



ARTÍCULO ORIGINAL

Desarrollo del reflejo de retirada de la cola dada por un estímulo nociceptivo térmico en ratas macho Wistar

Thermal nociceptive tail-flick reflex development in Wistar male rats

¹Vianey del Rocío Torres Pelayo, ¹Baldemar Santiago Villalba, ¹Andrés Alfonso Domínguez Guadarrama, ²Abel Martínez Reyes, ¹Miguel Ángel Camacho Pernas

¹Laboratorio de Neuroanatomía, Instituto de Neuroetología, ²Facultad de Medicina
Universidad Veracruzana

Torres-Pelayo V, Santiago-Villalba B, Domínguez-Guadarrama AA,
Martínez-Reyes A, Camacho-Pernas MA. Desarrollo del reflejo de retirada
de la cola dada por un estímulo nociceptivo térmico en ratas macho Wistar.
Rev Med UV 2007; 7(2): 8-11

RESUMEN

Introducción. El reflejo de retirada de la cola ante un estímulo nociceptivo es muy utilizado en estudios de nocicepción en animales. Tomando en cuenta que uno de los factores que modifican este reflejo es la edad, no existen trabajos que abarquen períodos largos de vida de los animales, tan sólo etapas como son la postnatal y/o adulta. **Objetivo.** Analizar si la edad modifica la latencia de retirada de la cola ante un estímulo nociceptivo térmico. **Método.** Se utilizaron 12 ratas macho de la cepa Wistar a las cuales se les hicieron seis pruebas a diferentes edades (7, 11, 17, 29, 90 y 120 días de edad). Las pruebas consistían en la aplicación de un solo estímulo nociceptivo térmico de 45°C en la región ventral de la cola y se analizó la latencia de retiro de la cola. **Resultados.** La edad modifica la latencia de retiro de la cola sólo en los primeros 11 días postnatales y a partir de ahí, los animales presentan la misma respuesta que un animal adulto.

Palabras clave: reflejo de retirada, nocicepción, edad, ratas

ABSTRACT

Introduction. The thermal nociceptive tail-flick reflex is used in studies of nociception in animals. Considering that one of the factors that modify this reflex is the age, studies that include long periods of animal's life are nonexistent. They only explore the childhood and/or adulthood. **Objective.** To analyze whether the age modifies the latency of thermal nociceptive tail-flick reflex. **Method.** 12 Wistar male rats were used which were subjected to six trials at different ages (days 7, 11, 17, 29, 90 and 120 of age). The tests consisted in application of only one thermal nociceptive stimulus of 45°C on the ventral region of the tail and the latency of tail-flick reflex was analyzed. **Results.** The age modifies the latency of tail-flick reflex in the first 11 postnatal days and since then the animals present the same response that an adult animal.

Key words: withdrawal reflex, nociception, age, rats.

Recibido 25/07/2007 - Aceptado 03/10/2007

INTRODUCCIÓN

Evolutivamente, los organismos han desarrollado mecanismos para reaccionar ante su ambiente e iniciar la respuesta para enfrentarlos o eludirlos. En los organismos unicelulares, esta respuesta es tan simple como alejarse, o como en los vertebrados, cuya respuesta ante el estímulo nocivo es más compleja y se da por medio de reflejos de retirada o flexión, que es el resultado de la contracción de un músculo flexor (agonista) y la relajación del músculo extensor (antagonista). Este reflejo de retirada o de flexión es uno de los parámetros más utilizados en el estudio sobre la respuesta ante un estímulo nocivo, denominada también respuesta nociceptiva, que puede ser provocada por un estímulo químico¹ o térmico.²

En roedores, esta respuesta ha sido utilizada para estudios farmacológicos³ y de la fisiología de la nocicepción.⁴ De estos trabajos en donde se analizan los cambios del reflejo de retirada en relación con la edad, son pocos los que abarcan períodos largos de vida, y de los que hay, existen controversias en sus resultados. Así, tenemos que para algunos autores^{5,6} existe una diferencia en la edad dada por un decremento de la latencia del reflejo de retirada que abarca del día postnatal 10 o P-10 hasta P-25 y se mantiene igual hasta P-45. Otros autores⁷ también encuentran diferencias en relación a la edad, pero debido a un incremento de la latencia desde P-5 hasta P-25, manteniéndose hasta P-90. Los demás trabajos que han estudiado esta respuesta sólo abarcan ciertas etapas de la vida, ya sea en el primer mes de vida⁸ o como adultos.⁹ Así, trabajos en etapas postnatales⁸ describen que existe un incremento de la latencia de retirada desde el día postnatal 7 o P-7 hasta el día P-16 y posteriormente un decremento hasta P-21 y que se mantiene hasta P-28.

En trabajos con animales adultos⁹ se describe que hay diferencias cuando se comparan animales de entre tres y nueve meses de edad contra animales entre 15 y 25 meses de edad, siendo los primeros quienes presentan las latencias de retiro más largas.

