



De vinger op de zere plek: pijnbestrijding in diermodellen

Leonie van Rijt

Leonie van Rijt, e-mail Ls@amsterdamumc.nl

In navolging op het eerste goedbezochte Harry Blom-beraad, organiseerden het NCad en het IvD Platform het tweede Harry Blom-beraad op donderdag 17 oktober jl. in Utrecht. Dit beraad is in het leven geroepen om op een laagdrempelige wijze kennis en ervaringen uit te wisselen over dierenwelzijn bij dieren die gebruikt worden in onderzoek. Het beraad is vernoemd naar de in 2018 overleden proefdierdeskundige Harry Blom, die het talent had om op een pragmatische wijze, rekening houdend met de praktijk, het welzijn van proefdieren te verbeteren.

Prof. dr. Coenraad Hendriksen heette namens het NCad en het IvD Platform meer dan 100 IvD leden, biotechnici, research analisten, onderzoekers, dierenartsen, directeuren van proefdierlaboratoria en andere geïnteresseerden van harte welkom om deze middag te besteden aan wat er nog verbeterd kan worden in het gebruik van pijnstilling in diermodellen.

In Nederland wordt pijnstilling bij proefdieren algemeen toegepast bij verwachte pijn. Tijdens deze middag worden ervaringen en visies uitgewisseld over pijnstilling. Niet alleen over pijnstilling bij acute pijn, zoals na een invasieve ingreep of bijtewonden, maar ook over het herkennen en bestrijden van minder acute pijn zoals chronische pijn, napijn van een ingreep of andere pijn na een niet-invasieve handeling.

Cindy Kunne en Norbert Stockhofe van het IvD Platform openden deze middag door kort te inventariseren welke beroepsgroepen vertegenwoordigd waren, of deze mensen zelf de beslissing konden nemen over pijnstilling tijdens een experiment of dat deze eerst moeten overleggen met anderen, zoals onderzoekers. Ook werd er gepeild of mensen zichzelf of hun collega's in staat achtten om pijn bij dieren te herkennen en of de inschatting anders is bij prooidieren, vissen, grote dieren of wilde dieren. Uit de inventarisatie bleek verder dat onderzoekers vaak zorgen hebben dat de pijnstilling een effect kan hebben op hun onderzoeksresultaten maar dat er minder aandacht is welk effect pijn kan hebben op bijvoorbeeld het immuunsysteem.

»

Drie experts presenteerden hun visie en bevindingen over pijnbestrijding bij proefdieren. Wat is er nodig om pijnbestrijding nog verder te verbeteren?

Wat is pijn

Janneke Allaart is werkzaam als veterinaris bij de faculteit Diergeneeskunde van de Universiteit Utrecht. Janneke begint haar lezing met een definitie van pijn. *“Een onplezierige sensorische en/of emotionele ervaring die in verband wordt gebracht met actuele of potentiële weefselbeschadiging, of in dergelijke termen wordt beschreven.”* Het gaat om een ervaring, waardoor pijn subjectief is. Proefdieren zijn voor de pijn die zij (zullen) ondergaan afhankelijk van de pijninschatting door mensen.

Hier legt ze meteen de vinger op één van de zere plekken bij de toepassing van een adequate pijnbestrijding bij proefdieren. Het dier kan immers zelf niet aangeven of het pijn ervaart en in welke mate. Het analogie principe gaat daarom uit van de pijnervaring van mensen bij een soortgelijke weefselbeschadiging. Als iets bij mensen pijn doet, zal dit bij dieren ook zo zijn. Bij dieren waarbij vermoed wordt dat ze op een andere wijze pijn ervaren (zoals bijvoorbeeld bij vissen) wordt gebruik gemaakt van het “voorzorgsprincipe”. Indien er geen overtuigend bewijs is dat een ingreep geen pijn veroorzaakt, moet ervan uitgegaan worden dat er wel pijn is. Er zijn verschillende objectieve parameters om de symptomen van pijn te kunnen herkennen bij dieren. Te denken valt aan klinische verschijnselen (zoals hartslag en ademhaling), de houding (bolle rug/ingetrokken buik), veranderingen in gedrag (sloom, likken of juist rusteloos) en de grimace scale.

