



SCHMERZBEKÄMPFUNG IM TIERVERSUCH

Peter Kistler

Institut für Toxikologie der ETH und der Universität Zürich
CH-8603 Schwerzenbach

ZUSAMMENFASSUNG

Die vorgestellte Arbeit untersucht die Möglichkeiten und Grenzen einer medikamentösen Schmerzbekämpfung bei Versuchstieren. Als Beispiele dienen Ratte und Maus. An diesen Arten wurde die Wirksamkeit verschiedener Schmerzmittel akut und in Dauerversuchen geprüft. Die bisherigen Ergebnisse lassen einige Empfehlungen hinsichtlich Stoffauswahl, Dosierung und Abgabe zu.

EINLEITUNG

Von verschiedener Seite sind heute Bestrebungen im Gang, das Los der Versuchstiere zu erleichtern und sie nach Möglichkeit durch schmerzfreie Systeme zu ersetzen. Mittelfristig werden jedoch auch weiterhin sehr viele Tiere in Versuchen eingesetzt werden. Ein Teil davon ist beträchtlichen Belastungen ausgesetzt. Diese können physischer (Schmerz) und psychischer Natur sein ("Stress", Angst). Beide Bewusstseinssebenen sind auf komplexe Weise verknüpft und interagieren miteinander.

Meist sind Schmerz und Angst nicht notwendig für den Versuchszweck. Im Gegenteil: Sie bringen eine Fülle nicht kontrollierbarer und z.T. unbekannter Einflüsse in ein Experiment, so dass sie oft vom wissenschaftlichen Standpunkt aus ebenso unerwünscht sind wie vom ethischen.

Trotzdem wurde bisher bemerkenswert wenig getan, dieses unnötige Leiden zu lindern (3,17,18). Wohl werden schwere Eingriffe in Narkose durchgeführt. Gegen postoperativen Schmerz wird jedoch oft wenig unternommen; dasselbe gilt für Schmerzen, die aus physiologischen Veränderungen stammen (z.B. Organveränderungen, Koliken, Infarkte, Tumoren etc.). Besonders bei Kleinsäugetieren ist die Schmerzbekämpfung meist rudimentär oder fehlt überhaupt. Leider bilden gerade sie den Hauptharst der Versuchstiere: In der Schweiz sind über 92% davon Mäuse und Ratten.

Die vorgestellte Arbeit untersucht am Beispiel dieser beiden Arten Möglichkeiten und Grenzen einer medikamentösen Schmerzhemmung bei Versuchstieren.



METHODEN

Um den Erfolg einer Schmerzbekämpfung feststellen zu können, muss man Schmerzen messen können. Die Quantifizierung eines so subjektiven Phänomens ist schon beim Menschen schwierig; umso heikler ist sie bei Tieren, die ja Schmerzen oft nicht oder nicht gleich äussern wie wir. Man muss daher zu Schmerztests Zuflucht nehmen, bei denen ein Tier einer Noxe (Schadwirkung) ausgesetzt wird, auf die es in bekannter Weise reagiert. Wird diese Reaktion verzögert oder abgeschwächt, so interpretiert man dies als Resultat einer verminderten Schmerzwahrnehmung (Hypoalgesie).

Es gibt eine ganze Reihe solcher Tests, bei denen die Noxe mechanischer, thermischer, chemischer oder elektrischer Art sein kann (1,5,9,14,17).

Als Beispiele seien angeführt:

a) DER KRAMPFTEST

Man spritzt einem Tier eine bestimmte Menge einer Reizsubstanz in die Bauchhöhle (z.B. 4% NaCl, $MgSO_4$, Essigsäure o.ä.). Dies führt zu charakteristischen, zählbaren Krämpfen.

Abnahme der Krampfhäufigkeit bedeutet Hypoalgesie.

b) DER ELEKTROSCHMERZTEST

Die Tiere werden durch ein Bodengitter leichten Stromstössen ausgesetzt. Bei einer bestimmten Intensität reagieren sie mit Zurückzucken, ev. Hochspringen und/oder Schrei.

