

Pre- en postoperatieve pijnmedicatie in het chronisch neuropatisch pijnmodel bij de rat

W.A. van den Brink, F.M. van de Pol, T.P.H. Rouwette, K.C.P. Vissers
Afdeling Anesthesiologie, Pijn en Palliatieve zorg, UMC St Radboud

Inleiding

Chronische neuropatische pijn is een groot maatschappelijk probleem dat steeds vaker voor komt. Deze ontstaat door een afwijking aan het centrale of perifere zenuwstelsel. Deze afwijking kan op verschillende manieren ontstaan, bijvoorbeeld als gevolg van een operatie of chemokuur. Ook patiënten met lage rugklachten en diabetes kunnen er last van krijgen. Naar schatting lijden 1-3 miljoen Nederlanders aan een vorm van neuropatische pijn en jaarlijks komen hier 6-8000 nieuwe patiënten bij. Patiënten met chronische neuropatische pijn zijn vaak niet in staat om te werken en hebben last van depressies, angststoornissen en/of slaapproblemen. De huidige behandelmethode werken niet bij alle patiënten met neuropatische pijn of zorgen voor vervelende bij-effecten. Dit maakt onderzoek naar de precieze werking van het neuropatische pijnmechanisme en het ontwikkelen van gerichte medicatie noodzakelijk.

Wereldwijd wordt er naar verschillende pijnsoorten onderzoek gedaan. In 1988 is een artikel gepubliceerd waarin een neuropatisch pijnmodel werd geïntroduceerd bij ratten (1). Hier wordt door middel van een operatie de nervus ischiadicus van de linker achterpoot geligeerd en ontstaat een constructieve beschadiging van deze zenuw. Het model wordt daarom ook wel het chronic constriction injury (CCI)-model genoemd. Een CCI-operatie bij ratten leidt tot pijngedrag dat overeenkomt met het gedrag van patiënten met neuropatische pijn. Hierbij horen specifieke kenmerken als allodynie (pijn bij normaal niet pijnlijke stimuli) of hyperalgesie (verhoogde gevoeligheid voor pijnstimuli).

De onderzoeksgroep van de afdeling Anesthesiologie, Pijn en Palliatieve zorg van het UMC St Radboud is in 2005 onderzoek gestart naar de oorzaak en bestrijding van neuropatische pijn en maakt hierbij gebruik van het hierboven beschreven CCI-model.

Studie

Als onderdeel van een groot experiment naar de farmacologische validatie van het CCI-model hebben we specifiek gekeken naar het welzijn van de ratten, en naar de mogelijkheid van het gebruik van pre- en post-operatieve pijnstilling om het ongerief van de dieren tijdens en na de operatie te verminderen. In dit artikel beperken we ons tot het effect van de operatieve pijnstilling en het welzijn van de ratten. »

In totaal zijn er 120 ratten gebruikt, verdeeld over drie groepen:

Groep	Met pijnstilling	Zonder pijnstilling
CCI-operatie (94 ratten)	53 ratten	41 ratten
Sham-operatie (13 ratten)	6 ratten	7 ratten
Niet geopereerd (13 ratten)	-	13 ratten

De sham-geopereerde ratten hebben bijna dezelfde operatie gehad als de CCI-geopereerde ratten. De nervus ischiadicus is bij deze dieren wel blootgelegd, maar niet geligeerd. Deze groep dient als geopereerde controlegroep. Hierbij dient opgemerkt te worden dat we als controle niet het niet-geopereerde pootje van de CCI-ratten hebben gebruikt, aangezien een unilaterale operatie ook bilateraal effect zou kunnen hebben. Om uit te sluiten dat de operatie of de pijnstilling van invloed is op de metingen worden er ook niet-geopereerde dieren gemeten.