In sommige diermodellen is het hebben van pijn noodzakelijk voor het onderzoek. Er kan hierbij gedacht worden aan kortdurende pijn voor conditionering in gedragsonderzoek. Of onderzoek naar het effect van pijnstillers op pijn. In sommige gevallen is er zo weinig pijn dat het niet nodig is om pijnbestrijding te geven. Ook kan pijnstilling de onderzoeksresultaten beïnvloeden en daardoor de vergelijkbaarheid met andere studies (zonder pijnstilling) in gevaar brengen. Maar is het wel duidelijk wat het effect van pijnstilling op onderzoeksresultaten kan zijn? Heeft het hebben van pijn ook geen effect op de onderzoeksresultaten?

Pijn bij proefdieren zou geheel voorkomen moeten worden tenzij het echt niet anders kan. Bij pre- en postoperatieve pijnbestrijding moet er rekening gehouden worden met de inwerktijd van pijnstillers en ook dat ze na een bepaalde tijd weer zijn uitgewerkt. Pijnprikkels belanden via perifere receptoren, het ruggenmerg en de subcorticale hersenen bij de hersenschors, waar bewustzijn van pijn optreedt. Op al deze vier niveaus kan pijn geremd worden. Bij remming op meerdere niveaus is de kans op het ervaren van pijn kleiner dan wanneer pijn slechts op één niveau geremd wordt. Janneke benadrukt dat niet één pijnstiller pijn op alle niveaus kan remmen. Een multimodale pijnstilling waarbij verschillende middelen gecombineerd worden is daarom te prefereren. Multimodale pijnstilling maakt het ook mogelijk om afzonderlijke pijnstillers lager te doseren, waardoor overdosering voorkomen kan worden en bijwerkingen verminderd worden. Bijwerkingen van bijvoorbeeld NSAID's (Niet-Steroidale Anti Inflammatoire Drugs) zijn nierschade, maagdarmschade en effecten op het immuunsysteem. Een plasmawaarde van de concentratie pijnstiller is ook niet alleszeggend. Welke concentratie is effectief bij welke aandoening? Er is daarom behoefte aan meer kennis over effectieve concentraties pijnstilling en over de interactie tussen verschillende middelen. Zo kan pijnstilling geoptimaliseerd worden en kunnen ongewenste bijwerkingen voorkomen of beperkt worden. Janneke sluit af met de wens dat hier meer informatie over beschikbaar komt.



Pijnstilling via drinkwater

Bea Zoer is jarenlang onderzoekster geweest en heeft daarna bij verschillende IvD's gewerkt. Bij het NKI is er een pijnbestrijdingsprotocol ontwikkeld. In een kruistabel kan afgelezen worden bij welk type pijn of ingreep er voor welk type pijnstillers gekozen kan worden. Bea plaatst hierbij wel de kanttekening dat een plasmawaarde niet automatisch aangeeft dat de pijnstilling ook adequaat is. Dieren moeten altijd goed geobserveerd worden als er pijn verwacht wordt. Er kan dan gelet worden op o.a. (wroet- en/of nest-) gedrag en de grimace scale bij muizen.

Bij het NKI wordt de krachtige, niet-steroïde ontstekingsremmer Carprofen veel gebruikt. Tot op heden werd dit altijd gedaan middels injecties. Bea heeft samen met Roel Sneepers (NKI) onderzocht of deze pijnstiller via het drinkwater kon worden toegediend in plaats van de standaard toegepaste éénmaal daagse subcutane injectie. De plasmawaarden van Carprofen bij C57Bl/6 muizen werden na toediening via het drinkwater vergeleken met de toediening via één of twee subcutane injecties per dag. Daarbij is ook gekeken naar de oplosbaarheid van de Carprofen in drinkwater. Carprofen slaat in het standaard gebruikte aangezuurd drinkwater neer, daarom werd niet-aangezuurd drinkwater gebruikt. Het is dan minstens een week stabiel. In deze studie bleek dat één subcutane injectie per dag niet afdoende is. De halfwaardetijd van Carprofen in C57Bl/6 muizen bleek 9 uur te zijn. Carprofen via het drinkwater gaf een vergelijkbare plasmawaarde in vergelijking met toediening via twee subcutane injecties per dag, maar de plasmawaarden bleven veel stabiel over de tijd. De muizen dronken niet minder van drinkwater met Carprofen in vergelijking met normaal drinkwater. In andere gevallen kan namelijk de injectievloeistof waarin het geneesmiddel wordt aangeleverd de smaak van het drinkwater onaangenaam maken, waardoor de muizen minder drinken. Een apotheker en/of dierenarts kan adviseren of het geneesmiddel in een andere formulering te bestellen is. Bea maakte de aantekening dat de studie is uitgevoerd in muizen zonder pijn. Bij toepassing van pijnstilling via het drinkwater moet altijd goed gemonitord worden of muizen »

wel voldoende drinken. Vanuit het publiek kwam de opmerking dat bij operaties aan de ribbenkast muizen soms een dag niet drinken. Men moet er op bedacht zijn dat niet-eten en -drinken een gevolg kan zijn van pijn. Deze muizen zouden dan geen pijnstilling binnen krijgen. Als Carprofen via het drinkwater niet geschikt is, zou twee maal per dag een subcutane injectie gegeven kunnen worden.

