



Pijnstilling bij abdominale chirurgie: een vergelijking van analgesie-protocollen

André Zandvoort¹, Catriene Thuring², Flip Klatter¹, Gerard Dijkstra³, Annemieke Smit¹

¹Centrale Dienst Proefdieren - Universitair Medisch Centrum Groningen J.H.Zandvoort@med.umcg.nl

²Rijksuniversiteit Groningen, ³Afdeling Maag-Darm-Lever Universitair Medisch Centrum Groningen.

Samenvatting

De Centrale Dienst Proefdieren (CDP) kan een dunne darm in de rat transplanteren maar er is nog geen geschikt pijnstillingsprotocol gepubliceerd. We besloten om drie zulke protocollen te testen te weten: 0,01 mg/kg buprenorfine, 0,05 mg/kg buprenorfine en paracetamol bij dieren waarbij een telemetriezender werd geïmplant. De effectiviteit van de pijnbestrijding werd gescoord door middel van video-observatie (methode Roughan en Flecknell) en telemetrie. De ratten behandeld met het buprenorfine 0,05 mg/kg lieten de eerste 24 uur een adequate pijnstilling zien in vergelijking met de controle, maar reageerden na 24 uur verminderd op de pijnstillers en vertoonden verminderde activiteit. Het 0,01 mg/kg buprenorfineprotocol gaf een vergelijkbare pijnstilling met het 0,05 mg/kg protocol zonder de nadelen van verminderde activiteit en verminderde effectiviteit na 24 uur. Paracetamol gaf geen adequate pijnstilling. De volgende stap in onze zoektocht naar een geschikte pijnstillers voor het darmtransplantatiemodel is het verder testen van het 0,01 mg/kg buprenorfineprotocol in het rattenmodel voor transplantatie van de dunne darm.

Introductie

Transplantatie van de dunne darm is het laatste redmiddel voor patiënten met chronisch darmfalen die niet langer parenterale voeding toegediend kunnen krijgen. De tien jaaroverleving na dunnedarmtransplantatie is echter slechts 50% (1). De grootste complicaties na darmtransplantatie zijn acute afstoting, sepsis en chronisch transplantaatfalen (2). Het UMCG is het enige centrum voor darmtransplantatie in Nederland. Om de resultaten van darmtransplantatie te verbeteren wil ons laboratorium een transplantatiemodel in de rat opzetten. Met dit model kunnen we bijvoorbeeld transplantaat-preservatiemiddelen, nieuwe strategieën en immunosuppressivaten om afstoting te voorkomen.

De Centrale Dienst Proefdieren (CDP) kan dunne darmtransplantatie in de rat uitvoeren, maar er is tot dusver geen geschikt pijnstillingsprotocol gepubliceerd. Ook navraag bij groepen in het buitenland die de techniek uitvoeren leverde geen adequaat systemisch pijnstillingsprotocol op; er wordt vaak uitsluitend gewerkt met lokale pijnstilling op de incisieplaats. Aangezien wij in »

verband met dierenwelzijn, systemische pijnstilling essentieel vinden bij een zware ingreep zoals darmtransplantatie, zijn wij op zoek gegaan naar een geschikt middel en doseringsschema. Buprenorfine in een dosering van 0,05 mg/kg wordt standaard gebruikt bij zwaardere operaties. Echter, van buprenorfine in deze dosering is aangetoond dat geen enkel dier de eerste 24 uur na dunnedarmtransplantatie overleeft (3 + eigen observatie). Carprofen (NSAID – Non Steroidal Anti Inflammatory Drugs) heeft geen voorkeur omdat beschreven is dat het mucosaschade veroorzaakt en de darmpermeabiliteit kan aantasten. Dit kan interfereren met het herstel van het transplantaat en ook met de wetenschappelijke vraagstelling bij het onderzoek naar darmfalen. We vonden een beknopte publicatie waarin men ook zocht naar geschikte pijnbestrijding bij dunnedarmtransplantatie en daarin werden paracetamol (10-30 mg, rectaal), buprenorfine (0,05 mg/kg s.c.) en carprofen (2 mg/kg, s.c) getest (3). Bij de buprenorfinebehandeling stierf 95% van de dieren, bij de carprofenbehandeling 85% en geen enkel dier in de paracetamolgroep. Nadeel van de paracetamolbehandeling was dat de dieren veel pijngedrag vertoonden en dat de paracetamol (rectaal toegediend) niet goed werd opgenomen.

