que afectan a animales de compañía en la práctica clínica veterinaria. Por ejemplo, se ha evaluado la relativa eficacia de varios protocolos analgésicos diferentes en perros: bloqueo nervioso intercostal, bupivacaina intrapleural y morfina sistémica antes de la toracotomía (Thompson & Johnson 1991); epidural o morfina intravenosa después de la toracotomía (Popilskis et al. 1993); y flunixin, carprofeno y papavereto tras una serie de procedimientos quirúrgicos (Reid & Nolan 1991, Nolan & Reid 1993). Estos estudios ilustran una segunda consideración importante sobre las técnicas de puntuación del dolor. Se suponía que los signos clínicos usados en estos estudios indicaban dolor, suposición por lo general basada en la experiencia clínica previa. Se esperaba, por lo tanto, que la administración de un analgésico efectivo redujera la puntuación total del dolor. Es esencial para este enfoque la necesidad de validar el sistema de puntuación empleado mediante la inclusión de grupos de control adecuados. En muchos de los estudios sobre dolor postoperatorio en la práctica clínica veterinaria, los investigadores no han considerado ético incluir un grupo de animales que no hayan recibido analgésicos después de la

intervención (Taylor & Houlton 1984). Además, muchos estudios no incluyen datos acerca de animales normales a los que no se somete a cirugía, pero que reciben los analgésicos, y algunos estudios no incluyen evaluación de los animales previa a la intervención. No es posible, por tanto, saber a ciencia cierta qué puntuaciones habrían tenido después de las intervenciones los animales no tratados, así como si los efectos no específicos de los analgésicos habrían influido en el sistema de puntuación utilizado. La inclusión de un grupo control no tratado y sometido a cirugía, plantea un dilema ético, pero es importante tener en cuenta que muchos animales todavía reciben muy poca o incluso ninguna cantidad de analgésicos tanto en la práctica clínica veterinaria como en institutos de investigación en bastantes países europeos, incluyendo el Reino Unido. Establecer un sistema válido de evaluación del dolor podría conducir a la adopción de un uso más extendido de los analgésicos. También es importante apuntar que algunos de los efectos indeseables de la cirugía en ratas, tales como la pérdida de peso y la supresión de consumo de agua y alimento, también pueden producirse en ratas normales no sometidas a cirugía por la administración de analgésicos opiáceos (Liles & Flecknell 1992a). El uso inapropiado de analgésicos puede, por lo tanto, ser perjudicial, lo que subraya la importancia de administrar estos potentes agentes sólo cuando sea necesario.

Con el ánimo de poner en práctica de forma efectiva las técnicas de refinamiento, parece razonable examinar todo procedimiento donde se requiera de la analgesia, llevar a cabo una monitorización o sistema de evaluación y comparar las puntuaciones después de la administración de un analgésico. Aunque esto puede requerir el no utilizar un analgésico al principio, permitirá la evaluación crítica del potencial efecto beneficioso de un tratamiento analgésico. Una vez que se hayan establecido los efectos de un protocolo de tratamiento en particular en un procedimiento concreto, será posible evaluar la influencia de una dosificación más frecuente o de periodos extensos de tratamiento. Durante esta evaluación, la inclusión dentro del diseño del estudio de unos criterios cuidadosamente seleccionados para la intervención y administración de un analgésico deberá garantizar que los animales no están sometidos a dolor severo o prolongado.

En estudios cuyo sujeto son los humanos, se ha reconocido una dificultad añadida asociada al uso de sistemas de puntuación clínicos. Cuando la evaluación del dolor realizada por el paciente utilizando una escala visual analógica (EVA) se comparó con la evaluación realizada por varios miembros del personal médico, usando las mismas escalas, se encontró que la relación entre ambas era escasa, especialmente en pacientes que decían padecer un dolor significativo (Grossman *et al.*). La considerable variación entre el dolor referido por los propios niños, la evaluación de sus padres y la evaluación de las enfermeras (Manne *et al.* 1992) también tiene implicaciones para la evaluación del dolor en animales. Estas y otras investigaciones similares en el ser humano subrayan la importancia de una cuidadosa y rigurosa validación de sistemas de evaluación del dolor, algo que aún está por conseguirse en los estudios de dolor clínico en los animales.

