

Aus der
Klinik für Anästhesiologie des Universitätsklinikum Düsseldorf
Direktor Univ. Prof. Dr. med. J. Tarnow
und aus dem
Institut für Experimentelle Onkologie und Therapieforschung
der Technischen Universität München
Direktor Univ. Prof. Dr. med. B. Gänsbacher

Angefertigt unter der Leitung von
Dr. med. U. Muth-Selbach
Univ. Prof. Dr. med. vet. Dr. med. habil. W. Erhardt

Vorgelegt über
Univ. Prof. Dr. med. vet. M. Stangassinger
Institut für Tierphysiologie, Physiologische Chemie und Tierernährung
der Ludwig-Maximilian-Universität München

**Zur Wirkung von Mirtazapin auf akute, durch Hitze induzierte
Schmerzen bei der Ratte**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

von
Jennifer Vogt
aus Gelsenkirchen

München, 2006

Gedruckt mit der Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität München

Dekan: Univ.-Prof. Dr. E. Märtlbauer
Referent: Univ.-Prof. Dr. M. Stangassinger
Korreferentin: Univ.-Prof. Dr. K. Hartmann

Tag der Promotion: 10. Februar 2006

Träume nicht Dein Leben, sondern lebe Deine Träume.

Meinen Eltern, meinem Bruder, Mikesch und Boris

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	1
2	Schrifttum	2
2.1	Schmerz	2
2.1.1	Einteilung des Schmerzes.....	2
2.1.2	Physiologie des Schmerzes.....	4
2.1.3	Nozizeption.....	6
2.1.4	Pathophysiologie des Schmerzes.....	9
2.1.5	Schmerzerkennung beim Tier.....	10
2.1.6	Schmerzbekämpfung, Analgetika und ihre Eigenschaften	12
2.2	Das Antidepressivum Mirtazapin	15
2.2.1	Einteilung der Antidepressiva und Stellung des Mirtazapins.....	15
2.2.2	Rezeptor-Physiologie.....	17
2.2.3	Pharmakodynamik von Mirtazapin (inkl. R- / S+ Enantiomer).....	19
2.2.4	Pharmakokinetik von Mirtazapin (inkl. R- / S+ Enantiomer).....	23
2.2.5	Antinozizeptiver Effekt.....	24
3	Eigene Untersuchungen	26
3.1	Zielvorstellungen	27
3.2	Material und Methoden	27
3.2.1	Versuchstiere.....	27
3.2.2	Haltung und Fütterung.....	27
3.2.3	Pharmaka und Dosierung.....	28
3.2.4	Allgemeiner Versuchsplan.....	30
3.2.5	Plantar Tester.....	32
3.3	Versuchsdurchführung	35
3.3.1	Vorversuch.....	35
3.3.1.1	Tagesablauf mit Dosisfindung und Applikationsart der Testsubstanzen.....	35

Inhaltsverzeichnis

3.3.1.2	Messung der Wirkung der Testsubstanzen und Festlegung der Dosisbereiche.....	36
3.3.2	Erster Hauptversuch.....	38
3.3.2.1	Ansetzten der Testsubstanzen, Verblindung.....	38
3.3.2.2	Applikationsart der Testsubstanzen und blinde Messung der Wirkung der Testsubstanzen.....	39
3.3.3	Zweiter Hauptversuch.....	40
3.3.3.1	Intrathekale Katheterisierung	41
3.3.3.2	Messung der Wirkung der Testsubstanzen.....	43
3.3.3.3	Sektion zur Kontrolle der Katheterlage.....	43
3.4	Statistische Auswertung.....	46
3.5	Ergebnisse.....	47
3.5.1	Vorversuch.....	47
3.5.2	Erster Hauptversuch.....	54
3.5.3	Zweiter Hauptversuch.....	64
4	Diskussion.....	74
4.1	Diskussion der Versuchsdurchführung.....	74
4.2	Diskussion der Ergebnisse.....	77
4.3	Ausblick.....	84
5	Zusammenfassung.....	85
6	Summary.....	86
7	Anhang.....	87

Inhaltsverzeichnis

8	Literaturverzeichnis.....	91
8.1	Tabellenverzeichnis.....	103
8.2	Abbildungsverzeichnis.....	104
8.3	Abkürzungsverzeichnis.....	106
9	Danksagung.....	107
10	Lebenslauf.....	109

1 Einleitung

In der Schmerzforschung werden seit Jahren immer neue und potentiell bessere Medikamente entwickelt. Trotzdem ist die Wahl des geeigneten Analgetikums nicht immer leicht. Gerade in der Tiermedizin spielen viele Faktoren eine Rolle.

Um auch zukünftig eine bessere Auswahl zu ermöglichen, werden immer häufiger auch bereits zugelassene Arzneimittel unter dem Aspekt ihres analgetischen Potentials untersucht.

Auch das Antidepressivum Remergil® mit dem Wirkstoff Mirtazapin wird seit Jahren in der Humanmedizin zur Behandlung von Depressionen eingesetzt. Dort hat es sich als ein schnell wirkendes und nebenwirkungsarmes Medikament etabliert (KELLER, 2004).

Während seiner klinischen Anwendung berichteten gehäuft Patienten von einem Nachlassen etwaiger chronischer Schmerzzustände. Daher wird seit kurzem der Wirkstoff Mirtazapin auf seine mögliche analgetische Potenz hin untersucht und mittlerweile konnte auch ein antinozizeptiver Effekt bestätigt werden (SCHREIBER et al. 2002a und 2002b, KELLER 2004).

Da Arzneimittel chemisch in zwei Enantiomeren vorliegen können, wobei oft eines erwünschte und das andere unerwünschte Wirkungen hervorruft, sollen die beiden Enantiomere des Mirtazapin genauer auf ihre analgetische Wirkung hin untersucht werden. Bisherige Studien konnten keine Einigkeit über eine stärkere bzw. bessere Wirkung eines der Enantiomere gegenüber dem Razemat bringen (DE BOER et al. 1988, MC GRATH et al. 1998).

Die vorliegende Studie untersucht beide Enantiomere des Mirtazapins getrennt und im Vergleich zum Razemat auf ihre analgetische Wirkung. Dabei könnte im positiven Fall eines der beiden Enantiomere eine höhere analgetische Potenz und im optimalen Fall auch eine geringere Rate an unerwünschten Wirkungen aufweisen. Ähnliche Versuchsvorhaben legten ihr Augenmerk bisher nur auf das Razemat (SCHREIBER et al. 2002a, 2002b).

2 SCHRIFTTUM

2.1 Schmerz

Definition des Begriffes

Nach HENKE und ERHARDT (2001) ist der Schmerz das, was der Patient – nicht der Beobachter – als Schmerz empfindet. Schmerz ist immer subjektiv! Diese Aussage verdeutlicht die Problematik einer treffenden Definition des Schmerzes.

Nüchtern betrachtet ist der Schmerz eine komplexe Sinneswahrnehmung unterschiedlicher Qualitäten, die i. d. R. durch Störung des Wohlbefindens als lebenswichtiges Symptom von Bedeutung ist (PSCHYREMBEL, 1994).

Doch Schmerz ist in aller Regel mehr als eine reine Sinnesempfindung, nämlich ein Sinnes- und gleichzeitig ein meist unlustbetontes Gefühlserlebnis (SCHAIBLE und SCHMIDT, 2000). Das drückt auch die Definition der INTERNATIONAL ASSOCIATION FOR THE STUDY OF PAIN (2004) aus: Schmerz ist ein unangenehmes Sinnes- und Gefühlserlebnis, das mit aktueller oder potentieller Gewebeschädigung verknüpft ist oder mit Begriffen einer solchen Schädigung beschrieben wird.

2.1.1 Einteilung des Schmerzes

Man kann den Schmerz nach verschiedenen Kriterien unterteilen (siehe Tab. 1, S. 3): Teilt man Schmerz nach seiner Dauer ein, gibt es einen akuten und einen chronischen Schmerz. Der *akute Schmerz* tritt kurzzeitig auf, ist also zeitlich begrenzt. Dieses kurze Geschehen weist auf eine drohende oder bereits eingetretene Gewebsschädigung hin. Meist sind akute Schmerzen auf den Ort der Schädigung begrenzt und bedingen häufig eine Ruhigstellung der betroffenen Körperteile. Oft sind die Schmerzen von vegetativen und Angstreaktionen begleitet und dienen so als Signal- oder Warnfunktion. Sie geben also Auskunft über den körperlichen Zustand. Nach Beseitigung der Schädigung bzw. des Reizes klingen die Schmerzen rasch wieder ab (SCHAIBLE und SCHMIDT 2000, HENKE und ERHARDT 2001 und 2004, ILLES und ALLGAIER 2001).

Tab. 1 : Schmerzeinteilung

• nach Dauer	akuter Schmerz	
	chronischer Schmerz	
• nach Qualität (Lokalisation)	somatischer Schmerz	Oberflächenschmerz
		Tiefenschmerz
	visceraler Schmerz	
• nach der Entstehung	nozizeptiv	
	neurogen	
	psychogen	

Der *chronische Schmerz* hingegen ist lang anhaltend oder kehrt intermittierend wieder. Häufig entsteht er durch kontinuierliche Reizung der Nozizeptoren oder durch Schädigung im Schmerz-leitenden und -verarbeitenden neuronalen System. In der Humanmedizin wird der Schmerz als chronisch eingestuft, wenn die Beschwerden länger als 6 Monate andauern. Für die Tiermedizin ist noch kein Zeitraum festgelegt (SCHAIBLE und SCHMIDT 2000, HENKE und ERHARDT 2001 und 2004, ILLES und ALLGAIER 2001).

In diesem chronischen Verlauf kann es zu einer deutlichen Lösung des Schmerzerlebnisses von der ursprünglich zugrundeliegenden Störung kommen. So erscheint der chronische Schmerz häufig als eigenständiges Krankheitssyndrom, welches jegliche Signal- oder Warnfunktion verloren hat. Der chronische, pathologische Schmerz muss bekämpft werden, denn irgendwann „tut es nur noch weh“ (SCHAIBLE und SCHMIDT 2000, HENKE und ERHARDT 2001 und 2004, ILLES und ALLGAIER 2001).

Schmerz lässt sich auch nach seiner Qualität oder nach seiner Lokalisation einteilen. So unterscheidet man z.B. den somatischen von dem visceralen Schmerz:

Der *somatische Schmerz* wird je nach seinem Ursprung nochmals unterteilt. Wird die Haut, z. B. durch einen Nadelstich gereizt, bezeichnet man den empfundenen Schmerz als Oberflächenschmerz. Bei Reizung des Bindegewebes, der Muskeln, Knochen oder Gelenke (evtl. durch einen Krampf) nennt man den entstandenen Schmerz Tiefenschmerz. Prinzipiell lässt sich der somatische Schmerz nur schlecht lokalisieren (SCHAIBLE und SCHMIDT 2000, HENKE und ERHARDT 2001 und 2004, ILLES und ALLGAIER 2001).

Der *viscerale Schmerz* wird auch Eingeweideschmerz genannt. Dieser Schmerz tritt z.B. bei rascher und starker Dehnung der inneren Hohlorgane (Koliken), bei Mangeldurchblutung des Herz- oder Glattmuskulgewebes (Ischämie) oder bei Entzündungen auf (SCHAIBLE und SCHMIDT 2000, HENKE und ERHARDT 2001 und 2004, ILLES und ALLGAIER 2001, MUTSCHLER et al. 2001).

SCHMIDT et al. (2001), unterteilen den Schmerz auch nach seiner Entstehung. So kann es nozizeptiv, neuropathisch, aber auch psychogen zu einem Schmerzempfinden kommen.

2.1.2 Physiologie des Schmerzes

Um den Schmerz besser erfassen zu können, ist es wichtig, die physiologischen Grundlagen zu kennen. SCHMIDT und THEWS (2000) und MUTSCHLER et al. (2001) bezeichnen das Auslösen, das Weiterleiten und die zentralnervöse Verarbeitung noxischer (lat. *noxa* = Schaden) Signale als Nozizeption.

Für das Auslösen und die schnelle Weiterleitung des schädigenden Reizes (= „Noxe“) sind spezielle Schmerzrezeptoren nötig. Menschen und alle höher entwickelten tierischen Organismen verfügen über solche Sinnesrezeptoren. Sie haben eine hohe Erregungsschwelle. Das bedeutet der auslösende Reiz muss eine hohe Intensität haben und die Rezeptoren werden nur durch Noxen aktiviert. Afferente Nervenfasern mit solchen Sensoren werden als Nozizeptoren bezeichnet (MESSLINGER 1997, ZOHMANN 1998, SCHAIBLE und SCHMIDT 2000, ERHARDT et al. 2004).

Laut MESSLINGER (1997) wurde die Bezeichnung Nozizeptor erstmals zu Anfang des letzten Jahrhunderts von Sherrington verwendet. Dieser hatte damals schon erkannt, dass eine Erregung dieser Rezeptoren beim Menschen zu Schmerzempfinden und zu entsprechenden nozizeptiven Reflexen beim Tier führt.

1973 formulierten BURGESS und PERL eine treffende Definition: „Ein Nozizeptor ist ein Sinnesrezeptor, der verlässlich noxische von nicht-noxischen Ereignissen unterscheidet, über die das zentrale Nervensystem informiert werden soll“ (zitiert nach MESSLINGER 1997).

Schmerzauslösung

Die Nozizeptoren sitzen als freie Nervenendigungen am Ende von afferenten myelinisierten und nicht-myelinisierten peripheren Fortsätzen der Spinalganglien. Diese liegen v.a. in der Haut, aber auch in anderen Geweben (Peritoneum, Pleura, Periost, Gelenkkapsel, Muskel, Sehne, Blutgefäße und teilweise Eingeweide) (SCHMIDT und THEWS 2000, FORTH 2001, ERHARDT et al. 2004).

Eine funktionelle Klassifizierung von Nozizeptoren verschiedener Lokalisationen lautet nach MESSLINGER (1997), dass alle Schmerzrezeptoren zu den langsam leitenden Afferenzen mit dünn myelinisierten A δ - (Gruppe III-) und unmyelinisierten C- (Gruppe IV-) Fasern gehören (s. Tab. 2).

Tab.2: Klassifizierung sensibler Nervenfasern (HENKE und ERHARDT 2001)

Typ	Dicke	Stimulation	Geschwindigkeit	Charakter
A-δ	myelinisiert < 3 μ m	thermisch, mechanisch	schnell 5–30 m/sec	scharfer Erstscherz, Schutzreflex, gut lokalisiert, kurz
C	unmyelinisiert! 1 μ m	polymodal: chemisch, thermisch, mechanisch	langsam 0,5–2 m/sec	dumpfer, brennender Zweitscherz, schlecht lokalisierbar, anhaltend
A-β	myelinisiert 8 μ m	taktile Reize (Druck, Berührung)	schnell 50 m/sec	Vibration, Kitzeln, Stechen, Prickeln

Zahlreiche Nozizeptoren reagieren auf verschiedene Arten von Reizen, sie sind polymodal. So führen mechanische Reize (Druck, Zug), thermische Reize (Hitze, Kälte) wie auch chemische Reize zu einer Aktivierung des Rezeptors.

Andere Nozizeptoren reagieren nur auf einen bestimmten Stimulus (SCHMIDT und THEWS 2000, FORTH et al. 2001, ERHARDT et al. 2004).

Auch körpereigene, endogene Substanzen können als Reiz wirken. So werden bei verschiedenen entzündlichen oder traumatischen Gewebeschädigungen Prostaglandine,

Leukotriene und Kinine (z.B. Bradykinin) gebildet und algogene Substanzen wie Transmitter (z.B. Serotonin, ACTH, Histamin) und Ionen freigesetzt. Diese Substanzen aktivieren direkt die Nozizeptoren (OTTO 1998, SCHAIBLE und SCHMIDT 2000, ILLES und ALLGAIER 2001, HENKE und ERHARDT 2004).

2.1.3 Nozizeption

Nozizeption bedeutet, wie bereits oben kurz erwähnt, die Auslösung, das Weiterleiten und die zentralnervöse Verarbeitung noxischer Signale, die durch die Stimulation eines Nozizeptors entstanden sind. Es ist ein physiologischer Prozess, der in der bewussten Schmerzwahrnehmung endet. Diese Schmerzwahrnehmung wird in vier Prozesse unterteilt, die pharmakologisch angegangen werden können (SCHMIDT und THEWS 2000, HENKE und ERHARDT 2004).

Tab. 3: Prozesse der Schmerzwahrnehmung

Schmerzwahrnehmung durch	<ul style="list-style-type: none">• Transduktion• Transmission• Modulation• Perzeption
---------------------------------	---

Transduktion

Der Begriff Transduktion beschreibt die Umwandlung eines schädigenden Reizes (in Form von physikalischer Energie) in elektrische Aktivität (Aktionspotentiale) an den sensorischen, peripheren Nozizeptoren (SCHMIDT und THEWS 2000, HENKE und ERHARDT 2004).

Transmission

Die Transmission ist die Weiterleitung der bei der Transduktion entstandenen Nervenimpulse über das Nervensystem (siehe Abbildung 1, A) (OTTO 1998, SCHMIDT 2000, FORTH 2001, ERHARDT et al. 2004):

Die zentralen Fortsätze der afferenten A δ - und C- Fasern treten über die Hinterwurzel in das Rückenmark ein und enden in der Substantia gelatinosa des Hinterhorns. Hier gehen die nozizeptiven Afferenzen synaptische Kontakte mit Interneuronen ein (1). Zusammen mit den Motoneuronen bilden sie so die polysynaptischen Reflexbögen. Diese können u.a. Fluchreflexe auslösen und so die betreffenden Körperteile aus dem Bereich der Noxe entfernen.

Nach der Umschaltung auf die zweiten Neurone kreuzen diese zur Gegenseite (2) und leiten die Erregung über den Tractus spinothalamicus (Vorderseitenstrang) oder den Tractus spinoreticularis zum Gehirn.

Der Tractus spinothalamicus endet in den Thalamuskernen (3), diese projizieren zu dem somatosensorischen Kortex (4). Hier wird die Schmerzempfindung bewusst und so der Entstehungsort und die Stärke des Schmerzes.

Der Tractus spinoreticularis wird in der Formatio reticularis des Hirnstamms umgeschaltet (5), deren Projektionen ebenfalls in den Thalamuskernen (6) enden. Durch Verknüpfungen mit neuronalen Zentren und dem limbischen System (7) kommt es zu schmerzinduzierten vegetativen Reaktionen (erhöhter Sympathikotonus und Schweißausbruch). Zum anderen werden Wachheitsgrad und Aufmerksamkeit beeinflusst. Das limbische System bewirkt die emotionale Wahrnehmung des Schmerzes als negatives Erlebnis.

Modulation

Die Schmerzimpulse werden an verschiedenen synaptischen Übertragungsstellen durch das endogene absteigende analgetische System moduliert, z.B. über deszendierende und segmentale Hemmmechanismen sowie Endorphine.

Aus dem periaquäduktalen Grau des Mittelhirns (Abb.1, B 1) führen absteigende (deszendierende) Neurone zum Rückenmark (2), die bei Schmerz hemmende Interneurone aktivieren.

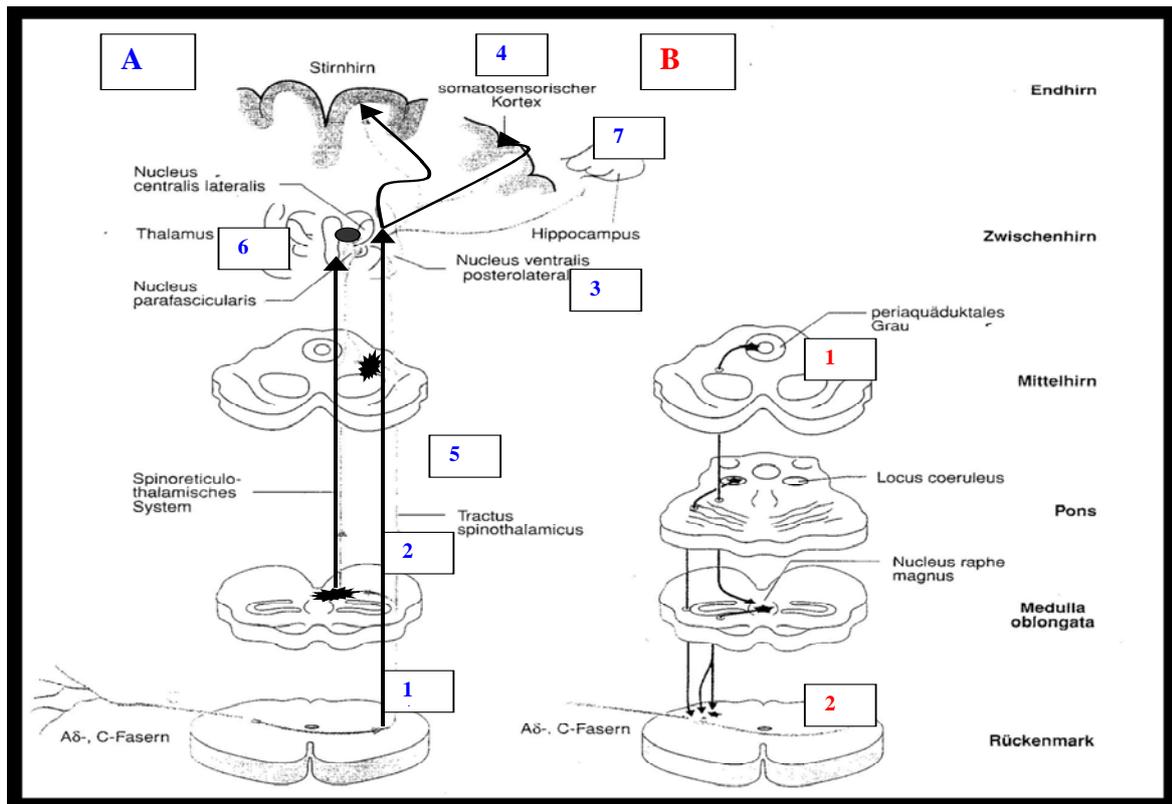


Abb. 1: Das nozizeptive Schmerzsystem (modifiziert nach FORTH, 2001)

So wird der Einstrom weiterer Schmerzimpulse gedrosselt (= deszendierende Hemmung). Die aktivierten Interneurone bewirken eine Freisetzung endogener Opiode, die wiederum die synaptische Erregungsübertragung von den afferenten nozizeptiven auf die spinothalamischen Neurone beeinflussen (SCHMIDT und THEWS 2000, FORTH 2001, HENKE und ERHARDT 2004). Laut SCHMIDT und THEWS (2000) spielen zahlreiche Transmitter (z.B. Noradrenalin, Serotonin), Modulatoren (z.B. Glutamat, GABA) und entsprechende Rezeptoren bei der Modulation im ZNS eine entscheidende Rolle.

MUTSCHLER et al.(2001) beschreiben die Wichtigkeit dieses schmerzhemmenden Systems. Es erlaubt dem Organismus, in Notsituationen durch die Unterdrückung der lähmenden Schmerzreaktionen seine Handlungsfähigkeit (z.B. Fluchtreflexe) aufrecht zu erhalten.

Perzeption

Perzeption ist der Prozess, der letztendlich die bewusste, subjektive und emotionale Schmerzerfahrung ausmacht. Dabei resultiert die Schmerzempfindung aus erfolgter Transduktion, Transmission und Modulation, sowie der Integration thalamokortikaler, retikulärer und limbischer Funktion (SCHMIDT und THEWS 2000, HENKE und ERHARDT 2004).

2.1.4 Pathophysiologie des Schmerzes

Wie bereits bei der Definition des Begriffes Schmerz kurz erwähnt, gibt es nicht nur den physiologischen Schmerz. Laut HENKE und ERHARDT (2001) entwickeln sich aus entzündlichen oder neuropathischen Prozessen oft Schmerzen, die pathologischer Natur sind und ihre ursprüngliche Warnfunktion verloren haben (= chronischer Schmerz).

Eine überlange Schmerzdauer oder eine übermäßige Intensität fördern die Entstehung des sog. pathologischen Schmerzes (HENKE und ERHARDT, 2004).

Dadurch kommt es häufig zu einer verstärkten Wahrnehmung der Schmerzreize, der sog. Hyperalgesie. Die aus afferenten Neuronenendigungen ausgeschütteten Mediatoren und die Verstärkung der Transduktionsmechanismen können über eine Herabsetzung der Erregungsschwelle der Nozizeptoren (= primäre Sensibilisierung) dazu führen, dass normalerweise nicht-schmerzhafte Stimuli Schmerzen verursachen (= Allodynie).

