

RECONOCIMIENTO Y MANEJO DEL DISTRESS, SUFRIMIENTO Y DOLOR EN ANIMALES DE LABORATORIO: UNA REVISIÓN

RECOGNITION AND ALLEVIATION OF DISTRESS, SUFFERING, AND PAIN IN LABORATORY ANIMALS: A REVIEW

Manuel Góngora Medina*

Fundación Universitaria Konrad Lorenz, Colombia

RESUMEN

Recibido: Noviembre 23 2010
Aceptado: Diciembre 15 2010

Palabras clave: Animales de laboratorio; dolor; distress; bienestar animal; refinamiento.

Keywords: laboratory animals; pain; distress; animal welfare; refinement.

La identificación y el manejo del distress, sufrimiento y dolor representan una importante oportunidad de mejorar el bienestar de los animales de laboratorio. El requerimiento para reducir el sufrimiento al mínimo es ampliamente reconocido y es central en muchas legislaciones que regulan la experimentación animal. Esta revisión presenta una introducción general al abordaje de estos temas para investigadores usuarios de modelos animales.

ABSTRACT

The assessment and alleviation of distress, pain and suffering represent an important opportunity to improve the welfare of laboratory animals. The requirement to reduce suffering to a minimum is widely recognized and is central to many laws that regulate animal experimentation. This review gives a general introduction to these issues for users researches of animal models.

En la actualidad, la mayoría de instituciones usuarias de animales de laboratorio y experimentación reconocen la importancia de identificar y manejar aquellos efectos indeseables producidos por los diferentes procedimientos experimentales, sin embargo esto no siempre fue así. La evaluación y el manejo del dolor en animales experimentales ha generado discusiones sin precedentes en los últimos 20 años, conllevando a una baja unificación de conceptos y a serias dificultades en el objetivo de alcanzar

un alto nivel de refinamiento (Aldhous, Coghlan & Copley, 1999; Kohn, et al., 2007).

En 1992 la reimpresión y divulgación del libro clásico “The principles of Humane Experimental Technique” de Russel y Burch evidenció los problemas que aún existen para la implementación de los principios de las “tres Rs”: reducción, refinamiento y reemplazo. Russel y Burch definen el refinamiento como la reducción a una mínima expresión del distress generado a los animales en los diferentes procedimientos experimentales.

* Dirección de Salud y Bienestar Animal, Fundación Universitaria Konrad Lorenz.

La correspondencia relacionada con este artículo debe dirigirse a Manuel Góngora Medina. E-mail: megongoram@unal.edu.co

No obstante, estos autores reconocen que es el principio que presenta mayores dificultades para su implementación. (Flecknell, 1994; Manciooco, et al., 2009)

El gran motivante para que se unificaran los conceptos y se iniciara con programas adecuados que garantizaran el refinamiento fue la presión ejercida por parte de la sociedad. Aunque la opinión pública aceptaba en su gran mayoría el uso de modelos animales para la experimentación, existía una gran preocupación por el dolor y distrés que se generaba en los biomodelos. En respuesta a este punto de vista, la mayoría de países en el hemisferio norte adoptaron políticas y regulaciones gubernamentales para minimizar estos efectos indeseables de la experimentación. Por ejemplo, de acuerdo a los principios gubernamentales en los Estados Unidos para la utilización y el cuidado de modelos animales, es imperativa la disminución del dolor, sufrimiento y distrés. Por tal razón, el investigador debe asumir que cualquier procedimiento capaz de causar sufrimiento en los humanos tiene el mismo potencial de causarlo en otros animales (IRAC Interagency Research Animal Committee, 1985; Olsson, et al., 2003). Igualmente, otras agencias gubernamentales como USDA (United States Department of Agriculture), DHHS (Department of Health and Human Service) y AAALAC (Association for Assessment and Accreditation of Laboratory Animal Care International) exigen identificar, disminuir y eliminar las fuentes de dolor y distrés en los animales de laboratorio (Committee on Recognition and Alleviation of Distress in Laboratory Animals National Research Council, 2009).