Verzögerung der Reaktion bedeutet Hypoalgesie.

c) DER ÖDEMTEST

Man erzeugt mittels Reizsubstanzen an den Sohlen der Hinterfüsse Oedeme und misst dann die Bewegungsaktivität der Tiere.

Normale (statt reduzierte) Aktivität bedeutet Hypoalgesie.

d) DER HOT-PLATE-TEST

Die Tiere werden auf eine heisse Unterlage (50–55°C) gesetzt. Nach einer Reaktionszeit belecken sie die Laufflächen der Pfoten.

Verzögerte oder fehlende Reaktion bedeutet Hypoalgesie.



Was ist nun aber Schmerz überhaupt? Es handelt sich um ein komplexes Phänomen, an dem verschiedene Ebenen des Nervensystems beteiligt sind. Durch eine Noxe werden periphere Schmerzrezeptoren (Nociceptoren) erregt, deren Nervenbahnen ins Rückenmarks-Hinterhorn münden und dort einerseits mit motorischen Bahnen Reflexbögen bilden, andererseits über zentrale Bahnen ins Hirn und dort in den Thalamus aufsteigen. Hier erfolgt die Schmerzwahrnehmung. Die Weiterleitung führt einerseits ins limbische System, wo eine affektive Verarbeitung stattfindet (Feststellen der Schmerzintensität). Andererseits geht sie in Areale der Grosshirnrinde, die den Schmerzort lokalisieren.

ANALGETIKA

Schmerzen bekämpft man mit Analgetika. Diese Stoffe sind nach Bau, Wirkungsweise und Potenz verschieden (4,11,12). Man unterscheidet peripher wirkende, schwache von zentral wirkenden, starken Analgetika. Erstere unterbinden die Entstehung eines Schmerzreizes am Wirkort der Noxe (also in der Peripherie). Sie zerfallen in zwei Untergruppen, nämlich a) saure, fiebersenkende, entzündungshemmende Analgetika (z.B. Aspirin) und b) nichtsaure, fiebersenkende Analgetika (z.B. Phenacetin, Paracetamol).

Die zentral wirkenden Schmerzmittel oder Opiode dagegen wirken nur im Zentralnervensystem. Dort binden sie sich an Rezeptoren für körpereigene Schmerzhemmer (Endorphine), wodurch die Weiterleitung der Schmerzreize im Zentralnervensystem blockiert wird. Prototyp dieser Stoffe ist das Morphin.

AUSWAHL DER MEDIKAMENTE

Der Einsatz von Schmerzmitteln im Tierversuch ist nicht unproblematisch. Das eigentliche Versuchsziel sollte ja nicht verfälscht werden. Analgetika zeigen aber oft beträchtliche Nebenwirkungen. So sind peripher wirkende Stoffe oft auch Entzündungshemmer, was in manchen Versuchen eine Anwendung verunmöglicht. Bei dauernder Zufuhr treten ferner massive Nebenwirkungen im Magen-Darm-Trakt auf (Ulzera). Zudem sind diese Mittel nur schwach schmerzhemmend. Zentral wirkende Stoffe dagegen sind zwar potent, haben aber viele gravierende Nebeneffekte, namentlich Atemdepression sowie eine psychische und physische Gewöhnung und Toleranzbildung, verbunden mit Sucht. Beide Analgetikagruppen wirken in der Regel nur wenige Stunden.

Die geeigneten Stoffe müssen also sorgfältig ausgesucht werden, um zu vermeiden, dass wegen der Nebenwirkungen die Fortsetzung der Behandlung verunmöglicht oder der eigentliche Versuchszweck beeinträchtigt wird. Trotzdem sollte aber eine befriedigende, konstante Schmerzlinderung erreicht werden.