Daraus resultiert eine erhöhte Produktion und Ausschüttung von Neuropeptiden (z.B. Glutamat, Substanz P), eine veränderte Rezeptorsynthese und eine erhöhte Erregbarkeit der spinalen Neurone (WOOLF und CHONG 1993, OTTO 1998, ZOHMANN 1998, HENKE und ERHARDT 2001). Diese pathologischen Vorgänge gilt es zu durchbrechen und so die Entstehung chronischer Schmerzen zu verhindern oder Patienten von chronischen Schmerzen zu befreien.

Eine gewisse Sonderstellung ist dem sog. neuropathischen Schmerz zuzurechnen. Dieser entsteht infolge einer Schädigung des peripheren oder zentralen Nervensystems. Dabei kommt es zur pathophysiologischen Impulsbildung im nozizeptiven System, wobei eine Beteiligung eines Nozizeptors entfällt (SCHMIDT und THEWS 2000, HENKE und ERHARDT 2001).

2.1.5 Schmerzerkennung beim Tier

In der Eingangs beschriebenen Problematik, den Begriff Schmerz zu definieren, erkennt man schnell die Schwierigkeit, tierische Organismen in diese Definitionen mit einzubeziehen. Da einen wesentlichen Anteil des Schmerzempfindens der nur subjektiv erfassbare Part ausmacht, ist die Einstufung beim Tier noch viel schwieriger (HENKE und ERHARDT, 2001).

Gerade bei chronischen Schmerzen besteht keine Möglichkeit den nozizeptiven Reiz objektiv zu messen (DENECKE und HÜNSELER, 2000).

Die Federation of European Laboratory Animal Science Association (FELASA) berichtete 1994, dass aufgrund des Fehlens der verbalen Mitteilung ihrer subjektiven Erfahrungen, eine angemessene Schmerzerkennung und -einschätzung bei Tieren oft schwierig ist.

Auch ERHARDT (1992) schrieb, dass der Mangel an klar erkennbaren Schmerzreaktionen zu der irrigen Meinung führt, dass Tiere weniger schmerzempfindlich sind als der Mensch.

Mittlerweile ist es wissenschaftlich erwiesen, dass das Schmerzempfinden zumindest bei allen Säugetieren und Vögeln ähnlich ausgeprägt ist wie bei den Menschen. Dabei gibt es aber Altersunterschiede dahingehend, dass sehr junge Tiere mehr Schmerz empfinden, als ältere oder ausgewachsene (HENKE und ERHARDT, 2001).

Doch bedeutet dies, dass der Mensch jedem Tier automatisch das gleiche Schmerzempfindungsvermögen zugesteht? Leider ist nur allzu häufig die „menschliche Sympathie“ für einzelne Tierspezies ausschlaggebend (HENKE und ERHARDT, 2001).

So wird Primaten eine Schmerzempfindung zugestanden, da sie dem Menschen sehr ähneln. Aber auch den Haushaltsangehörigen und Kuschtieren (Hund, Katze und kleine Heimtiere) „glaubt“ der Mensch, dass sie Schmerzen haben können. Weit abgeschlagen hingegen, gesteht man landwirtschaftlichen Nutztieren („Bratpfannenaspiranten“) anscheinend weniger Schmerzempfinden zu (HENKE und ERHARDT, 2004).

Wie kann der Mensch den tierischen Schmerz erkennen?

DENECKE und HÜNSELER (2000) ordnen die Reaktionen auf Schmerz drei Kategorien zu:

1. Reaktionen auf dem subjektiven Erleben,
2. dem beobachtbaren Verhalten und
3. physiologischen Prozessen.

Das bedeutet, dass das speziesspezifische Verhalten beobachtet und verstanden werden muss. Verhaltensveränderungen spielen häufig eine große Rolle in der Schmerzerkennung (HENKE und ERHARDT, 2004). Oft sind aber Verhaltensänderungen als Ausdruck von Schmerz nur schwer von denen bei Stress und emotionalen Beeinträchtigungen zu unterscheiden (LASA, 1990).

Verschiedene speziesspezifische Veränderungen bei Schmerzen haben HENKE und ERHARDT (2004) in der folgenden Tabelle 4 zusammengefasst.

Tab. 4: Zusammenfassung der wichtigsten speziesspezifischen Veränderungen bei Schmerzen (HENKE und ERHARDT 2004)

Kardiopulmonal	Andere	Verhalten
Herzfrequenz ↑	Mydriasis	Vokalisation
Blutdruck ↑	Salivation	Betrachten bzw. Benagen der schmerzhaften Stelle
Herzarrhythmien	Glucose ↑	Veränderter Gesichtsausdruck
Atemfrequenz ↑		Automutilation
Oberflächliche Atmung		Muskelsteife, Muskelschwäche
Blase Schleimhäute		Ruhelosigkeit
		Bewegungsunlust
		Aggressivität, Ängstlichkeit, Depressivität
		Stumpfsinnigkeit
		Appetitlosigkeit, Stereotypen
		Reduziertes Putzverhalten

Da in der vorliegenden Studie die schmerzhemmende Wirkung des Antidepressivum Mirtazapins bei Ratten getestet wird, sollen nachfolgend die speziellen Schmerzsymptome bei Nagetieren näher erläutert werden.

Verschiedene Autoren haben diese speziesspezifischen Symptome und Verhaltensänderungen bei Ratten genauer beschrieben (SANFORD et al. 1986, ERHARDT 1992, FELASA 1994, HENKE und ERHARDT 2001):

- ungepflegtes, struppiges Haarkleid
- verschmutzte Augeninnenwinkel (sog. Brillenauge durch Hämatoporphyrinpigment der Harderschen Drüse, das durch das reduzierte Pflegeverhalten nicht weggeputzt wird)
- abnormale Körperhaltung (aufgekrümmter Rücken, verspannter Gang, andrücken des Abdomens an den Boden, zusammengekauertes Sitzen)
- hektisches Lecken, Kratzen und Beißen an Schmerzstellen bis hin zur Automutilation
- gestörtes Schlafmuster
- Angegriffenwerden oder Ausgeschlossenwerden durch Käfiggenossen, Isolation
- verringerte Wasser- und Futteraufnahme oder Inappetenz, Gewichtsverlust
- verringerter Harn- und Kotabsatz
- ungewöhnlich aggressives Verhalten während des Handlings

2.1.6 Schmerzbekämpfung, Analgetika und ihre Eigenschaften

Laut SAGER (1997) hat der Tierarzt mit seinem Beruf eine ethische Verpflichtung übernommen, die in der Linderung von Krankheiten und Schmerzen beim Tier begründet liegt. HENKE und ERHARDT (2001) sehen die Ziele der Analgesie auch in der Leidensbekämpfung im Sinne des Tierschutzes.

ERHARDT et al. (2004) definieren die Ziele der Analgesie nach physiologischen Gesichtspunkten, indem man nicht die komplette Ausschaltung des Schmerzes, sondern seine Linderung, ohne den Patienten zu sedieren, anstrebt. Die Hemmung des Schmerzempfindens erfolgt demnach durch Unterbrechung der Nozizeption an einem oder mehreren Punkten zwischen Nozizeptor und Kortex.

Analgetika können die Aktivierung des Schmerzrezeptors, die Transmission der Schmerzimpulse über afferente Neurone sowie die Schmerzverarbeitung in Rückenmark und Gehirn unterbrechen bzw. hemmen (FREY und LÖSCHER, 2002).

Der Einsatz von Analgetika kann aus folgenden Gründen nötig sein:

- prä-, intra- und postoperativ, vor dem Auftreten zu erwartender Schmerzen (präemptiv)
- nach dem Auftreten von akuten Schmerzen
- als Langzeitbehandlung bei chronischen Schmerzen (HENKE und ERHARDT, 2001).

Der Einsatz von Schmerzmitteln sollte auch beim Tier nach Bedarf erfolgen, was allerdings nicht „so wenig wie möglich“ bedeuten darf (HENKE und ERHARDT et al., 2004).

Geeignete Analgetika sollten bestimmte Kriterien erfüllen. So ergibt sich laut ZOHMANN (1998) folgendes „Anforderungsprofil“:

Tab.5: Allgemeine Kriterien zur Auswahl von Analgetika (ZOHMANN, 1998)

	Akuter Schmerz	Chronischer Schmerz
Sedierung	Erwünscht	Meist unerwünscht
Wirkdauer	2-6 Stunden	Möglichst lange
Zeitplan	Nach Bedarf	Regelmäßig
Applikation	Parenteral	Oral
Dosis	Standard	Individuell
Zusatzmedikamentation	Meist unnötig	Häufig sinnvoll

ERHARDT (1992) und HENKE und ERHARDT (2001) stellen an Analgetika die in der Tiermedizin eingesetzt werden, weitere Forderungen:

Tab. 6: Allgemeine Forderungen an Analgetika in der Tiermedizin (HENKE und ERHARDT, 2004)

-	gute zuverlässige schmerzlindernde Wirkung
-	kein oder möglichst geringer sedativer Effekt
-	gute Verträglichkeit in Bezug auf das Neurovegetativum (kein Erbrechen, Durchfall, Krämpfe)
-	Vermeidung einer Drogenabhängigkeit
-	Möglichkeit der parenteralen Applikation zur Initialtherapie
-	Möglichkeit der peroralen Applikation zur Folgetherapie (geschmacksneutral und magenverträglich)
-	Langzeitwirkung (möglichst große Applikationsintervalle)

Einteilung der Analgetika

Analgetika sind Stoffe, die die Schmerzempfindung unterdrücken (LÖSCHER, 2002). HENKE und ERHARDT (2004) unterteilen die verschiedenen Analgetika nach ihrem Wirkmechanismus in Opioide, Antipyretika, Nicht steroidale Antiphlogistika und Lokalanästhetika. Dabei werden die Opioide nach ihrem Verhalten am Rezeptor noch weiter unterteilt (HENKE und ERHARDT, 2004).

Tab. 7: Einteilung der Analgetika

<p><u>Opioide</u></p> <p>Opiatagonisten Bsp. Morphin, Levomethadon, Fentanyl</p> <p>Partielle Opiatagonisten Bsp. Buprenorphin</p> <p>Opiat-Agonist-Antagonisten Bsp. Pentazocin</p>	<p><u>Antipyretika</u> Bsp. Metamizol, Acetyl-Salizylsäure</p> <p><u>Nicht steroidale Antiphlogistika</u> Bsp. Meloxicam, Flunixin-Meglumin Carprofen</p> <p><u>Lokalanästhetika</u> Bsp. Lidocain, Mepivacain</p>
---	---

Opioide wirken zentral an Schaltstellen im ZNS. Dabei binden sie an spezifische Rezeptoren im Gehirn, Rückenmark oder im peripheren Entzündungsgebiet. Opioide blockieren präsynaptisch die Ausschüttung von exzitatorischen Neurotransmittern (Serotonin, Substanz P).

Antipyretika wirken sowohl zentral an Schaltzellen des Stammhirns wie auch hemmend auf die periphere Reizübertragung. (ERHARDT 1992, SORGE et al. 1997, HENKE und ERHARDT 2001, LÖSCHER 2002).

Die *Nicht steroidalen Antiphlogistika (NSAIDs)* wirken vor allem peripher, indem sie die Bildung von Entzündungsstoffen, wie Bradykinin oder die Synthese von Prostaglandinen durch Blockierung der Cyclooxygenase hemmen. Dabei scheint für die analgetische Wirkung vor allem die Hemmung der Synthese von PG E₂ eine Rolle zu spielen, das sowohl zentral als auch peripher für die Schmerzempfindung bedeutsam ist (HENKE und ERHARDT2001, LÖSCHER 2002).

Lokalanästhetika wirken durch eine Blockade der Nervenleitung über Na⁺-Kanäle (HENKE und ERHARDT, 2004). HENKE und ERHARDT (2004) empfehlen auch beim Tier eine Kombination von Analgetika der verschiedenen Klassen. Zum einen, um die Einzeldosis zu verringern und die Nebenwirkungen moderat zu halten, zum anderen um eine effizientere Schmerzdämpfung zu erzielen.

Nach LÖSCHER (2002) ist grundsätzlich zu beachten, dass Analgetika nur das Krankheitssymptom Schmerz unterdrücken, nicht aber die Schmerzursache aufheben. Allerdings vertreten HENKE und ERHARDT (2004) die gegensätzliche Meinung, dass z.B. durch Metamizol schmerzhafte Krämpfe behoben werden können oder durch NSAIDs schmerzfördernden Entzündungsstoffe gehemmt werden.

2.2 Das Antidepressivum Mirtazapin

In der vorliegenden Studie wird der Wirkstoff Mirtazapin auf seine analgetische Potenz hin genauer untersucht. Dieser ist in der Humanmedizin als das Antidepressivum Remergil® der Firma Organon, Oberscheißheim, zugelassen. Um die Fragestellung dieser Studie zu erfassen, soll in dem folgenden Abschnitt der Wirkstoff genauer erläutert und seine Stellung in der Pharmakologie beschrieben werden.

2.2.1 Einteilung der Antidepressiva und Stellung des Mirtazapins

Die ersten Antidepressiva wurden in den 50er Jahren entdeckt und ab 1960 in der Humanmedizin eingesetzt. Erst seit einigen Jahren sind Antidepressiva auch für den Hund zugelassen, wie z.B. Clomipramin und Selegilin (EBERT et al., 2002).

Doch was sind Antidepressiva überhaupt? Sie gehören pharmakologisch gesehen zu den Psychopharmaka, deren Hauptwirkung und Zweckbestimmung in der Abschwächung psychopathologischer Symptome liegt. Das Hauptindikationsgebiet geht aus dem Namen hervor (GÖTHERT et al., 2001).

ZIMMERMANN (2000b) beschreibt, dass bei Menschen mit Depressionen ein Ungleichgewicht der Botenstoffe (z. B. Serotonin, Noradrenalin oder Dopamin) im Gehirn vorliegt. Antidepressiva greifen in die verschiedenen Botenstoffsysteme ein und sorgen so dafür, dass diese länger an ihren Wirkorten zur Verfügung stehen.

Tab. 8: Einteilung der Antidepressiva (modifiziert nach GÖTHERT 2001 und KELLER 2004)

<u>Gruppe</u>	<u>Substanz</u>	<u>Wirkmechanismus</u>
Tricyclische Antidepressiva		
Bsp.	Amitriptylin Clomipramin Imipramin Nortriptylin	x hemmen die neuronale Wiederaufnahme der Neurotransmitter Serotonin und Noradrenalin x sind stimmungsaufhellend, aktivierend und mildern Angst und Unruhe
Nicht-tricyclische Antidepressiva		
Selektive Serotonin-Rückaufnahme-Inhibitoren (SSRI)		
Bsp.	Citalopram Sertalin Fluoxetin Paroxetin	x hemmen spezifisch die Serotonin-Wiederaufnahme x wirken stimmungsaufhellend und antriebssteigernd
Selektiver Noradrenalin-Rückaufnahme-Inhibitor (SNRI)		
Bsp.	Reboxetin Viloxazin	x verhindern gezielt die Wiederaufnahme von Noradrenalin x antriebssteigernd, führt zur besseren Bewältigung des Alltages
Selektiver Serotonin-Noradrenalin-Rückaufnahme-Inhibitor (SSNRI)		
Bsp.	Venlafloxin	x hemmt gezielt die Wiederaufnahme von Serotonin und Noradrenalin x wirkt stimmungsaufhellend
Monoaminoxidase-Inhibitoren (MAO-Hemmer)		
Bsp.	Moclobemid Tranylcypromin	x hemmen das Enzym Monoaminoxidase, dadurch werden Neurotransmitter schlechter/ langsamer abgebaut x antriebssteigernd und stimmungsaufhellend
Noradrenerges und spezifisch Serotonerges Antidepressivum (NaSSA)		
Bsp.	<u>Mirtazapin</u>	x blockiert α_2 -Adrenozeptoren => Steigerung der noradrenergen Transmission x aktiviert 5-HT 1-, blockiert 5-HT 2- und 5-HT 3- Rezeptoren x stimmungsaufhellend, angstlösend, schlaffördernd

Einteilung der Antidepressiva

EBERT et al. (2002) unterteilt die Antidepressiva in tricyclisch und nicht-tricyclisch, ZIMMERMANN (2000b) hingegen in klassisch und modern. Grundsätzlich lassen sich alle Antidepressiva nach ihrer chemischen Struktur, bzw. nach ihrem Wirkmechanismus einteilen. Diesem Prinzip folgen die meisten Autoren. So lässt sich nach DE BOER et al. (1995), REINBOLD (1998), GÖTHERT et al. (2001), EBERT et al. (2002) und KELLER (2004) die in Tabelle 7 gezeigte Einteilung vornehmen.

Aus dieser Einteilung der Antidepressiva geht deutlich hervor, dass der Wirkstoff Mirtazapin eine Sonderstellung einnimmt. Der Wirkstoff ist seit 1996 als Antidepressivum auf dem deutschen Markt (LAUX et al., 2001). Mirtazapin wirkt dual, also auf zwei verschiedene Arten auf die Neurotransmitter ein (FALKEI, 1999). Es erhöht die noradrenerge und serotonerge Transmission (siehe dazu auch Kapitel 2.1.4) und wird daher als Noradrenerges und Spezifisch Serotonerges Antidepressivum (NaSSA) bezeichnet (ORGANON, 2003).

2.2.2 Rezeptor-Physiologie

Um den Wirkmechanismus des Mirtazapins besser zu verstehen, soll im folgenden Abschnitt Kurz auf die verschiedenen Rezeptoren eingegangen werden.

Prinzipiell sind Rezeptoren nichts anderes als Proteine, die entweder als integrale Membranproteine, als zytoplasmatische Proteine oder als Kernproteine vorliegen können. Sobald ein Neurotransmitter (siehe Kapitel 2.1.4) sich an einen Rezeptor bindet, löst dieser Komplex die Bildung eines intrazellulären Signalmoleküls aus (Signaltransduktion) (LÖFFLER, 1998).

Diese Signalmoleküle können eine stimulierende (exzitatorische) oder eine hemmende (inhibitorische) Reaktion auslösen (LÖFFLER, 1998).

Da Mirtazapin auf das noradrenerge und serotonerge System einwirkt, sollen diese speziellen Rezeptoren besprochen werden (ORGANON, 2003).

α -Adrenorezeptoren

Adrenorezeptoren vermitteln die Wirkung von Noradrenalin und Adrenalin. Nach pharmakologischen Kriterien lassen sich diese Rezeptoren in α - und β - Adrenorezeptoren unterteilen (LÖSCHER, 2002). Nach ihren Aminosäuresequenzen lassen sich weitere Unterteilungen in α_1 , α_2 und β_1 , β_2 , β_3 vornehmen (STARKE, 2001).

α_1 -Adrenozeptor

α_1 -Adrenozeptoren kommen in hoher Dichte im ZNS, im sympathisch innervierten Gewebe, insbesondere im kardiovaskulären System, im Urogenitaltrakt und der Leber vor. Dort sitzen sie an glatten Muskelzellen und vermitteln bei Aktivierung deren Kontraktion und somit z.B. eine Blutdrucksteigerung oder ein Harnverhalten (DOCHERTY 1998, GUIMRAES und MOURA 2001, STARKE et al. 2001). α_1 -Adrenozeptoren sind immer postsynaptisch lokalisiert (LÖSCHER et al., 2002).

α_2 -Adrenozeptor

α_2 -Adrenozeptoren sind in großer Anzahl sowohl prä- als auch postsynaptisch im ZNS und peripheren Nervensystem angesiedelt. Im ZNS führt eine Aktivierung dieser Rezeptoren zu inhibitorischen Effekten: Hemmung der Transmitterfreisetzung, Analgesie, zentrale Blutdrucksenkung und Hypothermie. Kurz gesagt bewirkt ihre Aktivierung eine Dämpfung des Sympathikotonus (DOCHERTY 1998, GUIMARAES und MOURA 2001, STARKE 2001).

Präsynaptische Rezeptoren dienen der Kontrolle der Transmitterfreisetzung an der Synapse. Je nachdem ob derselbe oder ein weiterer Transmitter als Ligand dient, spricht man von Auto- oder Heterorezeptoren. Autorezeptoren haben meist eine hemmende Funktion; Heterorezeptoren können sowohl hemmend als auch aktivierend sein (ROSENZWEIG 1998, LÖSCHER 2002).

5-HT- (serotonerge) Rezeptoren

Serotonin (5-Hydroxytryptamin) übt seine Wirkung durch Bindung an verschiedene Zellmembranrezeptoren aus, die sowohl im ZNS (Neurone, Gliazellen) als auch im peripheren Gewebe (glatte Muskulatur, Epithelzellen) zu finden sind (PETRIDES et al. 1998,

GÖTHERT et al. 2001). Mittlerweile können pharmakologisch ca. 15 verschiedene Rezeptor-Typen unterschieden werden (GÖTHERT et al. 2001, LOGRANO und ROMANO 2003). Die die durch Mirtazapin aktivierten oder geblockten Rezeptoren sollen nachfolgend kurz erläutert werden:

5-HT_{1A}-Rezeptor

Eine Aktivierung dieser Rezeptoren im Hirnstamm führt zu inhibitorischen Effekten (GÖTHERT et al., 2001). So kann es durch Relaxation der glatten Muskulatur zu einer Blutdrucksenkung und Anxiolyse kommen (PETRIDES 1998, KELLER und PINDER 2000, GÖTHERT et al. 2001).

5-HT₂-Rezeptor

Diese Rezeptoren sind in nahezu allen Organen vorhanden und bewirken bei Stimulierung eine Kontraktion der glatten Muskulatur. Eine Blockade (z.B. durch LSD) hat psychotrope Wirkungen (PETRIDES 1998, GÖTHERT et al. 2001). Einzelne Arbeiten vermuten über ihre Blockade einen analgetischen Effekt (BLIER, 2001).

5-HT₃-Rezeptor

5-HT₃-Rezeptoren kommen in der Area postrema (an das Brechzentrum im ZNS gekoppelt) vor, dadurch kommt es bei Aktivierung zu Übelkeit und Erbrechen. Auch sollen diese Rezeptoren an der Entstehung von Schmerzen und Angst beteiligt sein (PETRIDES et al. 1998, GÖTHERT et al. 2001).

2.2.3 Pharmakodynamik von Mirtazapin

Mirtazapin ist ein weißes bis leicht cremefarbenes kristallines Pulver, das in Methanol, Chloroform und NaCl löslich ist (ORGANON, 2003). Gelöst reagiert es basisch und lipophil (DODD et al., 2000). Der chemische Name lautet nach DODD et al. (2000):

1,2,3,4,10,14 b-hexahydro-2-methylpyrazinol(2,1-a)pyrido(2,3-c)benzazepine und hat folgende Strukturformel:

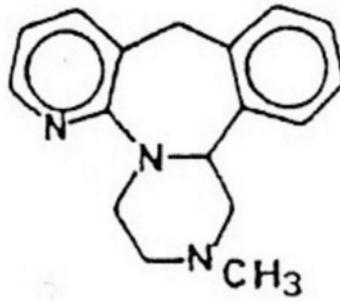


Abb. 2: Strukturformel Mirtazapin (DE BOER et al., 1988)

Der Wirkstoff ist als Remergil® (Organon, Oberschleißheim) zugelassen und derzeit als Antidepressivum bei mehr als 13 Millionen Menschen weltweit verordnet. Die Darreichungsformen reichen von einem Konzentrat über eine wässrige Lösung bis hin zur Schmelztablette (ORGANON, 2003).

Mirtazapin liegt wie die meisten Arzneimittel als ein 50:50 Gemisch aus S(+)- und R(-)-Enantiomeren, als sog. Razemat vor, wobei beide Enantiomere gemeinsam für die Wirkung des Razemats verantwortlich sind. Einzeln betrachtet jedoch greifen beide Enantiomere an unterschiedlichen Strukturen im Körper an (MC GARTH et al. 1998, DODD et al. 2000). (Darauf wird am Ende des Kapitels näher eingegangen.)

Der Wirkmechanismus dieses Antidepressivums unterscheidet sich laut DODD et al. (2000) von den handelsüblichen Antidepressiva. Mirtazapin greift an zwei Stellen in die Neurotransmission ein, es wirkt dual.

Es ist das erste zugelassene noradrenerge und spezifisch serotonerge Antidepressivum weltweit. Es erhöht die noradrenerge und serotonerge Transmission, wodurch dem Körper mehr Noradrenalin und Serotonin zur Verfügung steht (ORGANON, 2003).

Mirtazapin blockiert die präsynaptischen α_2 -Autorezeptoren, die die noradrenerge Neurotransmission kontrollieren. Sie hemmen bei Aktivierung Physiologischerweise die weitere Ausschüttung von Noradrenalin in den synaptischen Spalt. Mirtazapin verhindert durch die Blockade ein negatives Feedback auf die Freisetzung (KELLER, 2004). Dadurch wird die Freisetzung von Noradrenalin erhöht und damit die Transmission nachfolgend gesteigert (DE BOER et al. 1995, MILLAN et al. 2000, KELLER und PINDER 2000).