En la actualidad, en países como Colombia no existe ningún tipo de requerimiento gubernamental que garantice el uso adecuado de los biomodelos. Sin embargo, existe un compromiso profesional e institucional por parte de entidades públicas y privadas para cumplir con las mínimas pautas internacionales en el cuidado de modelos animales. Instituciones de educación superior como la Universidad de Antioquia, Universidad del Valle y Fundación Universitaria Konrad Lorenz son pioneras en Colombia en el desarrollo de programas activos para asegurar el bienestar

animal por medio de la formación de CICUALES (Comité institucional para el cuidado y uso de animales de laboratorio) y con el apoyo de profesionales capacitados y entrenados en el área.

IMPORTANCIA DE IDENTIFICAR EL DISTRÉS Y EL DOLOR

El distrés es un estado aversivo y negativo en el cual los procesos de adaptación fallan alterando la homeostasis fisiológica y psicológica. Por lo general, múltiples estímulos estresantes prolongados llevan a distrés afectando el bienestar de los animales (FELASA Working Group on Pain and Distress, 1994; National Research Council, 2010). Esta transición de estrés a distrés depende de la duración e intensidad del estímulo estresante. Por ejemplo, inmovilizaciones cortas no causan alteraciones adaptativas, sin embargo inmovilizaciones largas pueden ocasionar distrés fisiológico y comportamental, expresado desde fenómenos de vocalización hasta posibles úlceras gástricas. (Ushijima, Mizuki & Yamada, 1985).

Desde una perspectiva fisiológica, se ha observado que en estados crónicos de distrés pueden presentarse alteraciones en el eje hipotálamo-hipofisario-adrenal lo que podría desencadenar procesos de inmunosupresión con alteración en los mecanismos de retroalimentación de los glucocorticoides. Esto conlleva a alteraciones fisiológicas severas con disfunciones metabólicas (Munck, Guyre & Holbrook, 1984).

En general el distrés crónico disminuye el bienestar de los animales, ya que altera los procesos fisiológicos normales: esto se reflejará en la inducción de enfermedades a diferentes niveles (ver Figura 1).

Otro aspecto importante a tener en cuenta es cómo el distrés puede afectar el desarrollo de ensayos experimentales. Por ejemplo, (Damon, Eidson, Hobbs & Hahn, 1986), reportaron cómo situaciones de estrés prolongadas pueden afectar la respuesta a exposiciones de sustancias tóxicas. Por otro lado, Johnson, et al. (2006) reportaron cambios patológicos en los animales asociados al distrés. Estos hallazgos sugieren que el distrés puede afectar la calidad de las publicaciones científicas, lo que a su vez puede

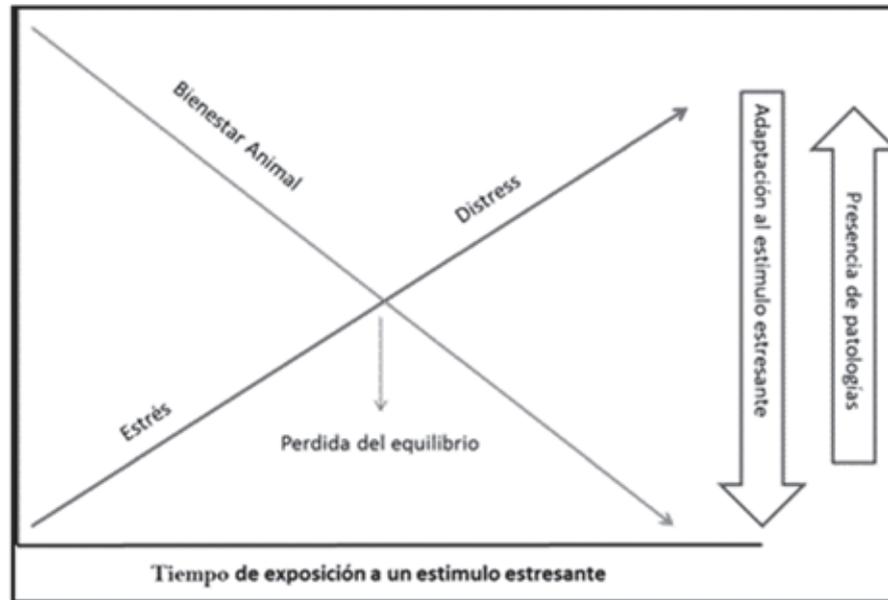


Figura 1. Interrelación entre estrés, distrés, Capacidad Adaptativa y presencia de patologías. La calidad de vida del modelo animal disminuye progresivamente mientras se mantiene el estímulo estresante.