We besloten om drie pijnstillingsprotocollen te testen, te weten buprenorfine in twee doseringen en paracetamol. Deze protocollen werden vergeleken met een controlegroep. Voor het testen van de protocollen gebruikten we niet het darmtransplantatiemodel, maar een telemetrie-implantatie-operatie. Hierbij wordt, net als bij darmtransplantatie, de gehele buik geopend, de operatiewond is even groot, maar er wordt de helft minder dieren gebruikt omdat er geen darm-donoren nodig zijn. Ook is de uitval door technisch falen nihil. Om op een objectieve wijze pijn te kunnen vaststellen werden de geopereerde dieren na operatie 48 uur gevolgd door middel van video-observatie en telemetrie. Door het plaatsen van een telemetriezender konden gegevens van bloeddruk, hartslag en activiteit geregistreerd worden.

De video-observatiebeelden werden gescoord op pijngedragingen volgens de methode van Roughan en Flecknell (4,5). Ratten zijn prooidieren en laten pijn niet openlijk zien. Toch is het scoren van pijngedrag een goede methode om pijn bij ratten te detecteren. Roughan en Flecknell hebben verschillende gedragingen geïdentificeerd die de basis vormen voor een scoringssysteem voor abdominale pijn. Gescoord wordt door het gedrag van de rat met behulp van videoapparatuur te registreren en daarna de beelden te analyseren en te scoren op pijngedragingen. Gescoord wordt door personen die getraind zijn in het observeren van dit type gedrag. Het totale scoringssysteem van Roughan en Flecknell bestaat uit 25 gedragingen die niet alle pijn-gerelateerd zijn (5). Van deze gedragingen zijn er zeven specifiek pijngerelateerd, te weten: Press, Writhing, Back arch, Stagger/fall, Woundlicking, Jump en Twitch. Onderstaand geven we een korte beschrijving van deze pijngerelateerde gedragingen.

Beschrijving van de pijngedragingen:

- Press: spiercontractie waarbij de buik tegen de ondergrond geduwd wordt, vaak voorafgaand aan of tijdens een beweging
- Writhing: golfbeweging van spiercontracties in de flank van de rat
- Back arch: opgetrokken rug, holle buik
- Stagger/fall: verlies van balans
- Wound licking: likken van de wond
- Jump: verticale 'sprong' waarbij alle vier poten van de grond komen
- Twitch: onwillekeurige snelle contractie van een lichaamsdeel

MATERIAAL EN METHODEN

Dieren

Er werden mannelijke Lewis-ratten (LEW/Han HSD, Harlan) van 280-360 g gebruikt. De dieren werden na twee weken acclimatisatie geopereerd. De ratten werden met een mengsel van

5% isofluraan/zuurstof onder anesthesie gebracht, onderhoudsanesthesie was 2% isofluraan/zuurstof. Hierna werd de buik geschoren en gedesinfecteerd met chloorhexidine. De temperatuur van de rat werd gereguleerd via een warmtemat in combinatie met een rectale probe (Harvard apparaat). Er werd een mediane incisie in de buikwand gemaakt. Het darmpakket werd uit de buikholte gehaald en opzij gelegd, verpakt in een gaasje dat nat gemaakt was met fysiologisch zoutoplossing. De buikwanden werden opzij gehouden met steriele wondspreaders. De aorta werd vrij geprepareerd en de telemetrie-zender (TA11, PA-C40 implant, Data Science International) in de aorta geplaatst. Met een radiootje werd gekeken of de telemetrie-zender goed werkte. Hierna werd het darmpakket weer terug in de buikholte geplaatst. Daarna werd de spierlaag gehecht waarbij de transmitter van de telemetrie-zender aan de spierwand gehecht werd. De spierlaag werd doorlopend gehecht met niet resorbeerbaar 4-0 hecht draad (Prolene, Ethicon). De huid werd doorlopend gehecht met resorbeerbaar 4-0 hecht draad (Safil, BBraun). Na operatie werd de rat solitair gehuisvest in een afgesloten dierkamer voor 48 uur video-observatie en telemetriemetingen (Afb. 1). Solitaire huisvesting was noodzakelijk om het spontane gedrag van de rat goed vast te kunnen leggen, ongehinderd door soortgenoten. De rat kreeg ad libitum drinkwater en standaard knaagdierbrokken. De duur van de licht-donker cyclus bedroeg 12:12 uur.