## Evaluación objetiva del dolor

Como se ha discutido anteriormente, los animales no son capaces de comunicarnos directamente su experiencia dolorosa, por lo que debemos confiar en índices del dolor psicológicos y de comportamiento. En un intento de evitar la naturaleza subjetiva de los sistemas de evaluación clínicos, varios grupos de trabajo han utilizado sistemas de evaluación del comportamiento más objetivos, o han utilizado mediciones bioquímicas, psicológicas, etc. como índices del dolor. En corderos, se demostró que el tratamiento con anestesia local bloqueaba el cortisol y respuestas de comportamiento al corte de cola y a la castración (Wood *et al.* 1991). En ratas a las que se sometía a procedimientos quirúrgicos, la administración de nalbufina (Flecknell & Liles 1991) o buprenorfina (Liles & Flecknell 1993a,b,c) demostró reducir los efectos depresores de la cirugía sobre el consumo de agua, alimento y en el peso corporal.

La artritis inducida por adyuvante ha sido ampliamente estudiada en las ratas, y se considera que representa un modelo de dolor crónico. Esta conclusión se ha basado en cambios de comportamiento, variaciones en la vocalización, alteraciones en la ganancia de peso e hiperventilación, que tienen lugar en este modelo, relacionados con la respuesta de estas variables a los analgésicos

(Colpaert 1987).

Las ratas con artritis crónica también han demostrado auto-administrarse un antiinflamatorio no esteroideo (AINE) (suprofeno) (Colpaert *et al.* 1980) y un opiáceo (fentanilo oral) (Colpaert *et al.* 1982). Por desgracia, el periodo de acondicionamiento que se requiere para los estudios de auto-administración hace impracticables investigaciones similares sobre dolor agudo postoperatorio en animales.

Barclay *et al.* (1988) propusieron como índice de dolor o estrés, para evaluar una serie de técnicas experimentales los cambios en la conducta exploratoria en un entorno nuevo para el animal. Hasta ahora este enfoque no se ha utilizado para evaluar los posibles cambios posteriores a intervenciones quirúrgicas.

En ciertas circunstancias específicas pueden utilizarse otros parámetros fisiológicos. Por ejemplo, después de la toracotomía, los índices de la función respiratoria pueden emplearse como posibles indicadores del dolor. En el ser humano se ha demostrado que proporcionar analgésicos efectivos después de la toracotomía tiene efectos beneficiosos en las funciones pulmonares (Kaplan *et al.* 1975, Toledo-Pereyra & DeMeester 1979). En perros, después de la toracotomía, se produjeron mejoras en la pO<sub>2</sub> arterial después de la administración de un analgésico (Flecknell *et al.* 1991), aunque los efectos positivos de los analgésicos podrían haber sido detectados en estos animales sólo porque sus funciones pulmonares habían sido seriamente dañadas como resultado de un trasplante pulmonar.

En todos estos estudios con animales y en otros intentos que se han hecho para validar sistemas de evaluación clínicos, se ha supuesto que si después de un procedimiento que cause dolor en el ser humano tienen lugar cambios en una variable, entonces este cambio puede estar relacionado con la presencia de dolor en un animal. Si la administración de un analgésico revierte los cambios asociados con el procedimiento, esto se toma como prueba de que los cambios estuvieron, al menos en parte, relacionados con el dolor. Esto es, claro está, un argumento en cierto modo circular, que en esencia lo que hace es afirmar que los cambios asociados con el dolor son aquellos que se reducen mediante la administración de analgésicos. El efecto paliativo del dolor de los analgésicos sólo

está demostrado, obviamente, en humanos, ya que no existe una forma objetiva de medir el dolor en los animales. Es importante enfatizar que el término “dolor” se utiliza aquí para describir la percepción consciente de estímulos nocivos, y no la medición de actividad nociceptiva periférica.

La definición de dolor propuesta por la Asociación Internacional para el Estudio del Dolor (IASP 1979) es útil para hacer esta distinción: “el dolor es una experiencia sensorial y emocional desagradable asociada con daño real o potencial de los tejidos descrita en términos de dicho daño”.