Für die hier vorgestellte Studie wurden 5 Stoffe ausgewählt. Drei davon sind Opiode, die durch besonders günstige Wirkungs- und Nebenwirkungsparameter auffallen: TRAMADOL (8) erzeugt sehr wenig Abhängigkeit und Toleranz sowie keine Atemdepression oder Kreislaufwirkungen. BUPRENORPHIN (10) bewirkt ebenfalls kaum Abhängigkeit und Toleranz und ist zudem sehr lange wirksam (bis zu 12 h). NALBUPHIN (15) erzeugt weder Atemdepression, Abhängigkeit oder Toleranz noch Wirkungen an Kreislauf oder Magen-Darm-Trakt. Zwei weitere getestete Stoffe, D9998 (12) und D16949 (2), befinden sich noch in der klinischen Erprobung. Sie sind keine Opiode und zeigen daher keine entsprechenden Nachteile.

AKUTE VERSUCHE

In einer Reihe von Versuchen wurden die ausgewählten Pharmaka akut (d.h. nach einmaliger Gabe) bezüglich ihrer analgetischen Potenz geprüft. Als Beispiel zeigt Abb. 1 einen Krampf test.

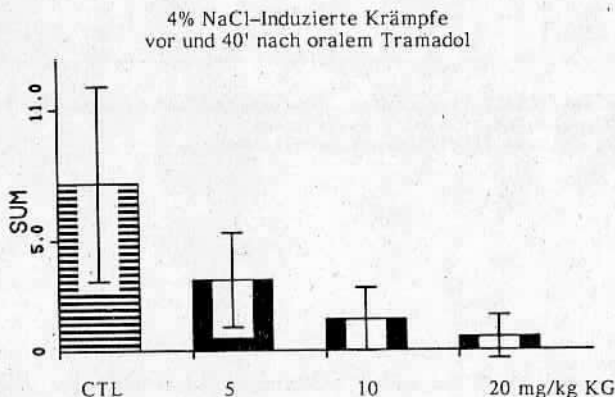


Abb.1: Dargestellt ist die Summe der Krämpfe.
Reizsubstanz: 4% intraperitoneales NaCl. Analgetikum: Tramadol oral.
CTL=Kontrolle (0.9% NaCl).



Derartige Versuche zeigten, dass sämtliche geprüften Analgetika in allen angewandten Applikationsarten (oral, intraperitoneal, subcutan) wirkten.

Buprenorphin und D16949 waren stark, Nalbuphin und Tramadol mässig, D9998 ziemlich schwach wirksam (s.Tab.1).

Tab. 1: Übersicht über die Ergebnisse der Akutversuche

SUBSTANCE	TEST	T	P.O.		S.C.		I.P.	
			DOS	p	DOS	p	DOS	p
TRAMADOL	NaCl	40'	5/10/20	.05-.025	5/10/20	.01-.005	2.5/5/10/20	.05-.0025
	NaCl	40'						
	ES	30'						
BUPRENO.	ES	135'	.05/.1/.2	.01-.002	.01/.015	.05/.01		
	NaCl	60'						
NALBUPHINE	NaCl	75'	5/10	.025/.05	1.25/2.5	.05/.025	1.25/2.5	.05/.025
	NaCl	60'						
	ES	60'						
D9998	NaCl	30'	40	.05	20	.05		
	ES	45'						
D16949	ES	60'	4	.005	.4/.8	.1/.05	.2	.1
	NaCl	45'						
	ES	35'						

NaCl=NaCl-Krampf test; ES=Elektroschmerz; T=Messzeit (Minuten nach Applikation);
P.O.= oral, S.C.=subcutan, I.P.=intraperitoneal;
DOS=Dosis (mg/kg KG), p= Zufalls-Wahrscheinlichkeit.

Die Analgetika wurden ferner in einem radförmigen Labyrinth (6)(s. Abb. 2) auf Verhaltenseffekte relativ zur analgetischen Wirksamkeit geprüft. Die Bewegungsaktivität der Tiere wird dabei während 90' automatisch registriert und anschliessend von einem Computer ausgewertet. Weiter wurden in Einzelfällen Messungen von EKG und Blutdruck vorgenommen. Abb. 3 zeigt Aktivitätsmessungen am Beispiel Tramadol.