De ratten werden in vier groepen ingedeeld Tabel 1 (I-IV):

- I. Buprenorfine (Schering Plough) 0,05 mg/kg s.c.
- II. Paracetamol (Baxter BV), 400 mg/kg oraal
- III. Buprenorfine 0,01 mg/kg s.c. in combinatie met lokaal Bupivacaine (Actavis) 0,04 mg/kg s.c.
- IV. Fysiologisch zout 1 ml/kg s.c. gedurende de eerste 24 uur, na 24 uur 0,05 mg/kg buprenorfine s.c.

Tijdens toedienen van de middelen werden de dieren gefixeerd in hun observatiekooi. De fysiologische zoutoplossing en de buprenorfine-oplossingen werden in de nekplooi toegediend. De paracetamoloplossing werd, met behulp van een oraalnaald, rechtstreeks toegediend in de maag. De middelen werden op vaste tijdstippen gegeven (Tabel 1).

Tijd	Groep			
	I Buprenorfine in mg/kg s.c.	II Paracetamol in mg/kg oraal	III Buprenorfine in mg/kg s.c.	IV Fys. zout in ml/kg s.c.
15 min. pre-operatief	-	400	-	-
intra-operatief	0,01	-	0,01*	1
1 uur post-operatief	0,04	-	0,01	1
7 uur post-operatief	0,05	400	0,01	1
24 uur postoperatief	0,05	400	0,01	0,05 mg/kg s.c. buprenorfine
*samen met 0,04 mg/kg s.c. bupivacaine				

Tabel 1. Tijdstippen en concentraties analgetica gegeven aan zes dieren per groep.

Telemetrie

Telemetriemetingen (hartslag, bloeddruk en activiteit) werden 48 uur lang verzameld en verwerkt met het Dataquest programma (LabPRO program, versie 3.11). De activiteit van de rat werd in arbitraire units gemeten gebaseerd op de verplaatsing van de zender, en dus de rat, door de kooi. »



Afbeelding 1. Opstelling voor video-observatie en telemetrie. Rat is gehuisvest in kooi zonder rooster maar met verhoogde zijwanden om ontsnappen te voorkomen.

Video-observatie

Elk half uur werd het gedrag van de dieren vijf minuten gefilmd gedurende 48 uur. De fysiologisch zout groep werd 24 uur gevolgd. De videobeelden werden opgenomen met een camera (Dunion XF Day / Night Camera, Bosch Surity Systems, Breda, the Netherlands) op een statief (Afb. 1). De beelden werden opgeslagen op een harddisk recorder (Cam Tech) en later geanalyseerd op standaardcomputers.



Afbeelding 2. Video-observatie: de rat likt de wond (wound licking).

Alle videobeelden werden gescoord door twee personen die getraind waren in het observeren van pijngedragingen. De volgende gedragingen werden gescoord: Press, Writhing, Backarch, Stagger, Jump, Woundlicking (Afb. 2), Twitch. De duur van het gedrag werd gemeten in secondes maar bij Jump en Twitch werd gescoord op aantal keren dat het gedrag werd vertoond. Elke rat werd door twee personen afzonderlijk beoordeeld op pijngedragingen. Per rat zijn de scores van de twee observatoren gemiddeld. De totale observatieperiode van 48 uur is opgedeeld in blokken van 8 uur, de scores zijn per blok van 8 uur opgeteld. Dit resulteerde in zes cumulatieve tijdblokken. Per tijdblok werden de resultaten van paracetamol, buprenorfine 0,05 mg/kg en buprenorfine 0,01 mg/kg (groepen I, II en III) vergeleken met de resultaten van de controlegroep (groep IV) door middel van een Mann-Whitney U test (SSPS18).