Aunque aún no ha sido posible obtener una medida directa del dolor de los animales, la validez de estas mediciones indirectas puede fortalecerse de varias formas. Si se acepta la suposición esencial de que los procedimientos que causan dolor en humanos también lo causarían en animales, la magnitud del cambio en cualquier índice del dolor propuesto debería incrementarse con procedimientos de intensidad creciente. Esto se ha demostrado al observar el consumo de agua y comida, las variaciones de peso y la actividad locomotora en ratas a las que se había sometido a tres procedimientos quirúrgicos de diferente intensidad (Liles & Flecknell 1993b). Los cambios en los índices utilizados, también se reducirían con métodos diferentes de analgesia, con el fin de confirmar que los cambios no son debidos a otros efectos no-analgésicos de un tipo de fármaco en particular. Los efectos de la cirugía sobre la ingesta de agua, alimento y en el peso corporal en ratas, han demostrado reducirse tanto por un analgésico opiáceo, buprenorfina, como por un potente antiinflamatorio no esteroideo, carprofeno (Liles & Flecknell 1993c), pero los efectos de la cirugía sobre la actividad locomotora no se vieron afectados por el AINE. Es muy importante que los analgésicos utilizados no tengan un efecto positivo sobre los índices del dolor propuestos en animales controles. A este respecto, se ha demostrado que la buprenorfina estimula la actividad (Liles & Flecknell 1992a), dificultando de este modo la interpretación de posibles efectos beneficiosos después de la cirugía. En cambio, los AINEs y los opiáceos tienen o bien muy poco efecto o un efecto depresivo en el consumo de alimento y agua en animales controles, y por lo tanto, que se registren efectos positivos en estas variables después de la cirugía, tal vez, constituya una prueba más convincente de una acción analgésica específica.

Cuando se considera el dolor postoperatorio o postraumático, es posible que los cambios en el comportamiento o en otros factores observados como parte de un sistema de evaluación del dolor se relacionen con una respuesta general de estrés quirúrgico, y por lo tanto puede que no indiquen el grado de dolor presente. Asimismo, la liberación normal de endorfinas que tiene lugar después de la cirugía, puede también ser responsable por sí misma de algunos de los efectos observados. Si los efectos son mediados por endorfinas, la administración de un opiáceo mixto agonista-antagonista como la nalbufina (Flecknell & Liles 1991) o un agonista parcial como la buprenorfina (Liles & Flecknell 1993a,b), podría hacer esperar un efecto beneficioso mediante el antagonismo de las endorfinas. Esta hipótesis se puede verificar administrando un opiáceo antagonista puro como naltrexona o naloxona. Estos agentes carecen de efecto analgésico, por lo que un efecto positivo en los índices de dolor propuesto sugeriría que estos índices no están relacionados con el dolor. Si un opiáceo antagonista no tuviera efecto, o incrementase los efectos perjudiciales de la cirugía, se confirmaría la teoría de que las variables evaluadas sí estaban relacionadas con el dolor. Este tipo de estudio se ha llevado a cabo en corderos (Wood *et al.* 1991), demostrándose que los comportamientos propuestos relacionados con el dolor aumentaban o no sufrían cambios después de la administración de naloxona. Claramente, este tipo de investigación tiene importantes implicaciones éticas, ya que revertir los opiáceos endógenos mediante un antagonista  $\mu$  podría tener como resultado el incremento de la sensación de dolor. Sin embargo, como cualquier uso en animales, los efectos perjudiciales encontrados en los animales estudiados deben ser sopesados frente a los considerables beneficios obtenidos en un número importante de otros animales.

## Métodos de alivio

Si es posible desarrollar métodos fiables de evaluación del dolor, se podrá emplear una amplia gama de diferentes técnicas para paliar el dolor. Como se mencionó anteriormente, la eficacia y toxicidad de prácticamente todos los agentes analgésicos es evaluada en pequeños animales de laboratorio, por lo que hay disponible una canti-

