



Modelos animais para a investigação em dor translacional

Autores:

Nadia Soliman*, Pain Group, Department of Surgery and Cancer, Imperial College London, United Kingdom

Heike L. Rittner, MD, Center for Interdisciplinary Pain Medicine, Dept Anesthesiology, University Hospital of Wuerzburg, Germany

Emily S. Sena, Centre for Clinical Brain Sciences, University of Edinburgh, United Kingdom

Anke Tappe-Theodor, Pharmacology Institute, Medical Faculty Heidelberg, Heidelberg University, Heidelberg, Germany

* Autor correspondente: n.soliman16@imperial.ac.uk

Introdução

Os animais são usados na investigação pré-clínica para o estudo da etiologia e fisiopatologia da dor, desvendar vias de transdução de sinal, identificar e avaliar novas moléculas e regiões alvo, desenvolver estratégias terapêuticas e analisar a sua eficiência. A experimentação animal oferece a vantagem de que os fatores relevantes para a dor aguda e fatores envolvidos no desenvolvimento e manutenção da dor crónica possam ser investigados sistematicamente para encontrar relações causais, o que frequentemente não é possível em humanos. Exemplos de experimentação animal incluem a investigação de mecanismos genéticos, moleculares e celulares das condições de dor patológica [5]. Os investigadores estão, também, a desenvolver e a usar modelos pré-clínicos animais para avaliar a complexidade sensorial e psicológica da dor crónica [1; 7](Figura 1).



Modelos animais de lesão e doença que têm sido desenvolvidos para investigar os processos de dor e potenciais tratamentos.

A dor é uma experiência multidimensional que pode variar muito de doente para doente com base na doença ou tipo de lesão, e a parte do corpo afetada. Foram desenvolvidos vários modelos animais que mimetizam muitas condições de dor aguda e crônica. São usadas diferentes espécies de animais, sexos e idades, e muitos outros fatores importantes de translação são considerados no desenho experimental dos estudos. Os roedores são majoritariamente usados porque mostram um alto grau de semelhança do sistema nervoso e genético com os humanos, por exemplo Zheng-Bradley et al. [11]. Um amplo espectro de modelos está disponível, e estes estão em constante expansão e modificação em resposta à necessidade clínica [1; 4; 7]. Os modelos têm permitido a investigação dos mecanismos subjacentes à dor neuropática, o papel da inflamação nas condições dolorosas, tais como a artrite, e ainda permite a investigação de síndromes complexas, tais como a fibromialgia e a lombalgia. As avaliações comportamentais são usadas para avaliar os resultados experimentais. São categorizados em testes reflexivos, não reflexivos, de livre escolha ou comportamentos voluntários não evocados, e relacionados com a avaliação de variadas experiências sensoriais e emocionais da dor [8; 9]. As avaliações reflexivas medem a sensibilidade à estimulação mecânica, térmica ou ao frio. As avaliações não reflexivas testam a função física, tal como a atividade locomotora que se pode correlacionar com a dor. As avaliações de livre escolha são usadas para correlacionar com processos de recompensa. O comportamento na caixa ou o desempenho de tarefas motivacionais, tal como correr na roda, pode fornecer informações sobre o bem-estar dos animais.

É importante o quão próximo um modelo animal se assemelha às facetas da condição humana.

Existem vários aspetos nos quais os modelos animais diferem da experiência clínica dos doentes, o que limita o sucesso na translação dos resultados obtidos na investigação com animais. Em primeiro lugar, a



dor é frequentemente estudada em animais machos, jovens, saudáveis e geneticamente semelhantes. Isto contrasta com as situações clínicas nas quais a dor ocorre predominantemente em doentes do sexo feminino, de meia-idade ou idosas, com comorbidades, a tomar vários fármacos e com fundo genético heterogéneo. Em segundo lugar, os animais não simulam efetivamente a natureza multidimensional das condições clínicas da dor, as quais são afetadas por componentes psicológicas complexas, parâmetros sociais, nível de educação e fatores ambientais. Em terceiro lugar, os modelos animais não possuem a natureza degenerativa das doenças crónicas humanas que progridem ao longo dos anos em vez de semanas, como é o caso das experiências de laboratório. Finalmente, a dor não pode ser medida diretamente em modelos animais; os investigadores têm que se basear em comportamentos de substituição, enquanto a dor do doente é medida através do autorrelato [10].

A experimentação animal deve ser realizada de acordo com as diretrizes éticas.

Durante a tomada de decisão sobre se uma experiência é justificada, por parte de uma comissão independente institucional, a dor e o sofrimento prováveis sentidos pelos animais serão minimizados e ponderados em relação aos potenciais benefícios científicos. A política dos 3Rs (*reduction* - redução, *refinement* – refinamento e *replacement* – substituição) é usada para avaliar e incorporar a minimização de danos aos animais usados em investigação. [6]. O *Replacement* (substituição) refere-se às tecnologias que substituem ou evitam o uso de animais nas experiências. A *Reduction* (redução) refere-se aos métodos que minimizam o número de animais usados numa experiência sem prejudicar os objetivos científicos. O *Refinement* (refinamento) refere-se aos métodos que minimizam o sofrimento animal. Estes são aplicados a todos os aspetos da utilização de animais, desde o seu acondicionamento até aos procedimentos científicos.

A investigação com animais tornou possível a translação e o recente desenvolvimento de fármacos para algumas condições dolorosas.