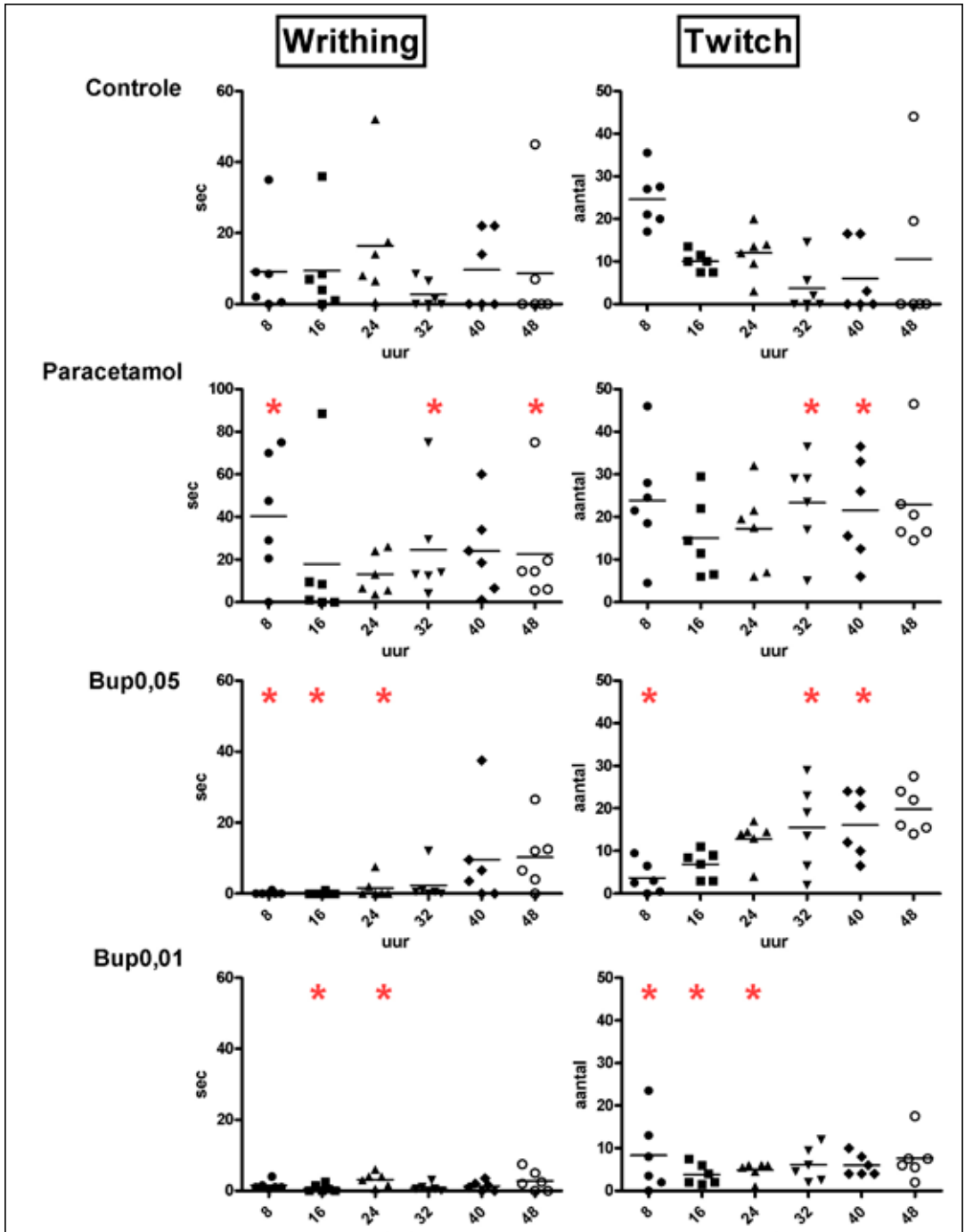
Resultaten

Video-observatie: In totaal werden 24 ratten geopereerd, er was geen uitval. Alle operaties verliepen succesvol en de ratten herstelden goed.

Writhing: Bij de controle- en de paracetamol behandelde groep was deze gedraging duidelijk zichtbaar. Bij de groep buprenorfine 0,05 mg/kg nam het gedrag toe in de loop van de tijd. Bij buprenorfine 0,01 mg/kg was deze gedraging nauwelijks waarneembaar (Afb. 3).

Twitch: controlegroep was er een verhoging van twitchgedrag te zien bij buprenorfine- 0,05 mg/kg (oplopend in de tijd) en de paracetamolgroep. De groep buprenorfine 0,01 mg/kg liet een verlaging zien t.o.v. de controlegroep (Afb. 3).

Press: Press was voornamelijk zichtbaar bij de paracetamolgroep, de andere groepen lieten dit gedrag nauwelijks zien (data niet gepresenteerd, geen significante verschillen tussen de groepen).