dad de información suficiente como para establecer unas bases para el uso de estos agentes en el alivio del dolor. Se han desarrollado una serie de diferentes métodos para la administración de analgésicos en el ser humano, y estos se han utilizado con frecuencia en animales de laboratorio para estudios relacionados con los mecanismos implicados en la sensación de dolor. Por ejemplo, la administración epidural e intratecal de opiáceos se ha empleado para proporcionar alivio del dolor efectivo en el ser humano, y en especies animales de mayor tamaño, para aliviar el dolor postoperatorio en la práctica veterinaria (Dodman *et al.* 1992); aunque la ausencia de un método validado de evaluación del dolor ha impedido probar totalmente su eficacia. La técnica se ha empleado como herramienta para investigar el papel de los mecanismos nociceptivos espinales en animales de laboratorio (Yaksh *et al.* 1988). Aunque la viabilidad de estas técnicas puede ser cuestionable en pequeños roedores, la inyección percutánea intratecal (espinal) o epidural de anestésicos locales se ha descrito en el conejo (Kero *et al.* 1981, Hughes *et al.* 1993). En ésta, y en especies de mayor tamaño, la administración intratecal o epidural de opiáceos y otros analgésicos puede representar un importante método para proporcionar alivio prolongado del dolor. Esto es de particular importancia, ya que el proporcionar analgesia prolongada a animales sigue suponiendo una dificultad.

En ausencia de métodos fiables de evaluación del dolor, se ha considerado que después de determinadas prácticas quirúrgicas los animales requerirán analgésicos durante un periodo de entre 24 y 48 horas. Si esto se comprueba necesario, será imprescindible una reorganización radical del nivel de cuidados postoperatorios que se ofrecen en muchos centros tanto a animales para investigación como a pacientes clínicos veterinarios (Torrance 1993). Una solución obvia a esta dificultad es administrar analgésicos mediante infusión continua, técnica que ha demostrado proporcionar alivio del dolor significativamente efectivo en el ser humano (Hull 1985). Podría utilizarse un catéter vascular permanente, implantado como parte de los requerimientos para el estudio, o una vía percutánea colocada específicamente para la administración de analgésicos. La amplia disponibilidad de sistemas de catéter

ha incrementado la viabilidad de utilización de esta técnica, siempre que la eficacia del tratamiento se pueda controlar de alguna manera. Aún más atractiva es la posibilidad de permitir a un animal administrarse su propia terapia analgésica. La administración constante de buprenorfina en el agua se ha demostrado efectiva utilizando técnicas de analgesiometría en ratas (Kistler 1988). Procurando que el animal beba suficiente agua, sería posible la analgesia prolongada sin necesidad de atención en las horas poco habituales de trabajo. Un sistema análogo a la analgesia controlada por el paciente en humanos no es viable para el control de dolor agudo, ya que requiere que el animal asocie la administración de analgésicos con la reducción de la sensación de dolor. Aunque se ha demostrado que esto puede ser posible con estímulos de dolor agudo como el estímulo eléctrico plantar (Dib 1985), los estímulos condicionantes requeridos deben ser por sí mismos dolorosos para el animal, y pueden también ser diferentes cualitativamente a las sensaciones de dolor que se experimentan después de la cirugía. La auto-administración para el alivio del dolor crónico puede ser viable en algunas circunstancias, ya que, como se discutió anteriormente, se ha demostrado que las ratas pueden desarrollar una preferencia por fármacos antiartríticos cuando están desarrollando artritis experimental (Colpaert *et al.* 1980).

En el caso de que la administración repetida de analgésicos requiera de la atención del personal de investigación durante periodos prolongados, la inyección repetida de analgésicos puede que aún presente dificultades prácticas y cause molestias al animal. Esta dificultad podría superarse mediante la administración conjunta con alimento apetecible. Varios institutos en EE.UU. recomiendan el uso de "*buprenorphine Jell-O*", un preparado en forma de gelatina con sabor que contiene el analgésico opiáceo buprenorfina (Peckow 1992). La gelatina con sabor a fruta es bien aceptada por las ratas, y en nuestro laboratorio hemos descubierto que después de habérsela administrado durante unos cuantos días, las ratas ingieren porciones de gelatina de forma inmediata. La buprenorfina, como muchos opiáceos, experimenta una significativa metabolización en el primer paso hepático cuando se administra en forma oral, y por lo tanto sólo se dispondrá de



aproximadamente el 5-10% de la dosis administrada (Cowan *et al.* 1977). Esta técnica ha sido evaluada y se ha demostrado efectiva en un modelo de laparotomía en ratas, utilizando como indicadores de dolor postoperatorio la ingesta de agua y alimento y los cambios en el peso corporal (Liles & Flecknell, en preparación).