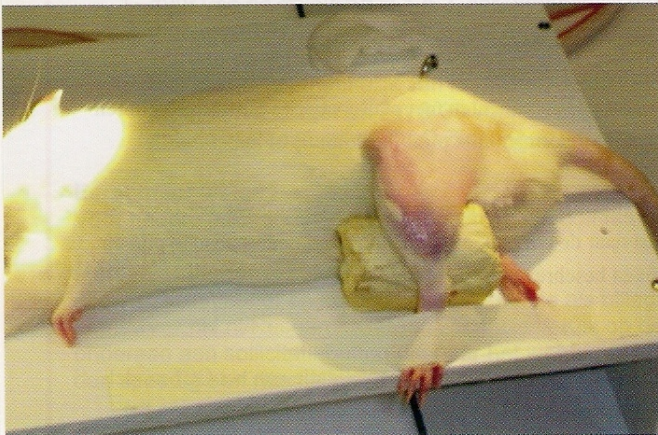
Materiaal en Methode

Dieren en huisvesting

Deze studie is uitgevoerd met Sprague-Dawley (SD) ratten van Harlan Frankrijk (gewicht 220-250 gram bij de start van het experiment). De ratten zijn per twee gehuisvest in een verhoogde macrolon bak type II met kooiverrijking (retreats) van techniplast en cold flakes bedding van SPPS. In de huisvestingsruimte van de mannelijke CCI-ratten worden geen vrouwtjes gehuisvest, omdat dit te veel onrust veroorzaakt, wat de ontwikkeling van de neuropathie kan tegenhouden. Voer en water zijn ad libitum aanwezig. De ratten komen een week voor de start van het experiment binnen om te acclimatiseren. Vanaf binnenkomst worden zij meteen op sojavrij voer (SNIFF) gezet. In eerder gepubliceerde artikelen is bewezen dat voeren mét soja de ontwikkeling van neuropathie in ratten tegenhoudt (2,3). De dieren zijn gehuisvest in een kamer met een 12 uur licht- en donker cyclus, waarbij tijdens de lichtperiode er zachtjes een radio aanstaat. De kooien worden een keer per week verschoond.

CCI-operatie

De operatieprocedure wordt uitgevoerd met behulp van een operatiemicroscop (Leica –MC-1, Heerburgg Swiss, max. vergrotingsbereik: 13,5). De ratten worden onder anesthesie gebracht



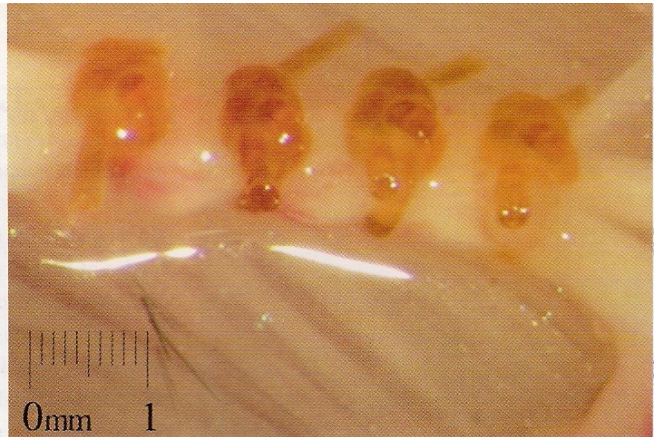
Afbeelding 1. Rat is onder anesthesie en ligt klaar voor de CCI-/sham-operatie op de rechterzijde met de linkerpoot geschoren en gedesinfecteerd.

door middel van isofluraan. Dit anestheticum wordt toegediend in combinatie met 2 liter N₂O en 650 ml zuurstof (FiO₂ ratio 46 %). Ter bescherming van de ogen wordt oculentum oogzalf gebruikt. Omdat de ischiadicus van de linkerpoot wordt geligeerd, wordt de rat op de rechterzijde gepositioneerd (Afb. 1). Vervolgens wordt de linkerpoot geschoren en ontsmet met 70% alcohol en jodium. De rat wordt verticaal op de operatietafel gelegd en de linkerpoot door middel van een rol gazen verhoogd. Hierna wordt de huid geopend door een verticale incisie in het midden van de dij ter hoogte van het heupbot te maken. De nervus ischiadicus wordt blootgelegd door met een scherpe schaar door de biceps femoris te

Afbeelding 2. Ischiadicus met vier chromic catgut 5/0 ligaturen.

klieven. Met twee wondhaken wordt de biceps opengehouden zodat de ischiadicus zichtbaar blijft. Proximaal van de trifurcatie wordt voorzichtig al het omliggende weefsel (vet en vliezen) losgemaakt van de nervus ischiadicus, zodat deze volkomen vrij komt te liggen.

