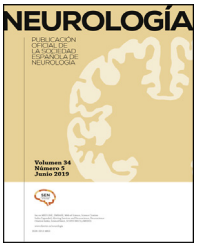
Neurología 36 (2021) 584—588

NEUROLOGÍA

www.elsevier.es/neurologia



ORIGINAL

Determinación de la temperatura de respuesta nociceptiva sobre la cola de ratones albinos de la cepa Balb/c

E.E. Aguirre Siancas[a,b,c,*], N.M. Lam Figueroa[a,d], J.C. Delgado Rios[a,b], E. Ruiz Ramirez[c], O.S. Portilla Flores[a,b], L.J. Crispín Huamaní[a,b] y L. Alarcón Velásquez[b,e]

[a] *Grupo de Investigación NEURON, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, Perú*
[b] *Facultad de Medicina, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, Perú*
[c] *Universidad Científica del Sur, Lima, Perú*
[d] *Instituto de Investigaciones Clínicas, Facultad de Medicina, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, Perú*
[e] *Grupo de Investigación ORALRES, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, Perú*

Recibido el 2 de diciembre de 2017; aceptado el 1 de marzo de 2018
Accesible en línea el 8 de junio de 2018

PALABRAS CLAVE
Respuesta nociceptiva;
Estímulo térmico;
Ratones Balb/c;
Neurociencias experimentales;
Dolor;
Nocicepción

Resumen
Introducción: Los diseños para determinar la respuesta nociceptiva en roedores son de gran utilidad en neurología y en neurociencias experimentales. El paradigma de inmersión de la cola de ratón en agua temperada es uno de los más empleados para evaluar dicha respuesta; sin embargo, existe amplia variación en la temperatura utilizada en las diversas investigaciones. Resulta sumamente útil determinar la temperatura que produce una mejor respuesta nociceptiva sobre la cola de ratones de la cepa Balb/c.
Métodos: Se emplearon 8 ratones machos Balb/c de 2 meses de edad. Un *beaker* de 14 cm de alto se llenó de agua hasta 13 cm. Partiendo desde los 36 °c se empezó a sumergir la cola del animal dentro del recipiente. Se comenzó a elevar en 1 °C el agua hasta encontrar las temperaturas que produzcan las respuestas nociceptivas. Dicha respuesta se determinó contabilizando el tiempo que el ratón tardó en sacudir su cola retirándola del agua.
Resultados: Los ratones empezaron a sacudir su cola a los 51 °C (6 de los 8 roedores). El total de la muestra retiró su cola del agua a los 54, 55 y 56 °C en el tiempo promedio de 8,54, 7,99 y 5,33 s, respectivamente. Al aplicar ANOVA a los tiempos de las 3 temperaturas señaladas se obtuvo el valor $F = 2,8$ y $p = 0,123$.
Conclusiones: El tiempo de respuesta fue similar estadísticamente ante las temperaturas de 54, 55 y 56 °C; sin embargo se encontró menor dispersión de los datos ante esta última.
© 2018 Sociedad Española de Neurología. Publicado por Elsevier España, S.L.U. Este es un artículo Open Access bajo la licencia CC BY-NC-ND (http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/).

* Autor para correspondencia.
Correo electrónico: elias_aguirre@yahoo.com (E.E. Aguirre Siancas).

https://doi.org/10.1016/j.nrl.2018.03.018
0213-4853/© 2018 Sociedad Española de Neurología. Publicado por Elsevier España, S.L.U. Este es un artículo Open Access bajo la licencia CC BY-NC-ND (http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/).

KEYWORDS
Experimental neuroscience;
Thermal stimulation;
BALB/c mice;
Nociceptive response;
Pain;
Nociception

Determination of the temperature causing a nociceptive response in the tail of albino BALB/c mice

Abstract
Introduction: Designs for determining nociceptive response in rodents are of great use in neurology and experimental neuroscience. Immersing mice's tails in warm water is one of the most widely used procedures to evaluate this response; however, a wide range of temperatures are used in different studies. Knowing the temperature that produces a powerful nociceptive response in the tail of BALB/c mice is extremely useful.
Methods: Eight 2-month-old male BALB/c mice were used. A 14-cm high beaker was filled with water up to 13 cm. The animals' tails were immersed in the container with a starting temperature of 36 °C. The water temperature was raised in 1 °C increments until we identified the temperatures that produced nociceptive responses. That response was determined by counting the time taken before the mouse shook its tail to remove it from the water.
Results: Six of the 8 mice began shaking their tails at the temperature of 51 °C. All animals removed their tails from the water at the temperatures of 54 °C, 55 °C, and 56 °C, taking a mean time of 8.54, 7.99, and 5.33 seconds, respectively. ANOVA applied to the response times for each of the 3 temperatures indicated revealed a value of F=2.8 (*P*=.123).
Conclusions: The response time was statistically similar for the temperatures of 54 °C, 55 °C, and 56 °C; however, the data were less dispersed for the latter temperature.
© 2018 Sociedad Española de Neurología. Published by Elsevier España, S.L.U. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/).