Los opiáceos producen una serie de efectos además de su acción analgésica. Estos efectos secundarios pueden interferir con protocolos de investigación particulares y pueden llegar a restringir su uso para el control del dolor. Es por tanto importante considerar el uso de otro tipo de compuestos alternativos, como los AINE. Un número de agentes nuevos de este tipo, más potentes, están apareciendo y, aunque la evaluación de su eficacia esté en gran medida limitada a la experiencia clínica, hay algunos estudios que sugieren la posibilidad de su uso para la analgesia postoperatoria. En perros, flunixin y carprofeno han demostrado proporcionar analgesia efectiva (Reid & Nolan 1991, Nolan & Reid 1993), y en ratas el carprofeno parecía ser un analgésico efectivo tras la laparotomía (Liles & Flecknell 1993c). Los AINEs también tienen una serie de efectos en diferentes sistemas corporales y procesos metabólicos que, como en el caso de los opiáceos, pueden excluirlos de su uso en algunos protocolos de investigación. Es por lo tanto razonable considerar otra opción, el uso de preparados para anestesia local. Estos se han demostrado eficaces en el ser humano (Bucley, 1985) y en animales (Thompson & Johnson 1991, Flecknell *et al.* 1991).

Además de considerar el uso de analgésicos, es importante enfatizar que el grado de dolor y sufrimiento causado por cualquier procedimiento estará seriamente influenciado por la pericia del operario, lo que subraya la importancia de una cuidadosa y extensa preparación de todos aquellos involucrados en el trabajo de investigación, proceso que tan sólo está empezando a formalizarse en muchos países europeos.

## Conclusiones

El refinamiento en la investigación es un proceso actualmente en curso que requiere de las aportaciones de todos aquellos que estén involucrados en el uso de animales de laboratorio. Se requiere

de métodos objetivos para la evaluación del dolor y sufrimiento para seguir aumentando el actual nivel de conciencia sobre la necesidad de refinar los procedimientos experimentales, y para evaluar procedimientos que dicen representar mejoras. Si no se hace un esfuerzo para desarrollar estas técnicas de evaluación, el continuar basándose en criterios antropomórficos inadecuados retrasará el progreso en este campo. Aunque será necesario el uso adicional de animales para validar nuevas técnicas, el resultado final será una reducción significativa del dolor y el sufrimiento causado a aquellos animales que aún son necesarios para la investigación.

## Referencias

- Alexander JI, Hill RG (1987) *Postoperative Pain Control*. Oxford: Blackwell Scientific Publications
- Anand K, Sippell WG, Aynsley-Green A (1987) Randomised trial of fentanyl anaesthesia in preterm babies undergoing surgery: Effects on the stress response. *Lancet* i, 243-8
- Anand K (1990) The biology of pain perception in newborn infants. *Advances in Pain Research and Therapy* 15, 113-22
- AVTRW Association of Veterinary Teachers and Research Workers (1986) Guidelines for the recognition and assessment of pain in animals. *Veterinary Record* 118, 334-8
- Barclay RJ, Herbert WI, Poole TB (1988) The disturbance index: A behavioural method of assessing the severity of common procedures on rodents. South Mimms, Potters Bar, Herts: UFAW
- Beyer JE, Boumaki M-C (1989) Assessment and management of post-operative pain in children. *Pediatrician* 16, 30-8
- Beynen AC, Baumans V, Bertens APMG, Havenaar R, Hesp APM, Van Zutphen LFM (1987) Assessment of discomfort in gallstone-bearing mice: a practical example of the problems encountered in an attempt to recognise discomfort in laboratory animals. *Laboratory Animals* 21, 35-42
- Beynen AC, Baumans V, Bertens APMG *et al.* (1988) Assessment of discomfort in rats with hepatomegaly. *Laboratory Animals* 22, 320-5
- Buckley PF (1985) Somatic nerve block for postoperative analgesia. In: *Acute Pain* (Smith G, Covino BG, eds). London: Butterworths, pp 205-27
- BVA/FRAME/RSPCA/UFAW Joint Working Group on Refinement (1993) Removal of blood from laboratory mammals and birds. *Laboratory Animals* 27, 1-22
- Colpaert F (1987) Evidence that adjuvant arthritis in the rat is associated with chronic pain. *Pain* 28, 201-22