Met chromic catgut 5/0 worden vier ligaturen met een platte knoop om de ischiadicus gelegd (Afb. 2). Belangrijk hierbij is de kracht die gebruikt wordt om de knopen te leggen. Zitten deze te strak, dan zal de rat autotomie vertonen (zelf zijn poot beschadigen). Zitten ze te los, dan zal de rat geen neuropathie ontwikkelen. Het is verder van belang dat de bloeddoodstroming van de zenuw intact blijft. Na het aanbrengen van de ligaturen wordt de spier gesloten met een doorlopende hechting met vicryl 5/0 en de huid met agraves.



Pre- en post-operatieve pijnstilling

De groepen met pijnstilling krijgen een half uur voor operatie en 24 en 48 uur na operatie subcutaan carprofen (Rimadyl; 0,1 mg per kg lichaamsgewicht) ingespoten. De groepen zonder pijnstilling krijgen subcutaan een placebo (fysiologisch zout) toegediend. Carprofen is een COX-2 selectieve NSAID, een ontstekingsremmend geneesmiddel dat zowel een pijnstillend als koortsverlagend effect heeft. We hebben hiervoor gekozen als post-operatieve pijnstilling, omdat carprofen in ons laboratorium een veel gebruikte pijnstillert is (bij standaardprotocollen bij lichte chirurgische ingrepen) en daar goed zijn werk doet.

Nazorg/welzijnscontrole

Tot tien dagen na de operatie worden de ratten individueel gescoord op activiteit, conditie van de vacht, herstel van de wond en beschadigingen van de (geopereerde) poot, ofwel het aanvreten hiervan (autotomie). Ook worden de ratten dagelijks gewogen. Tien dagen na operatie worden de agraves verwijderd. Omdat het beoordelen van de ratten per persoon kan verschillen, zijn het steeds dezelfde mensen geweest die de ratten scoorden. Voor het scoren hebben we gebruik gemaakt van simpele scoringstekens; + = goed +/- = minder - = slecht, met ruimte voor aantekeningen over de eventuele autotomie en andere abnormale bevindingen over punten waar extra op gelet moet worden. Ratten met ernstig ongerief worden vroegtijdig uit het experiment gehaald.