Laut ORGANON (2003) soll dieser Mechanismus teilweise für die starke antidepressive Wirksamkeit verantwortlich sein.

Die Steigerung der serotonergen Transmission erfolgt durch zwei Mechanismen:

Normalerweise führt eine noradrenerge Stimulation der α_2 -Heterorezeptoren, die an den 5-HT-Endigungen sitzen, zu einer Hemmung der Serotonin-Freisetzung. Da Mirtazapin diese Rezeptoren blockiert, verhindert es den inhibitorischen Effekt von Noradrenalin. Gleichzeitig bewirkt der erhöhte Noradrenalin-Spiegel eine höhere Impulsfrequenz der 5-HT-Neurone und damit eine gesteigerte Serotonin-Freisetzung in den synaptischen Spalt (DE BOER et al. 1995, KELLER und PINDER 2000, MILLAN et al. 2000, ORGANON 2003).

ORGANON (2003) beschreibt des Weiteren, dass durch die Blockade der 5-HT₂- und 5-HT₃-Rezeptoren das vermehrt freigesetzte Serotonin hauptsächlich über den 5-HT_{1A}-Rezeptor wirkt.

In der Tabelle 8 werden die Angriffspunkte des Mirtazapins kurz verdeutlicht.

Aus der Tabelle geht ebenfalls hervor, dass Mirtazapin auch zu anderen Rezeptoren eine Affinität besitzt.

So besitzt der Wirkstoff eine geringe Affinität zu α_1 -Adrenozeptoren, wodurch es zu typischen Nebenwirkungen wie orthostatischem Blutdruckabfall oder einer verstärkten Müdigkeit (Sedation) kommen kann (ORGANON, 2003).

Diese Nebenwirkungen treten allerdings relativ selten auf, da Mirtazapin eine 30x höhere Affinität zu den präsynaptischen α_2 -Autorezeptoren aufweist (DE BOER et al., 1995).

Eine durchaus stärkere Affinität besitzt Mirtazapin zu Histamin-Rezeptoren (SCHREIBER et al, 2002a). Diese Rezeptoren verursachen Nebenwirkungen wie Sedierung, Schläfrigkeit und Gewichtszunahme. Trotzdem ist das Ausmaß der Sedierung geringer, als durch das pharmakologische Profil zu erwarten wäre und geringer als bei vielen Tricyclischen Antidepressiva. Das lässt sich zum einen durch einen gewissen Gewöhnungseffekt, zum anderen durch die aktivierende Wirkung der vermehrten Noradrenalin-Freisetzung erklären (SCHREIBER et al. 2002b, ORGANON 2003).

Tab. 9: Übersicht über pharmakologische Wirkmechanismen von Remergil® (ORGANON, 2003)

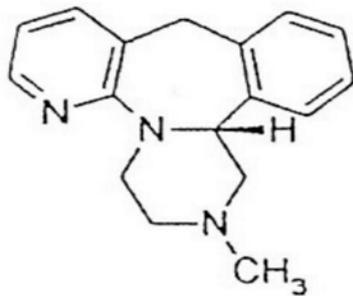
Rezeptor	Remergil®- Wirkung am Rezeptor	Konsequenz für die Neurotransmission	Klinische Auswirkung
<u>α₂-Auto- rezeptor</u>	<i>Blockade</i>	noradrenerge Transmission erhöht	antidepressive Wirkung
<u>α₁-Adreno- rezeptor</u>	<i>sehr schwache Blockade</i>	gering	NW (orthostatische Hypotonie, Reflex tachykardie, Schwindel) selten
<u>α₂-Hetero- rezeptor</u>	<i>Blockade</i>	serotonerge 5-HT_{1A}- Transmission erhöht	antidepressive Wirkung
<u>5-HT_{1A}- rezeptor</u>	<i>keine</i>	keine	keine
<u>5-HT₂- rezeptor</u>	<i>Blockade</i>	5-HT ₂ -Transmission vermindert	keine 5-HT ₂ -typischen NW (Schlaflosigkeit, Angst, Agitiertheit)
<u>5-HT₃- rezeptor</u>	<i>Blockade</i>	5-HT ₃ -Transmission vermindert	keine 5-HT ₃ -typischen NW (Überkeit, Erbrechen, Durchfall)
<u>Muscarin- rezeptor</u>	<i>sehr schwache Blockade</i>	gering	anticholinerge NW selten
<u>H₁-Histamin rezeptor</u>	<i>Blockade</i>	verminderte histaminerge Transmission	Schläfrigkeit, Benommenheit, u.U. Gewichtszunahme

SCHREIBER et al. (2002a, 2002b) berichten das Mirtazapin auch ein selektiver δ- und κ-Opioidrezeptor-Agonist ist.

Wie oben bereits kurz erwähnt, liegt jedes Arzneimittel in der Regel chemisch gesehen in zwei Enantiomeren vor, wobei oft eines der beiden Enantiomere mehr die erwünschte Arzneimittelwirkung und das andere Enantiomer mehr die unerwünschten Wirkungen bedingt (ARIENS, 1984).

Auch Mirtazapin liegt als eine sog. optisch aktive Verbindung (Razemat) vor, wobei beide Enantiomere zur pharmakologischen Wirkung beitragen (DE BOER et al., 1995).
Einzel betrachtet scheinen die beiden Enantiomere tatsächlich an unterschiedlichen Lokalisationen zu wirken. So beschreiben DE BOER et al. (1995), dass die Blockade der α_2 -Autorezeptoren und der 5-HT₂-Rezeptoren durch das S(+)-Enantiomer bedingt ist. Das R(-)-Enantiomer hingegen verursacht die Blockade der α_2 -Heterorezeptoren und der 5-HT₃-Rezeptoren.

R(-)-Mirtazapin



S(+)-Mirtazapin

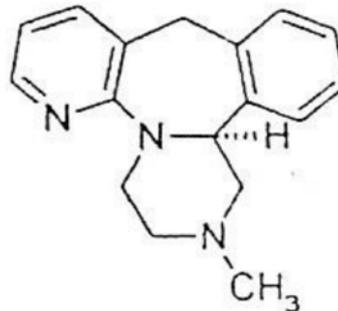


Abb. 3: Strukturformel der Enantiomere von Mirtazapin

Pharmakologisch betrachtet, verhalten sich beide Enantiomere laut DE BOER et al. (1988), an den Rezeptoren ähnlich. Allerdings scheint das S(+)-Enantiomer etwas aktiver zu sein. Auch DODD et al. (2000) bestätigten dass S(+)-Mirtazapin eine stärkere Rezeptoraffinität besitzt.

Allerdings schreiben MC GARTH et al. (1998), dass keines der beiden Enantiomere wirksamer als das Razemat sei.

Die vorliegende Studie soll dazu beitragen, diesen Sachverhalt zu klären.

2.2.4 Pharmakokinetik von Mirtazapin

Mirtazapin kann laut ORGANON (2003) oral als Schmelztablette oder als wässrige Lösung, aber auch i.v. als Konzentrat angewendet werden. Zu wissenschaftlichen Zwecken wird der Wirkstoff Versuchstieren i.p., aber auch i.t. verabreicht (SCHREIBER et al., 2002a und 2002b).

Nach oraler Gabe ist in Maus oder Ratte der maximale Plasmaspiegel nach ca. 2 Stunden erreicht (DODD et al., 2000). Wobei die Bioverfügbarkeit bei ca. 50% liegt (KELDER et al., 1997). Ein Steady State wird allerdings erst nach vier Tagen erreicht. Die Plasmaproteinbindung ist unspezifisch, reversibel und beträgt 85% (ORGANON, 2003). DODD et al. (2000) stellen fest, dass bei maximalem Plasmaspiegel der Wirkstoff ungefähr zu 1/3 aus S(+)- und 2/3 aus R(-)-Mirtazapin besteht. Also ist das Razemat in vivo nicht mehr ein 50:50, sondern ein 33:66 Gemisch aus beiden Enantiomeren.

Die Ursache liegt laut DODD et al. (2000) im Abbauweg.

Mirtazapin hat eine Halbwertszeit von 20 bis 40 Stunden und wird überwiegend in der Leber metabolisiert. Die Hauptabbauwege laufen dabei über Demethylierung, Oxidation und Konjugation ab und benötigen verschiedene Leberenzyme (ORGANON, 2003).

Es entstehen zwei Hauptmetabolite, N-Demethylmirtazapin und 8-Hydroxymirtazapin. In geringer Weise scheint auch Demethylmirtazapin pharmakologisch wirksam zu sein (DODD et al., 2000).

DODD et al. (2000) machen die Leberenzyme für die ungleiche Konzentration der Enantiomere verantwortlich. So baut das Enzym CYP2D6 vermehrt S(+)-Mirtazapin ab, CYP3A4 hingegen vermehrt R(-)-Mirtazapin.

Laut KELDER et al. (1997) ist der Wirkstoff nach ein paar Tagen komplett über Urin und Faeces ausgeschieden. 4% der oral verabreichten Dosis werden unverändert ausgeschieden (ORGANON, 2003).

2.2.5 Antinozizeptive Effekt

ORGANON (2003) berichtet, dass in der gängigen Literatur fast übereinstimmend über einen Zusammenhang zwischen chronischen Schmerzen und Depression geschrieben wird. Es wird angegeben, dass Mirtazapin chronische Schmerzzustände unabhängig von der antidepressiven Wirkung lindert.

SCHREIBER et al. (2002a) berichten über antinozizeptive Effekte von verschiedenen Antidepressiva (vor allem bei den Antidepressiva der neueren Generation wie dem Mirtazapin), verweisen aber darauf, dass der genaue Mechanismus der Schmerzhemmung des Mirtazapins noch nicht geklärt ist (siehe Kapitel 2.1.4).

Laut ORGANON (2003) resultiert der antinozizeptive Effekt aus einer Verstärkung der inhibitorischen Wirkung serotonerger und noradrenerger Transmittersysteme auf die Schmerztransmission im spinothalamischen System. Dabei scheint eine besondere Rolle die Blockade der peripheren 5-HT_{2A}-Rezeptoren durch Mirtazapin zu spielen.

Zur Behandlung neuropathischer Schmerzsyndrome werden derzeit neben Opioiden und Antikonvulsiva auch tricyclische Antidepressiva eingesetzt (FREYNHAGEN, 2004). Daher scheint Mirtazapin aufgrund seines dualen Wirkprinzips und der guten Verträglichkeit zur Behandlung neuropathischer Schmerzsyndrome besonders geeignet (FREYNHAGEN und BARON, 2003).

SCHREIBER et al. (2002a, b) haben sich besonders mit dieser These auseinandergesetzt. Im Test mit Mäusen sollte der antinozizeptive Effekt des Mirtazapin bestimmt werden. Dabei zeigte sich tatsächlich eine analgetische Wirkung in einem Dosisbereich von 1mg/kg (20% Analgesie) bis 7,5mg/kg (70% Analgesie). Weiterhin wurde ein starker dosisabhängiger Effekt deutlich, und bei 10mg/kg zeigte sich sogar ein verstärktes Schmerzverhalten der Mäuse. Mirtazapin hat eine sog. biphasische Dosis-Wirkungskurve (SCHREIBER et al., 2002a).

Dieser biphasische Effekt konnte mit Folgestudien belegt werden (SCHREIBER et al., 2002b). In einer Studie wurden auch, durch Opioid-Antagonisten-Gabe, die Wirkung von Mirtazapin auf opioide Rezeptoren bestätigt. Mirtazapin wirkt demnach auf δ - und κ -Opioid Rezeptoren, etwas schwächer auch auf μ -Rezeptoren.

Mittlerweile wurde gezeigt, dass Mirtazapin eine hohe Affinität zum κ_3 -Opioid-Rezeptor besitzt. Sein antinozizeptiver Effekt resultiert aber aus der Kombination der serotonergen und noradrenergen Wirkung und der Beeinflussung des endogenen Opioid-Systems (SCHREIBER et al., 2002a)

3 EIGENE UNTERSUCHUNGEN

3.1 Zielvorstellung

Ziel dieser Studie ist es, die Wirkung des Antidepressivums Mirtazapin und seiner Enantiomere auf akute, durch Hitze induzierte Schmerzen, an Wistar-Ratten zu testen.

Viele Arzneimittel liegen chemisch in zwei Enantiomeren vor, die in ihrer atomaren Zusammensetzung identisch sind, sich jedoch räumlich spiegelbildlich zueinander verhalten. Da die Rezeptoren für Arzneimittel im Körper sehr spezifisch deren räumliche Ausrichtung erfassen, ist es sehr häufig der Fall, dass eines der beiden Enantiomere vor allem für die erwünschte Hauptwirkung eines Arzneimittels verantwortlich ist, während das andere Enantiomer hauptsächlich unerwünschte Arzneimittelwirkungen vermittelt. Für Mirtazapin ist nicht bekannt, ob das Razemat oder eines seiner Enantiomere stärker analgetisch wirkt. Beide Enantiomere sind weltweit nicht offiziell einzeln erhältlich und deshalb kaum untersucht.

Ein ähnliches Versuchsvorhaben, die analgetische Wirkung von Mirtazapin nachzuweisen, wurde bereits an Mäusen durchgeführt. Jedoch wurde dabei nur das Razemat getestet, so dass für Mirtazapin nicht bekannt ist, ob das Razemat oder eines seiner Enantiomere bei Schmerzen stärker analgetisch wirkt

Bei den Mäusen zeigte das Mirtazapin-Razemat im Akutschmerzversuch analgetische Wirkung (SCHREIBER et. al., 2002a und b).

Daher beruht diese Arbeit auf einem ähnlichen Versuchsaufbau:

Die Testung erfolgt hier an Wistar-Ratten. Zunächst wird die basale Hitzeschmerzschwelle ermittelt. Dann erfolgen erneute Testungen nach Applikation von entweder Mirtazapin-Razemat, S(+)- und R(-)-Mirtazapin in verschiedenen Dosisbereichen, intraperitoneal und intrathekal. Dabei wird besonders auf sich zeigende Unterschiede bei den Schmerzschnellen geachtet.

Die zu untersuchenden Substanzen sind verblindet und portioniert, so dass der Untersucher zu keiner Zeit weiß, welche Form des Wirkstoffes die Tiere erhalten. Erst am Ende der Versuchsreihe entblindet man die Proben.

Die Testung der Hitzeschmerzschwelle erfolgt mit einem sog. Plantar Tester, mit dem kontrollierte Hitzereize auf die Hinterpfoten gegeben werden (HARGREAVES et al., 1988) .

Zielvorstellung ist also, im positiven Fall den Nachweis der analgetischen Wirkungsweise des Mirtazapin-Razemats oder eines seiner Enantiomere zu bestätigen. Dabei liegt besonderes Augenmerk auf einer eventuell stärkeren Wirkung eines der beiden Enantiomere. Durch Bestätigung der analgetischen Komponente des Razemates und/oder eines seiner Enantiomere könnten sich neue Möglichkeiten in der Therapie akuter und chronischer Schmerzes bieten.

Entsprechend § 8 des deutschen Tierschutzgesetzes (TierSchG i.d.F. vom 25.05.1998, Bundesministerium für Verbraucherschutz, Ernährung und Landwirtschaft) ist das folgende Tierversuchsvorhaben durch die Regierung von Nordrhein-Westfalen genehmigt.

3.2 Material und Methoden

3.2.1 Versuchstiere

Für den geplanten Versuch werden 41 männliche Wistar-Ratten (Stammbezeichnung: HanTac:WH, Hannover Galas) mit Körpergewichten zwischen 350 und 400 g eingesetzt. Da die Tiere in der Tierversuchsanstalt (TVA) der Universität Düsseldorf gezüchtet werden, entfällt eine Quarantäne und Adaptationszeit.

Sie unterliegen einer ständigen tierärztlichen Kontrolle und standardisierten Haltungsbedingungen.

3.2.2 Haltung und Fütterung

Die Ratten werden während der Vorversuche und der ersten Versuchsphase in Gruppen zu je vier Tieren in Makrolon®-Käfigen Typ IV, während der zweiten Versuchsphase einzeln in Makrolon®-Käfigen Typ III gehalten. Als Einstreu dient in beiden Fällen entstaubtes

Weichholzgranulat (Fa. Rettenmaier & Söhne GmbH u. CoKG, Rosenberg), welches zweimal pro Woche gewechselt wird.

Die Unterbringung erfolgt bei konstantem, geregelter Klima, mit einer Raumtemperatur von 21 bis 24°C und einer relativen Luftfeuchte von 50 bis 60 % im SPF Tierstall der TVA der Universität Düsseldorf. Die Beleuchtung wird automatisch in Form eines 12-stündigen Wechsels zwischen Licht (Intensität 320 Lux) und Dunkelheit geregelt (in den Sommermonaten ist die Dunkelphase von 19-7 Uhr, in den Wintermonaten von 18- 6Uhr).

Den Ratten stehen jederzeit Alleinfutterpellets für Ratten und Mäuse (Ssniff R/M-Haltung, 10mm, Fa. Ssniff Spezialdiäten GmbH, Soest) ad libitum zur Verfügung. Ebenfalls ad libitum haben die Tiere Zugang zu entkeimtem (ozonisiertes, mit HCL angesäuertem) Wasser, mit einem pH- Wert von 2,6- 3,0.

3.2.3 Pharmaka und Dosierung

Bei den in dieser Studie zu untersuchenden Pharmaka, handelt es sich einmal um den Wirkstoff Mirtazapin (chemischer Name: 1, 2, 3, 4, 10, 14b-Hexahydro-2-methyl-pyrazino- [2, 1-a] pyrido [2, 3-c] [2] benzazepin), eingetragen als Remergil® der Firma Organon GmbH, Oberschleißheim; zum anderen um seine Enantiomere R(-)-Mirtazapin und S(+)-Mirtazapin. Beide Wirkstoffe sind noch nicht im Handel.

Die Dosierung wurde, abgeleitet von vorherigen wissenschaftlichen Veröffentlichungen (SCHREIBER et. al. 2002a und 2002b) festgelegt und durch die Dosisfindungsversuche verifiziert (Tab. 9).

Die zu untersuchenden Wirkstoffe werden in isotoner NaCl (Isotone Natriumchloridlösung 0,9% Braun, Fa. B/Braun Melsungen AG, Melsungen) das neben Lösungssubstanz auch als Trägersubstanz fungiert, gelöst. Als Placebo wird NaCl zur Kontrolle der Wirksamkeit von Mirtazapin auf akute Schmerzen benutzt.

EIGENE UNTERSUCHUNGEN

Tab. 10: Verwendete Wirkstoffe und deren Dosierung

Wirkstoff	Konzentration	Dosierung	Applikation	verwendet in Versuchsphase:
<u>Mirtazapin-Razemat</u>	10 mg / ml	15 mg / kg	i.p.	Vorversuch/Dosisfindung
		10 mg / kg	i.p.	Vorversuch/Dosisfindung
		7,5 mg / kg	i.p.	Vorversuch/Dosisfindung
		5 mg / kg	i.p. / i.t.	Vorversuch, 1.+2.Hauptversuch
		2,5 mg / kg	i.p. / i.t.	Vorversuch, 1.+2.Hauptversuch
		1mg / kg	i.p. / i.t.	Vorversuch, 1.+2.Hauptversuch
		0,1mg / kg	i.p. / i.t.	Vorversuch, 1.+2.Hauptversuch
		0,01mg / kg	i.p. / i.t.	Vorversuch, 1.+2.Hauptversuch
		0,001mg / kg	i.t.	2.Hauptversuch
<u>R(-)-Mirtazapin</u>	10 mg / ml	15 mg / kg	i.p.	Vorversuch/Dosisfindung
		10 mg / kg	i.p.	Vorversuch/Dosisfindung
		7,5 mg / kg	i.p.	Vorversuch/Dosisfindung
		5 mg / kg	i.p. / i.t.	Vorversuch, 1.+2.Hauptversuch
		2,5 mg / kg	i.p. / i.t.	Vorversuch, 1.+2.Hauptversuch
		1mg / kg	i.p. / i.t.	Vorversuch, 1.+2.Hauptversuch
		0,1mg / kg	i.p. / i.t.	Vorversuch, 1.+2.Hauptversuch
		0,01mg / kg	i.p. / i.t.	Vorversuch, 1.+2.Hauptversuch
		0,001mg / kg	i.t.	2.Hauptversuch
<u>S(+)-Mirtazapin</u>	10 mg / ml	15 mg / kg	i.p.	Vorversuch/Dosisfindung
		10 mg / kg	i.p.	Vorversuch/Dosisfindung
		7,5 mg / kg	i.p.	Vorversuch/Dosisfindung
		5 mg / kg	i.p. / i.t.	Vorversuch, 1.+2.Hauptversuch
		2,5 mg / kg	i.p. / i.t.	Vorversuch, 1.+2.Hauptversuch
		1mg / kg	i.p. / i.t.	Vorversuch, 1.+2.Hauptversuch
		0,1mg / kg	i.p. / i.t.	Vorversuch, 1.+2.Hauptversuch
		0,01mg / kg	i.p. / i.t.	Vorversuch, 1.+2.Hauptversuch
		0,001mg / kg	i.t.	2.Hauptversuch

mg/kg = Milligramm pro Milliliter, i.p. = intraperitoneal, i.t. = intrathekal

3.2.4 Allgemeiner Versuchsplan

Es soll untersucht werden, ob das Antidepressivum Mirtazapin (Remergil®, Fa. Organon, Oberschleißheim) oder eines seiner beiden Enantiomere eine höhere analgetische Potenz hat. Die dazu durchgeführten Versuche teilen sich wie folgt auf:

1. Vorversuch mit Dosisfindung
2. Erster Hauptversuch mit i.p.- Applikation
3. Zweiter Hauptversuch mit i.t.- Applikation

Dabei laufen in allen drei Versuchsphasen sogenannte Kontrolltiere mit, denen nicht einer der zu testenden Wirkstoffe, sondern isotones NaCl injiziert wird. Dabei erhalten die Kontrolltiere immer unabhängig vom Körpergewicht des einzelnen Tieres, 0,5 ml NaCl i.p.. Die Wirksamkeit der Pharmaka wird mit Hilfe des Plantar Testes ermittelt, wobei die Schmerzschwelle der einzelnen Ratten vor und nach der Applikation getestet wird. Dabei haben alle Tiere zunächst eine 30 bis 60 Minuten lange Eingewöhnungszeit, bevor die erste Schmerzschwelle ermittelt wird. Auch wird der Test immer im selben Raum und unter denselben Bedingungen durchgeführt, so dass die Ratten keinen zusätzlichen Stress erfahren.

Gruppeneinteilung und Anzahl der verwendeten Tiere

Für diese Versuchsreihen werden insgesamt 41 Wistar-Ratten verwendet, wobei jedes Tier maximal viermal getestet wird. Alle Ratten werden sowohl in den Vor- als auch in den Hauptversuchen verwendet. Zwischen den erneuten Testungen eines Tieres liegt ein Mindestzeitraum von vier ganzen Tagen. Die einzelnen Versuchsphasen teilen sich gemäß der folgenden Tabellen auf:

Tab. 11: Anzahl der Testungen im Vorversuch

Dosis mg/ kg	<u>Gruppe Raze</u>	<u>Gruppe S</u>	<u>Gruppe R</u>	<u>Gruppe K</u>
	Razemat	S+	R-	Kontrolle
0,01mg/kg	n = 1	n = 1	n = 1	n = 1
0,1mg/kg	n = 1	n = 1	n = 1	n = 1
1mg/kg	n = 2	n = 2	n = 2	n = 2
2,5mg/kg	n = 1	n = 1	n = 1	n = 1
5mg/kg	n = 1	n = 1	n = 1	n = 1
7,5mg/kg	n = 1	n = 1	n = 1	n = 1
10 mg/kg	n = 1	n = 1	n = 1	n = 1
15mg/kg	n = 1	n = 1	n = 1	n = 1
Versuche insgesamt: 36				

Die Ratten werden immer zu Beginn der Versuche gewogen und einer allgemeinen Untersuchung unterzogen, damit keine kranken Tiere in die Versuchsreihen gelangen. Gleichzeitig wird jedes Tier zufällig einer Medikamentengruppe zugeordnet und entsprechend markiert.

Tab.12: Anzahl der Testungen im Ersten Hauptversuch

Dosis mg/kg	<u>Gruppe Raze</u>	<u>Gruppe S</u>	<u>Gruppe R</u>	<u>Gruppe K</u>
	Razemat	S+	R-	Kontrolle
0,1mg/kg	n = 4	n = 4	n = 4	n = 2
1mg/kg	n = 4	n = 4	n = 4	n = 2
2,5mg/kg	n = 4	n = 4	n = 4	n = 2
5mg/kg	n = 4	n = 4	n = 4	n = 2
Versuche insgesamt: 56				

Die einzelnen Versuchstage laufen immer gleich ab. Nach der Untersuchung und Einteilung in die Medikamentengruppe werden drei Ratten gleichzeitig in den Plantar Tester gesetzt. Zunächst werden alle Tiere vor Wirkstoffapplikation getestet. Nach der Applikation der einzelnen Testsubstanzen beginnt die Schwellenwertermittlung in regelmäßigen, festgesetzten Abständen:

30, 60, 120, 180 und 240 Minuten nach Applikation, die je nach Versuchsphase intraperitoneal oder intrathekal durchgeführt wird.