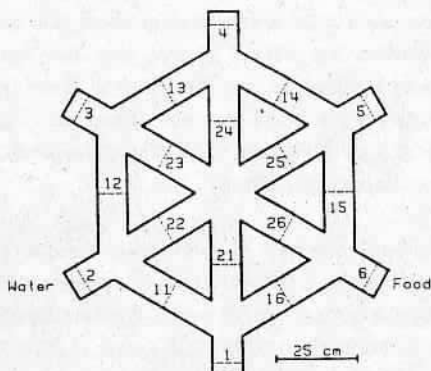


Abb. 2: Computerisiertes Labyrinth als Aktivitätsmonitor (Grundriss). Die numerierten Linien bezeichnen Lichtschranken, deren Unterbrechung als Messparameter dient.

TRAMADOL I.P.: LABYRINTHAKTIVITÄT VON RATTEN

—	SALINE	0.9	% i.p.
- - -	TRAMADOL	2.5	mg/kg KG i.p.
- - -	TRAMADOL	5	mg/kg KG i.p.
- - -	TRAMADOL	10	mg/kg KG i.p.
- - -	TRAMADOL	20	mg/kg KG i.p.

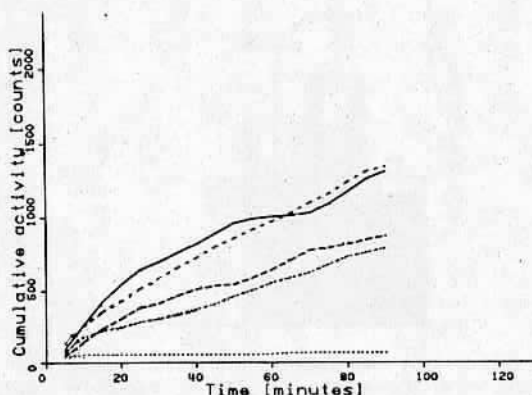


Abb. 3: Tramadol intraperitoneal an Ratten, kumulative Aktivität. Tiere höherer Dosierungen (10–20 mg/kg) sind gedämpft. Ferner treten ab 5 mg/kg deutliche Stereotypen auf (hier nicht erkennbar). EKG und Blutdruckwerte waren nicht wesentlich beeinflusst.

Drei der fünf Analgetika wurden auch in Dauerversuchen getestet, d.h. die Zufuhr erfolgte kontinuierlich während 2–6 Wochen. Bei Mäusen geschah dies über das Trinkwasser, bei Ratten dagegen über osmotische Minipumpen (16). Dies sind ca. 2 cm lange Kapseln, die unter die Nackenhaut implantiert werden und dort ein Arzneimittel während über zwei Wochen mit konstanter Rate (0.5 μ l/h) abgeben (16). Dieses Vorgehen erlaubt kleinere Dosen und dadurch verzögerte Toleranzentwicklung.

Während des Versuchs wurden mehrmals verschiedene Schmerztests angewandt. Abschliessend wurden die Tiere in das Labyrinth gesetzt, nachdem bei der Hälfte der Tiere an den Hinterfüssen Oedeme erzeugt worden waren. Als Beispiel für dieses Vorgehen dienen D16949 und Nalbuphin bei Mäusen und D16949 bei Ratten (Abb. 4,5).

P.O.NALBUPHIN UND D16949
VIA TRINKWASSER:
ANALGETISCHE WIRKUNG GEGEN ELEKTROSCHMERZ

- GROUP 1 : CONTROL
- GROUP 2 : D16949
- GROUP 3 : NALBUPHINE

TEST 12 DAYS AFTER START OF EXPERIMENT

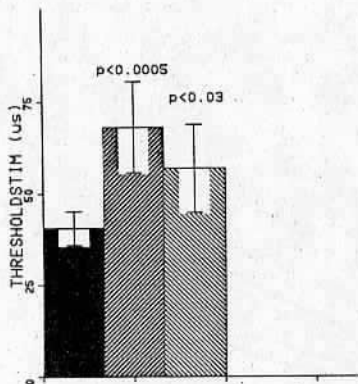


Abb. 4: Dargestellt sind D16949 und Nalbuphin im Elektroschmerztest 12 Tage nach Versuchsbeginn. Die Reizstärke ist in Mikrosekunden (μ s) Dauer eines konstanten Einzelreizes angegeben. p=Zufallswahrscheinlichkeit. Behandelte Tiere reagieren verzögert auf Schmerzreize.