Er zijn ook nog andere hindernissen waar rekening mee gehouden moet worden. In groeps-huisvesting krijgen alle muizen Carprofen. In sommige gevallen is het niet verenigbaar met het experiment dat alle dieren in een kooi pijnstilling krijgen. In andere gevallen zou pijnstilling in het water slecht compatibel zijn met het toedienen van andere medicatie via het drinkwater. Bij een combinatie van medicatie via het drinkwater is het daarom aan te raden om advies in te winnen bij een apotheker of een chemicus over mogelijke (chemische) interacties. Niet alle pijnstilling kan via het drinkwater gegeven worden. Buprenorfine wordt bijvoorbeeld slecht opgenomen via het maagdarmkanaal en kan beter geïnjecteerd worden. Uit het publiek werd nog gerefereerd naar onderzoek naar "self-administration" waarbij dieren de keus hebben om normaal drinkwater te nemen of water met pijnstilling. Hieruit bleek dat dieren met pijn meer drinkwater met pijnstilling dronken.

Pijn in mens en muis

Niels Eijkelkamp (universitair hoofddocent) van het UMC Utrecht doet onderzoek naar de onderliggende mechanismen van (chronische) pijn en ontsteking. Hij begint met een treffend voorbeeld over de ontwikkeling van het bewustzijn van pijnbeleving bij mens en dier. Tot in de jaren '80 werd bijvoorbeeld nog gedacht dat baby's geen pijnbeleving zouden hebben. In die tijd stierf een baby die werd geopereerd aan een liesbreuk zonder pijnstilling door tachycardie. Vanuit het publiek komt de opmerking dat ook bij vissen (nog) wordt aangenomen dat zij een andere (verminderde) pijnbeleving hebben vergeleken met zoogdieren, terwijl zij duidelijk reageren op weefselschade.

Hij benadrukt dat pijn bij proefdieren niet altijd zichtbaar is. De veel aangehaalde grimace scale bij muizen is bij neuropathische pijn niet bruikbaar omdat er geen verandering in gezichtsuitdrukking optreedt. Ook bij langdurige pijn en bij plotselinge verergering van pijn worden gezichtsuitdrukkingen onderdrukt. Hoe kan pijn dan herkend worden? Veel pijnonderzoek maakt gebruik van responsen op koude, warmte of een mechanische stimulus. Dit is een maat voor de gevoeligheid, maar is dit wel echt een maat voor pijn? Andere methoden die worden gebruikt zijn bijvoorbeeld de testen gebaseerd op "conditioned place preference (CPP)". In deze test wordt een pijnstillertoegevend in één herkenbare ruimte van de kooi. Als het dier pijn had zal de pijnstilling als een positieve beloning werken (denk aan de Pavlov reactie) en zal het dier de voorkeur krijgen om in dat gedeelte te verblijven. Echter deze methoden zijn zeer bewerkelijk en volstaan niet om in de dagelijks praktijk pijn goed te kwantificeren dan wel te identificeren.

Niels benadrukt in zijn lezing dat het type pijnbestrijding afgestemd moet zijn op het type pijn dat onderdrukt moet worden. Zo zijn NSAID's en opioïden voornamelijk effectief bij acute pijn maar niet bij chronische pijn. Er is geen goede medicatie voor chronische pijn beschikbaar. Interessant is in deze context ook de effectiviteitscijfers van veelgebruikte pijnstillers bij mensen. Ibuprofen is "maar" voor 50% effectief in het onderdrukken van pijn en dan ook nog "maar" in 50% van de patiënten. Het is dus een misvatting om ervan uit te gaan dat het geven van pijnbestrijding alle pijn zal wegnemen. Niels bepleit dat pijnbestrijding op maat gegeven zou moeten worden bij proefdieren. Verschillen in sekse, stammen en leeftijd kunnen invloed hebben op de pijnbeleving. Dit illustreert hij grappig door de pijnbeleving van humane mannen aan te halen en dit te vergelijken met vrouwen. Kennis over verschillen in pijnbeleving