Tab. 13: Anzahl der Testungen im Zweiten Hauptversuch

Dosis mg/kg	<u>Gruppe Raze</u>	<u>Gruppe S</u>	<u>Gruppe R</u>	<u>Gruppe K</u>
	Razemat	S+	R-	Kontrolle
1mg/kg	n = 6	n = 6	n = 6	n = 4
0,1mg/kg	n = 6	n = 6	n = 6	n = 4
0,01mg/kg	n = 6	n = 6	n = 6	n = 4
0,001mg/kg	n = 6	n = 6	n = 6	n = 4
Versuche insgesamt: 72				

Danach werden die Tiere in ihre Käfige zurückgesetzt und während des ersten Hauptversuches am nächsten Tag, nach 24 Stunden, erneut getestet.

3.2.5 Plantar Tester 7370

Der sogenannte Plantar Tester 7370 (Fa. Ugo Basile, Comerio–Varese, Italien) ermöglicht es, die Wirkung der zu untersuchenden Substanzen standardisiert zu testen. Vom Grundprinzip her handelt es sich bei den hier durchgeführten Tests, um sogenannte „nozizeptive Verhaltensbeobachtungen“, die am wachen, nahezu ungestressten Tier gemacht werden können (GABRIEL et al., 2004). Vorteilhaft ist die Reproduzierbarkeit und die unkomplizierte Durchführung. Auch dass die Versuchstiere keinem Dauerschmerz ausgesetzt sind, sondern sich zu jeder Zeit frei bewegen und so jederzeit dem Hitzeereiz entfliehen können (HARGREAVES et al., 1988), ist ein Vorteil.

Aufbau, Funktionsweise und Einstellungen

Der Plantar Tester besteht im Allgemeinen aus einer erhöht montierten, transparenten Plexiglasplatte, auf der drei ebenfalls durchsichtige Plexiglasboxen, in denen sich die Ratten frei bewegen können, aufgesetzt sind. Die einzelnen Boxen haben Maße von (L) 24 x (H)15 x (B) 19 cm (Fa. Ugo Basile). Die Tiere haben genügend Platz sich artgerecht zu bewegen (s. Abb. 4).

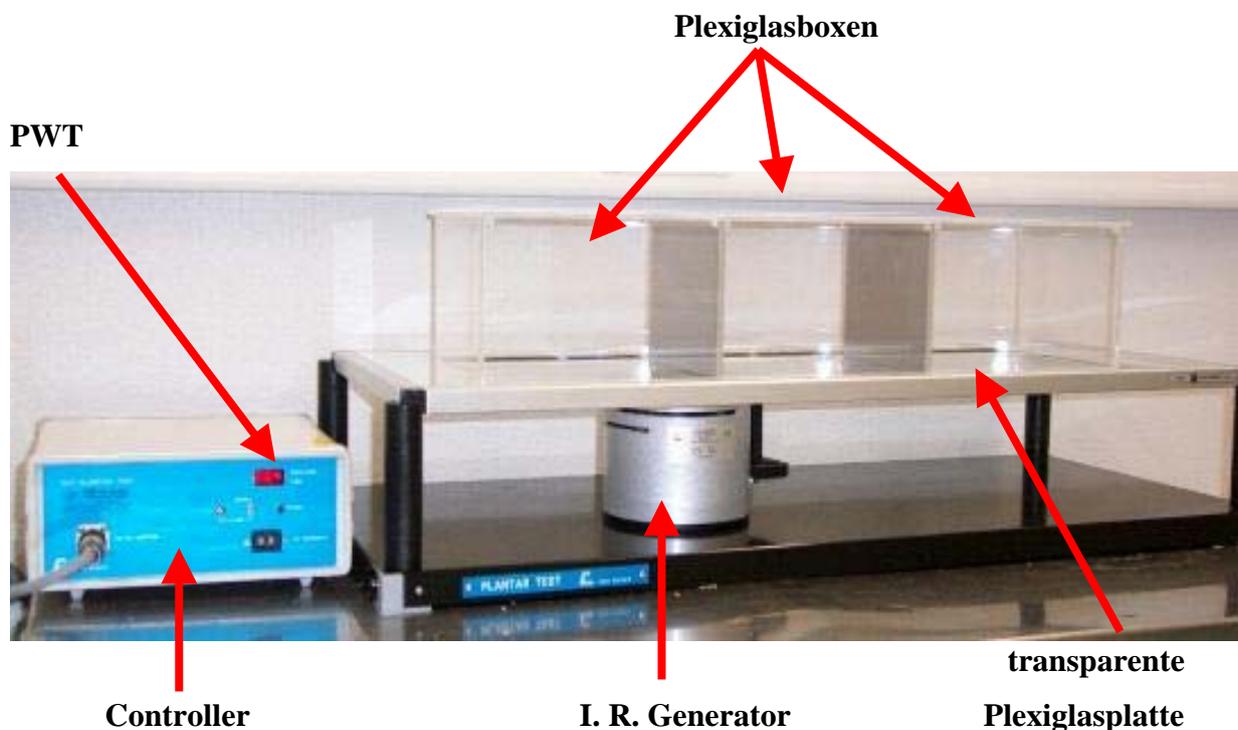


Abb. 4: Plantar Tester

Des Weiteren gehört zu dem Plantar Tester ein mobiler I.R.-Generator, mit dem feine, fokussierte Hitzestrahlen erzeugt werden und ein Controller, über den die Infrarotintensität eingestellt wird sowie die Reaktionszeit abgelesen werden kann (siehe Abb. 4).

Es können bis zu drei Tiere gleichzeitig gemessen werden. Durch den mobilen I.R.-Generator ist es möglich, den Hitzereiz genau auf einen Ballen der zu untersuchenden Hinterpfote der Ratte zu richten.



markierter Austritt des I.R.-Strahls

Abb. 5: Plantar Tester II

Sobald die Ratte ruhig in der Plexiglasbox sitzt, bewegt der Untersucher den Generator unter eine Hinterpfote (s. Abb. 5).

Der beweglich I.R.-Generator hat eine zylindrische Aluminiumhülle, in der eine Halogenleuchte unterhalb eines I.R.-Filters angebracht ist (Abb. 4). Der Infrarotfilter absorbiert das sichtbare Licht. Die verbleibenden Infrarotlichtwellen verlassen gebündelt den Generator über ein spezielles Austrittsfenster. Das Austrittsfenster ist dabei gut sichtbar in ein Fadenkreuz (Abb. 5) eingebettet, wodurch eine genaue Einstellung der Position möglich ist. Die I.R.-Intensität liegt in dieser Studie bei 50 Watt/Sekunde oder Joule. Das ist die Energie die der I.R.-Generator freisetzt, nachdem der Startknopf betätigt wird. In diesem Moment beginnt der Strom, der vorher nur schwach in den Halogenfilamenten verweilt, mit der eingestellten Intensität zu fließen. Dabei benötigt der Strom ca. 0,3 Sekunden. Dadurch wird

an der Hinterpfote des Tieres eine Temperatur von ca. 45 bis 50°C innerhalb von Millisekunden erreicht (Fa. Ugo Basile, Varese, Italien).

Des Weiteren ist in dem Generator ein Sensor eingebaut, der auf eine Unterbrechung der Lichtschranke reagiert. Die Lichtschranke wird genau dann unterbrochen, wenn das Tier die Pfote wegzieht. So erlaubt der eingebaute Sensor eine sehr genaue (in Millisekunden – Schritten) Messung der Latenz bis zum Zurückziehen der Pfote (Pfotenrückzugslatenzzeit, Paw withdrawal threshold, PWT). Sobald das Tier einen Schmerz wahrnimmt und seine Hinterpfote wegzieht, stoppen Sekundenzähler und Hitzereiz automatisch (MALCANGIO et al. 1997, GABRIEL et al., 2004). Zur Vermeidung von Verbrennungen oder sonstigen Gewebeschädigungen wird der Test bei einer PWT von über 20 s automatisch abgebrochen. Mehrere Autoren befürworten eine Eingewöhnungsphase der Tiere. Sinnvoll sei es die Tiere einen Tag vor dem eigentlichen Test (MALCANGIO et al. 1997, GÜHRING et al. 2000), mindestens aber 10 bis 15 Minuten vor der Testung (HUDSON et al. 2002, Fa. Ugo Basile), in die einzelnen Boxen des Plantar Testers zu setzen.



Abb. 6: Plantar Tester III

In der hier vorliegenden Studie werden die Untersuchungsintervalle auf 30, 60, 120, 180 und 240 Minuten nach der Testsubstanzapplikation festgesetzt. Zu jedem Untersuchungszeitpunkt wird die PWT auf jeder Seite jeweils viermal gemessen und schriftlich festgehalten.

3.3 Versuchsdurchführung

3.3.1 Vorversuch

Für den zu untersuchenden Wirkstoff Mirtazapin gibt es keine Dosierungsangaben seitens der Herstellungsfirma Organon zur Schmerzbehandlung. Die Dosisangaben aus vorhergehenden Studien (SCHREIBER et al. 2002a, 2002b) beziehen sich nur auf Mäuse.

Daher werden diese Werte als Richtwerte genommen und in eigenen Untersuchungen an Ratten angepasst.

Zu diesem Zweck werden insgesamt 36 Testungen an insgesamt 16 Wistar-Ratten durchgeführt. Auf diese Weise überprüft man einen Dosisbereich von 15 mg/kg KM bis 0,01 mg/kg KM.

3.3.1.1 Tagesablauf mit Dosisfindung und Applikationsart der Testsubstanzen

Die Versuchstage laufen immer wie folgt ab:

Gegen 8.00 Uhr werden drei oder vier Ratten in einem Makrolon®-Käfig aus dem Tierstall in den Untersuchungsraum, in dem der Plantar Tester steht, gebracht. Dort wird jedes Tier einzeln tierärztlich untersucht, gewogen, zufällig einer Testsubstanz zugeordnet und entsprechend markiert. Dann setzt man die Ratten einzeln in eine der drei Plexiglasboxen des Plantar Testers. Die Tiere erhalten je nach ihrem Verhalten eine Eingewöhnungsphase von 30 bis 60 Minuten.

Meistens kann um ca. 9.00 Uhr mit der Basisschwellenwertermittlung begonnen werden. Das bedeutet, die Ratten zunächst ohne Testsubstanzen zu testen.

Jedes einzelne Tier wird an beiden Hinterpfoten jeweils vier Mal einem fokussierten Infrarotstrahl ausgesetzt und die Zeit bis zum Zurückziehen der Pfote

(Pfotenrückzuglatenzzeit, PWT) gemessen und notiert (SCHREIBER et al. 2002a/b). Durch Mittelung dieser acht Werte erhält man den mittleren Schwellenwert. HANDWERKER (2000) definiert die sogenannte Reizschwelle als kleinste Reizintensität, die bei bestimmter Reizkonfiguration gerade noch eine Empfindung hervorruft

Danach wird jedem einzelnen Tier die vorgesehene Dosis der zu untersuchenden Testsubstanzen intraperitoneal appliziert. Die intraperitoneale Applikationsart für Mirtazapin wurde 2002a/b durch SCHREIBER et al. bereits getestet, so dass sie für die hier vorliegende

Studie ebenfalls verwendet wurde. Die zu testenden Proben werden mit physiologischer NaCl auf 0,5 ml aufgezogen, so dass jedes Tier unabhängig von der Dosis immer dasselbe Volumen erhält.

Die erste Messung nach der Applikation erfolgt, wie oben erwähnt, nach 30 Minuten. Dann nach insgesamt 60, 120, 180 und 240 Minuten und am nächsten Tag nach 24 Stunden. Dabei wird auch jedes Tier viermal an jeder Hinterpfote gemessen und die jeweilige mittlere Pfotenrückzugslatenzzeit errechnet und notiert.

Nach Beendigung der letzten Messung werden alle Ratten wieder zurück in den Tierstall gebracht, wo sie bis zur nächsten Testung verbleiben.

Um nicht unnötig viele Versuchstiere zu verwenden, werden die einzelnen Ratten mehrfach getestet. Zwischen den Messungen liegt eine Zeitspanne von mindestens vier ganzen Tagen. Zum einen, um sicher zu gehen, dass die Substanz vollständig abgebaut ist, zum anderen, um die Tiere nicht zu stressen. Vor jeder erneuten Messung bereits getesteter Ratten steht eine tierärztliche Untersuchung.

Auch stehen die Tiere zwischen den Testtagen unter regelmäßiger Kontrolle des Allgemeinbefindens und der Futter- und Wasseraufnahme.

Nach diesem Prinzip werden insgesamt acht verschiedene Dosen der drei Testsubstanzen gemessen. Danach erfolgt die Erstellung und Auswertung der Dosis–Wirkungskurven, um den endgültigen Dosisbereich für den Versuch festzulegen.

3.3.1.2 Messung der Wirkung der Testsubstanzen und Festlegung der Dosisbereiche

Die Messung der Wirkung der einzelnen Testsubstanzen erfolgt mit Hilfe der durch den Plantar Tester ermittelten Pfotenrückzugslatenzzeit (Angabe in Sekunden). Da jedes Tier vor der Medikamentenapplikation getestet wird, erhält man den physiologischen Schwellenwert, bei dem die einzelnen Tiere den Hitzereiz als deutlich unangenehm, bzw. als schmerzhaft empfinden und die getestete Hinterpfote wegziehen.

Zum besseren Verständnis sind die einzelnen Pfotenrückzugslatenzzeiten, entsprechend der Tabelle 13, durchnummeriert.

Tab.14: Benennung der Pfotenrückzuglatenzzeiten

Physiologische PWT vor der Applikation	==>	1. PWT
PWT 30 min. nach Applikation	==>	2. PWT
PWT 60 min. nach Applikation	==>	3. PWT
PWT 120 min. nach Applikation	==>	4. PWT
PWT 180 min. nach Applikation	==>	5. PWT
PWT 240 min. nach Applikation	==>	6. PWT
PWT 24 Std. nach Applikation	==>	7. PWT

PWT = Pfotenrückzuglatenzzeit

30 Minuten nach der Wirkstoffapplikation werden die Tiere wieder getestet. Die dabei errechneten mittleren PWTs (2. PWT) werden mit den physiologischen mittleren PWTs (1. PWT) verglichen. Wäre die 2. PWT deutlich unter der 1. PWT, bedeutete dies, dass das Tier den gleichen Reiz als stärker, bzw. schmerzhafter empfindet und die Hinterpfote früher zurückzieht. Diese Hyperalgesie wäre auch deutlich in den Dosis-Wirkungskurven zu erkennen. Um endgültige Aussagen für einen Dosisbereich machen zu können, müssen alle ermittelten PWTs mit der 1. PWT verglichen und in Dosis-Wirkungskurven sichtbar gemacht werden.

Wenn die 2. und die folgenden PWTs deutlich über der 1. PWT liegen, reagiert das Tier also erst merklich später auf den gleichen Reiz, es ist also hypoalgetisch.

Die Vergleiche der einzelnen PWT's von beiden Hinterpfoten werden für alle Testsubstanzen gleich durchgeführt.

Am Ende des Vorversuches sind die Dosisbereiche wie folgt festgelegt: 5 mg/kg, 2,5 mg/kg, 1 mg/kg und 0,1 mg/kg für die 1.Hauptversuche und 1mg/kg, 0,1 mg/kg, 0,01 mg/kg und 0,001 mg/kg für die 2. Hauptversuche.

3.3.2 Erster Hauptversuch

Nachdem die Vorversuche abgeschlossen und die Dosisbereiche festgelegt sind, beginnen die eigentlichen Versuchsreihen. Wobei der Tagesablauf während der Versuche identisch ist. Auch wird dieselbe Applikationsform für die Testsubstanzen wie im Vorversuch gewählt, nämlich intraperitoneal.

3.3.1 Ansetzten der Testsubstanzen und deren Verblindung

Um die Messungen zügig durchführen zu können, werden die Testsubstanzen zu Beginn einmal gelöst und portioniert.

Der Wirkstoff Mirtazapin-Razemat, wie auch die beiden Enantiomere liegen in Pulverform vor. Zum einfacheren Dosieren und Abteilen, werden von den drei Grundsubstanzen jeweils Stammlösungen hergestellt. Diese haben eine Konzentration vom 100mg Testsubstanz /10ml NaCl.

Die einzelnen Tagesportionen, in der entsprechenden Dosis, werden nach folgendem Schema aufgeteilt:

Tab. 15: Verwendete Dosis und Menge der Substanzen

Stammlösung	Dosis	verwendete Menge pro 400g Ratte	Anzahl der Proben
100mg/10ml	10 mg/kg	0,4 ml	4
	5 mg/kg	0,2 ml	4
	2,5 mg/kg	0,1 ml	4
	1 mg/kg	0,04 ml	4
	0,1 mg/kg	0,004 ml	4

Um die Stammlösung anzufertigen, werden je 100 mg Mirtazapin-Razemat, R(-)-Mirtazapin und S(+)-Mirtazapin in je 10ml isotone NaCl gelöst. Die so entstandenen Stammlösungen aliquotiert man zu 10 Proben á 1ml und bewahrt sie gekühlt (ca. 7 C°) auf. Dadurch ist

jederzeit eine einfache und schnelle Abmessung bzw. Verdünnung der gewünschten Dosierung und Menge möglich.

Die insgesamt 48 Proben (siehe auch Tabelle 15) werden verblindet.

Das bedeutet, jedes Eppendorf®-Gefäß erhält eine fortlaufende Nummer (1- 48). Der Untersuchende teilt jeder Ratte ein beliebiges Eppendorf®-Gefäß zu, ohne die Dosierung oder die zu testende Substanz zu kennen.

Erst nach der letzten Messung wird die Probezahl durch eine andere Person „entblindet“, so dass die gewonnenen Daten schnell und korrekt zugeordnet werden können.

Tab. 16: Anzahl der Proben insgesamt

Substanz	Dosis	Anzahl der Proben
Razemat	5 mg/kg	4
R(-)-Mirtazapin	5 mg/kg	4
S(+)-Mirtazapin	5 mg/kg	4
Razemat	2,5 mg/kg	4
R(-)-Mirtazapin	2,5 mg/kg	4
S(+)-Mirtazapin	2,5 mg/kg	4
Razemat	1 mg/kg	4
R(-)-Mirtazapin	1 mg/kg	4
S(+)-Mirtazapin	1 mg/kg	4
Razemat	0,1 mg/kg	4
R(-)-Mirtazapin	0,1 mg/kg	4
S(+)-Mirtazapin	0,1 mg/kg	4
Anzahl der Proben insgesamt :		48

3.3.2.2 Applikationsform und verblindete Messung der Wirkung

Wie bereits oben erwähnt, ist die Applikationsform dieselbe wie in den Vorversuchen zur Dosisfindung. Den Tieren werden die zu testenden Substanzen intraperitoneal appliziert und anschließend in den festgesetzten Zeitintervallen gemessen.

Auch die Messung der Wirkung der Testsubstanzen mit Hilfe des Plantar Testers erfolgt exakt wie im bereits beschriebenen Vorversuch.

3.3.3 Zweiter Hauptversuch

In dem zweiten Hauptversuch werden die Messungen durchgeführt, nachdem die zu untersuchenden Testsubstanzen intrathekal appliziert werden. Das bedeutet in der Praxis, dass den Tieren ein intrathekaler (i.t.) Katheter implantiert wird.

Ausschlaggebend bei der Wahl der Applikationsart ist letztendlich die genauere Applikation der Testsubstanzen, die damit verbundene gute Aufnahme und der rasche Wirkungseintritt (MALKMUS und YAKSH, 2004).

Die Messungen selbst folgen demselben Prinzip wie im Vorversuch und im ersten Hauptversuch.

Das bedeutet ca. 7 Tage nach Implantieren des Katheters, werden die einzelnen Tiere wieder in den Untersuchungsraum gebracht, zunächst der physiologische Schwellenwert als Baseline ermittelt und die geplante Probe appliziert. Danach werden nach 120, 240 Minuten sowie nach 24 Stunden erneute Messungen vorgenommen.

In diesem Punkt unterscheidet sich der zweite Hauptversuch etwas von dem ersten:

Bevor die verblindete Messung beginnt, wird eine neue Dosis–Wirkungskurve in Bezug auf die Zeit nach Applikation der Substanz erstellt. So ermittelt man die Zeitpunkte der stärksten Wirkung und legt dadurch den Dosisbereich fest.

Die Zeitpunkte der stärksten Wirkung werden auf 120 bzw. 240 Minuten festgelegt. Zur Kontrolle wird auch nach 24 Std. noch einmal gemessen, damit kein eventuell vorhandener Späteffekt übersehen wird.

Der zu testende Dosisbereich liegt diesmal zwischen 0,001 mg/kg und 1 mg/kg sowohl für das Mirtazapin-Razemat als auch für die beiden Enantiomere.

Auch in dem zweiten Hauptversuch sind die Testsubstanzen nach dem bereits oben genannten Schema portioniert und verbunden. So weiß der Untersucher zu keinem Zeitpunkt, welche Substanz in welcher Dosis er den Tieren verabreicht.

Nach der Portionierung werden die Lösungen zur besseren Haltbarkeit tiefgefroren. Die Chemiker der Firma Organon haben bestätigt, dass sowohl Mirtazapin, als auch seine beiden Enantiomere bei -18°C mindestens 4 Wochen haltbar sind.

3.3.3.1 Intrathekale Katheterisierung

Die Tiere werden vor der Operation gewogen und in die OP-Vorbereitung gebracht. Dort erfolgt eine genauere tierärztliche Untersuchung.

Alle Tiere erhalten, entsprechend ihrem Körpergewicht, eine Ketamin-Xylazin-Narkose. Um eine mittellange Anästhesie zu erreichen, wird eine Dosis von 100mg Ketamin (Ketavet®, Pharmacia GmbH, Erlangen) pro kg Ratte und 5mg Xylazin (Rompun® 2%, Bayer Vital GmbH, Leverkusen) pro kg Ratte appliziert (ERHARDT, 1992; HENKE und ERHARDT, 2004). Für die in der Studie verwendeten Ratten von je ca. 400g ergibt sich folgendes Narkosegemisch: 0,1ml Xylazin plus 0,4ml Ketamin pro 400g Körpergewicht.

Diese Xylazin- Ketamin- Kombination erhalten die Tiere intraperitoneal appliziert.

Nachdem die Flucht-, Stell- und Lidreflexe erloschen sind, erfolgt eine gründliche Rasur und Desinfektion (Dibromol® Tinktur farblos, Fa. Trommsdorf, Trommsdorf) vom Ohransatz bis zur Hälfte des Halses.

Die so vorbereitete narkotisierte Ratte platziert man in den sog. Stereotakter mit Spreizeinrichtung. Der Kopf des Tieres wird so fest eingespannt, dass er nicht verrutschen kann (MALKMUS und YAKSH, 2004). Um unnötige Verletzungen zu vermeiden legt man Mullkompressen zwischen Schädelknochen und „Spanner“.

Nun erfolgt ein transversaler Hautschnitt in der Genickgegend, um die darunter liegenden Muskelpakete freizulegen. Dann wird die Faszie des M. rectus capitis dorsalis major und auch die des M. rectus capitis dorsalis minor vorsichtig durchtrennt. Danach legt man die Membrana atlantooccipitalis über dem gleichnamigen Foramen mit einem scharfen Löffel behutsam frei. Nach einem kleinen, gezielten Stich und setzen eines ca. 6mm langen geraden Schnittes fließt der Liquor cerebrospinalis aus dem intrathekalen Raum, bis der Druckausgleich stattgefunden hat (ZEILHOFER et al. 2000, MUTH-SELBACH et al. 2004). Nun wird der Kopf des Tieres etwas gebeugt, bis der „Eingang“ in den intrathekalen Raum zu sehen ist. Der 13cm lange sterile Katheter (0,28mm x 0,61mm Polyäthylenschlauch, A. Hartenstein GmbH, Würzburg/ Versbach) wird vorsichtig in kaudaler Richtung vorgeschoben. Das Einführen muss leichtgängig und ohne großen Druck durchzuführen sein. Der Katheter sollte ca. 8cm intrathekal liegen (s. Abb. 7) (ZEILHOFER et al. 2000, MUTH-SELBACH et al. 2004).

Der Katheter wird gleichzeitig mit dem Verschluss der Inzision der Membran mit zwei Tropfen Kunststoff-Kleber (Stabiloplast Kunststoff 448, Renfert GmbH, Hilzingen) fixiert und mit dem dazugehörigen Akzelerator ausgehärtet (Stabiloplast Akzelerator No. 448-0002, Renfert GmbH, Hilzingen).