Existe un vacío en relación con estudios a largo plazo donde se analicen los cambios en el reflejo de retirada producida por un estímulo, además de que hay una gran controversia en relación con los datos obtenidos. Por tal motivo el objetivo de nuestro trabajo es analizar los

cambios que se presentan en el reflejo de retirada de la cola ante un estímulo nociceptivo térmico con relación a la edad en ratas macho de la cepa Wistar.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron ratas macho de la cepa Wistar (n=12) obtenidas del Bioterio de Neuroetología de la Universidad Veracruzana y mantenidas en condiciones estándar con agua y alimento para roedores (Harlan, México) ad libitum y con ciclo de luz-oscuridad invertido (la luz se prendió a las 8:00 hrs.). Todos los animales usados para este experimento fueron tratados y mantenidos en concordancia con las normas en el Uso de Animales para la Investigación en Neurociencias, dadas por la Sociedad para las Neurociencias en Estados Unidos y la Guía para el Cuidado y Uso de los Animales de Laboratorios del Instituto de Investigaciones Biomédicas, UNAM.

Todas las pruebas se realizaron a las 10 hrs. y se utilizó el analgasiómetro (Ugo Basile) denominado Tail-Flick,¹⁰ el cual consiste en un aparato que da un haz calórico a 45°C y cuenta con cronómetro que se inicia cuando se prende el haz calórico y se apaga cuando se interrumpe el mismo, provocado por el movimiento de la cola, dando el tiempo de duración total del estímulo. La región estimulada fue la parte ventral (zona media) de la cola y se dio un solo estímulo por prueba a cada animal y se evaluó la latencia de retiro de la cola, la cual se considera como el tiempo que tarda el animal en retirar la cola del estímulo térmico. Se realizaron seis pruebas a todos los animales en cinco edades diferentes (prueba A en el día postnatal 7 o P-7; prueba B en P-11; prueba C en P-17; prueba D en P-29; prueba E en P-90 y prueba F en P-120). En las primeras tres pruebas los animales se mantuvieron con sus madres en sus respectivas camadas hasta el día P-21 cuando fueron destetadas y alojadas en cajas separadas hasta el final de las mismas. Todos los animales se inmovilizaron ya sea mediante una sujeción con un paño suave (grupos A, B, C y D) y que se realizaba de manera de que no causara daño a los animales, o mediante un contenedor cilíndrico de acrílico (grupo E y F), con el fin de inmovilizarlas y sólo dejando libre la cola y sin restricción para su movimiento.

Los datos obtenidos fueron analizados mediante un análisis de varianza para muestras repetidas (ANOVA) de

un factor seguido por una comparación múltiple por medio de la prueba *post hoc* de Tukey/Kramer.

RESULTADOS

Los resultados de las pruebas muestran que la latencia de retiro de la cola de ratas macho *Wistar* en respuesta al estímulo térmico nociceptivo de 45°C, presenta variaciones dadas por la edad ($F_{5,11} = 22.44, p < 0.01$). Se encontró que la latencia se incrementa desde el día P-7 hasta el día P-17 y a partir de esta edad se mantiene sin mucha variación hasta P-120. No se observan diferencias estadísticas en la latencia de retiro de la cola entre los días P-7 y P-11 en donde se presentan las latencias significativamente más cortas. A partir de P-17 hasta P-120 no hay diferencias significativas y se dan las respuestas más largas. Nuestros resultados se muestra que es en la primera semana y media de vida (del día P-7 al día P-11) en donde se observan las latencias significativamente más cortas ($p < 0.01$) en relación con el resto de las otras edades, como se muestra en la figura 1.

LATENCIA AL RETIRO DE LA COLA 45°C

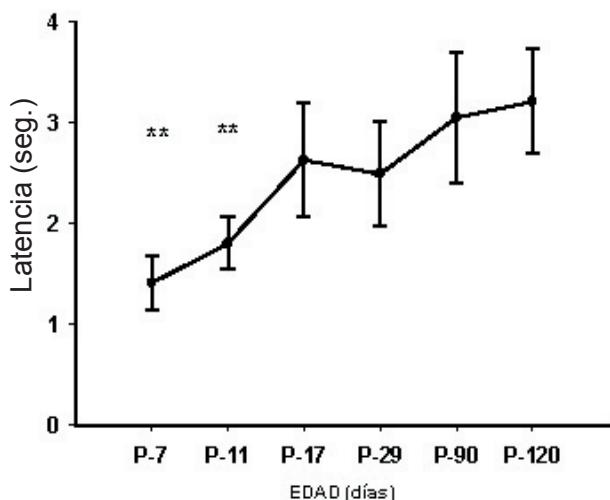


Figura 1. Desarrollo de la latencia al retiro de la cola (eje vertical) en ratas macho en respuesta a un estímulo nociceptivo térmico de 45°C estudiado desde el día postnatal siete (P-7) al día P-120 (eje horizontal). La grafica muestra una latencia más corta en los días P-7 y P-11 y a partir del día P-17 hasta el día P-120 las latencias más largas. Hay diferencias significativas en relación a la edad solo en los días P-7 y P-11 (** $p < 0.01$) cuando se comparan con el resto de edades. En las demás edades, no se observan diferencias significativas cuando se comparan entre ellas.