Cold plate

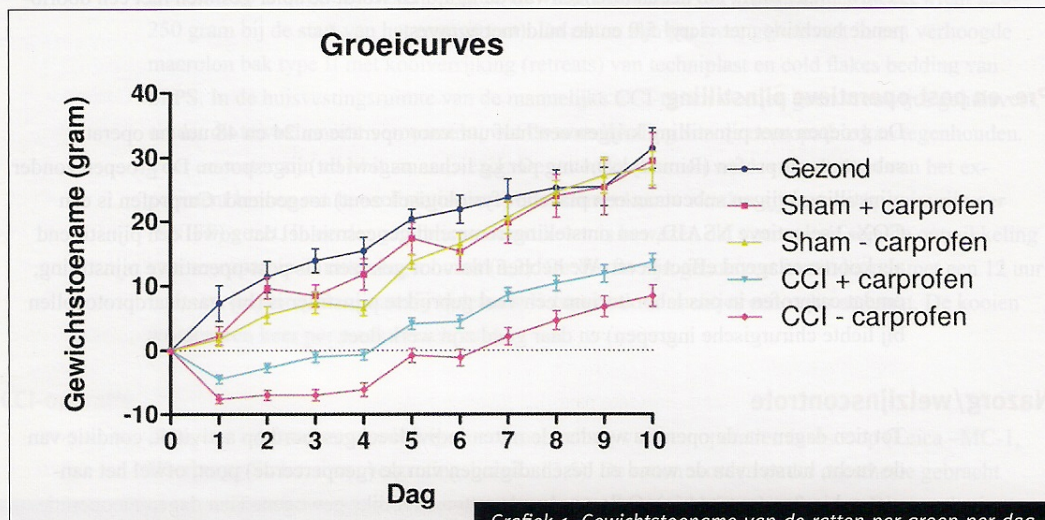
Om te kijken of de ratten neuropatisch gedrag vertonen, wordt gekeken naar thermische allodynie (temperatuurgevoeligheid) met behulp van een cold plate (Ugo Basile, Italië), een koude plaat van 0-2 graden. Ratten die neuropatisch zijn geworden, zullen deze temperatuur als pijnlijk ervaren in hun geopereerde poot en daardoor deze poot op gaan tillen (Afb.3). Dit maakt de cold plate test een goede test om het pijngedrag van de ratten te onderzoeken. Gedurende vijf minuten wordt gekeken naar het totaal aantal seconden dat een rat zijn geopereerde pootje optilt. Normaliter zal een rat op een koude plaat zijn pootje niet optillen als hij geen pijn voelt. Als »



Afbeelding 3. Rat op coldplate van nul graden met de linkerachterpoot in een typische liftpositie. Toevallig is de linkervoerpoot ook gelift. Het dier vertoont normaal exploratief gedrag.

een rat gedurende deze vijf minuten zijn pootje in totaliteit 20 seconden of langer optilt, beschouwen we hem als dier met neuropathische gedragskenmerken. Deze meting is uitgevoerd op de zevende dag na de operatie, waarop de neuropathie, indien de CCI-operatie geslaagd is, ontwikkeld zal zijn. Op basis van deze scores wordt het percentage ratten dat neuropatisch is geworden bepaald.

Om de ratten vertrouwd te laten worden met de meetomgeving, worden ze in de habituatieweek twee keer tien minuten op de cold plate gezet zonder dat hij aanstaat. Enkele dagen voor de operatie krijgen ze een premeting om uit te sluiten dat ze niet voor de operatie al reageren.



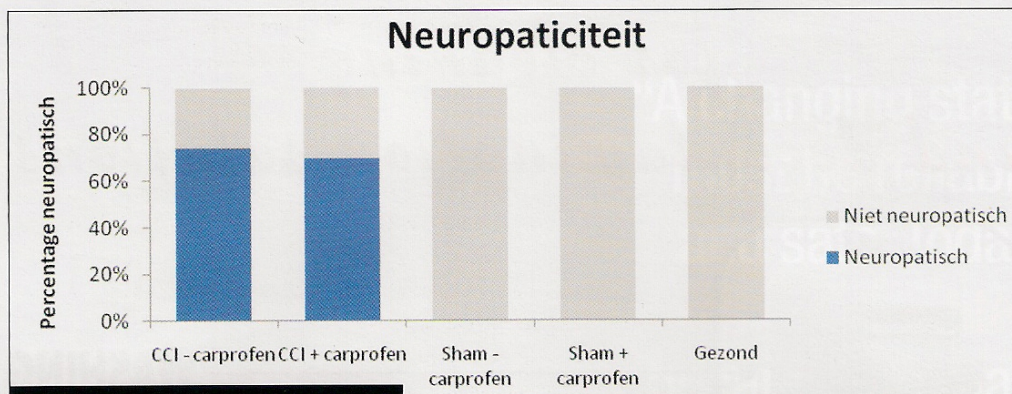
Grafiek 1. Gewichtstoename van de ratten per groep per dag.