Nun können die Muskeln und die Haut mit Einzelknopfnähten vernäht werden.

Der Katheter muss sorgfältig verschlossen werden, um eine Keimbesiedlung zu vermeiden. Am Besten gelingt das, indem der Katheter mit einem Feuerzeug leicht angeschmolzen und per kräftigen Druck (z.B. durch das Einklemmen in einen Nadelhalter) zusammengepresst wird.

Die Ratte kann zum Aufwachen in ihren Käfig zurückgelegt werden und erhält dann auch ein starkes Analgetikum. In dieser Studie bekommen die Tiere 0,1–0,3 mg/kg Buprenorphin (Temgesic®, Essex Pharma, München) s.c. appliziert.

Nach der Operation unterliegen die Tiere einer genauen Überwachung und Kontrolle des Allgemeinbefindens und des Trink- und Fressverhaltens.

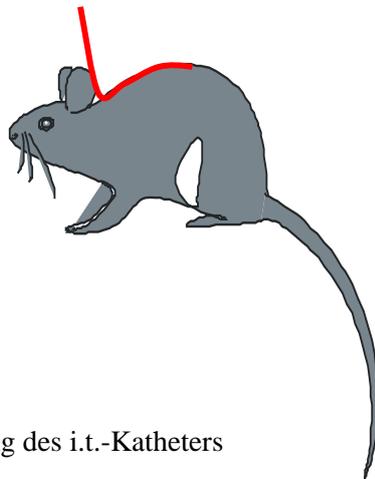


Abb. 7: Schematische Darstellung des i.t.-Katheters

3.3.3.2 Messung der Wirkung der Testsubstanzen

Etwa fünf bis sieben Tage nach Implantieren des Katheters erfolgen die ersten Messungen. Um den Tieren die Testsubstanzen zu applizieren, muss erst der Katheter der jeweiligen Ratte eröffnet werden. Die Substanzen sind genau wie im Vorversuch und im ersten Hauptversuch entsprechend den zu untersuchenden Dosierungen verdünnt, auf ein fixes Volumen (20µl / Tier) aufgefüllt, portioniert und durchnummeriert.

Daher weiß auch in dieser Versuchsphase der Untersucher zu keiner Zeit, welche Substanz in welcher Dosis er den Ratten appliziert.

Tab. 17: Anzahl der Proben insgesamt

Substanz	Dosis	Anzahl der Proben
Razemat	1 mg/kg	6
R(-)-Mirtazapin	1 mg/kg	6
S(+)-Mirtazapin	1 mg/kg	6
Razemat	0,1 mg kg	6
R(-)-Mirtazapin	0,1 mg/kg	6
S(+)-Mirtazapin	0,1 mg/kg	6
Razemat	0,01 mg/kg	6
R(-)-Mirtazapin	0,01 mg/kg	6
S(+)-Mirtazapin	0,01 mg/kg	6
Razemat	0,001 mg/kg	6
R(-)-Mirtazapin	0,001 mg/kg	6
S(+)-Mirtazapin	0,001 mg/kg	6
Anzahl der Proben insgesamt :		72

Die einzelnen Tiere werden nach 120, 240 Minuten sowie nach 24 Stunden erneut gemessen. Die Auswertung und das Erstellen der Dosis-Wirkungskurven erfolgt identisch zu den Vorversuchen.

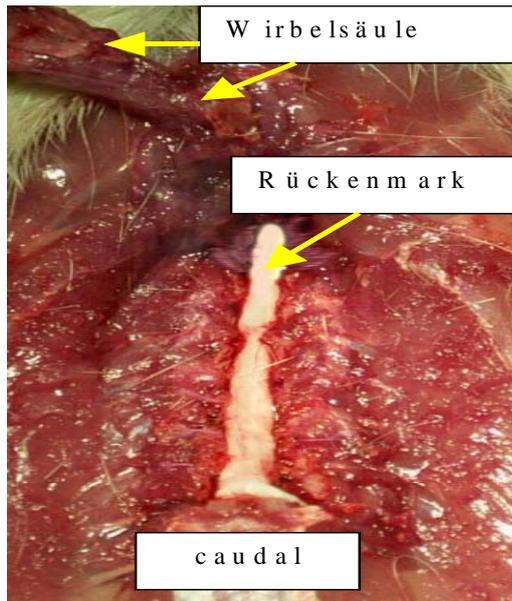
3.3.3.3 Sektion zur Kontrolle der Katheterlage

Nachdem die 72 Testungen erfolgreich abgeschlossen sind, werden Kontrollsektionen an allen Tieren durchgeführt. In diesen Sektionen wird die Lage der intrathekalen Katheter genau überprüft, um Testergebnisse von Tieren, bei denen der Katheter falsch liegt, zu verwerfen. Der Katheter soll bei allen Tieren ca. 8cm intrathekal liegen und keine Strukturen oder kleine Gefäße verletzen. Die Länge der Katheter wird bewusst auf 8cm gesetzt, da dort bei der Ratte ungefähr der N. ischiadicus aus dem Rückenmark austritt. Diese Lokalisation spielt in einer zweiten, sich dieser unmittelbar anschließenden Studie, eine Rolle. In einer nachfolgenden

Dissertation (DRIEHSSEN, in Vorbereitung) sollen die Substanzen in ihrer Wirkung auf chronische Schmerzen getestet werden.

Die Sektion erfolgt in einem von den anderen Tieren getrennten Raum. Dort werden die Tiere durch eine Überdosierung Pentobarbital (Euta 77, Essex Animal Health Friesoythe, Friesoythe), ca. 400mg = 1ml Euta 77 intraperitoneal euthanasiert.

Zur Sektion wird das einzelne Tier enthäutet und in Bauchlage verbracht. Danach präpariert



man vorsichtig mit einem scharfen Skalpell die einzelnen Muskeln entlang der Wirbelsäule ab. Ist die Wirbelsäule vom Hals- bis Lendenbereich freipräpariert, wird die Wirbelsäule zwischen zwei Wirbeln durchtrennt. Am besten erfolgt dies zwischen den letzten Lendenwirbeln. Nun durchtrennt man vorsichtig mit einer kleinen, spitzen Knochenzange die Wirbelbögen (umschließen den Wirbelkanal). Die Wirbelbögen werden soweit durchtrennt, bis die obere Hälfte der Wirbelsäule hochgeklappt werden kann (siehe Abb.8). Danach untersucht man das Rückenmark auf Unversehrtheit oder auf eine vorzeitige Austrittsstelle des Katheters

Abb. 8: Sektionsbeginn

aus dem Rückenmark. Ist das Rückenmark dem Anschein nach unversehrt, wird es vorsichtig losgelöst (bis in Höhe der echten Rippen), angehoben und zur Seite platziert. Danach erfolgt eine Applikation von Methyleneblau gefärbtem Aqua dest. in den Katheter. Dabei soll besonders auf eine Blau-Färbung des umliegenden Gewebes nahe dem Katheterende geachtet werden.

Auf diese Weise zeigt sich deutlich, wo und wie der Katheter endet. Nach diesem Prinzip werden alle katheterisierten Tiere euthanasiert und sezziert. Dabei wird von jedem Tier der Austritt des Katheters fotografisch dokumentiert (siehe Abb.9).

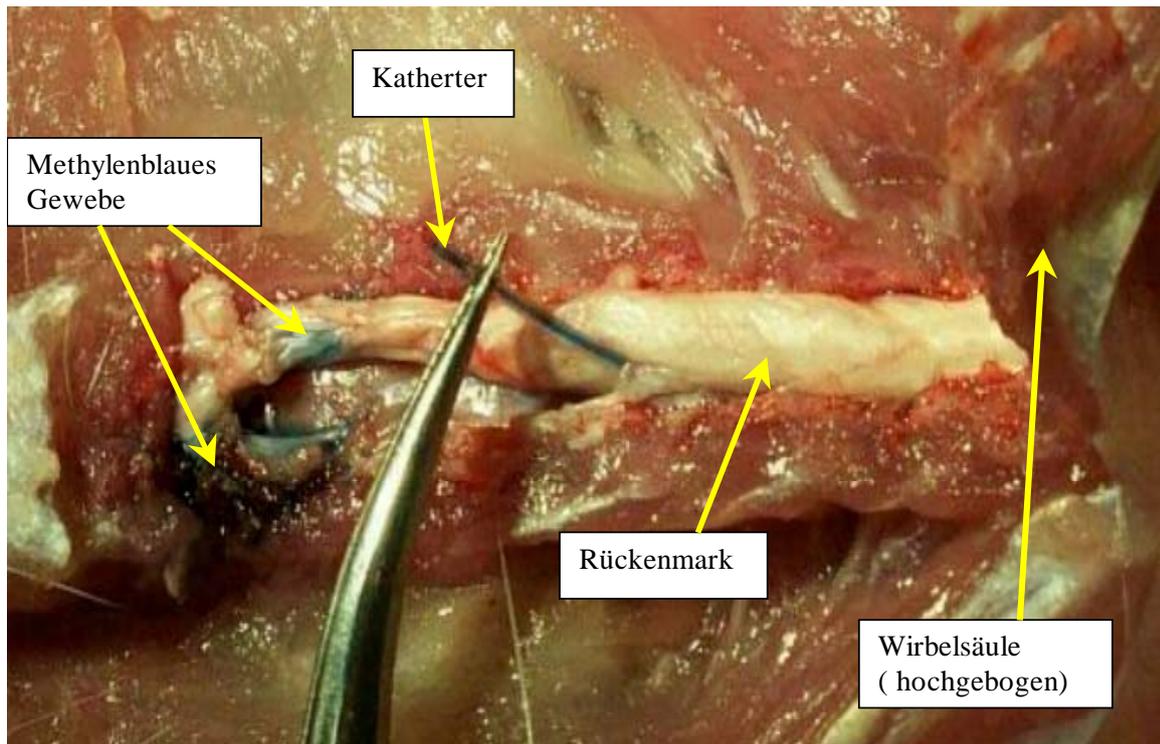


Abb. 9: Katheterlage und Färbung des dem Katheterende benachbarten Gewebe

3.4 Statistische Auswertung

Von den gemessenen Parametern (Pfotenrückzugslatenzzeit, PWT) der Versuche werden die arithmetischen Mittelwerte (m PWT) mit den dazugehörigen Standardfehlern (SEM) berechnet. Weitere Variablen sind die verschiedenen Messzeitpunkte (pA => vor der Applikation, 2 => 2 Stunden nach der Applikation, 4 => 4 Stunden nach der Applikation und 24 => 24 Stunden nach der Applikation) und die unterschiedlichen Substanzen (M => Mirtazapin-Razemat, R- => R(-)-Mirtazapin, S+ => S(+)-Mirtazapin und K => Kontrolle mit physiologischer NaCl).

Die rechnerische Aufbereitung erfolgt mit Hilfe einer Varianzanalyse durch das SAS Software System (SAS 8.2, SAS Institute Inc., Cary, NC, USA). Die unterschiedlichen Substanzen (einschließlich K) werden zu gegebener Dosis (D1 => 5mg/kg bzw. 1mg/kg, D2 => 2,5mg/kg bzw. 0,1mg/kg, D3 => 1mg/kg bzw. 0,01mg/kg und D4 => 0,1mg/kg bzw. 0,001mg/kg) durch einen post hoc t-Test (LSD) spezifiziert.

Das Signifikanzniveau liegt bei $p < 0,05$, wobei $p < 0,001$ als hochsignifikant zu werten ist. Signifikante Unterschiede werden mit „*“, hochsignifikante mit „***“ gekennzeichnet.

3.5 Ergebnisse

3.5.1 Vorversuch

Im Vorversuch werden 36 Testungen an insgesamt 9 männlichen Wistar-Ratten durchgeführt. Dabei testet man Dosisbereiche von 15mg/kg bis 0,1mg/kg. Je Dosis wird ein Tier (n=1) getestet, da in diesem Versuch lediglich die im Hauptversuch zu messenden Dosen im Tierversuch getestet werden sollen. Daher werden diese Ergebnisse auch nicht statistisch verifiziert, sondern nur deskriptiv wiedergegeben.

0,1mg / kg

Das Tier der Gruppe Raze (Mirtazapin-Razemat) hat eine physiologische Pftotenrückzuglatenzzeit von 7,3s. 120 Minuten nach der i.p.-Applikation hat das Tier eine PWT von 7,5s, nach 240 Minuten von 8,5s und nach 24 Stunden von 6,6s. Diese Werte verändern sich nicht merklich zueinander.

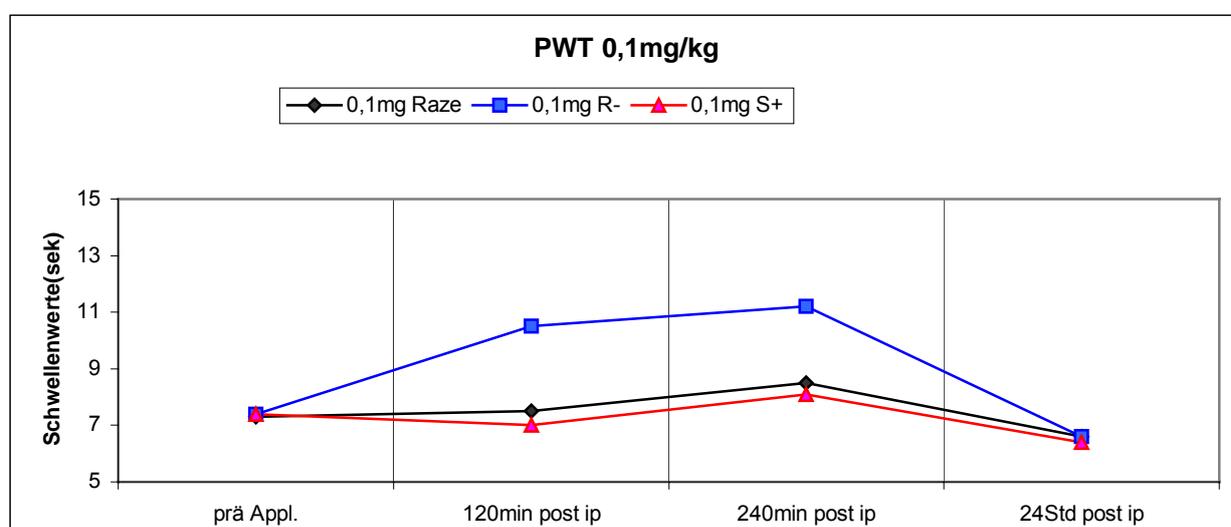


Abb. 10: Die Pftotenrückzuglatenzzeit (PWT) bei einer Dosierung von 0,1mg/kg (n=1)

Die Ratte der Gruppe R (R(-)-Mirtazapin) zeigt eine physiologische PWT von 7,4s. 120 Minuten nach der i.p.-Applikation hat die Ratte eine PWT von 10,5s, nach 240 Minuten von 11,2s und nach 24 Stunden von 6,6s. Bei dem Tier der Gruppe S (S(+)-Mirtazapin) liegt die PWT bei 7,4s, nach 120 Minuten bei 7,0s, nach 240 Minuten bei 8,1s und nach 24 Stunden bei 6,4s. Diese Werte verändern sich nicht merklich untereinander.

1mg / kg

Bei der Dosierung 1mg/kg hat das Tier der Gruppe Raze (Mirtazapin-Razemat) eine physiologische Pfortenrückzuglatenzzeit von 7,5s. 120 Minuten nach i.p.-Applikation zeigt das Tier eine PWT von 6,8s, nach 240 Minuten von 7,6s und nach 24 Stunden von 8,9s. Diese Werte verändern sich nicht merklich zu einander.

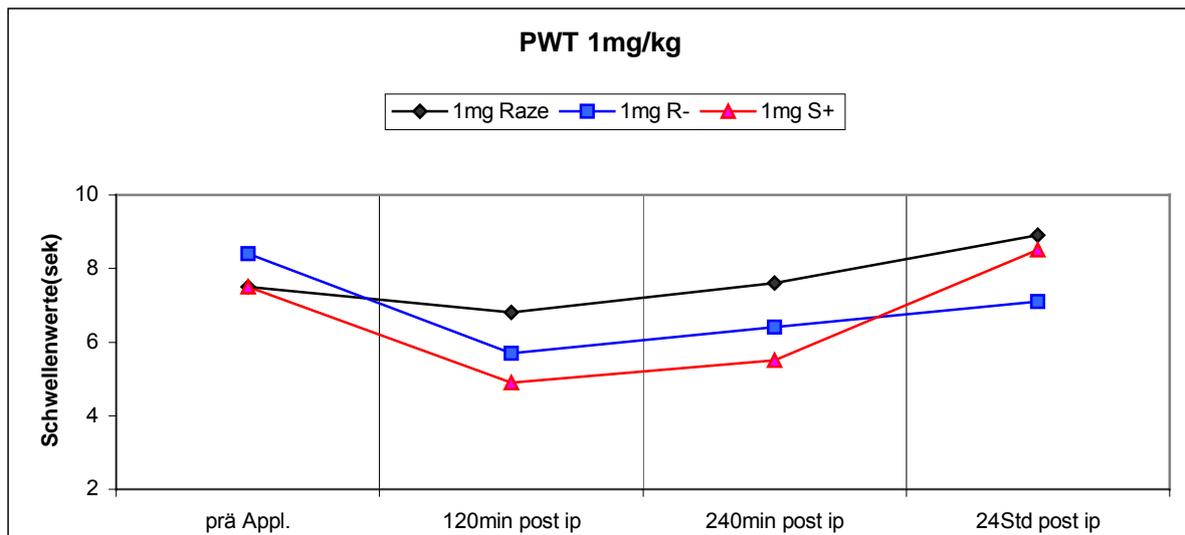


Abb. 11: Die Pfortenrückzuglatenzzeit (PWT) bei einer Dosierung von 1mg/kg (n=1)

Die Ratte der Gruppe R (R(-)-Mirtazapin) zeigt eine physiologische PWT von 8,4s. 120 Minuten nach der i.p.-Applikation hat die Ratte eine PWT von 5,7s, nach 240 Minuten von 6,7s und nach 24 Stunden von 7,1s.

Bei dem Tier der Gruppe S (S(+)-Mirtazapin) liegt die PWT bei 7,4s. Nach 120 Minuten hat das Tier eine PWT von 4,9s, nach 240 Minuten von 5,5s und nach 24 Stunden von 8,5s. Diese Werte verändern sich untereinander.

2,5mg / kg

Das Tier der Gruppe Raze (Mirtazapin-Razemat) zeigt eine physiologische Pfortenrückzuglatenzzeit von 8,5s. 120 Minuten nach i.p.-Applikation hat das Tier eine PWT von 7,1s, nach 240 Minuten von 8,4s und nach 24 Stunden von 7,9s. Diese Werte verändern sich nicht merklich zu einander. Das Tier scheint bereits nach 40 Minuten ruhiger (sedierte) zu sein, zieht aber bei der 2. Messung (nach 120 Minuten) ruckartig die Hinterpfoten weg und

beleckt sie. Ungefähr ab diesem Zeitpunkt zeigt das Tier krampfartige Muskelzuckungen der Hinterbeine (Myoklonie), die nach ca. 200 Minuten nachlassen.

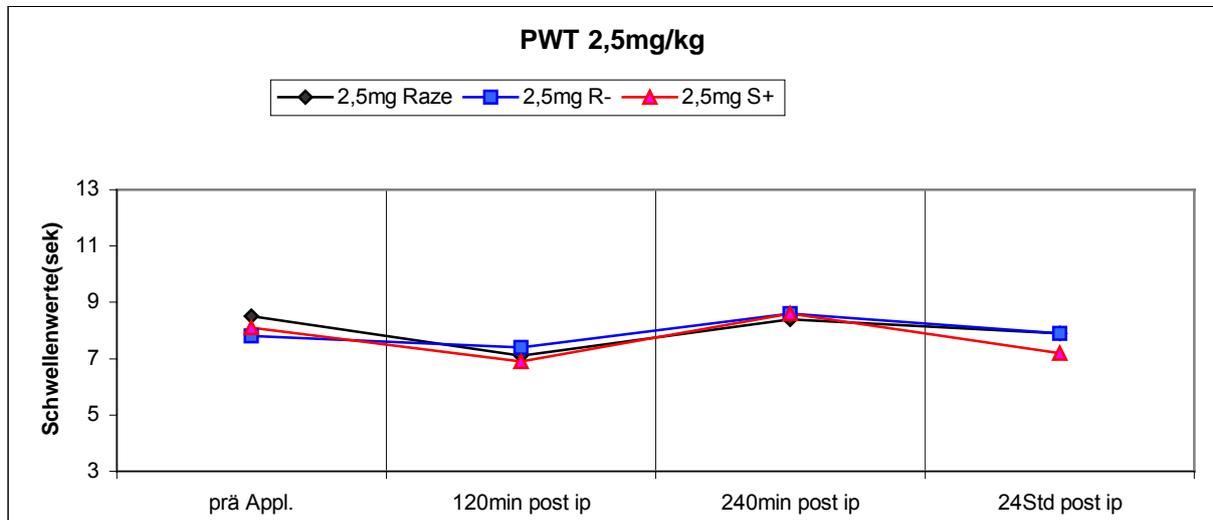


Abb. 12: Die Pfotenrückzuglatenzzeit (PWT) bei einer Dosierung von 2,5mg/kg (n=1)

Die Ratte der Gruppe R (R(-)-Mirtazapin) hat eine physiologische PWT von 7,8s. 120 Minuten nach i.p.-Applikation hat die Ratte eine PWT von 7,4s, nach 240 Minuten von 8,6s und nach 24 Stunden von 7,9s. Dieses Tier scheint bis 240 Minuten nach der ersten Messung sediert zu sein.

Bei dem Tier der Gruppe S (S(+)-Mirtazapin) liegt die PWT bei 8,1s. Nach 120 Minuten hat das Tier eine PWT von 6,9s, nach 240 Minuten von 8,6s und nach 24 Stunden von 7,2s. Die Ratte zeigt nach der 2. Messung heftige Schmerzreaktionen, indem sie die Pfoten ruckartig wegzieht, sie beleckt und erst nach gewisser Zeit wieder auf den Boden zurückstellt. Nach 70 Minuten sind auch bei diesem Tier leichte Myoklonien zu erkennen, die sich nach ca. 200 Minuten rückläufig zeigen.

5mg / kg

Bei dem Tier der Gruppe Raze (Mirtazapin-Razemat) liegt die physiologische Pfotenrückzuglatenzzeit bei 9,4s. 120 Minuten nach i.p.-Applikation hat das Tier eine PWT von 5,6s, nach 240 Minuten von 7,8s und nach 24 Stunden von 8,9s. Dieses Tier ist bereits nach 50 Minuten leicht sediert, zeigt aber nach der dritten Messung (240 Minuten) wieder ein normales Verhalten.

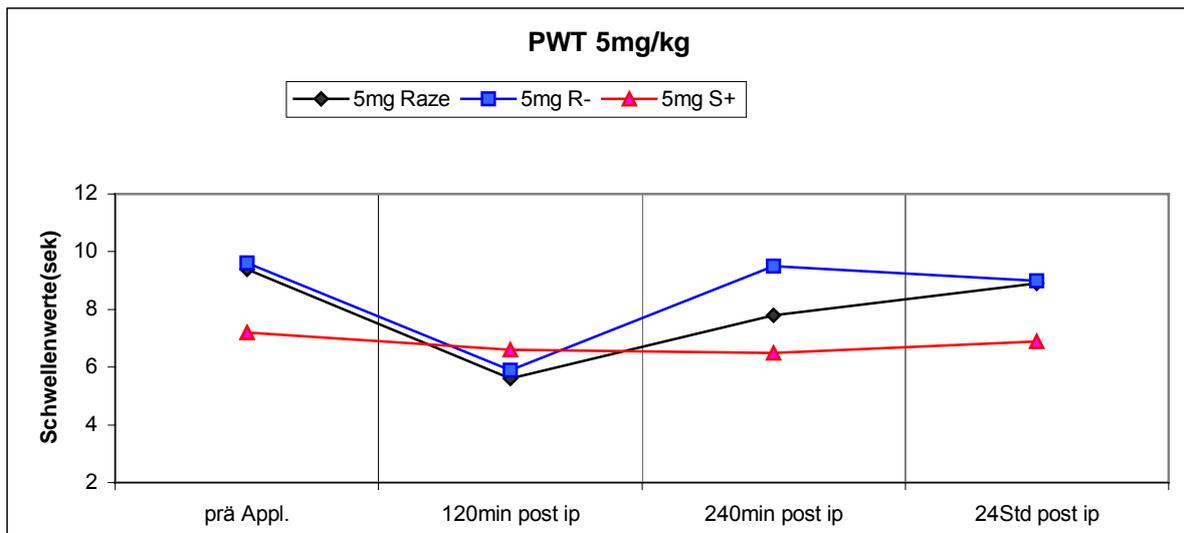


Abb. 13: Die Pfotenrückzuglatenzzeit (PWT) bei einer Dosierung von 5mg/kg (n=1)

Die Ratte der Gruppe R (R(-)-Mirtazapin) hat eine physiologische PWT von 9,6s. 120 Minuten nach i.p.-Applikation zeigt die Ratte eine PWT von 5,9s, nach 240 Minuten von 9,5s und nach 24 Stunden von 9,0s. Auch dieses Tier ist bereits nach 50 Minuten sediert, allerdings stärker als das der Gruppe Raze. Auch zeigt diese Ratte nach 100 Minuten Myoklonien in den Hinterbeinen, die nach weiteren 100 Minuten nachlassen. Bei dem Tier der Gruppe S (S(+)-Mirtazapin) liegt die PWT bei 7,2s. Nach 120 Minuten hat das Tier eine PWT von 6,6s, nach 240 Minuten von 6,5s und nach 24 Stunden von 6,9s. Diese Werte verändern sich nicht merklich zu einander. Die Ratte zieht nach der zweiten Messung ruckartig, fast panisch die betroffene Pfote weg und leckt diese dann ausgiebig.