generar la obtención de datos erróneos, con la presentación de problemas como el la necesidad de aumentar los tamaños muestrales. Al aumentar la necesidad de animales y disminuir el refinamiento se va en contra de los principios de las tres R's (Committee on Recognition and Alleviation of Distress in Laboratory Animals National Research Council, 2009).

El dolor, por su parte, es definido como una experiencia sensorial y emocional no placentera asociada con el daño potencial tisular (Kohn, et al., 2007). Varios estudios han mostrado la importancia de identificar y tratar el dolor, ya que al igual que el distrés, puede afectar el desarrollo de los ensayos y es indicador evidente de sufrimiento en el animal experimental (OECD, 2002; Roughan & Flecknell, 2003; Stokes, 2000).

MÉTODOS PARA IDENTIFICAR EL DISTRÉS Y EL DOLOR

Varios métodos han sido desarrollados recientemente para la identificación de signos adversos relacionados con distrés y dolor en los modelos animales. Para alcanzar tal fin es necesario un

conocimiento detallado de la especie, el linaje y las variables comportamentales normales (Committee on Recognition and Alleviation of Distress in Laboratory Animals National Research Council, 2009; van der Meer, Rolls, Baumans, Olivier & van Zutphen, 2001).

Estos métodos se basan fundamentalmente en la detección de signos clínicos anómalos o alteraciones comportamentales manifiestas. En la actualidad, uno de los métodos más precisos es un examen clínico detallado, el cual debe enfocarse como mínimo los siguientes aspectos (Fortman, Hewett, Bennett & Halliday, 2001; Fox, Anderson, Loew & Quimby, 2002):

1. Signos respiratorios (respiración rápida y superficial, ruidos respiratorios anormales "sibilancias, estertores o murmullos")
2. Evaluación del pelaje (piloerección o caída del mismo)
3. Ojos (presencia de porfirinas, ojos secos o vidriosos)
4. Posturas motoras (arqueamiento del dorso "lordosis", disminución del movimiento con pérdida del tono muscular)
5. Baja respuesta a estímulos externos

6. Pérdidas de peso corporal, anormalidades en la orina y heces (volumen, consistencia y color), disminución en el consumo de alimento y agua, vocalizaciones frecuentes (ver Tabla 1)

Por otro lado, la identificación de signos asociados al dolor es de vital importancia para garantizar el bienestar en los animales. El dolor agudo está enfocado en dos niveles, el primer nivel se observa como una respuesta inmediata a la aplicación de un estímulo nociceptivo (retirada de la fuente, vocalización, lamido y agitación de la zona expuesta al estímulo). Así mismo, el segundo nivel está asociado al tiempo de curación de la herida infringida y se evalúa más por cambios de comportamiento (disminución del movimiento, vocalización, irritabilidad, anorexia leve, posturas anormales; Laboratory Animal Science Association Working Party, 1990; Weary, Niel, Flower & Fraser, 2006).

Otro aspecto importante es la evaluación de signos comportamentales de distrés o dolor, estos signos también pueden ser observables y están asociados al desarrollo de estereotipos, por ejemplo cuando el tamaño de la caja de alojamiento es inferior al requerido los animales pueden desarrollar movimientos anormales con el fin de suplir sus necesidades de actividad (Draper & Bernstein, 1963). Varios estudios han reportado que suplementar un adecuado enriquecimiento medioambiental puede ayudar en el control y prevención de estos comportamientos (van Praag, Kempermann & Gage, 2000).