Introducción

La experiencia dolorosa es multifacética y altamente subjetiva, además es influenciada por procesos psicológicos y emocionales[1]. Los modelos experimentales en roedores, para determinar el proceso nociceptivo, son de cardinal importancia en las diferentes disciplinas en ciencias de la salud[2—4]. Ello es debido a que el estudio del dolor ocupa un lugar especial en la investigación biomédica[5—8], dado que el dolor es una manifestación general de innumerables condiciones en todos los organismos vivos[9—11].

El paradigma del tiempo de retirada de la cola de ratón ante un estímulo térmico es uno de los más empleados en investigación experimental. Encontrándose diferentes fuentes de estímulo térmico como la incidencia de un rayo de luz sobre la cola del ratón o la respuesta de la misma ante el agua temperada[5,12,13]. Debido a la gran variabilidad existente en la temperatura del agua empleada en el paradigma de inmersión de la cola de ratón[14—19], este estudio tuvo como objetivo determinar la temperatura que produce una mejor respuesta nociceptiva sobre la cola de ratones albinos machos de la cepa Balb/c.

Materiales métodos

Animales

Se emplearon 8 ratones albinos machos de la cepa Balb/c de 30 a 35 g de peso, adquiridos de la granja de producción de material biológico del Instituto Nacional de Salud del distrito de Chorrilos en la ciudad de Lima, Perú. Luego de su adquisición los animales se ambientaron durante una semana en el Bioterio de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, donde recibieron alimentos y agua *ad libitum* con ciclos de luz y oscuridad de 12 h alternadas y con humedad y temperatura controlada (22 ± 2 °C), de acuerdo a la Guide for the Care and Use of Laboratory Animals[20].

Procedimientos

El protocolo fue aprobado por el Comité de Ética de Investigación de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Los 8 ratones fueron evaluados en un solo día entre las 08:00 y las 12:00 h, para lo cual se empleó un *beaker* marca Isolab® que presentaba una altura de 14 cm y un diámetro de 11 cm, y un termómetro digital marca Mastrad® (fig. 1). El *beaker* se llenó de agua temperada a 36 °C hasta 13 cm de altura, para dicho propósito se valió de un hervidor eléctrico marca Thomas®. Se partió desde dicha temperatura y, temperando cuidadosamente el agua se ascendió en 1 °C hasta encontrar la respuesta del roedor ante el estímulo nociceptivo, para ello se realizó un ensayo en cada animal. Dicho ensayo consistió en la rápida inmersión de los dos tercios de la cola de cada uno de los 8 ratones hasta el momento en que los animales la retiraran mediante una violenta sacudida (figs. 2 y 3). El tiempo máximo de inmersión de la cola fue de 15 s, si hasta dicho tiempo el ratón no retiraba su cola se consideró que no manifestó respuesta ante el estímulo térmico. Todos los ensayos fueron filmados mediante una cámara Sony Handycam® modelo CX330® y grabados en una memoria microSD®. Los videos fueron proyectados posteriormente en un ordenador Lenovo® modelo Yoga 2®,

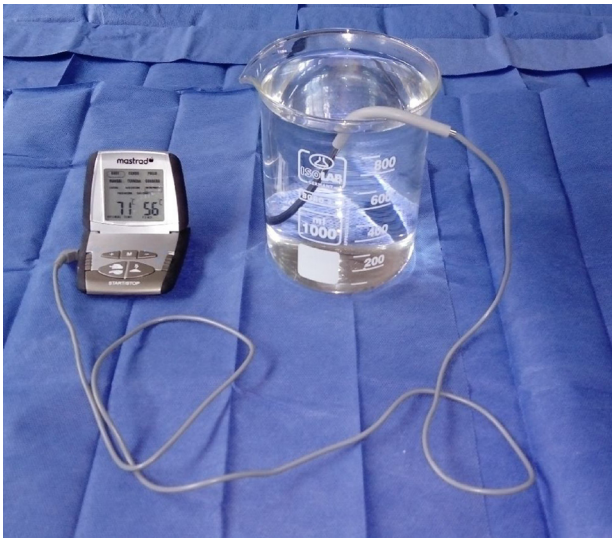


Figura 1 Instrumentos empleados en el experimento.