7,5mg / kg

Das Tier der Gruppe Raze (Mirtazapin-Razemat) hat eine physiologische Pfotenrückzuglatenzzeit von 10,3s. 120 Minuten nach i.p.-Applikation zeigt das Tier eine PWT von 7,9s, nach 240 Minuten von 8,2s und nach 24 Stunden von 9,8s.

Bei der Ratte in der Gruppe R (R(-)-Mirtazapin) liegt die physiologische PWT bei 10,3s. 120 Minuten nach i.p.-Applikation hat die Ratte eine PWT von 8,2s, nach 240 Minuten von 8,9s und nach 24 Stunden von 10,0s. Das Tier scheint nach 50 Minuten sediert.

Bei dem Tier der Gruppe S (S(+)-Mirtazapin) liegt die PWT bei 9,8s. Nach 120 Minuten zeigt das Tier eine PWT von 13,1s, nach 240 Minuten von 11,4s und nach 24 Stunden von 10,7s. Die Ratte zeigt stärkere Myoklonien, die nach ca. 200 Minuten abflachen. Außerdem zeigt

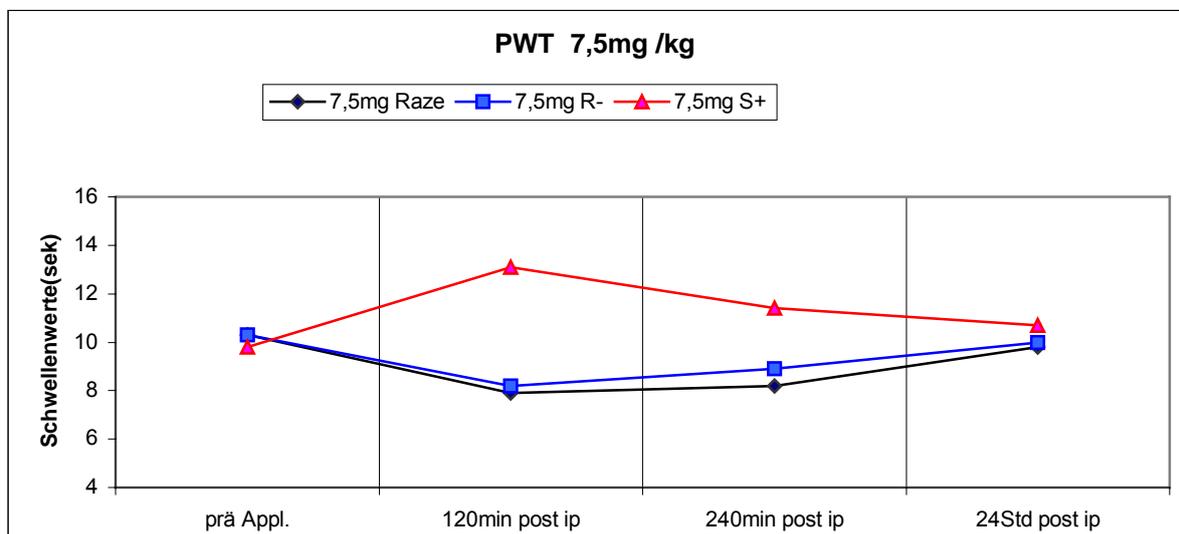


Abb. 14: Die Pfotenrückzuglatenzzeit (PWT) bei einer Dosierung von 7,5mg/kg (n=1)

auch diese Ratte eine deutliche Schmerzreaktion auf den Hitzereiz. Sie nimmt ihre Pfote regelrecht in das Maul, beleckt sie und stellt sie erst nach mehreren Sekunden wieder auf den Boden zurück.

10mg / kg

Das Tier der Gruppe Raze (Mirtazapin-Razemat) hat eine physiologische Pfotenrückzuglatenzzeit von 8,6s. 120 Minuten nach der i.p.-Applikation hat das Tier eine PWT von 5,4s, nach 240 Minuten von 6,2s und nach 24 Stunden von 7,9s. Die Ratte beleckt nach ca. 100 Minuten die Wände und den Boden des Plantar Testers, setzt Harn ab und trinkt diesen dann hektisch. Nach dem Zurücksetzen in den Käfig geht die Ratte sofort zur Tränke und trinkt.

Die Ratte der Gruppe R (R(-)-Mirtazapin) hat eine physiologische PWT von 9,7s. 120 Minuten nach i.p.-Applikation liegt die PWT bei 7,3s, nach 240 Minuten bei 6,9s und nach 24 Stunden bei 8,1s. Diese Ratte scheint aktiver zu sein. Sie beschnuppert ausgiebig die Box, läuft viel hin und her und versucht zu fliehen.

Bei dem Tier der Gruppe S (S(+)-Mirtazapin) liegt die PWT bei 7,8s. Nach 120 Minuten hat das Tier eine PWT von 10,1s, nach 240 Minuten von 9,7s und nach 24 Stunden von 9,0s. Diese Ratte geht nach dem Zurücksetzen auch sofort an die Tränke.

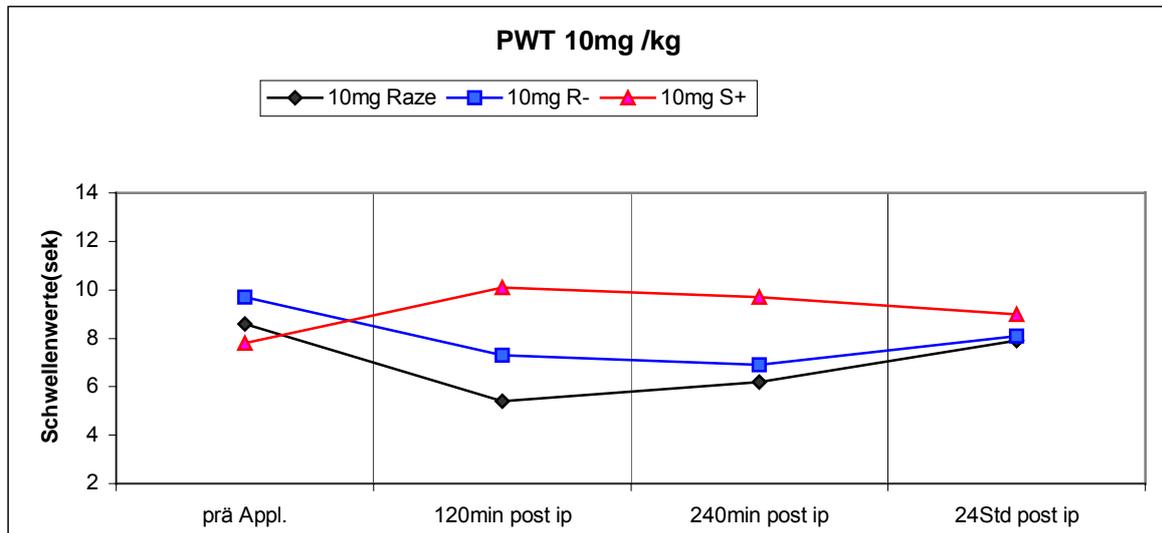


Abb. 15: Die Pfotenrückzuglatenzzeit (PWT) bei einer Dosierung von 10mg/kg (n=1)

15mg / kg

Das Tier der Gruppe Raze (Mirtazapin-Razemat) hat eine physiologische Pfotenrückzuglatenzzeit von 7,7s. 120 Minuten nach i.p.-Applikation zeigt das Tier eine PWT von 5,6s, nach 240 Minuten von 5,7s und nach 24 Stunden von 7,9s. Insgesamt gesehen, ist dieses Tier deutlich aktiver als bei den anderen Messungen.

Die Ratte der Gruppe R (R(-)-Mirtazapin) hat eine physiologische PWT von 7,9s. 120 Minuten nach i.p.-Applikation liegt die PWT bei 6,6s, nach 240 Minuten bei 5,6s und nach 24 Stunden bei 7,1s. Diese Ratte zeigt nach 100 Minuten leichte Myoklonien, die nach 180 Minuten nachlassen.

Bei dem Tier der Gruppe S (S(+)-Mirtazapin) liegt die PWT bei 7,2s. Nach 120 Minuten hat das Tier eine PWT von 6,7s, nach 240 Minuten von 5,3s und nach 24 Stunden von 6,9s.

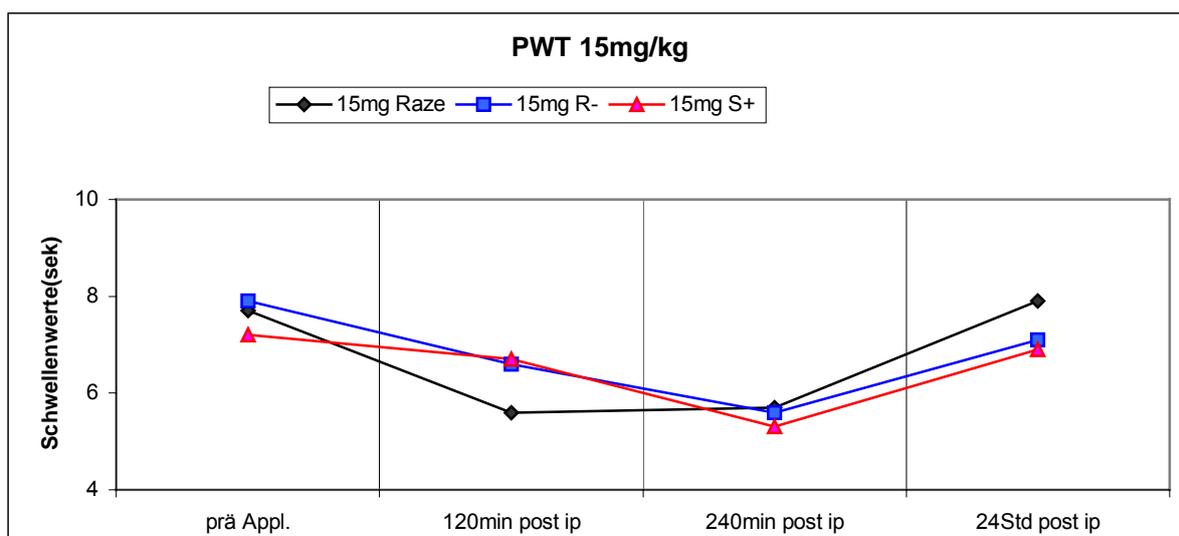


Abb. 16: Die Pfotenrückzuglatenzzeit (PWT) bei einer Dosierung von 15mg/kg (n=1)

Die Ratte beleckt nach ca. 100 Minuten die Wände und den Boden des Plantar Testers, setzt Harn ab und trinkt diesen dann hektisch. Nach dem Zurücksetzen in den Käfig geht die Ratte sofort zur Tränke und trinkt ausgiebig.

Tab. 18: Zusammenfassung der Ergebnisse der Vorversuche (nur Razemat-Testung)

Dosis	Wirkung	Zeitpunkte der maximalen Wirkungen
0,1mg/kg	leicht analgetisch	120 + 240 Minuten post i.p.
1mg/kg	hyperalgetisch leicht analgetisch	120 + 240 Minuten post i.p. 24 Std. post i.p.
2,5mg/kg	leicht analgetisch	240 Minuten post i.p.
5mg/kg	hyperalgetisch	120 + 240Minuten post i.p.
7,5mg/kg	hyperalgetisch	120 + 240Minuten post i.p.
10mg/kg	hyperalgetisch	120 + 240Minuten post i.p.
15mg/kg	deutlich hyperalgetisch	120 + 240Minuten post i.p.

3.5.2 Erster Hauptversuch

Im ersten Hauptversuch werden 56 Testungen an insgesamt 14 männlichen Wistar-Ratten durchgeführt. Dabei werden Dosisbereiche von 5mg/kg bis 0,1mg/kg getestet. Je Dosis werden 6 verschiedene Tiere getestet (n=6). Die Zeitpunkte der Messungen sind auf 0 Minuten (vor Applikation), 120 und 240 Minuten, sowie 24 Stunden nach der i.p.-Applikation festgesetzt.

In dieser chronologischen Reihenfolge werden auch die Ergebnisse dargestellt.

5 mg / kg (Tab. 19, S. 63; Abb. 21, S. 62)

Bei den Tieren die das Razemat appliziert bekommen haben, ergibt sich eine mittlere physiologische PWT von 9,1s (Minimum 7,2s und Maximum 11,4s). In der Gruppe des R(-)-Enantiomeres liegt die mittlere PWT bei 9,7s (Minimum 6,9s und Maximum 13,1s), in der Gruppe des S(+)-Enantiomers bei 10,2s (Minimum 9,2s und Maximum 11,2s). Die PWT der Gruppe K (Kontrolle) liegt bei 10,5s (Minimum 8,6s und Maximum 12s). Zwischen diesen Anfangswerten gibt es keine signifikanten Unterschiede ($p > 0,05$).

120 min. p. appl.

2 Tiere der Gruppe Raze (Mirtazapin-Razemat) zeigen nach ca. 100 Minuten krampfartige Zuckungen der Hinterbeine (Myoklonien), welche nach ca. 200 Minuten wieder nachlassen. Diese beiden Tiere scheinen ruhiger (sedierte) als die anderen Tiere dieser Gruppe. Die PWT liegt bei 9,6s (Minimum 6,7s und Maximum 14,2s).

Auch ein Tier der Gruppe R (R(-)-Mirtazapin) hat nach ca. 100 Minuten leichte Myoklonien, die nach weiteren 60 Minuten nachlassen. Dieses Tier und ein weiteres scheinen ebenfalls sediert, aber schreckhaft. Die PWT liegt bei 8,6s (Minimum 6,5s und Maximum 11,7s).

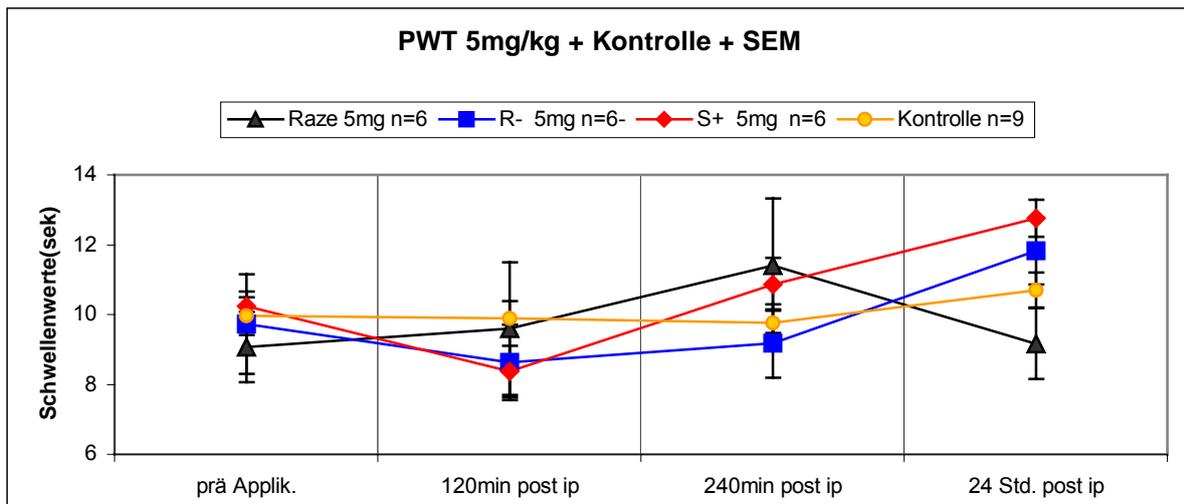


Abb. 17: Die Pfotenrückzuglatenzzeit (PWT) bei einer Dosierung von 5mg/kg (n=6)

In der Gruppe S (S(+)-Mirtazapin) zeigt ein Tier nach ca. 120 Minuten starke Myoklonien und scheint sediert. Die mittlere PWT liegt bei 8,4s (Minimum 6,5s und Maximum 9,8s). Die PWT der Gruppe K (Kontrolle) liegt bei 10,3s (Minimum 9,4s und Maximum 11,5s). Zwischen den PWT's der Gruppen bestehen keine signifikanten Unterschiede ($p > 0,05$). Auch innerhalb jeder einzelnen Gruppe gibt es keine signifikanten Unterschiede zu den PWTs vor Applikation.

240 min. p. appl.

Die mittlere PWT der Gruppe Raze liegt bei 11,4s (Minimum 6,8s und Maximum 14,2s). Damit unterscheidet sie sich tendenziell von der PWT vor Applikation.

Bei der Gruppe R ist die PWT fast gleich bei 9,2s (Minimum 7,2s und Maximum 11,8s).

Auch in der Gruppe S hat sich die PWT fast nicht verändert, sie liegt bei 10,9s (Minimum 9,2s und Maximum 12,6s).

Die PWT der Gruppe K (Kontrolle) liegt bei 10,1s (Minimum 8,6s und Maximum 11,5s).

Keiner dieser Werte unterscheidet sich aber signifikant ($p > 0,05$).

24 Std. p. appl.

Alle Tiere der Gruppe Raze scheinen ein ähnlich gutes Allgemeinbefinden zu haben, keines der Tiere scheint noch sediert oder unter Myoklonien zu leiden. Die PWT liegt bei 9,2s und ist damit fast identisch wie vor der Applikation.

Auch die Tiere der beiden anderen Gruppen zeigen ein normales Allgemeinverhalten. Die PWT der Gruppe R liegt bei 11,8s, die der Gruppe S bei 12,8s. Damit scheinen beide tendenziell höher als vor Applikation, aber auch höher als bei Gruppe Raze zu liegen. Die PWT der Gruppe K liegt bei 10,4s (Minimum 9,1s und Maximum 11,7s), wobei es auch hier keine signifikanten Änderungen gibt ($p > 0,05$).

2,5 mg / kg (Tab. 19, S. 63; Abb. 21, S. 62)

prä appl.

Die mittlere physiologische PWT der Gruppe Raze liegt bei 8,9s (Minimum 7,1s und Maximum 10,8s), die der Gruppe R bei 8s (Minimum 7,8s und Maximum 8,2s).

In der Gruppe S liegt die mittlere PWT vor Applikation bei 10,3s (Minimum 9,6s und Maximum 11,1s).

Die PWT der Gruppe K liegt bei 10,5s (Minimum 8,6s und Maximum 12s).

120min. p. appl.

Ein Tier der Gruppe Raze zeigt nach 110 Minuten leichte Myoklonien und scheint etwas sediert zu sein. Beides lässt nach ca. 240 Minuten nach. Die PWT liegt bei 8,7s (Minimum 5,1s und Maximum 12,4s) und unterscheidet sich damit nicht vom ersten Wert oder dem der Kontrolle. In der Gruppe R zeigt kein Tier eine Auffälligkeit in seinem Verhalten. Die mittlere PWT liegt bei 12,1s (Minimum 11,6s und Maximum 12,7s) und ist damit höher als vor Applikation und der Kontrolle.

Zwei Ratten aus der Gruppe S sind nach ca. 120 Minuten deutlich ruhiger (sediert) als ihre Artgenossen. Dieser Zustand hält bis zur letzten Messung des Tages (240 Minuten) an. Die PWT liegt bei 9,5s (Minimum 9,1s und Maximum 9,9s) und ist damit unverändert.

Die PWT der Gruppe K liegt bei 10,3s (Minimum 9,4s und Maximum 11,5s). Keiner dieser Werte ist signifikant verändert ($p > 0,05$).

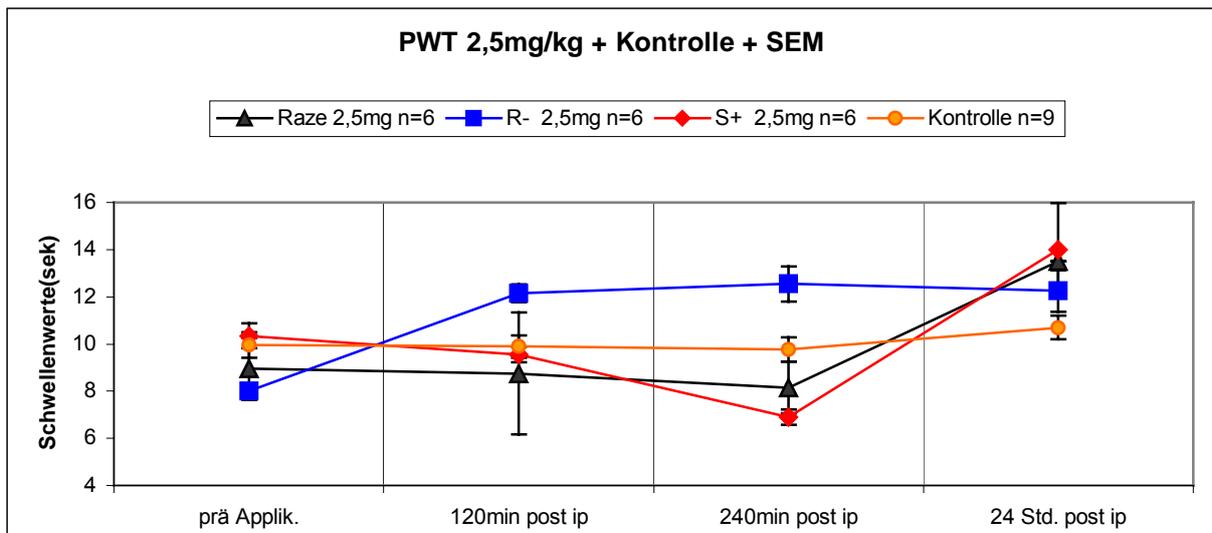


Abb. 18: Die Pfotenrückzuglatenzzeit (PWT) bei einer Dosierung von 2,5mg/kg (n=6)

240min. p. appl.

Die PWT der Gruppe Raze liegt bei 8,1s (Minimum 6,5s und Maximum 9,7s) und hat sich damit weiterhin kaum verändert.

In der Gruppe R ist die mittlere PWT 12,5s (Minimum 11,5s und Maximum 13,6s), damit ist die PWT weiterhin höher (4,5s) als vor Applikation und der Kontrolle. Dieser Wert ist ebenfalls signifikant höher als die PWT der Gruppe Raze und S ($p < 0,05$).

Die gemittelte PWT der Gruppe S ist 6,7s (Minimum 6,3s und Maximum 7,2s) und ist damit tendenziell niedriger (3,6s) als bei der ersten Messung (0 Minuten) aber signifikant niedriger als der Kontrollwert ($p < 0,05$).

Die PWT der Gruppe K liegt bei 10,1s (Minimum 8,6s und Maximum 11,5s).

24 Std. p. appl.

Am nächsten Tag liegt die PWT der Gruppe Raze bei 13,5s und damit um 4,6s höher als vor Applikation und der Kontrolle.

Die mittlere PWT der Gruppe R ist 12,2s (Minimum 11,0s und Maximum 13,5s) und damit weiterhin um 4,2s erhöht. Auch die PWT in der Gruppe S ist mit 14s (Minimum 11,2s und Maximum 16,8s) um 3,7s höher als zu Beginn der Messung und der Kontrolle.

Die PWT der Gruppe K liegt bei 10,4s (Minimum 9,1s und Maximum 11,7s).

Keiner dieser Unterschiede ist signifikant ($p > 0,05$).

1 mg / kg (Tab. 19, S. 63; Abb. 21, S. 62)

prä appl.

Vor Applikation liegt die mittlere physiologische PWT der Gruppe Raze bei 8,4s (Minimum 6,7s und Maximum 10,5s), die der Gruppe R bei 10,8s (Minimum 10,1s und Maximum 10,9s) und die der Gruppe S bei 8,3s (Minimum 6,3s und Maximum 12,6s).

Die PWT der Gruppe K liegt bei 10,5s (Minimum 8,6s und Maximum 12s).

120min. p. appl.