Têm sido introduzidos vários novos fármacos nos recentes anos com base em evidência proveniente da investigação com animais. Por exemplo, o péptido relacionado com o gene da calcitonina (CGRP) foi descoberto em 1982 [2]. Em estudos subsequentes com recurso a animais, o seu papel foi caracterizado no reflexo trigemino vascular como base da enxaqueca. Em paralelo, estudos com humanos demonstraram a libertação de CGRP no plexo venoso jugular aquando de uma crise de enxaqueca. Desde 2018, os anticorpos e antagonistas para o CGRP têm sido aprovados para a prevenção da enxaqueca. Um outro exemplo são os inibidores das enzimas ciclooxigenase-2 (COX-2) para tratar dor associada a altos níveis de inflamação[3]. Na década 90, os modelos animais ajudaram a identificar a Cox-2 no tecido cerebral e a sua regulação positiva em resposta à inflamação. Como resultados, o celecoxib (um inibidor da COX-2) está amplamente aprovado como tratamento para a dor inflamatória.

Houve alguns medicamentos que mostraram resultados promissores em estudos com animais, mas falharam na clínica devido às diferenças entre as espécies. Este tema é abordado na ficha técnica “Células e tecidos humanos em estudos pré-clínicos: os DRG”.

Os investigadores estão continuamente a trabalhar para melhorar a precisão e a confiança nos modelos animais.

O desafio dos investigadores pré-clínicos em dor é modelar suficientemente nos aspetos animais a complexidade da experiência dolorosa dos doentes para investigar e melhorar a nossa compreensão dos mecanismos subjacentes. Vários avanços tecnológicos têm sido empregues para melhorar a nossa compreensão dos processos dolorosos, por exemplo, investigação numa única célula e imagiologia *in vivo* de alta resolução. Os cientistas continuam a desenvolver e a refinar os modelos animais para simular mais proximamente a doença subjacente e a apresentação clínica da dor. Os potenciais tratamentos são avaliados usando uma ampla gama de avaliações comportamentais para incluir alterações sensoriais e psicossociais devido à dor. Além disso, a revisão sistemática e a meta-análise de estudos em animais ajudam a obter uma visão abrangente da validade e utilidade dos estudos. O objetivo futuro é fechar a



lacuna de translação, para que as potenciais terapias eficazes em experiências animais também sejam eficazes para os pacientes.

Animal models for translational pain research

What is their value?

- Ethiological and pathophysiological understanding of diverse pain types
- Identification of treatment targets and therapies
- Evaluation of treatment efficacy and side effects



What is the future?

- Application of pain behavior portfolios
- Advancement in novel genetic tools
- Extension to single cell and systemic networks analysis
- Constant improvement to mimic human disease

Modelos animais para investigação translacional em dor

Qual o seu valor?

- Conhecimento etiológico e fisiopatológico de diversos tipos de dor
- Identificação de alvos terapêuticos e tratamentos
- Avaliação de eficácia e efeitos colaterais dos tratamentos

Qual o futuro?

- Aplicação de padrões de comportamento
- Avanço nas ferramentas genéticas inovadoras
- extensão a uma única célula e análise sistémica da rede
- Melhoria constante para mimetizar a doença humana

Figura 1: Modelos animais para investigação em dor. Criado com [BioRender.com](https://www.biorender.com)

Versão Portuguesa

APED – Associação Portuguesa para o Estudo da Dor



José Tiago Pereira, Departamento de Biomedicina – Unidade de Biologia Experimental, Faculdade de Medicina Universidade do Porto; Faculdade de Ciências da Nutrição e Alimentação da Universidade do Porto; i3S - Instituto de Investigação e Inovação em Saúde da Universidade do Porto

REFERÊNCIAS

- [1] Burma NE, Leduc-Pessah H, Fan CY, Trang T. Animal models of chronic pain: Advances and challenges for clinical translation. *Journal of Neuroscience Research* 2017;95(6):1242-1256.
- [2] Edvinsson L, Haanes KA, Warfvinge K, Krause DN. CGRP as the target of new migraine therapies - successful translation from bench to clinic. *Nat Rev Neurol* 2018;14(6):338-350.
- [3] Flower RJ. The development of COX2 inhibitors. *Nat Rev Drug Discov* 2003;2(3):179-191.
- [4] Henze DA, Urban MO. Large Animal Models for Pain Therapeutic Development. In: L Kruger, AR Light, editors. *Translational Pain Research: From Mouse to Man*. Boca Raton (FL): CRC Press/Taylor & Francis
Copyright © 2010 by Taylor and Francis Group, LLC., 2010.
- [5] Lacroix-Fralish ML, Mogil JS. Progress in genetic studies of pain and analgesia. *Annual review of pharmacology and toxicology* 2009;49:97-121.
- [6] NC3Rs, BBSRC, Defra, MRC, NERC, Society R, Trust W. *Responsibility in the use of animals in bioscience research: expectations of the major research councils and charitable funding bodies*. 2019.
- [7] Sadler KE, Mogil JS, Stucky CL. Innovations and advances in modelling and measuring pain in animals. *Nature reviews Neuroscience* 2021.
- [8] Tappe-Theodor A, King T, Morgan MM. Pros and Cons of Clinically Relevant Methods to Assess Pain in Rodents. *Neurosci Biobehav Rev* 2019;100:335-343.
- [9] Tappe-Theodor A, Kuner R. Studying ongoing and spontaneous pain in rodents--challenges and opportunities. *Eur J Neurosci* 2014;39(11):1881-1890.
- [10] Vierck CJ, Hansson PT, Yeziarski RP. Clinical and pre-clinical pain assessment: are we measuring the same thing? *Pain* 2008;135(1-2):7-10.



[11] Zheng-Bradley X, Rung J, Parkinson H, Brazma A. Large scale comparison of global gene expression patterns in human and mouse. *Genome Biology* 2010;11(12):R124.