Afbeelding 3. Resultaten van de video-observatie. Linker grafieken laten Writhing zien, rechter grafieken Twitch. Horizontale lijnen in de grafieken geven de mediaan weer. X-as: cumulatieve tijdsblokken per 8 uur. Bup=buprenorfine, * = $P < 0,1$ t.o.v. de controlegroep

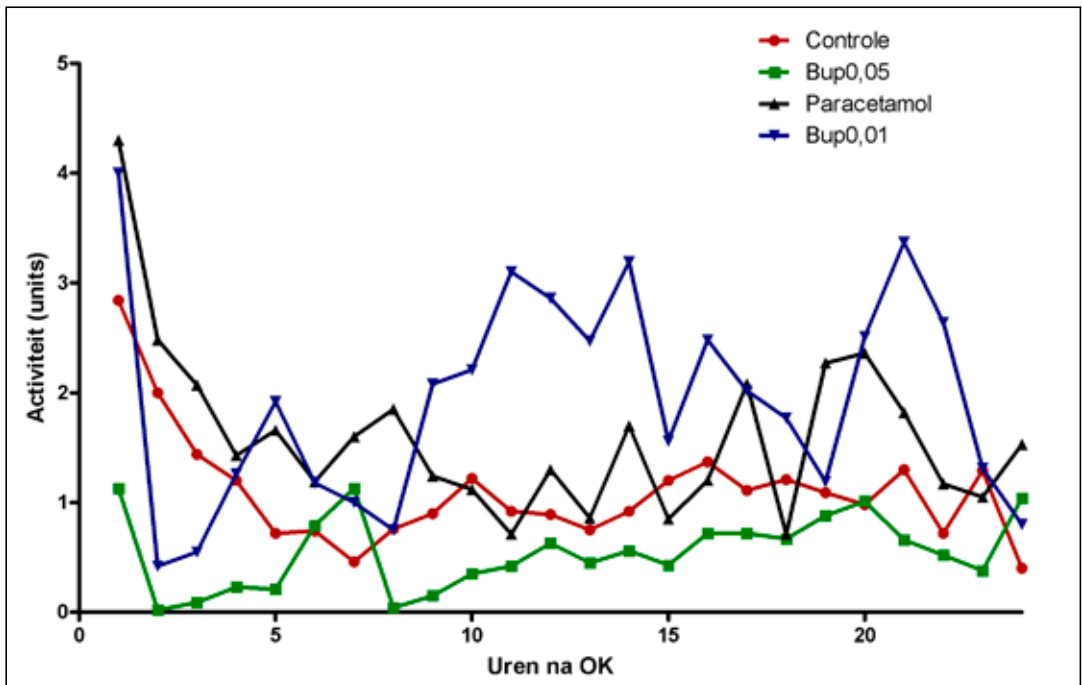
»

Backarch, Jump, Woundlicking: Geen duidelijke verschillen tussen de groepen (data niet gepresenteerd).

Stagger: Bij de paracetamolgroep was een verhoging van de gedraging stagger te zien t.o.v. de controlegroep. De groep buprenorfine 0,05 mg/kg liet ook een verhoging zien maar geen significant verschil met de controlegroep. Buprenorfine 0,01 mg/kg was vergelijkbaar met de controlegroep (data niet gepresenteerd).

Telemetrie data

Er was geen verschil in bloeddruk en hartslag te zien tussen de verschillende groepen. De activiteit van de buprenorfine 0,05 mg/kg groep was de eerste uren na operatie duidelijk verminderd t.o.v. de andere groepen (Afb. 4).



Afbeelding 4. Activiteit van de ratten in de eerste 24 uur na operatie gemeten m.b.v. telemetrie. X-as: tijd na operatie in uren, Y-as: activiteit in arbitraire units gemeten d.m.v. telemetrie. Bup=buprenorfine.

Discussie

Observatie van pijngedrag bij ratten is intensief en tijdrovend, maar een betrouwbaar alternatief om pijn te scoren is er niet. De gescoorde gedragingen zijn door Flecknell geïdentificeerd als specifiek aan pijn gerelateerde gedragingen (4,5). In deze studie hebben we geen onderscheid gemaakt in de ernst van de verschillende pijngedragingen. Sommige gedragingen duren maar een fractie van een seconde en zijn snel te missen. Door het gedrag door twee personen onafhankelijk van elkaar te scoren is het toch mogelijk met de twee datasets een goed beeld te krijgen of een analgesieprotocol adequaat werkt. De scores van de twee waarnemers waren redelijk consistent. De variatie in gedrag tussen de ratten binnen een groep was erg groot. Per groep zijn zes ratten gebruikt, uitbreiden van de groepen zou wenselijk zijn. Desondanks geven onze resultaten een goede indicatie van de analgetische effecten van buprenorfine in twee doseringen en van de behandeling met paracetamol.