Resultaten

In Grafiek 1 zijn de gewichten van de verschillende groepen ratten voor en na de operatie te zien. CCI-geopereerde ratten nemen na de operatie iets af in gewicht. Deze gewichtsafname is sterker in ratten die geen pijnstilling hebben gekregen. Ratten met pijnstilling zijn ook eerder weer op hun oude gewicht dan ratten zonder pijnstilling. Gezonde ratten en sham-geopereerde ratten vertonen geen afname in lichaamsgewicht en hebben een normale groeicurve.

Uit de welzijnscontrole blijkt dat er geen ratten zijn die een verminderde activiteit of een verminderde conditie van de vacht vertonen. Wel zijn er vier (van de 54) CCI-geopereerde ratten die beschadigingen hebben aan de geopereerde poot. Bij drie van die ratten betreft dit alleen de nagels, 1 rat hebben we vroegtijdig uit experiment gehaald omdat de beschadigingen te ernstig waren.

Ook is er gekeken naar het effect van de pijnstilling op het ontwikkelen van de neuropathie. Deze resultaten zijn weergegeven in Grafiek 2. Er zijn totaal 94 ratten CCI-geopereerd, waarvan er 53 pijnstilling hebben gehad en 41 niet. Van de 53 dieren met pijnstilling zijn er 36 neuropatisch geworden (66,7%). Van de dieren zonder pijnstilling zijn er 28 neuropatisch geworden (68,3%). De



Grafiek 2. Neuropathieweergave per groep

controle en sham-geopereerde dieren vertonen geen tekenen van neuropathie. De totale gemiddelde lifttijd van CCI-geopereerde dieren op de cold plate verschilt niet tussen de groepen met en zonder pijnstilling.

Discussie en Conclusie

Uit deze studie blijkt dat de toediening van carprofen als pre- en postoperatieve pijnstilling geen invloed heeft op de ontwikkeling van de neuropathie in het CCI-model in de rat. De mate van neuropathie is hier gemeten door middel van een cold plate-test en de reactie op deze koude plaat is hetzelfde in ratten die wel en ratten die geen carprofen toegediend hebben gekregen rondom de operatie.

Ook blijkt dat toediening van carprofen pre- en postoperatief een verbetering voor het herstel van de dieren die een CCI-operatie hebben ondergaan betekent. Deze conclusie trekken we op basis van de groeicurve van de gewichten; de stijging van de gewichten in de groep met pijnstilling in verhouding met de groep zonder pijnstilling zien we als maat voor herstel van de ratten. Hoewel de gewichten in de eerste paar dagen na de operatie in de CCI-groep met pijnstilling niet zo snel toenemen als in de sham-geopereerde en gezonde groepen, lijken deze dieren toch minder ongerief te vertonen.

In deze studie hebben we gekozen voor carprofen als pijnstilling pre- en postoperatief bij de CCI-operaties. Bij soortgelijke, en zwaardere operaties wordt vaak buprenorphine als pijnstilling toegediend, maar vanwege de bijwerkingen (o.a. vertraging van de darmperistaltiek) en de frequentie van toediening (3x per 24 uur), is hier gekozen voor carprofen.

Pre- en postoperatieve pijnbestrijding komt gelukkig steeds meer in opmars tijdens operaties als deze. De resultaten van deze studie wijzen erop dat we de ratten rondom de operatie van adequate pijnstilling kunnen voorzien om zo hun ongerief te verminderen, zonder dat we daarmee het doel van de proef, het onderzoeken van neuropathische verschijnselen, belemmeren.

Literatuur

1. Bennet GJ, Xie Yk, (1988). A peripheral mononeuropathy in rats that produces disorders of pain sensation like those seen in man. *Pain* 33,: 87-177.
2. Shir Y, Ratner A, Raja SN, (1998). Neuropathic pain following partial nerve injury in rats is suppressed by dietary soy. *neurosci letters*. 9;240(2):73-6.
3. Shir Y, Sheth R, Campbell JN, (2001). Soy-containing diet suppresses chronic neuropathic sensory disorders in rats. *Anesthesia analgesia*. 92(4):1029-34

«