En general estos serían algunos de los principales hallazgos observables como indicadores de discomfort y dolor, un aspecto importante es la forma en que deben ser registrados estas observaciones. Inicialmente, se manejan hojas de observaciones clínicas en las cuales se consiguen anotaciones simples, pesos, efectos ad-

Tabla 1
Signos observables en cuadros de dolor, distrés o discomfort.

	Ratón	Rata	Jerbo
Respuesta potencial	Incremento en el nivel de respuesta ante estímulos estresantes o dolorosos	Incremento en el nivel de respuesta ante estímulos estresantes o dolorosos	Incremento en el nivel de respuesta ante estímulos estresantes o dolorosos
Signos fisiológicos			
Oculares	Baja respuesta pupilar, parpados cerrados, descargas oculares.	Movimientos oculares con tendencia a cerrar los parpados, descargas.	Descarga ocular, resequedad corneal variable.
Respiratorios	Aumento tasa respiratoria, sonidos anormales, descarga nasal.	Incremento en la tasa respiratoria con presencia de estornudos, descarga nasal presente.	Aumento tasa respiratoria, dificultad respiratoria
Apariencia	Piloerección, pérdida de peso, deshidratación, caquexia.	Piloerección, pérdida de pelo por automutilación, deshidratación.	Pérdida de calidad del pelaje, lesiones faciales, alteraciones del sueño.
Defecación Micción	Incremento o disminución en la frecuencia	Respuesta inmediata, constipación variable.	Diarrea en raras ocasiones.
Comportamiento	Tendencia a aislarse del grupo, baja respuesta a estímulos.	Incremento a respuestas agresivas con tendencia a la depresión.	Extremadamente activos y nerviosos con alteración de esta conducta.
Postura	Posturas similares a las adoptadas para dormir en periodos diferentes.	Posiciones de decúbito, encorvamiento con la cabeza hacia el abdomen.	Encorvado o con arqueamiento de la espalda
Locomoción	Movimientos cortos y espaciados, dificultad para mantener la postura.	Cojeras en uno a más miembros, marcha irregular, marcha círculos.	Marcha anormal asociada con disturbios abdominales.
Vocalización	Vocalización agresiva en estados tempranos.	Vocalización agresiva en estados tempranos.	Limitada.
General	Hipotermia con incremento en la pérdida de condición.	Hipotermia con incremento en la pérdida de condición, anemia.	Asociados con colapso.

versos observables entre otros; también pueden manejarse hojas de medición “Score”, en estos formatos los hallazgos asociados a distrés, dolor y sufrimiento son asignados mediante una escala numérica acorde a la severidad manifestada (Lloyd & Wolfensohn, 1998; Morton & Griffiths, 1985). Recientemente nuevos sistemas numéricos binarios fueron desarrollados obteniendo mejores resultados, estos sistemas solo daban dos posibles resultados (presentes o ausentes). En este caso los formatos son periódicamente revisados y se anexan o retiran ítems de acuerdo a los hallazgos observables (Hawkins, 2002).

Otros métodos para el manejo de los datos son los sistemas computarizados, estos métodos fueron desarrollados inicialmente para estudios toxicológicos y funcionan de manera similar a las hojas de score. Incluyen listado de términos, condiciones medioambientales y signos clínicos entre otros (Hawkins, 2002; Morton, 2000).

DISMINUCIÓN Y ALIVIO DEL DISTRÉS/ DOLOR

El punto crucial en el manejo de estos efectos adversos es la correcta identificación de su presentación lo que permitirá tener un alto margen para tomar las acciones correctivas por parte del personal a cargo. Sin embargo, antes de implementar cualquier plan de respuesta el investigador principal del estudio junto con el veterinario deben revisar los objetivos del ensayo y determinar si su intervención altera el objeto principal del estudio. En un contexto ideal, el

diseño experimental debe contar con un protocolo de refinamiento el cual garantice disminuir cualquier estado de sufrimiento en los animales. En caso de presentarse condiciones médicas no relacionadas con el ensayo, el veterinario debe tratarlas sin comprometer el desarrollo del estudio (Morton, Ambrose, Leach, Kelly & Poirier, 1999).