ontbreekt nog grotendeels. Hier is meer onderzoek voor nodig. Uit het publiek komt de vraag of er wat gedaan kan worden om pijn te voorkomen. Niels geeft aan dat de context waarin een dier een handeling ondergaat, ook invloed kan hebben op de mate waarin een dier pijn ervaart. Zo kan solitaire huisvesting negatief bijdragen aan de pijnbeleving tijdens een behandeling, terwijl terugkeer in de eigen kooi na een ingreep waarin het dier zo min mogelijk wordt verstoord tijdens het herstel juist positief kan bijdragen.

Stellingen

De middag wordt afgesloten met een aantal stellingen die discussies opwekken in het publiek. Het wordt duidelijk dat pijnherkenning vooral veel tijd en training kost. Het dier moet geobserveerd worden op afwijkend gedrag. Om dit te kunnen herkennen moet de observator dit kunnen scheiden van het "normale" gedrag. Diervverzorgers zijn waarschijnlijk veel beter in staat om dit onderscheid te kunnen maken dan onderzoekers, omdat zij de dieren elke dag zien en niet alleen tijdens handelingen.

Een nadeel van pijnherkenning door observatie is dat veel proefdieren als prooi- of vluchtdier niet snel zullen laten zien dat ze pijn hebben. Hierdoor wordt zelfs zichtbare pijn waarschijnlijk ook nog eens onderschat.

Een illustratief voorbeeld waarbij aangenomen wordt dat er geen pijn ervaren wordt, betreft het knippen van tenen voor identificatie en genotypering bij muizenpups. Doordat de neurologische banen nog niet goed zijn aangelegd wordt aangenomen dat pups nog geen pijnbeleving hebben. Een systematic review over dit onderwerp kon echter geen uitsluitel geven over deze aanname. De reflexen zouden getest kunnen worden met een "Von Frey Hair" methode waarbij onderzocht wordt wanneer een dier reageert op een pijnlijke stimulus. Het verliezen van gewicht is een veel gebruikt kenmerk om pijn of een verminderd welzijn te herkennen. De vraag is of dit alleen een resultaat is van pijn. Gewichtsverlies kan ook het resultaat zijn van "ziektedrag" en dan zal pijnstilling niet de geschikte oplossing zijn. Om de juiste aanpak te kunnen kiezen moet pijn goed herkend kunnen worden. Pathologie kan hierbij helpen om verbanden te leggen tussen pijn en de mogelijke weefselschade.

Conclusie

Na deze middag komen we tot de slotsom dat we nog niet alles weten van pijnbestrijding en ook niet van pijnherkenning. De IvD's zouden graag een beter advies willen geven over het juist wel of niet toepassen van pijnbestrijding en de gekozen vorm(en). Er is behoefte aan het uitwisselen van zowel positieve als negatieve ervaringen met pijnbestrijding in proefdieren. Een aantal aanwezigen zou graag harmonisatie willen binnen de Nederlandse instellingen met een pijnbestrijdingsprotocol, maar alleen als er voldoende ruimte blijft om pijnbestrijding op maat te kunnen geven. Omdat het onduidelijk is waar je met je vragen over pijn en pijnbestrijding terecht kan, zullen de Aangewezen Dierenartsen (art. 14 WoD) in hun volgende vergadering dit punt oppakken. Tot die tijd geldt: weet je het niet? Raadpleeg je Aangewezen Dierenarts en vraag hem/haar dit via zijn netwerk verder te bespreken!

Wil je meer lezen over dit onderwerp?

Matsumiya LC, Sorge RE, Sotocinal SG, Tabaka JM, Wieskopf JS, Zaloum A, King OD, Mogil JS. "Using the Mouse Grimace Scale to reevaluate the efficacy of postoperative analgesics in laboratory mice." **J Am Assoc Lab Anim Sci.** 2012 Jan;**51(1):42-9.**

Wever KE, Geessink FJ, Brouwer MAE, Tillema A, Ritskes-Hoitinga M *et al.*, "A systematic review of discomfort due to toe or ear clipping in laboratory rodents." **Lab Anim.** 2017;**51(6):583-600.**

Tappe-Theodor A, King T, Morgan MM. "Pros and Cons of Clinically Relevant Methods to Assess Pain in Rodents." **Neuroscience & Biobehavioral Reviews.** 2019, p335-343.

<<