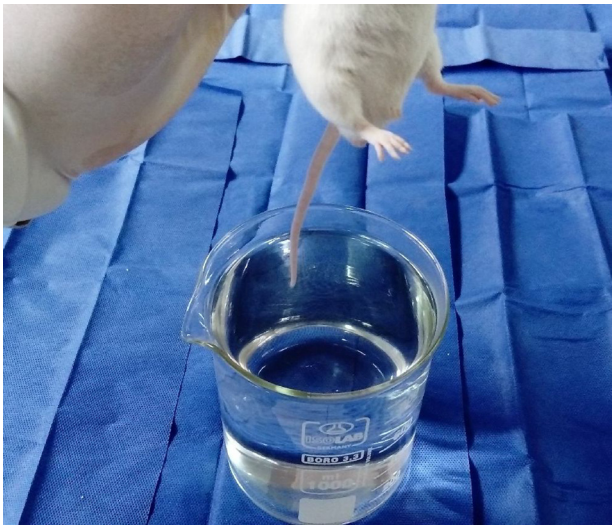


Figura 2 Aproximación de la cola hacia el agua temperada.

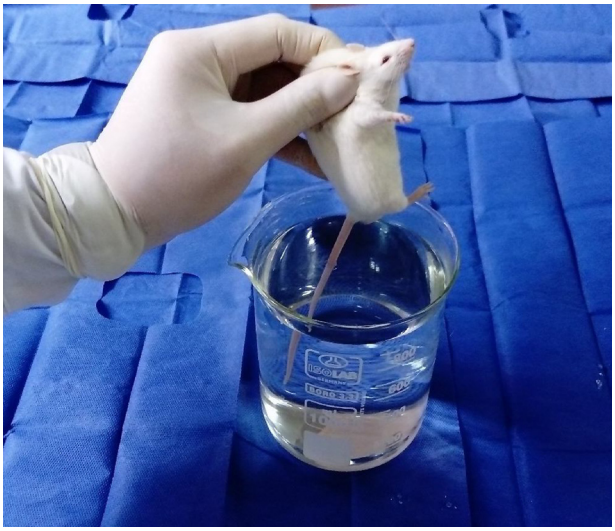


Figura 3 Inmersión de la cola en la fuente de estímulo nociceptivo.

Tabla 1 Media de los tiempos de retirada de la cola ante el estímulo término en diferentes temperaturas

Temperatura	Ratones evaluados	Media en segundos	Desviación estándar
$\leq 50\,^{\circ}C$[a]	8	—	—
$51\,^{\circ}C$[b]	8	8,81	3,15
$52\,^{\circ}C$[b]	8	8,72	3,56
$53\,^{\circ}C$[b]	8	8,67	3,26
$54\,^{\circ}C$[c]	8	8,54	3,02
$55\,^{\circ}C$[c]	8	7,99	2,72
$56\,^{\circ}C$[c]	8	5,33	1,84

[a] Ningún ratón evidenció respuesta.
[b] Dos de los ratones no evidenciaron respuesta.
[c] Todos los ratones evidenciaron respuesta.

de donde se obtuvieron los tiempos de retirada de la cola para cada ensayo mediante un cronómetro digital.

Análisis de los datos

Para el análisis estadístico se emplearon medidas de tendencia central como la media y la desviación estándar. Para la estadística inferencial se utilizó el análisis de varianza (ANOVA) con un factor para medidas repetidas valiéndose del programa SPSS® versión 23 para Windows®.

Resultados

Se empezó a evaluar a los animales partiendo desde los $36\,^{\circ}C$, solo se encontró respuesta ante el estímulo término recién al a los $51\,^{\circ}C$. Sin embargo, fue a partir de los $54\,^{\circ}C$ en que la totalidad de la muestra respondió con la retirada de su cola ante la fuente nociceptiva (tabla 1).

Debido a la distribución normal de los datos de acuerdo a los resultados de la prueba de Shapiro-Wilk ($54\,^{\circ}C$, $p = 0{,}296$; $55\,^{\circ}C$, $p = 0{,}947$ y $56\,^{\circ}C$, $p = 0{,}892$) y a la homocedasticidad de los mismos se aplicó la prueba de ANOVA de un factor para muestra repetidas entre los tiempos de respuesta para los estímulos nociceptivos de las 3 temperaturas indicadas. No se halló diferencia significativa entre las comparaciones realizadas ($F = 2{,}8$; $p = 0{,}123$) como se puede apreciar en la figura 4.