D16949 :LOKOMOTORISCHE LABYRINTHAKTIVITÄT BEI RATTEN MIT UND OHNE OEDEMPFOTEN

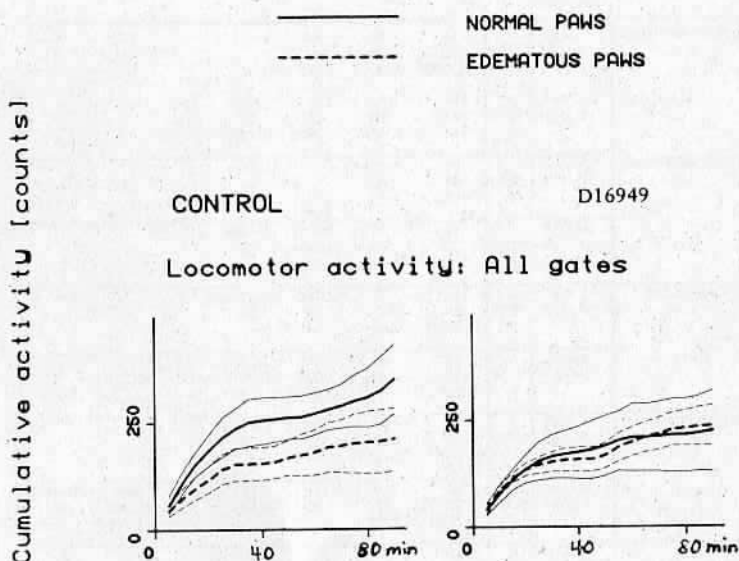


Abb. 5: D16949 subcutan. Dargestellt ist die kumulative Aktivität behandelter und unbehandelter Ratten, je mit und ohne Oedeme. Der Stoff wirkt deutlich dämpfend. Oedeme senken die Bewegungsaktivität bei der Kontrolle, nicht aber bei der Analgetikagruppe.

Analog zu diesem Beispiel verliefen die übrigen Dauerversuche. Ihre Ergebnisse sind in Tab. 2 zusammengestellt.

DISKUSSION

Tab. 2 zeigt, dass bei Mäusen alle drei getesteten Analgetika in den angewandten Dosierungen wochenlang eine befriedigende Schmerzlinderung erzeugen, wenn sie im Trinkwasser verabreicht werden. Abhängigkeit trat nur bei einer einzigen Maus der Nalbuphingruppe auf (Test nach 4 Wochen). Nur der Oedemtest lieferte bei Mäusen keine brauchbaren Ergebnisse, da selbst bei ödematösen Kontrolltieren die Bewegungsaktivität nicht reduziert war.



Tab. 2: Übersicht über die Ergebnisse der Dauerversuche

SUBSTANCE	SPECIES DOSE (mg/kg)	RESULTS							
BUPRENORPHINE p.o.	RAT 0.1/d	t TEST p	2d ES 0.025	4d ES 0.01	7d ES 0.025				
	p.o.	RAT 0.15/d	t TEST p	10d ES —	11d ES 0.025	14d ES 0.025	18d ES 0.005	21d ES 0.001	
BUPRENORPHINE s.c.	RAT 0.1/d	t TEST p	7d ES 0.05	10-15d OE —					
	p.o.	MOUSE 1.1/d	t TEST p	5d ES 0.005	12d ES 0.025	21d MgSO4 —	24-29d OE —		
ANPIRTOLINE s.c.	RAT 3.2/d	t TEST p	4d ES 0.0005	7d NaCl —	10d HP 0.01	12-17d OE —			
	p.o.	MOUSE 24/d	t TEST p	6d ES 0.025	7d HP —	12d ES 0.0005	21d MgSO4 0.005	25d ES —	42d MgSO4 0.001
NALBUPHINE s.c.	RAT 8.4/d	t TEST p	4d ES 0.001	7d NaCl 0.025	10d HP —	12-17d OE —			
	p.o.	MOUSE 50/d	t TEST p	6d ES 0.0025	7d HP 0.01	12d ES 0.03	21d MgSO4 0.001	25d ES —	42d MgSO4 0.001
ASPIRINE p.o.	RAT 64/d	t TEST p	5d ES —			11d NaCl 0.005	18d-26d OE 0.15		
	PHENYL BUTAZONE p.o.	RAT 22/d	t TEST p	5d ES —			11d NaCl —	18d-26d OE 0.15	

p.o.=orally (drinking water), s.c.=subcutaneously (Pumps); d=day; t=time of measurement; p=probability; ES=Electrostimulation; NaCl/MgSO4=Writhing Tests, HP=Hot-plate, OE=Edema Test.