Die mittlere PWT der Gruppe Raze liegt bei 9,3s (Minimum 5,4s und Maximum 11,1s), drei Tiere zeigen bereits nach ca. 60 Minuten deutliche Myoklonien und insgesamt vier Tiere sind sediert. Die Myoklonien lassen nach ca. 160 Minuten wieder nach.

Auch in der Gruppe R zeigt ein Tier nach 70 Minuten leichte Myoklonien, die nach 120 Minuten schwächer werden. Die PWT liegt bei 11,3s (Minimum 9,6s und Maximum 12,5s).

Eine Ratte der Gruppe S hat nach 120 Minuten ebenfalls leichte Myoklonien, die nach 200 Minuten sistieren. Ein weiteres Tier dieser Gruppe ist noch leicht sediert. Die PWT liegt bei 9,8s (Minimum 6,8s und Maximum 12,2s).

Die PWT der Gruppe K liegt bei 10,3s (Minimum 9,4s und Maximum 11,5s).

Es gibt weder innerhalb einer Gruppe, noch zwischen den Gruppen signifikante Unterschiede ($p > 0,05$).

240min. p. appl.

Die mittlere PWT der Gruppe Raze liegt bei 8,4s (Minimum 7,3s und Maximum 9,9s) und ist damit weiterhin gleich dem Ausgangsschwellenwert. Eine Ratte zeigt nach dem Hitzereiz heftige Schmerzreaktion, indem sie ihre Pfote länger hochhält und beleckt.

Die PWT der Gruppe R ist um 3,3s niedriger als zu Beginn der Messung und liegt jetzt bei 7,4s (Minimum 6,2s und Maximum 9,2s). Dieser Wert ist signifikant niedriger als der zur selben Zeit der Gruppe K und S ($p < 0,05$). Diese PWT liegt jetzt bei 10,7s (Minimum 9,2s und Maximum 11,3s), damit ist sie 2,4s höher als zu Beginn des Tages. Außerdem ist die PWT im Vergleich zur Gruppe Raze signifikant höher ($p < 0,05$).

Das eine Tier, das bereits nach 120 Minuten sediert schien, ist zu diesem Messzeitpunkt tief sediert aber weckbar.

Die PWT der Gruppe K liegt bei 10,1s (Minimum 8,6s und Maximum 11,5s).

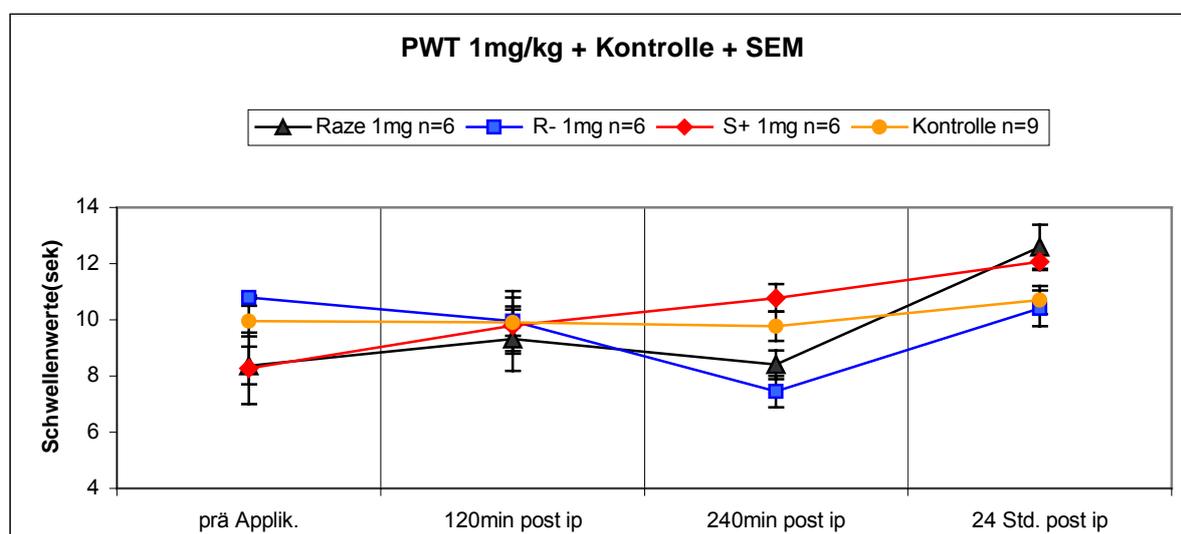


Abb. 19: Die Pfotenrückzugslatenzzeit (PWT) bei einer Dosierung von 1mg/kg (n=6)

24 Std. p. appl.

Die Tiere der Gruppe Raze haben eine mittlere PWT von 12,7s (Minimum 11,7s und Maximum 13,7s), die damit signifikant ($p < 0,05$) um 4,2s höher als vor Applikation und signifikant höher ist als die der Gruppe K.

In der Gruppe R liegt die PWT wie zu Beginn der Messung, bei 10,4s (Minimum 9,5s und Maximum 11,3s). Der Unterschied zwischen den Schwellenwerten der Gruppe Raze und R ist ebenfalls signifikant ($p < 0,05$).

Auch in der Gruppe S liegt die PWT mit 12,1s (Minimum 11,3s und Maximum 12,7s) signifikant über dem Ausgangswert und dem Kontrollwert ($p < 0,05$).

Die PWT der Gruppe K liegt bei 10,4s (Minimum 9,1s und Maximum 11,7s).

0,1 mg / kg (Tab. 19, S. 63; Abb. 21, S. 62)

prä appl.

Die mittlere physiologische PWT der Gruppe Raze liegt bei 9,6s (Minimum 6,1s und Maximum 11,6s), die der Gruppe R bei 9,0s (Minimum 6,8s und Maximum 10,9s) und die der Gruppe S bei 10,1s (Minimum 7,9s und Maximum 11,5).

Die PWT der Gruppe K liegt bei 10,5s (Minimum 8,6s und Maximum 12s).

120 min. p. appl.

In der Gruppe Raze liegt die mittlere PWT bei 10,7s (Minimum 5,9s und Maximum 15,6s) und ist damit fast gleich zur ersten Messung und zur Kontrolle.

Auch in der Gruppe R ist der Schwellenwert dieser Messung mit 8,5s (Minimum 7,4s und Maximum 9,7s) vergleichbar mit dem Wert der ersten Messung.

Genauso verhält es sich mit der PWT der Gruppe S, diese liegt jetzt bei 9,8s (Minimum 7,6s und Maximum 11,1s).

Die PWT der Gruppe K liegt bei 10,3s (Minimum 9,4s und Maximum 11,5s).

240 min. p. appl.

Die PWTs aller drei Gruppen liegen fast in ihrem jeweiligen Ausgangsbereich. Auch untereinander gibt es keine signifikanten Schwellenunterschiede ($p > 0,05$). So ist die PWT der Gruppe Raze gleich 9,6s (Minimum 8,3s und Maximum 11,6s), die der Gruppe R 9,8s (Minimum 7,2s und Maximum 12,4s) und die der Gruppe S gleich 8,4s (Minimum 6,5s und Maximum 10,8s).

Zwei Tiere der Gruppe Raze zeigen bei dieser Messung besonders heftige Reaktionen auf den Hitzereiz. Beide Tiere beleckten ihre Hinterpfote und setzten diese auch sehr spät wieder auf den Boden zurück.

24 Std. p. appl.

Auch bei der 4. Messung sind die PWTs der Gruppe Raze und S fast gleich zur ersten Messung geblieben, sie liegt in der Gruppe Raze bei 9,8s (Minimum 7,5s und Maximum 11,7s), in der Gruppe S bei 9,5 (Minimum 7,2s und Maximum 11,1s).

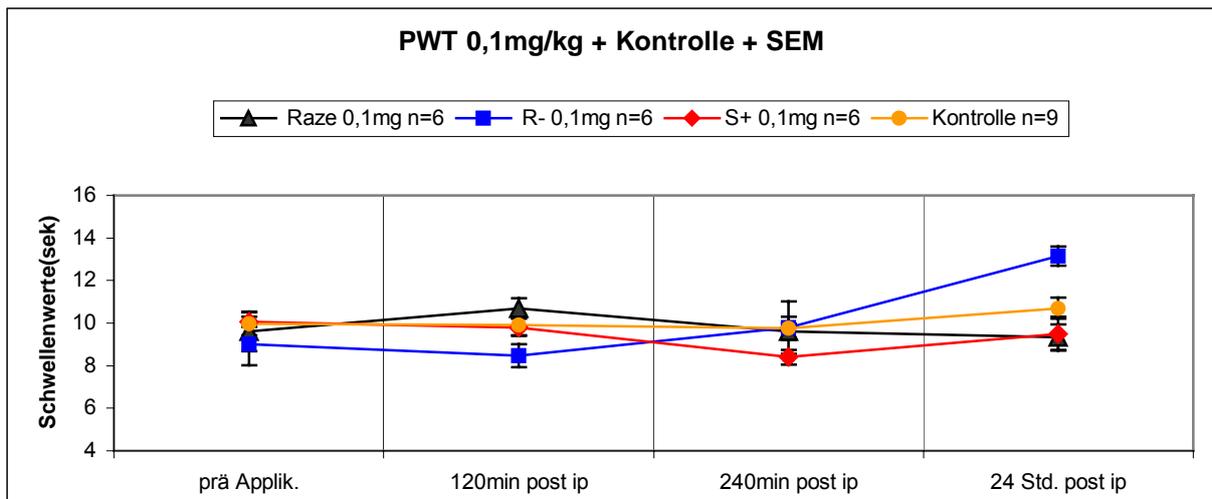


Abb. 20: Die Pfotenrückzuglatenzzeit (PWT) bei einer Dosierung von 0,1mg/kg (n=6)

Die PWT der Gruppe K liegt bei 10,4s (Minimum 9,1s und Maximum 11,7s).

Lediglich die PWT der Gruppe R ist im Gegensatz zur ersten Messung und im Gegensatz zu den anderen Gruppen tendenziell erhöht, sie liegt bei 13,1s (Minimum 12,5s und Maximum 13,8s). Dieser Unterschied ist aber nicht signifikant ($p > 0,05$).

Insgesamt lassen sich nach dem ersten Hauptversuch keine eindeutigen Aussagen über die Wirkungen des Mirtazapin-Razemates, des R(-)-Mirtazapin oder des S(+)-Mirtazapin machen. Dies verdeutlicht auch die Abbildung 21 und die Tabelle 19, in der alle mittleren Pfotenrückzuglatenzzeiten aus dem ersten Hauptversuch aufgelistet sind.

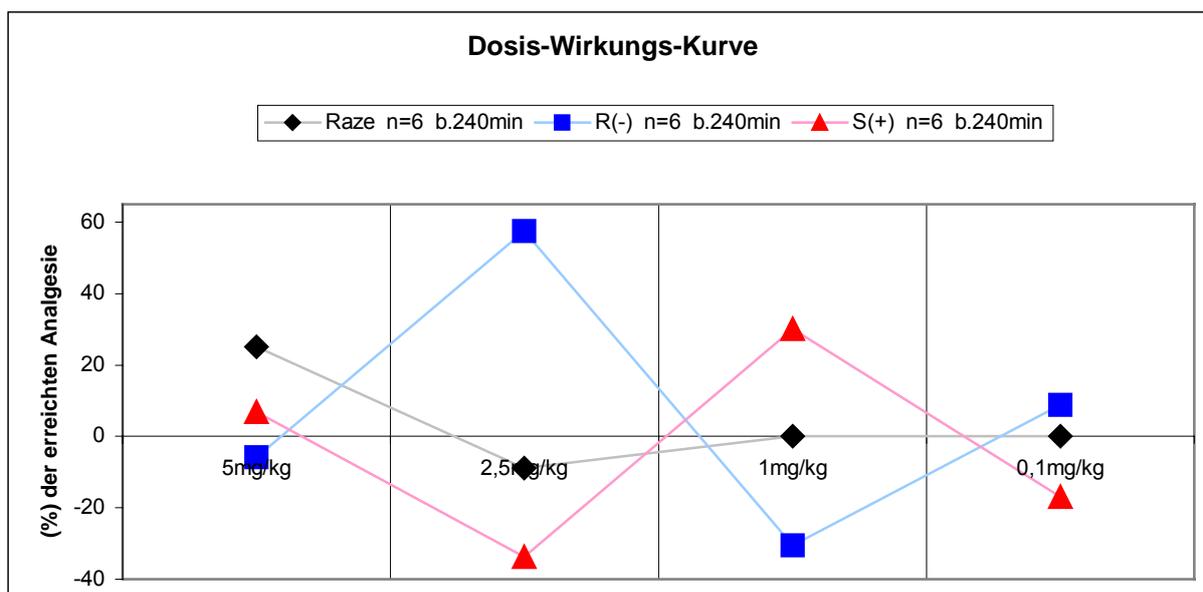


Abb. 21: Dosis-Wirkungskurve vom Razemat, R(-)- und S(+)-Mirtazapin 240Minuten nach **i.p.-** Applikation aller getesteten Dosen

Raze = Razemat, R(-) = R(-)-Mirtazapin, S(+) = S(+)-Mirtazapin, n=x = Anzahl der getesteten Tiere, b. 240min = Zeitpunkt der Testung (240Minuten nach der Applikation), (%) der erreichten Analgesie = Prozentuale Angabe der nach der Substanzen-Applikation erreichte Analgesie

EIGENE UNTERSUCHUNGEN

Tab. 19: Mittlere PWT nach **i.p.-** Substanz-Gabe bei 0,1mg/kg bis 5mg/kg (n=6)
(Substanzen: Razemat-, R(-)- und S(+)-Mirtazapin)

	n=6												
Substanz	Raze	Raze	Raze	Raze	R-	R-	R-	R-	S+	S+	S+	S+	K
Dosis (mg/kg)	5	2,5	1	0,1	5	2,5	1	0,1	5	2,5	1	0,1	
prä Applik.													
Min	7,2	7,1	6,7	6,1	6,9	7,8	10,1	6,8	9,2	9,6	6,3	7,9	8,6
mPWT (sek.)	9,1	9	8,4	9,6	9,7	8	10,8	9	10,2	10,4	8,3	10,1	10,5
Max	11,4	10,8	10,5	11,6	13,1	8,2	10,9	10,9	11,2	11,1	12,6	11,5	12
SEM	1	1,3	0,7	0,9	1,4	0,1	0,1	1	0,4	0,5	1,3	0,2	0,5
120min post ip													
Min	6,7	5,1	5,4	5,9	6,5	11,6	9,6	7,4	6,5	9,1	6,8	7,6	9,4
mPWT (sek.)	9,6	8,8	9,3	10,7	8,6	12,2	10	8,5	8,4	9,6	9,8	9,8	10,3
Max	14,2	12,4	11,1	15,6	11,7	12,7	12,5	9,7	9,8	9,9	12,2	11,1	11,5
SEM	1,9	2,6	1,1	0,5	1,1	0,4	1,1	0,5	0,7	0,3	1	0,4	0,5
240min post ip													
Min	6,8	6,5	7,3	8,3	7,2	11,5	6,2	7,2	9,2	6,3	9,2	6,5	8,6
mPWT (sek.)	11,4	8,2	8,4	9,6	9,2	12,6	7,5	9,8	10,9	6,9	10,8	8,4	10,1
Max	14,2	9,7	9,9	11,6	11,8	13,6	9,2	12,4	12,6	7,2	11,3	10,8	11,5
SEM	1,9	1,1	0,5	0,4	1	0,7	0,6	1,2	0,8	0,3	0,5	0,3	0,5
24 Std. post ip													
Min	7,3	11,9	11,7	7,5	9,1	11	9,5	12,5	12	11,2	11,3	7,2	9,1
mPWT (sek.)	9,2	13,5	12,6	9,3	11,8	12,3	10,4	13,2	12,8	14	12,1	9,5	10,4
Max	11,5	14,7	13,7	11,7	14,5	13,5	11,3	13,8	13,5	16,8	12,7	11,1	11,7
SEM	1	1,3	0,8	0,6	1	0,9	0,6	0,5	0,5	2	0,3	0,8	0,5

n=x = Anzahl der getesteten Tiere, m PWT = mittlere Pfotenrückzuglatenzzeit, prä Applik. = vor der Substanzinjektion, x min post i.p. = x Minuten nach der Substanzinjektion, SEM = Standardfehler, Min = niedrigster Wert, Max = höchster Wert, Raze = Mirtazapin-Razemat, R- = R(-)-Mirtazapin, S+ = S(+)-Mirtazapin, K = Kontrolle mit NaCl

3.5.3 Zweiter Hauptversuch

Im zweiten Hauptversuch werden 72 Testungen an insgesamt 18 männlichen Wistar-Ratten durchgeführt. Dabei werden Dosisbereiche von 1mg / kg bis 0,001mg / kg getestet. Je Dosis werden 6 verschiedene Tiere getestet (n=6). Die Zeitpunkte der Messungen sind auf 0 Minuten (vor der Applikation), 120 und 240 Minuten, sowie 24 Stunden nach der i.t.-Applikation festgesetzt.

Auch diese Ergebnisse werden in dieser chronologischen Reihenfolge dargestellt

1 mg / kg (Abb. 27, S. 87 und Tab. 21, S. 73)

prä appl.

Die mittlere physiologische PWT der Gruppe Raze (Mirtazapin-Razemat) ist 10,8s (Minimum 9,0s und Maximum 12,1s), die der Gruppe R (R(-)-Mirtazapin) ist 10,7s (Minimum 9,5s und Maximum 12,1s) und die der Gruppe S (S(+)-Mirtazapin) 10,4s (Minimum 8,2s und Maximum 12,0s).

Die mittlere PWT der Gruppe K (Kontrolle) liegt bei 11,3s (Minimum 9,3s und Maximum 12,2s).

120 min. p. appl.

Die mittlere PWT der Gruppe K liegt bei 11,2s (Minimum 9,1s und Maximum 12,3s).

In der Gruppe Raze zeigen bereits nach 50 Minuten zwei und nach 80 Minuten vier Tiere unkontrollierte, teils heftige Exzitationen (Myoklonien) der Hinterbeine, die nach ca. 200 Minuten wieder abklingen. Die PWT der Gruppe liegt bei 7,9s (Minimum 6,0s und Maximum 8,8s) und damit schon signifikant unter dem Wert der ersten Messung und dem der Kontrolle. Außerdem ist dieser Schwellenwert hoch signifikant ($p < 0,0001$) niedriger als die der Gruppen R und S.

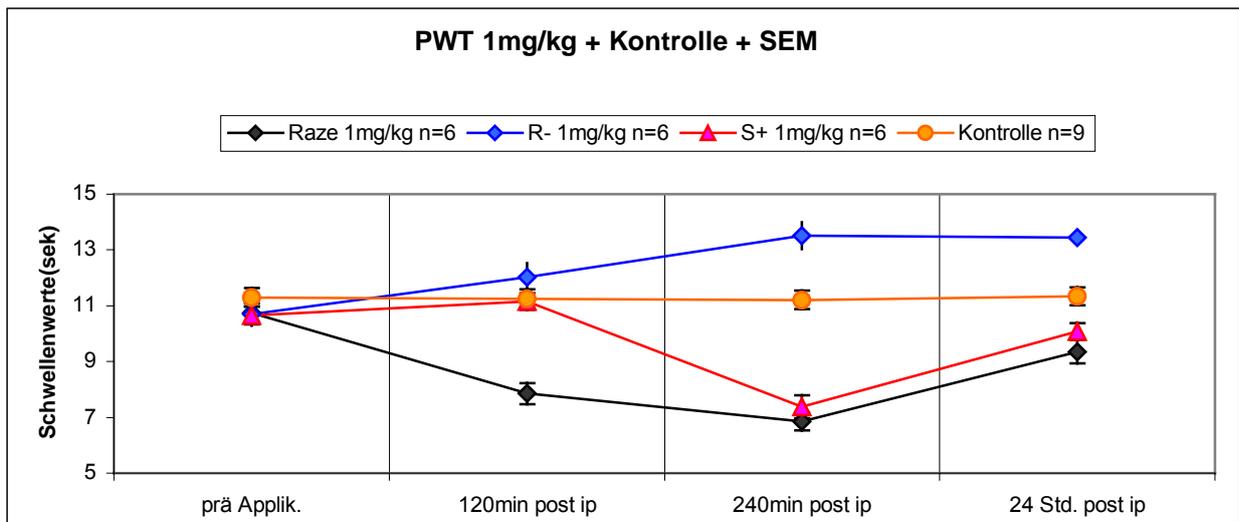


Abb. 22: Die Pfotenrückzuglatenzzeit (PWT) bei einer Dosis von 1mg/kg (n=6)

Die mittlere PWT der Gruppe R ist 12,0s (Minimum 10,8s und Maximum 14,0s), dementsprechend tendenziell höher als zu Beginn der Messung (prä appl.) und liegt hoch signifikant ($p < 0,0001$) über dem Wert der Gruppe Raze. Zum Wert der Gruppe K gibt es keinen erwähnenswerten Unterschied. Zwei Tiere dieser Gruppe sind nach ca. 100 Minuten sediert.

Auch in der Gruppe S gibt es Verhaltensauffälligkeiten: Drei Tiere zeigen eine deutliche Aktivitätssteigerung, sie sind unruhig, unternehmen Fluchtversuche. Erst nach ca. 200 Minuten verhalten sich diese Tiere normal und sitzen ruhig in der Box. Diese drei Tiere haben alle auch deutliche Myoklonien bis ungefähr 210 Minuten nach der Applikation.

Die PWT liegt bei 10,9s (Minimum 9,0s und Maximum 12,6s), damit ist sie fast identisch zum ersten gemessenen Schwellenwert, als auch zur Kontrolle und liegt hoch signifikant ($p < 0,0001$) über dem Wert der Gruppe Raze.

240 min. p. appl.

Die mittlere PWT der Gruppe K liegt bei 11,2s (Minimum 9,2s und Maximum 12,2s).

Ein Tier der Gruppe Raze zeigt zu diesem Zeitpunkt heftige Schmerzreaktionen auf den Hitzereiz. Das Tier zieht die Pfote ruckartig, fast panisch hoch und beleckt sie länger. Die PWT ist mit 6,8s (Minimum 5,8s und Maximum 8,3s) hoch signifikant ($p < 0,0001$) niedriger als vor Applikation und im Vergleich zur Gruppe R und K.

Die PWT der Gruppe R ist gleich 13,6s (Minimum 12,1s und Maximum 15,1s) und liegt hoch signifikant ($p < 0,0001$) über dem Ausgangswert, der Kontrolle und den Werten der Gruppen M und S. Das Tier, das bei 120 Minuten sediert schien, ist jetzt wieder aktiver.

Die PWT der Gruppe S liegt bei 7,1s (Minimum 5,0s und Maximum 9,1s) damit hoch signifikant ($p < 0,0001$) unter der ersten PWT und den Werten der Gruppe R und K.

24 Std. p. appl.

Die mittlere PWT der Gruppe K liegt bei 11,3s (Minimum 9,2s und Maximum 12,2s).

Die mittlere PWT der Gruppe Raze liegt bei 9,1s (Minimum 7,1s und Maximum 10,9s). Der Schwellenwert hat also fast wieder den Ausgangswert erreicht, ist aber hoch signifikant niedriger als der Wert der Gruppe K.

Die Gruppe R hat eine PWT von 14,2s (Minimum 13,1s und Maximum 15,8s). Dieser Wert ist immer noch hoch signifikant erhöht ($p < 0,0001$) gegenüber dem Ausgangswert und den Werten der Gruppen K, Raze und S.

Die PWT der Gruppe S hat wieder die Ausgangsschwelle erreicht, sie beträgt jetzt 9,9s (Minimum 8,5s und Maximum 11,1s), ist aber noch signifikant niedriger als der Kontrollwert ($p < 0,0001$).

0,1mg / kg (Abb. 28, S. 88 und Tab. 21, S. 73)

prä appl.

Die mittlere physiologische PWT der Gruppe Raze liegt bei 9,6s (Minimum 7,7s und Maximum 11,9s), die der Gruppe R bei 9,4s (Minimum 8,0s und Maximum 10,5s) und die der Gruppe S bei 10,0s (Minimum 7,6s und Maximum 11,2s).

Die mittlere PWT der Gruppe K liegt bei 11,3s (Minimum 9,3s und Maximum 12,2s).

120 min. p. appl.

Zwei Tiere der Gruppe Raze sind bereits nach 120 Minuten deutlich ruhiger (sedierter) als die anderen Tiere. Die PWT hat sich mit 11,9s (Minimum 10,2s und Maximum 13,6s) tendenziell erhöht und ist im Gegensatz zur PWT der Gruppe S hoch signifikant ($p < 0,0001$) erhöht.