- Colpaert F, DeWitte P, Maroli AN, Awouters F, Niemegeers CJE, Janssen P (1980) Selfadministration of the analgesic suprofen in arthritic rats: evidence of *Mycobacterium butyricum* induced arthritis as an experimental model of chronic pain. *Ufe Sciences* 27, 921-8
- Colpaert F, Meert Th, DeWitte P, Schmitt P (1982) Further evidence validating adjuvant arthritis as an experimental model of chronic pain in the rat. *Life Sciences* 31, 67-75
- Cowan A, Lewis JW, McFarlane IR (1977) Agonist and antagonist properties of buprenorphine, a new antinociceptive agent. *British Journal of Pharmacology* 60, 537-45
- Dib B (1985) A study of intrathecal self injection of morphine by rats and the difficulties entailed. *Pain* 23, 177-85
- Dodman NH, Clark CH, Court MH, Fikes LL, Boudrieau RJ (1992) Epidural opioid administration for post-operative pain relief in the dog. In: *Animal Pain* (Short CE, Poznak AV, eds). New York: Churchill Livingstone, pp 274-7
- Flecknell PA (1984) The relief of pain in laboratory animals. *Laboratory Animals* 18, 147-60
- Flecknell PA (1991) Prevention and relief of pain and distress. In: *Animals in Biomedical Research* (Hendriksen CFM, Koeter HBWM, eds). Amsterdam: Elsevier, pp 213-34
- Flecknell PA, Kirk AJB, Liles JH, Hayes PH, Dark JH (1991) Post-operative analgesia following thoracotomy in the dog: an evaluation of the effects of bupivacaine intercostal nerve block and nalbuphine on respiratory function. *Laboratory Animals* 25, 319-24
- Flecknell PA, Liles JH (1991) The effects of surgical procedures, halothane anaesthesia and nalbuphine on the locomotor activity and food and water consumption in rats. *Laboratory Animals* 25, 50-60
- Frommel E, Joye E (1964) On the analgesic power of morphine in relation to age and sex of guineapigs. *Medicina Experimentalis* 11, 43-6
- Grossman SA, Sheidler VR, Swede en K, Mucenski I, Piantadosi S (1991) Correlation of patient and caregiver ratings of cancer pain. *Journal of Pain and Symptom Management* 6, 53-7
- Hughes PI, Doherty MM, Charm an WN (1993) A rabbit model for the evaluation of epidurally administered local anaesthetic agents. *Anaesthesia and Intensive Care* 21, 298-303
- Hull CJ (1985) Opioid infusions for the management of post-operative pain. In: *Acute Pain* (Smith G, Covino BG, eds). London: Butterworths, pp 155-79
- IASP (1979) Report of International Association for the Study of Pain Subcommittee on taxonomy. *Pain* 6, 249-52
- ILAR (Institute of Laboratory Animal Resources) (1992) *Recognition and Alleviation of Pain and Distress in Laboratory Animals*. Washington: National Academy Press
- Kaplan I, Miller ED, Gallagher EG (1975) Postoperative analgesia for thoracotomy patients. *Anesthesia and Analgesia* 54, 773-7
- Katz RJ (1980) The albino locus produces abnormal responses to opiates in the mouse. *European Journal of Pharmacology* 68, 229-32
- Kero P, Thomasson B, Soppi A-M (1981) Spinal anaesthesia in the rabbit. *Laboratory Animals* 15, 347-8
- Kistler P (1988) *Zur Schmerzbehandlung in Tierersuch (Attenuation of pain in animal experimentation)*. Thesis, University of Bern, No. 8568
- LASA (Laboratory Animal Science Association) (1990) The assessment and control of severity of scientific procedures on laboratory animals. *Laboratory Animals* 24, 97-130
- Leese T, Husken PA, Morton DB (1988) Buprenorphine analgesia in a rat model of acute pancreatitis. *Surgical Research Communications* 3, 53-60
- Liles JH, Flecknell PA (1992a) The effects of buprenorphine, nalbuphine and butorphanol alone or following halothane anaesthesia on food and water consumption and locomotor movement in rats. *Laboratory Animals* 26, 180-9
- Liles JH, Flecknell PA (1992b) The use of nonsteroidal anti-inflammatory drugs for the relief of pain in laboratory rodents and rabbits. *Laboratory Animals* 26, 241-55
- Liles JH, Flecknell PA (1993a) The influence of buprenorphine or bupivacaine on the postoperative effects of laparotomy and bile-duct ligation in rats. *Laboratory Animals* 27, 374-80
- Liles JH, Flecknell PA (1993b) The effects of surgical stimulus on the rat and the influence of analgesic treatment. *British Veterinary Journal* 149, 515-25
- Liles JH, Flecknell PA (1993c) A comparison of the effects of buprenorphine, carprofen and flunixin following laparotomy in rats. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics* (in press)
- Lovell D (1986) Variation in pentobarbitone sleeping time in mice I. Strain and sex differences. *Laboratory Animals* 20, 85-90
- Manne SL, Jacobsen PB, Redd WH (1992) Assessment of acute pediatric pain: do child self-report, parent ratings and nurse ratings measure the same phenomenon? *Pain* 48, 45-52
- Manser CE (1992) *The Assessment of Stress in Laboratory Animals*. Causeway, Horsham, West Sussex: RSPCA
- Mather LMJ (1983) The incidence of post-operative pain in children. *Pain* 15, 271-82
- McGrath PI, Unruh AM (1989) *Pain in Children and Adolescents*. Amsterdam: Elsevier
- Morton DB, Griffiths PHM (1985) Guidelines on the recognition of pain, distress and discomfort in experi-