Auch bei Ratten ist die Schmerzhemmung signifikant, aber nicht in allen Tests. Dies hat z.T. mit diesen selbst zu tun (Nalbuphin ist auf der Hot-plate nie nachweisbar), z.T. aber auch mit mangelnder Schmerzfremheit, so bei manchen Stoffen im Oedemtest. Die ödembedingte Bewegungshemmung konnte durch die Analgetikabehandlung nicht immer aufgehoben werden. Für solche entzündlichen Schmerzen wären peripher wirkende Stoffe geeigneter, wie Tests mit Aspirin und Phenylbutazon zeigten. Auch Opiode sind hier jedoch bei geeigneter Dosierung wirksam, so Tramadol, Nalbuphin und D16949.

Gesamthaft gesehen lassen sich besonders Nalbuphin, aber auch D16949, Tramadol und Buprenorphin durchaus für eine brauchbare Schmerzlinderung während einiger Wochen empfehlen. Die Dosierungen entsprechen jeweils Werten, die in Akutversuchen zu befriedigenden Resultaten geführt hatten. Es bleibt abzuklären, ob eine Senkung oder Steigerung der Dosis die Resultate verbessern würde.

Die gewählten Anwendungsarten (Trinkwasser bzw. Minipumpen) sind für Ratte und Maus praktikabel und können natürlich auch bei anderen Arten angewandt werden. Die Wahl wird von Aufwand und benötigter Wirkdauer abhängen. Bei der Trinkwasserapplikation ist die Medikamentenmenge limitierend. Oral wirken nämlich viele Analgetika wesentlich schwächer als subcutan. Dazu kommt, dass die Zufuhr schubweise erfolgt, nämlich entsprechend dem Trinkverhalten der behandelten Art. Hier können durch die kurze Wirkdauer der meisten Analgetika Probleme entstehen. Eine konstante Medikation (Osmopumpen) ist daher prinzipiell günstiger, da die Schmerzhemmung während der Ruhephase nicht abnimmt. Dabei sind jedoch die Versuchsdauer und die Konzentrierbarkeit der Medikamentenlösung limitierend. Der hier benutzte Pumpentyp funktioniert maximal 2 Wochen lang, andere Typen bis 4 Wochen. Die Kleinheit des Reservoirs erfordert daher hochwirksame, gut lösliche Stoffe, um bei der geringen Abgaberate einen genügend hohen Wirkstoffspiegel zu erreichen.

Natürlich sind auch andere Arten der Pharmakazufuhr möglich, z.B. durch wiederholte Injektionen oder durch Selbstzufuhr via Futter. Injektionen sind jedoch mit beträchtlichem Behandlungsstress verbunden, und die Verteilung eines Stoffs im Futter ist weniger homogen als im Wasser, ganz abgesehen von Verarbeitungsproblemen.

Viele Analgetika scheiden von vornherein für die gestellte Aufgabe aus, weil sie bei Dauerapplikation rasch zu Toleranz (d.h. Wirkungsabschwächung) und Sucht führen würden. Dazu kämen weitere massive Nebenwirkungen. Die vorgestellten Pharmaka sind diesbezüglich viel besser, doch treten auch bei ihnen unerwünschte Effekte psychischer und physiologischer Natur auf.