Cualquier tratamiento que deba ser instaurado para favorecer el bienestar de los animales debe ser consultado previamente con el investigador principal responsable; es de vital importancia en cualquier caso tratar de llevar un manejo anticipado de las posibles complicaciones que disminuyan la calidad de vida de los animales, con esto se disminuirá el riesgo de afectar el desarrollo experimental (Committee on Recognition and Alleviation of Distress in Laboratory Animals National Research Council, 2009). En la tabla 2, observamos algunas recomendaciones que pueden tomarse.

CONCLUSIONES

El distrés y el dolor son aspectos fundamentales que deben ser controlados por cualquier institución que use animales para sus procesos experimentales. Un aspecto básico para este manejo es alcanzar un alto grado de refinamiento utilizando las herramientas existentes para tal fin. Es de vital importancia contar con métodos que permitan identificar y registrar fácilmente los signos físicos, fisiológicos y comportamentales de distrés y dolor, igualmente la institución debe contar con personal capacitado y entrenado en

Tabla 2
Ejemplos de decisiones y respuestas a casos de distrés en animales

Animales	Programa
Conocimiento de las necesidades básicas de los animales.	Documentar todo los hallazgos encontrados en los animales (signos clínicos y tratamiento)
Valoraciones clínicas constantes de los animales, instauración de tratamientos si es necesario.	Evaluar mas animales dentro del mismo alojamiento para determinar si la causa es distrés o patologías
Intervención veterinaria de emergencia con previa autorización del investigador principal.	Determinar la causa del distrés o dolor (ensayo, errores de alojamiento, otras causas...)
Condiciones patológicas graves donde el investigador principal no pueda ser contactado requieren que la decisión sea tomada por el responsable del cuidado veterinario.	Reducir o eliminar todas las causas posibles de distrés, evaluando que no interfieran con el desarrollo del ensayo
Toma de medidas de precaución para garantizar un cuidado efectivo de los animales	Notificar al CICUAL si hay un distrés significativo en los animales.

el área lo que favorecerá un adecuado bienestar animal.

En general un correcto diseño experimental debe contemplar como el ensayo puede inducir sufrimiento en los animales y como podría ser controlado, con esto se evitara la toma de acciones correctivas durante el desarrollo del estudio que puedan afectar los resultados experimentales.