- mental animals and an hypothesis for assessment. *Veterinary Record* 116, 431-6
- Moskowitz AT, Terman GW, Carter KR, Morgan MJ, Liebeskind JC (1985) Analgesic, locomotor and lethal effects of morphine in the mouse: strain comparisons. *Brain Research* 361, 46-51
- Nolan AM, Reid J (1993) A comparison of the postoperative analgesic and sedative effects of carprofen and papaveretum in the dog. *Veterinary Record* 133, 240-2
- Peckow C (1992) Buprenorphine Jell-O recipe for rodent analgesia. *Synapse* 25, 35-6
- Pick CG, Cheng J, Paul D, Pasternak GW (1991) Genetic influences in opioid analgesic sensitivity in mice. *Brain Research* 566, 295-8
- Popilskis S, Kahn DF, Laurent L, Danilo P (1993) Efficacy of epidural morphine versus intravenous morphine for post-thoracotomy pain in dogs. *Journal of Veterinary Anaesthesia* 20, 21-5
- Reid J, Nolan AM (1991) A comparison of the postoperative analgesic and sedative effects of flunixin and papaveretum in the dog. *Journal of Small Animal Practice* 32, 603-8
- Russell WMS, Burch RL (1992) *The Principles of Humane Experimental Technique, Special Edition*. South Mimms, Potters Bar, Herts: UFAW
- Sanford J (1992) Guidelines for Detection and Assessment of Pain and Distress in Experimental Animals. In: *Animal Pain* (Short CE, Poznak AV, eds). New York: Churchill Livingstone, pp 515-24
- Taber R1 (1974) Predictive value of analgesic assays in mice and rats. *Advances in Biochemical Psychopharmacology* 8, 191-221
- Taylor PM, Houlton JEF (1984) Post-operative analgesia in the dog: a comparison of morphine, buprenorphine and pentazocine. *Journal of Small Animal Practice* 25, 437-51
- Thompson SE, Johnson JM (1991) Analgesia in dogs after intercostal thoracotomy. A comparison of morphine, selective intercostal nerve block, and interpleural regional analgesia with bupivacaine. *Veterinary Surgery* 20, 73-7
- Toledo-Pereyra L, DeMeester TR (1979) Prospective randomized evaluation of intrathoracic intercostals nerve block with bupivacaine on postoperative ventilatory function. *Annals of Thoracic Surgery* 27,203-5
- Torrance A (1993) Providing critical care. *In Practice* 15, 312-17
- Wood GN, Molony V, Fleetwood-Walker SM (1991) Effects of local anaesthesia and intravenous naloxone on the changes in behaviour and plasma concentrations of cortisol produced by castration and tail docking with tight rubber rings in young lambs. *Research in Veterinary Science* 51, 193-9
- Yaksh TL, AI-Rodhan NRF, Mjanger E (1988) Sites of action of opiates in production of analgesia. In: *Anaesthesia Review* 5 (Kaufman L, cd.). London: Churchill Livingstone, pp 254-68