Natürlich wird man daher die Schmerzlinderung bei Versuchstieren stets in gewissem Sinne erkaufen müssen. Aber es sei nochmals daran erinnert, dass auch Schmerz und der damit verbundene Stress starke physiologische Effekte erzeugen, welche die Versuchsergebnisse beeinflussen können – und dies, im Unterschied zu den bekannten Nebenwirkungen der genannten Analgetika, auf quantitativ und qualitativ undurchschaubare Weise. Daher sollte eine Schmerzbekämpfung auf jeden Fall versucht werden, wo immer der Versuchszweck dies zulässt.

LITERATUR

- 1 ANKIER, S.J. (1974): New hot plate tests to quantify antinociceptive and narcotic antagonist activities. *European J. Pharmacol.* **27**, 1–4.
- 2 D16949 (1985): Vorläufiges präklinisches Exposé (Vertraulich).



- 3 BAUMBERGER, A. (1983): Schmerzbe­kämpfung beim Tier: Ein Bericht über die praktische Anwendung von Analgetika bei Versuchstieren. Schweiz. Archiv Tierheil­kunde 125, 17-29.
- 4 BRUNE, K. (1983): Analgetika, Antiphlogistika, Antirheumatika. In: "Lehrbuch der allgemeinen und systematischen Pharmakologie und Toxikologie", by C.J. Estler. Schattauer, Stuttgart.
- 5 COLLIER, H.O.J., WARNER, B.T., SKERRY, R. (1961): Multiple toe-pinch method for testing analgesic drugs. British J. Pharmacol. 17, 28-40.
- 6 ELSNER, J. (1986): Testing strategies in behavioural teratology: III. Microanalysis of behavior. Neurobehav. Toxicol. Teratol. 8, 573-584.
- 7 FLECKNELL, P.A. (1985): Recognition and alleviation of pain in animals. In: "Advances in Animal Welfare Science 1985/86", by M.W. Fox, et al.. The Humane Society of the US, Washington D.C..
- 8 FRIDERICH, E., FELGENHAUER, F., JONGSCHAAP, P., OSTERLOH, G. (1978): Pharmakologische Untersuchungen zur Analgesie, Abhängigkeits- und Toleranzentwicklung von Tramadol, einem stark wirkenden Analgetikum. Arzneimittelforsch. 28(I).
- 9 FUKAWA, K., KAWANO, O., HIBI, M., MISAKI, N., OHBA, S., HATANAKA, Y. (1980): A method for evaluating analgesic agents in rats. J. Pharmacol. Methods 4, 251-259.
- 10 HEEL, R.C., BROGDEN, R.N., SPEIGHT, T.M., AVERY, G.S. (1979): Buprenorphine: A review of its pharmacological properties and therapeutic efficacy. Drugs 17 : S. 81-110.
- 11 JAFFE, J.H. & MARTIN, W.R. (1980): Opioid analgesics and antagonists. In: "The Pharmaceutical Basis of Therapeutics", by Goodman & Gilman. 6th ed., Macmillan Publishing Co., New York..
- 12 D9998 (1980): Untersuchungen zur pharmakologischen Wirkung. Präklinisches Exposé (Vertraulich). Frankfurt.
- 13 JURNA, I. (1984): Pain-depressing agents and the spinal nociceptive system. Arzneimittelforsch. 34(II)/9a: 1084-1088.
- 14 NEIL, A. & TERENIUS, L. (1982): An improved foot-shock titration procedure in rats for centrally acting analgesics. Acta Pharmacol. Toxicol. 50: 93-99.
- 15 SCHMIDT, W.K., TAM, S.W., SHOTZBERGER, G.S., SMITH, D.H., CLARK, R., VERNIER, V.G. (1985): Nalbuphine. Drug Alcohol Depend. 14, 339-362.
- 16 THEEUWES, F. & YUM, S.I. (1976): Principles of the design and operation of generic osmotic pumps for the delivery of semisolid or liquid formulations. Ann. Biomed. Engineer. 4(4), 343-353.
- 17 WINTER, C.A. & FLATAKER, L. (1965): Reaction thresholds to pressure in edematous hindpaws of rats and responses to analgesic drugs. J. Pharmacol. Exp. Therapeut. 150, 165-171.
- 18 YOXALL, A.T. (1978): Pain in small animals - its recognition and control. Small Animal Pract. 19, 423-438.