DISCUSIÓN

En este experimento se utilizó la latencia al retiro de la cola ante un estímulo nociceptivo de 45°C para observar los cambios que se producen por la edad de los animales. Los resultados obtenidos muestran que la latencia del reflejo de retirada en la cola de las ratas macho *Wistar* sólo se modifica en la primera semana y media de vida postnatal, manteniéndose sin cambios a partir de P-17 a P-120. Así, en los días P-7 y P-11 se observan las latencias más cortas, debido a que en estas edades los animales son hiperresponsivos como se ha descrito.²

Considerando que el reflejo de retirada de la cola está mediado mayormente a nivel de médula espinal,¹¹ estas respuestas más cortas a estas edades se deberían a que aún no ha madurado el sistema inhibitorio descendente difuso de estímulos nociceptivos,¹² más que a la maduración de las fibras aferentes “C” como se ha descrito.¹³

Así, el incremento de la latencia después de P-11 hasta P-17 se debería a que este sistema descendente está madurando y se considera funcional como en el adulto hasta el día P-21, a partir de esta edad es que los animales presentan respuestas sin cambios significativos hasta el día P-120.¹²

Pero además de los sistemas descendentes inhibitorios, en estos períodos de maduración, existen otros factores, como por ejemplo, los nuerotróficos que regulan el crecimiento de las fibras que responden a estos estímulos, como es el caso del Factor de Crecimiento Neuronal, el cual se ha sugerido que está jugando un papel importante en la regulación funcional de estas fibras durante la segunda semana de vida postnatal.¹⁴

Además, estos resultados muestran un incremento en la latencia del reflejo de retirada y no un decremento como los trabajos de Ba y Seri, 1993 y Ba y col. 1996 y estas diferencias se deben a que, probablemente, estos autores estén sensibilizando a los animales, como se ha descrito,⁸ ya que utilizan una medición basal de la latencia de retiro de la cola, la cual consiste en hacer tres pruebas consecutivas y tomar el promedio de las tres como base y probablemente eso provoca que los animales respondan más rápido al ir pasando el tiempo, debido a que se sensibilizan al estímulo nociceptivo térmico.

CONCLUSIÓN

La latencia al retiro de la cola sólo se incrementa en la primera semana y media de edad y es en este período donde se pueden estudiar los cambios tanto fisiológicos como morfológicos de los mecanismos involucrados en las respuestas nociceptivas. A partir de esta edad, las respuestas que se presenta son las que muestran los animales adultos hasta la edad de cuatro meses de edad.

BIBLIOGRAFÍA

1. Jiang MC, Gebhart GF. Development of mustard oil-induced hyperalgesia in rats. *Pain* 1998; 77: 305-13.
2. Falcon M, Guendelman D, Stolberg A, Frenk H, Urca G. Development of thermal nociception in rats. *Pain* 1996; 67 (1): 203-8.
3. Gagliese L, Melzack R. Age differences in the response to the formalin test in rats. *Neurobiol Aging* 1999; 20: 696-707.
4. Le Bars D, Gozariu M, Cadden SW. Animal models of nociception. *Pharmacol Rev* 2001; 53: 597-652.
5. Ba A, Seri VB. Functional development of central nervous system in the rat: ontogeny of nociceptive thresholds. *Physiol Behav* 1993; 54: 403-5.
6. Ba A, Seri VB, Han SH. Thiamine administration during chronic alcohol intake in pregnant and lactating rats: effects on the offspring neurobehavioural development. *Alcohol* 1996; 31(1): 27-40.
7. Conway CM, Martinez J, Lytle LD. Maturational changes in the thermal nociceptive responses of developing rats. *Dev Psychobiol* 1998; 33: 47-60.
8. Hassmannová J, Rokyta R. The postnatal development of tail-flick latencies to acute and repeated stimulation in the rat. *Experimental Physiol* 2002; 87: 63-7.
9. Gagliese L, Melzack R. Age differences in nociception and pain behaviors in the rat. *Neurosci Biobehav Rev* 2000; 24: 843-54.
10. D'Amour FE, Smith DL. A method for determining loss of pain sensation. *J Pharmacol Exp Ther* 1941; 72: 74-9.
11. Millan MJ. The induction of pain: the integrative review. *Prog Neurobiol* 1999; 37: 1-164.
12. Boucher T, Jennings E, Fitzgerald M. The onset of diffuse noxious inhibitory controls in postnatal rat pups: a c-fos study. *Neurosci Letters* 1998; 257: 9-12.
13. Fitzgerald M. The prenatal growth of fine diameter afferents into the rat spinal cord: a transganglionic study. *J Comp Neurol* 1987; 261: 98-104.
14. Fitzgerald M. The development of nociceptive circuits. *Nat Rev Neurosci* 2005; 6: 507-20.

Responsable:

Miguel A. Camacho Pernas.

Instituto de Neuroetología, Universidad Veracruzana.

Av. Dr. Luis Castelazo s/n

Fracc. Industrial Las Ánimas.

C.P. 91190

Apartado postal 566

Xalapa, Veracruz, México.

Correo electrónico: acamacho@uv.mx