De ratten behandeld met het buprenorfine 0,05 mg/kg lieten de eerste 24 uur een adequate pijnstilling zien in vergelijking met de controle. Echter na 24 uur werd er weer een injectie met 0,05 mg/kg gegeven en het lijkt erop dat de effectiviteit van deze pijnstillers dan minder wordt. Dit zou veroorzaakt kunnen worden door desensitisatie door overdosering (6). Bij de 0,01 mg/kg dosering was er na 24 uur nog steeds effect te zien van de pijnstillers. Dit wijst erop dat een lagere dosering 0,01 mg/kg voor Lewis-ratten een betere optie is. Niet alleen het pijnstillend vermogen was beter bij een lagere dosering buprenorfine, ook was er een positief effect m.b.t. de activiteit van de ratten. De ratten waren voorzien van een telemetriezender die ook de activiteit kan meten door de locatie van de zender in de kooi te meten. Opvallend was dat de ratten behandeld met 0,05 mg/kg buprenorfine duidelijk een verminderde activiteit lieten zien t.o.v. de andere analgesieprotocollen en de controles. De ratten behandeld met 0,01 mg/kg buprenorfine lieten veel meer activiteit zien dan de ratten behandeld met de hogere dosis van 0,05 mg/kg. Als ratten actiever zijn, is het ook aannemelijk dat een rat meer zal eten en drinken dan een rat die 24 uur lang nauwelijks activiteit vertoont wat gunstig is voor het herstel van de rat. Paracetamol is als (chemische stof) een ideaal farmacon/geneesmiddel, omdat het nauwelijks bijwerkingen heeft en bij de mens een goede pijnstilling geeft. In ons model echter was er van pijnstilling geen sprake. De ratten vertoonden zelfs meer pijngedrag t.o.v. de controles. Dit kan te maken hebben met de wijze van toediening. Orale toediening brengt toch meer stress en ongerief met zich mee omdat er geforceerd iets in de maag wordt gebracht. Het dier moet goed gefixeerd worden om de oraalnaald veilig in te brengen en het is aannemelijk dat het fixeren spanning op de buikwond veroorzaakt. Paracetamol is voor ons bij een buikoperatie dus niet bruikbaar.

Conclusies

- Het buprenorfine 0,01 mg/kg protocol gaf een pijnstilling die vergelijkbaar is met die van het 0,05 mg/kg protocol, maar zonder nadelen als verminderde activiteit en verminderde effectiviteit na 24 uur.
- Deze studie heeft beperkingen door een grote spreiding in de resultaten tussen de ratten en zou uitgebreid moeten worden om robuustere data te krijgen
- Niettemin geeft de studie toch het beeld dat het 0,05 mg/kg buprenorfineprotocol te veel bijwerkingen gaf in de vorm van lage activiteit van de dieren en verminderde analgetische werking na 24 uur en dus vertraging van het herstel van de dieren. Een lagere dosering buprenorfine lijkt een betere optie.
- De volgende stap in onze zoektocht naar een geschikte pijnstillers voor het darmtransplantatie-model is het verder testen van het 0,01 mg/kg buprenorfineprotocol bij dit model.

Literatuur

- 1 http://www.tts.org/images/stories/ITA/curren_update_worldwide_experience.pdf
2. Roskott AMC, Nieuwenhuijs VB, Dijkstra G (2011). Small bowel preservation for intestinal transplantation: a review. *Transplant Intern* 24: 107-131
3. Camprodon RA, Bowles MJ (2006). Perioperative analgesia in experimental small bowel transplantation. *Transplant Proc* 38: 1857-1858
4. Roughan JV, Flecknell PA (2003). Evaluation of a short duration behavior-based post-operative pain scoring system in rats. *Europ J Pain* 7: 397-406
5. Roughan JV, Flecknell PA (2001). Behavioural effects of laparotomy and analgesic effects of ketoprofen and carprofen in rats. *Pain* 90: 65-74
6. Wala EP, Holtman JR (2011). buprenorfine-induced hyperalgesia in the rat. *Europ J Pharmacol* 651: 89-95