Discusión

En la presente investigación se empleó 8 ratones albinos machos de la cepa Balb/c de la misma camada. Al determinar el tiempo de retirada de la cola ante el estímulo término de la fuente de agua temperada, se hallaron que a las temperaturas de 54, 55 y $56\,^{\circ}C$, la totalidad de la muestra tuvo respuesta ante el estímulo nociceptivo.

En diversos estudios experimentales en ratones emplean el tiempo de retirada de la cola en temperaturas que van desde los 48 hasta los $55\,^{\circ}C$[15,16,19,21]. En el presente estudio se encontró respuesta a partir de los $51\,^{\circ}C$, una temperatura varios grados por encima a la empleada por De Prá et al.[12]

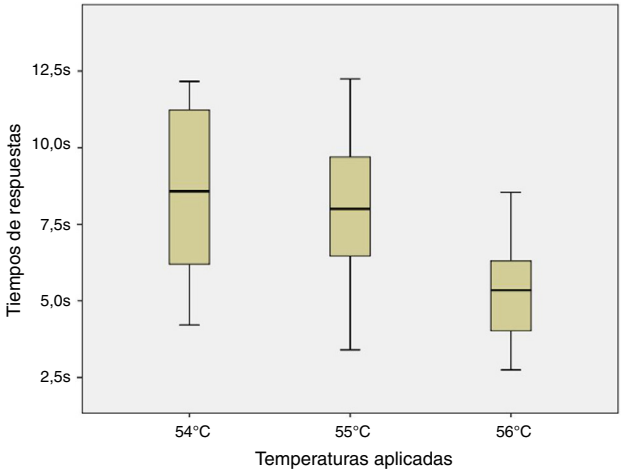


Figura 4 Tiempo de respuesta en diferentes temperaturas.

y Bhalla et al.[15] quienes evaluaron respuestas nociceptivas en los animales a la temperatura de 48 °C, aunque valiéndose de ratones genéticamente modificados a diferencia a los utilizados en el presente trabajo. Sin embargo, Desroches et al.[16] y Brown et al.[17] refieren haber empleado la temperatura de 52 °C habiendo ellos utilizado también animales genéticamente modificados. Lo cual permite observar que hay variabilidad en la temperatura empleada en dichos modelos animales.

En animales no modificados genéticamente Melo et al.[19] refieren haber empleado la temperatura de 51 °C en ratones hembras para evaluar la retirada de la cola, similar a la temperatura en la que en el presente estudio se empezó a encontrar respuesta ante el estímulo térmico, aunque no de manera uniforme por cuanto 2 de los animales de la muestra no manifestaron respuesta a esa temperatura. Por otra parte, Yemitan y Adeyemi[14] emplearon ratones adultos de ambos sexos sometidos a 55 °C, además Griseb et al.[13] y Garcia et al.[21] refieren haber empleado la misma temperatura para el paradigma de inmersión de la cola, pero a diferencia de Yemitan y Adeyemi[14] ellos emplearon solo ratones machos similar a los empleados en el presente trabajo.

Finalmente, al no observarse diferencia significativa en las 3 temperaturas contrastadas se podría emplear cualquiera de ellas entendiéndose que se obtendrían resultados similares. Sin embargo, a pesar que en las 3 temperaturas que se evaluaron no existen diferencias estadísticas, se encuentra una menor dispersión de los datos en los resultados de la temperatura de 56 °C sobre la de 55 y 54 °C (DE = 1,84; 2,72 y 3,02; respectivamente) lo cual podría ser considerado a la hora de elegir la temperatura a emplear.

Financiación

El presente estudio fue financiando por el Vicerrectorado de Investigación de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

Conflicto de intereses

Los autores declaran que no existe conflicto de intereses en el presente trabajo.