REFERENCIAS

- Aldhous, P., Coghlan, A. & Copley, J. (1999). Animal experiments -- where do you draw the line?: let the people speak. *New Scientist*, 162, 26-31.
- Committee on Recognition and Alleviation of Distress in Laboratory Animals National Research Council. (2009). *Recognition and Alleviation of Distress in Laboratory Animals*. Washington, D.C.: National Academic Press.
- Damon, E. G., Eidson, A. F., Hobbs, C. H. & Hahn, F. F. (1986). Effect of acclimation to caging on nephrotoxic response of rats to uranium. *Laboratory Animal Science*, 36, 24-27.
- Draper, W. A. & Bernstein, I. S. (1963). Stereotyped behavior and cage size. Percept motor skill. *Perceptual & Motor Skills*, 17, 231-234.
- FELASA Working Group on Pain and Distress. (1994). Pain and distress in laboratory rodents and lagomorphs. *Laboratory Animals*, 28, 97-112.
- Flecknell, P. A. (1994). Refinement of animal use--assessment and alleviation of pain and distress. *Laboratory Animals*, 28, 222-231.
- Fortman, J. D., Hewett, T. A., Bennett, B. T. & Halliday, L. (2001). *The laboratory nohuman primate*. Boca raton, FL: CRC. Press.
- Fox, J., Anderson, F., Loew, M. & Quimby, F. (2002). *Laboratory Animal Medicine* (Second ed.). San diego: Academic press.
- Hawkins, P. (2002). Recognizing and assessing pain, suffering and distress in laboratory animals: a survey of current practice in the UK with recommendations. *Laboratory Animals*, 36, 378-395.
- IRAC (Interagency Research Animal Committee). (1985). The U.S. Government Principles for the Utilization and Care of Vertebrate Animals Used in Testing, Research, and Training. Federal Register Vol. 50, No. 97 (May 20, 1985). Office of Science and Technology Policy.
- Johnson, R. R., Prentice, T. W., Bridegam, P., Young, C. R., Steelman, A. J., Welsh, T. H., et al. (2006). Social stress alters the severity and onset of the chronic phase of Theiler's virus infection. *Journal of Neuroimmunology*, 175, 39-51.
- Kohn, D. F., Martin, T. E., Foley, P. L., Morris, T. H., Swindle, M. M., Vogler, G. A., et al. (2007). Public statement: guidelines for the assessment and management of pain in rodents and rabbits. *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science*, 46, 97-108.
- Laboratory Animal Science Association Working Party. (1990). The assessment and control of the severity of scientific procedures on laboratory animals. Report of the Laboratory Animal Science Association Working Party. *Laboratory Animals*, 24, 97-130.
- Lloyd, M. & Wolfensohn, S. E. (1998). Practical use of distress scoring systems in the application of humane endpoints. In C. F. M. Hendriksen & D. B. Morton (Eds.), *Humane endpoints in animal experiments for biomedical research* (pp. 48-53). London (UK): Royal Society of Medicine Press.
- Manciocco, A., Chiarotti, F., Vitale, A., Calamandrei, G., Laviola, G. & Alleva, E. (2009). The application of Russell and Burch 3R principle in rodent models of neurodegenerative disease: the case of Parkinson's disease. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 33, 18-32.
- Morton, D. B. (2000). A systematic approach for establishing humane endpoints. *Ilar Journal*, 41, 80-86.
- Morton, D. B., Ambrose, N., Leach, M. C., Kelly, J. & Poirier, G. (1999). *Adverse effects - recognition and assessment, and humane endpoints*. Paper presented at the Progress in the reduction, refinement and replacement of animal experimentation: Proceedings of the 3rd World Congress on Alternatives and Animal Use in the Life Sciences, Bologna, Italy.
- Morton, D. B. & Griffiths, P. H. (1985). Guidelines on the recognition of pain, distress and discomfort in experimental animals and an hypothesis for assessment. *TheVeterinary Record*, 116, 431-436.
- Munck, A., Guyre, P. M. & Holbrook, N. J. (1984). Physiological functions of glucocorticoids in stress and their relation to pharmacological actions. *Endocrine Reviews*, 5, 25-44.
- National Research Council. (2010). *Guide for the Care and Use of Laboratory Animals*. Washington, DC.: National Academy Press.
- OECD. (2002). *Guidance Document on the Recognition, Assessment and Use of Clinical Signs as Human Endpoints for Experimental Animals Used in Safety Evaluation*. Paris: OECD Publishing.
- Olsson, I. A. S., Nevison, C. M., Patterson-Kane, E. G., Sherwin, C. M., Van de Weerd, H. A. & Würbel, H. (2003). Understanding behaviour: the relevance of ethological approaches in laboratory animal science. *Applied Animal Behaviour Science*, 81, 245-264.
- Roughan, J. V. & Flecknell, P. A. (2003). Pain assessment and control in laboratory animals. *Laboratory Animals*, 37, 172.
- Stokes, W. S. (2000). Reducing Unrelieved Pain and Distress in Laboratory Animals Using Humane Endpoints. *Ilar Journal*, 41, 59-61.
- Ushijima, I., Mizuki, Y. & Yamada, M. (1985). Development of stress-induced gastric lesions involves central adenosine A1-receptor stimulation. *Brain Research*, 339, 351-355.
- van der Meer, M., Rolls, A., Baumans, V., Olivier, B. & van Zutphen, L. F. (2001). Use of score sheets for welfare assessment of transgenic mice. *Laboratory Animals*, 35, 379-389.
- van Praag, H., Kempermann, G. & Gage, F. H. (2000). Neural consequences of environmental enrichment. *Nature Reviews Neuroscience*, 1, 191-198.
- Weary, D. M., Niel, L., Flower, F. C. & Fraser, D. (2006). Identifying and preventing pain in animals. *Applied Animal Behaviour Science*, 100, 64-76.