Bibliografía

1. Lavigne G, Sessle B. The Neurobiology of Orofacial Pain and Sleep and Their Interactions. J Dent Res. 2016;95:1109—16.
2. Pinto WJ, Treto RR, Vieira L, Graebner IB. Estudio de la actividad analgésica en ratones Swiss sometidos a diferentes dosis de extracto hidroalcohólico al 30% de raíz de Eclipta alba. Rev Ciênc Méd Biol, Salvador. 2017;16:10—4.
3. Sudo RT, Amaral RV, da Silva-Monteiro CE, da Rocha-Pitta I, do Carmo-Lima M, Montes GC, et al. Antinociception induced by a novel α2A adrenergic receptor agonist in rodents acute and chronic pain models. Eur J Pharmacol. 2017;815:210—8.
4. Barrot M, Salvat E, Yalcin I. Tests and Models to Study Pain in Animal-Based Translational Research. Meanings of Pain. 2016;1:375—88.
5. Yesilyurt O, Seyrek M, Tasdemir S, Kahraman S, Deveci MS, Karakus E, et al. The critical role of spinal 5-HT7 receptors in opioid and non-opioid type stress-induced analgesia. Eur J Pharmacol. 2015;762:402—10.
6. Rojas A, Pardo-Novoa JC, del Río R, Gómez-Hurtado M, Limón D, Luna F, et al. Determinación del efecto analgésico del extracto hexánico de flores de *Eupatorium arsenei* en un modelo de dolor agudo en rata. Rev Mex Cienc Farm. 2015;46:64—9.
7. Ferreira L, da Costa A, Alves M, Varanda L. The bioethical principlism model applied in pain management. Rev Gaúcha Enferm. 2013;34:187—95.
8. García G, Elva del Río R, Guzmán R, Martínez M, Scior T. Estudios preliminares sobre el efecto analgésico del extracto de hojas de *Ageratina glabrata* en dos modelos térmicos de dolor agudo. Rev Mex Cienc Farm. 2011;42:45—51.
9. Chichorro JG, Porreca F, Sessle B. Mechanisms of craniofacial pain. Cephalalgia. 2017;37:613—26.
10. Gandolfi M, Geroin C, Antonini A, Smania N, Tinazzi M. Understanding and Treating Pain Syndromes in Parkinson's Disease. Int Rev Neurobiol. 2017;134:827—58.
11. Ripamonti C, Bossi P, Santini D, Fallon M. Pain related to cancer treatments and diagnostic procedures: A no man's land? Ann Oncol. 2014;25:1097—106.
12. De Prá SD, Ferro PR, Milioli AM, Rigo FK, Chipindo OJ, Camponogara C, et al. Antinociceptive activity and mechanism of action of hydroalcoholic extract and dichloromethane fraction of *Amphilophium crucigerum* seeds in mice. J Ethnopharmacol. 2017;195:283—97.
13. Griseb S, Ibis A, Hernández G, María I, Victoria C, Francisco P, et al. Validación preclínica de la actividad analgésica y antiinflamatoria de la decocción de partes aéreas frescas de *Phania matricarioides*. Rev Cubana Plant Med. 2012;17:380—92.
14. Yemitan OK, Adeyemi OO. Mechanistic assessment of the analgesic, anti-inflammatory and antipyretic actions of *Dalbergia saxatilis* in animal models. Pharm Biol. 2017;55:1898—905.
15. Bhalla S, Ali I, Andurkar SV, Gulati A. Centhaquin antinociception in mice is mediated by α2A- and α2B- but not α2C-adrenoceptors. Eur J Pharmacol. 2013;715:328—36.
16. Desroches J, Bouchard JF, Gendron L, Beaulieu P. Involvement of cannabinoid receptors in peripheral and spinal morphine analgesia. Neuroscience. 2014;261:23—42.
17. Brown SM, Campbell SD, Crafford A, Regina KJ, Holtzman MJ, Kharasch ED. P-glycoprotein is a major determinant of norbuprenorphine brain exposure and antinociception. J Pharmacol Exp Ther. 2012;343:53—61.

18. Wang CL, Xiang Q, Diao YX, Ren YK, Gu N. Differential antinociceptive effects of intrathecal administration of C-terminal esterified endomorphin-2 analogues in mice. Eur J Pain. 2014;18:1157—64.
19. Melo V, Contreras A, Oviedo A, Rodríguez R, Rosas E, García M. Evaluación de los efectos antinociceptivos en la coadministración de tramadol con diclofenaco vía intraperitoneal en ratones. Enf Neurol (Mex). 2011;10:11—5.
20. Guide for the Care and Use of Laboratory Animals. Eight ed. Washington D.C.: National Academy Press; 2010.
21. García A, López M, Morejón Z, Boucourt E, Victoria M, Martínez I, et al. Validación preclínica de actividad analgésica periférica y central de la decocción de hojas frescas de *Persea americana* Mill. (aguacate) y *Musa x paradisiaca* L. (plátano). Rev Cubana Plant Med. 2014;19:225—34.