Ein Tier der Gruppe R zeigt nach ca. 100 Minuten leichte Myoklonien, die nach weiteren 60 Minuten wieder schwächer werden. Zwei andere Ratten sind nach 120 Minuten sediert. Die PWT liegt bei 11,1s (Minimum 10,0s und Maximum 12,2s), damit ist sie tendenziell höher als zu Beginn der Messung und hoch signifikant ($p < 0,0001$) höher als bei Gruppe S.

Drei Tiere der Gruppe S sind deutlich aktiver als die restlichen Tiere. Sie drehen sich im Kreis, setzten vermehrt Urin ab, unternehmen Fluchtversuche. Die PWT ist gleich 8,2s (Minimum 7,1s und Maximum 10,4s), damit tendenziell niedriger als vor Applikation und hoch signifikant niedriger ($p < 0,0001$) als der Kontrollwert.

240 min. p. appl.

Die mittlere PWT der Gruppe K liegt bei 11,2s (Minimum 9,2s und Maximum 12,2s).

In der Gruppe Raze zeigt ein Tier während der Messung starke Schmerzreaktionen auf den Hitzestrahler, es leckt sich die Pfote und setzt diese erst nach Sekunden wieder auf den Boden ab. Die PWT ist im Gegensatz zur ersten Messung und zu Werten der Gruppen S und K hoch signifikant ($p < 0,0001$) erhöht, sie liegt jetzt bei 14,4s (Minimum 14,1s und Maximum 14,9s).

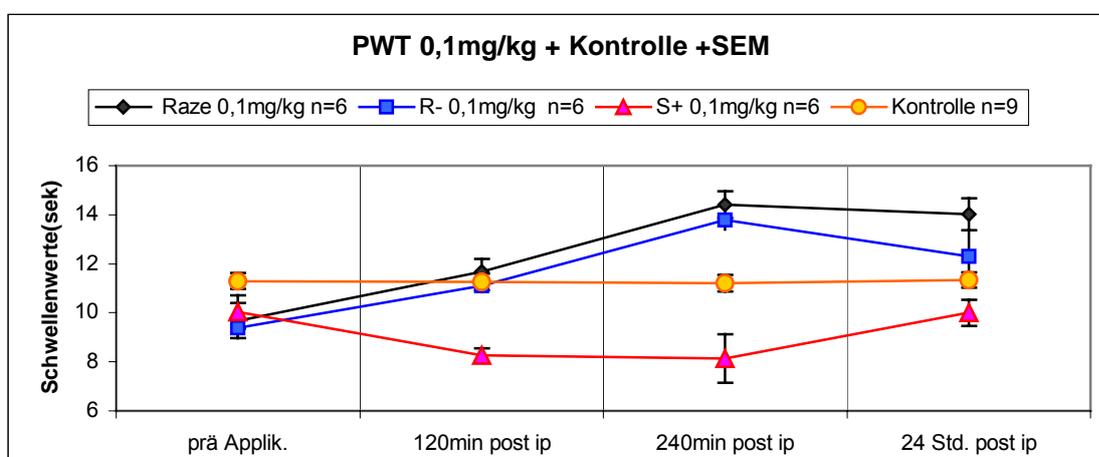


Abb. 23: Die Pfotenrückzugslatenzzeit (PWT) bei einer Dosis von 0,1mg/kg (n=6)

Die PWT der Gruppe R beträgt 13,3s (Minimum 12,0s und Maximum 14,0s), auch sie ist damit gegenüber dem Ausgangswert und den Werten der Gruppen S und K hoch signifikant ($p < 0,0001$) erhöht.

Ein Tier der Gruppe S (welches bei 120 Minuten auch hyperaktiv ist) zeigt starke Schmerzreaktionen bei der Messung. Die Ratte zieht die Pfoten ruckartig hoch, beleckt sie längere Zeit und setzt sie verzögert wieder auf den Boden. Die PWT ist mit 8,1s (Minimum

6,5s und Maximum 11,9s) hoch signifikant ($p < 0,0001$) zum ersten Wert und den Werten der Gruppen Raze, R und K erniedrigt.

24 Std. p. appl.

Die mittlere PWT der Gruppe K liegt bei 11,3s (Minimum 9,2s und Maximum 12,2s).

Die PWT der Gruppe Raze ist auch nach 24 Stunden noch hoch signifikant ($p < 0,0001$) im Gegensatz zum Ausgangswert und dem Wert der Gruppe R, S und K erhöht. Sie liegt bei 14,0s (Minimum 13,2s und Maximum 14,5s).

In der Gruppe R liegt die PWT bei 12,3s (Minimum 10,6s und Maximum 13,3s), damit ist sie auch hoch signifikant ($p < 0,0001$) höher als zu Beginn und als die der Gruppe S.

Die Gruppe S hat dieselbe PWT wie vor der Applikation, nämlich 10,0s (Minimum 8,1s und Maximum 11,1s). Ist aber hoch signifikant ($p < 0,0001$) höher als die Kontroll-PWT.

0,01 mg / kg (Abb. 29, S. 90 und Tab. 21, S. 73)

prä appl.

Die mittlere PWT der Gruppe K liegt bei 11,3s (Minimum 9,3s und Maximum 12,3s).

Die Schwellenwerte liegen in der Gruppe Raze bei 10,4s (Minimum 7,7s und Maximum 12,5s), in der Gruppe R bei 11,3s (Minimum 10,5s und Maximum 12,1s) und in der Gruppe S bei 10,5s (Minimum 8,1s und Maximum 12,1s).

120 min. p. appl.

Die mittlere PWT der Gruppe K liegt bei 11,2s (Minimum 9,1s und Maximum 12,3s).

In der Gruppe Raze sind bereits nach 60 Minuten zwei Tiere leicht und nach ca. 70 Minuten tief sediert. Die PWT liegt bei 12,9s (Minimum 9,8s und Maximum 15,0s), damit liegt dieser Wert signifikant ($p < 0,05$) höher als vor Applikation und dem Wert der Gruppe S.

Die mittlere PWT der Gruppe R ist 12,4s (Minimum 11,0s und Maximum 14,2s). Das bedeutet, dass der Schwellenwert tendenziell ($p > 0,05$) höher als zu Beginn der Messung und signifikant ($p < 0,05$) über dem Wert der Gruppe S liegt.

Zwei Tiere der Gruppe S sind zu diesem Messzeitpunkt besonders aktiv, sie unternehmen Fluchtversuche, laufen in der Box umher, urinieren usw.. Die PWT ist aber mit 9,9s (Minimum 6,9s und Maximum 12,8s) fast unverändert gegenüber dem Ausgangswert.

240 min. p. appl.

Die mittlere PWT der Gruppe K liegt bei 11,2s (Minimum 9,2s und Maximum 12,2s). Die mittlere PWT der Gruppe Raze liegt mit 14,4s (Minimum 11,5s und Maximum 16,6s) hoch signifikant ($p < 0,0001$) über dem Ausgangswert und dem Wert der Gruppe S und K. Die PWT der Gruppe R liegt bei 15,7s (Minimum 13,9s und Maximum 19,4s), damit ist dieser Wert hoch signifikant ($p < 0,0001$) größer als zu Beginn und als der Wert der Gruppen S und K. Die beiden Tiere, die nach 120 Minuten hyperaktiv sind, zeigen jetzt eine deutliche Schmerzreaktion während der Messung. Die PWT ist mit 8,8s (Minimum 5,0s und Maximum 13,4s) tendenziell niedriger als zu Beginn der Messung und hoch signifikant ($p < 0,0001$) niedriger als die PWT der Gruppen Raze, R und K.

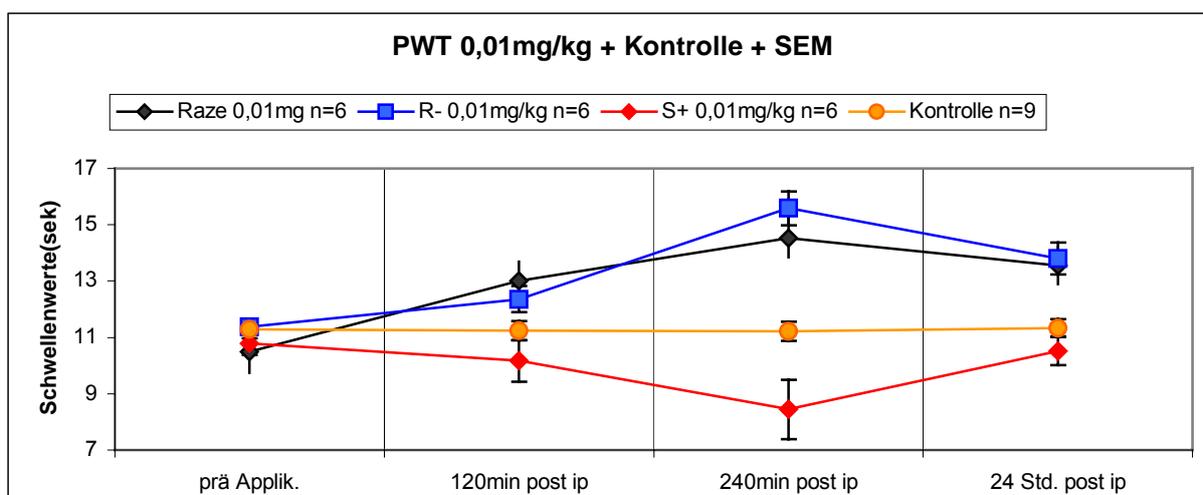


Abb.24: Die Pfotenrückzugslatenzzeit (PWT) bei einer Dosis von 0,01mg/kg (n=6)

24 Std. p. appl.

Die mittlere PWT der Gruppe K liegt bei 11,2s (Minimum 9,1s und Maximum 12,3s). Die der Gruppe Raze liegt bei 13,2s (Minimum 11,9s und Maximum 15,4s). Dieser Wert ist signifikant ($p < 0,05$) höher als bei der ersten Messung und dem Wert der Gruppe S und K. Auch die PWT der Gruppe R ist mit 13,8s (Minimum 12,6s und Maximum 15,1s) signifikant ($p < 0,05$) höher als zu Beginn der Messung und als der Wert der Gruppe S und K.

Die PWT der Gruppe S ist mit 10,5s (Minimum 9,4s und Maximum 12,1s) fast identisch dem Ausgangswert.

0,001 mg / kg (Abb. 30, S. 90 und Tab. 21, S. 73)

prä appl.

In der Gruppe Raze liegt die PWT vor Applikation bei 9,9s (Minimum 7,0s und Maximum 12,0s), in der Gruppe R bei 10,0s (Minimum 7,2s und Maximum 12,4s) und in der Gruppe S bei 10,1s (Minimum 7,9s und Maximum 12,5s).

120 min. p. appl.

Die mittlere PWT der Gruppe K liegt bei 11,2s (Minimum 9,1s und Maximum 12,3s). Die mittlere PWT der Gruppe Raze liegt bei 10,6s (Minimum 7,0s und Maximum 12,9s), die der Gruppe R bei 10,2s (Minimum 6,3s und Maximum 13,1s) und die der Gruppe S bei 10,2s (Minimum 7,6s und Maximum 13,0s).

Keiner dieser Werte unterscheidet sich signifikant ($p > 0,05$) von den Ausgangs- oder Kontrollwerten.

240 min. p. appl.

Die mittlere PWT der Gruppe K liegt bei 11,2s (Minimum 9,2s und Maximum 12,2s).

Die Schwellenwerte der Gruppen M und R unterscheiden sich mit 11,0s (Minimum 7,9s und Maximum 12,6s) und 11,3s (Minimum 8,4s und Maximum 13,6s) nicht untereinander oder von den jeweiligen Ausgangswerten. Aber beide PWT sind tendenziell ($p = 0,0507$) höher als die PWT der Gruppe S, die bei 8,7s (Minimum 6,5s und Maximum 11,4s) liegt. Damit liegt dieser Wert tendenziell ($p = 0,0507$) niedriger als vor Applikation und dem Wert der Gruppe K.

EIGENE UNTERSUCHUNGEN

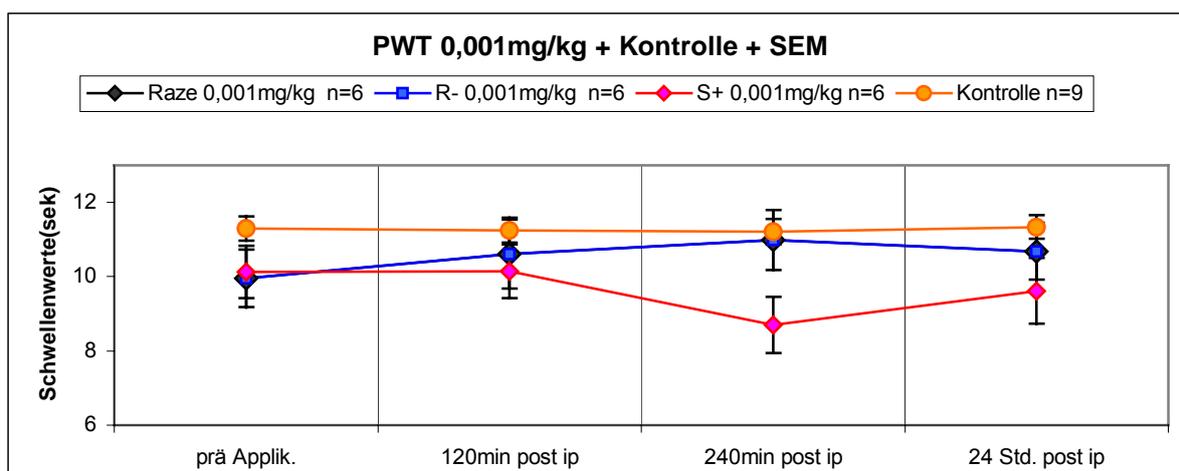


Abb. 25: Die Pfotenrückzuglatenzzeit (PWT) bei einer Dosis von 0,001mg/kg (n=6)

24 Std. p. appl.

Die mittlere PWT der Gruppe K liegt bei 11,3s (Minimum 9,2s und Maximum 12,2s).

In der Gruppe Raze liegt die PWT bei 10,7s (Minimum 8,0s und Maximum 12,3s), in der

Gruppe R bei 10,9s (Minimum 8,0s und Maximum 13,4s) und in der Gruppe S bei 9,6s

(Minimum 7,2s und Maximum 12,1s).

Zwischen den PWTs der einzelnen Gruppen bestehen keine signifikanten Unterschiede

($p > 0,05$). Aber auch innerhalb einer Gruppe gibt es keine signifikanten Unterschiede zu den

PWT's vor Applikation.

Tab. 20: Zusammenfassung der Ergebnisse des Zweiten Hauptversuches

Dosis	Wirkung			Zeitpunkt der max. Wirkung
	Gruppe Raze	Gruppe R	Gruppe S	
1mg/kg	deutl. hyperalgetisch	deutl. analgetisch	deutl. hyperalgetisch	jeweils 240 Min. + 24 Std.
0,1mg/kg	deutl. analgetisch	deutl. analgetisch	deutl. hyperalgetisch	Gruppe Raze + R: 240 Min. + 24 Std. Gruppe S: 120 + 240 Min.
0,01mg/kg	deutl. analgetisch	deutl. analgetisch	deutl. hyperalgetisch	Gruppe Raze + R: 240 Min. Gruppe S: 240 Min.
0,001mg/kg	keine deutl. Wirkung	keine deutl. Wirkung	hyperalgetisch	Gruppe S: 240 Min.

Aus Tabelle 20 gehen die signifikanten Ergebnisse des zweiten Hauptversuches deutlich hervor. So werden in dieser Tabelle die Wirkungen der einzelnen getesteten Substanzen zum jeweiligen Zeitpunkt dargestellt.

Diese Ergebnisse werden in der Abbildung 26 graphisch verdeutlicht. Dabei konzentriert sich dieses Diagramm Auf die Wirkungen nach 240 Minuten.

Wogegen in Tabelle 21 alle Pfotenrückzuglatenzzeiten zu jedem Messungszeitpunkt dargestellt sind.

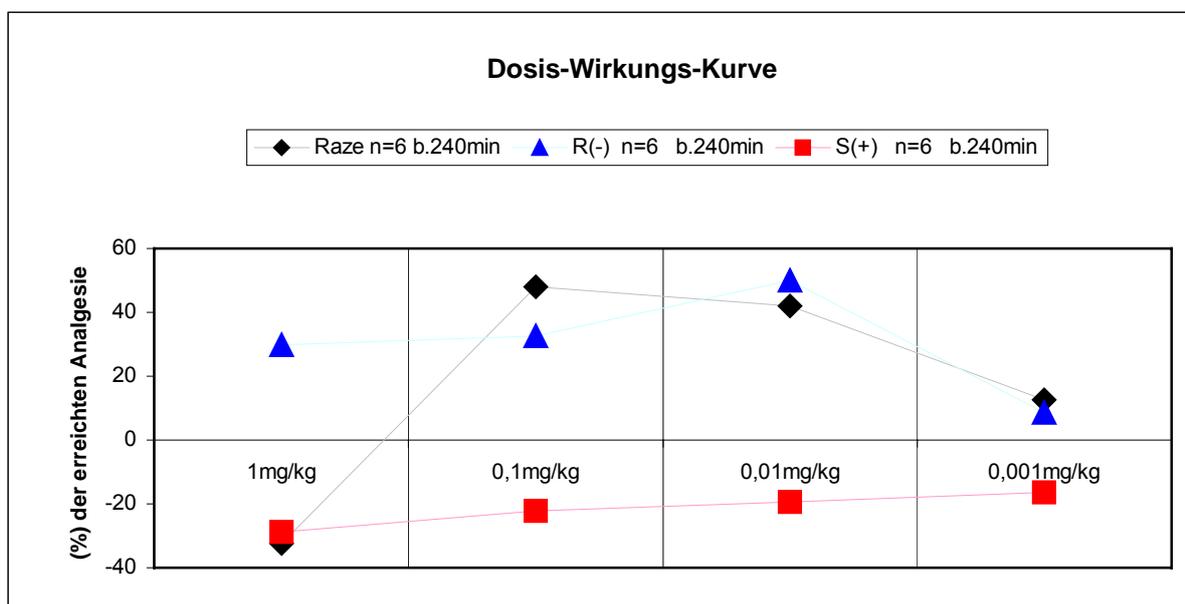


Abb. 26: Dosis-Wirkungskurve vom Razemat, R(-)- und S(+)-Mirtazapin 240Minuten nach i.t.- Applikation aller getesteten Dosen

Raze = Razemat, R(-) = R(-)-Mirtazapin, S(+) = S(+)-Mirtazapin, n=x = Anzahl der getesteten Tiere, b. 240min = Zeitpunkt der Testung (240Minuten nach der Applikation), (%) der erreichten Analgesie = Prozentuale Angabe der nach der Substanzen-Applikation erreichte Analgesie

EIGENE UNTERSUCHUNGEN

Tab. 21: Mittlere PWTs nach **i.t.**- Substanz-Gabe bei 0,001mg/kg bis 1mg/kg (n=6)
(Substanzen: Razemat-, R(-)- und S(+)-Mirtazapin)

	n=6	n=6	n=6	n=6	n=6	n=6	n=6	n=6	n=6	n=6	n=6	n=6	n=6	n=9
Substanz	Raze	Raze	Raze	Raze	R-	R-	R-	R-	S+	S+	S+	S+	K	
Dosis (mg/kg)	1	0,1	0,01	0,001	1	0,1	0,01	0,001	1	0,1	0,01	0,001		
prä Applik.														
Min	9	7,7	7,7	7	9,5	8	10,5	7,2	8,2	7,6	8,1	7,9	9,3	
mPWT (sek.)	10,8	9,7	10,5	10	10,7	9,4	11,4	10	10,7	10	10,8	10,1	11,3	
Max	12,1	11,9	12,5	12	12,1	10,5	12,1	12,4	12	11,2	12,1	12,5	12,2	
SEM	0,4	0,7	0,8	0,9	0,4	0,4	0,2	0,8	0,3	0,7	0,4	0,7	0,4	
120min post ip														
Min	6	10,2	9,8	7	10,8	10	11	6,3	9	7,1	6,9	7,6	9,1	
mPWT (sek.)	7,9	11,7	13	10,7	12	11,1	12,4	10,4	11,2	8,1	10,2	10,2	11,2	
Max	8,8	13,6	15	12,9	14	12,2	14,2	13,1	12,6	10,4	12,8	13	12,3	
SEM	0,4	0,7	1,1	1,1	0,5	0,3	0,5	1	0,3	0,3	0,7	0,7	0,5	
240min post ip														
Min	5,8	14,1	11,5	7,9	12,1	12	13,9	8,4	5	6,5	5	6,5	9,2	
mPWT (sek.)	6,9	14,4	14,5	11,5	13,5	13,8	15,6	11,3	7,4	8,1	8,4	8,7	11,2	
Max	8,3	14,9	16,6	12,6	15,1	14	19,4	13,6	9,1	11,9	13,4	11,4	12,2	
SEM	0,4	0,3	1	0,9	0,5	0,4	0,6	0,9	0,4	1	1,1	0,8	0,3	
24 Std. post ip														
Min	7,1	13,2	11,9	8	13,1	10,6	12,6	8	8,5	8,1	9,4	7,2	9,2	
mPWT (sek.)	9,4	14	13,6	11	13,5	12,3	13,8	10,9	10,1	10	10,5	9,6	11,3	
Max	10,9	14,5	15,4	12,3	15,8	13,3	15,1	13,4	11,1	11,1	12,1	12,1	12,2	
SEM	0,5	0,3	0,4	0,8	0,5	1	0,6	0,6	0,3	0,5	0,5	0,9	0,4	

n=x = Anzahl der getesteten Tiere, m PWT = mittlere Pfotenrückzuglatenzzeit, prä Applik. = vor der Substanzinjektion, x min post i.p. = x Minuten nach der Substanzinjektion, SEM = Standardfehler, Min = niedrigster Wert, Max = höchster Wert, Raze = Mirtazapin-Razemat, R- = R(-)-Mirtazapin, S+ = S(+)-Mirtazapin, K = Kontrolle mit NaCl

4 Diskussion

4.1 Diskussion der Versuchsdurchführung

Verwendete Versuchstiere

Dass die Wahl der Versuchstiere auf Ratten fiel hat verschiedene Gründe. Zum einen werden sie seit langem in der Forschung eingesetzt (ROBINSON et al., 1979), daher gibt es auch eine große Anzahl von wissenschaftlichen Veröffentlichungen am Modelltier Ratte. Zum anderen steht die Ratte aufgrund des einfachen Handlings und der einfachen Haltung an erster Stelle der Liste der Versuchssäugetiere (MUTAI, 2000).

Laut MUTAI (2000) lassen Ratten sich in großer Stückzahl auf relativ kleinem Raum halten, da sie selber relativ klein, aber dennoch 8 bis 10x größer sind als Mäuse. Dadurch sind auch Medikamentenapplikationen oder chirurgische Eingriffe leichter durchzuführen.

Gerade mit den Wirkstoff Mirtazapin gibt es viele Untersuchungen die an Ratten durchgeführt wurden (DE BOER et al. 1988, 1995, 1996, MCGRATH 1998, MILLAN 2000, SCHREIBER 2002a/b, DEVOTO et al. 2004).

Auch steht die tierexperimentelle Schmerzforschung nicht im Widerspruch zum Tierschutzgesetz, erfordert jedoch ein gründliches Abwägen ethischer Aspekte (ZIMMERMANN, 2000a).

Verwendetes Messsystem und Parameter

In der vorliegenden Studie soll das akute Schmerzverhalten an Ratten getestet werden. Zur genauen Ermittlung wird der sog. Plantar Tester 7370 der Firma UGO BASILE (2002) eingesetzt. Dieses Messsystem wird bereits seit 1988 in der Schmerzforschung eingesetzt (HARGREAVES et al., 1988). Seit dieser Zeit konnten gesicherte und vor allem reproduzierbare Daten unkompliziert gesammelt werden (ALLEN und YAKSH, 2004).

Der Plantar Tester garantiert eine sekundengenaue Messung der Latenzzeit, nach der die Tiere einen Schmerz verspüren (MALCANGIO et al. 1997, Fa. UGO BASILE, 2002). Der Test ist einfach durchzuführen. Da es sich bei diesem System im Grunde auch um nozizeptive Verhaltensbeobachtungen handelt (GABRIEL et al., 2004), steht die Objektivierbarkeit zur Diskussion. Bei aller Genauigkeit können sich Messfehler einschleichen, da das Auslösen der

Messzeit und die Beobachtungen von Untersucher zu Untersucher variieren können. Auch wird das Fokussieren des Hitzestrahls nicht immer auf dieselbe Stelle der Hinterpfoten gelingen.

Um diese Fehler zu minimieren hatte in dieser Versuchsreihe der selbe Untersucher alle Testungen und alle Verhaltensbeobachtungen durchgeführt. Natürlich konnte auch dieser Untersucher nicht immer die selbe Stelle an den Hinterpfoten dem Reiz aussetzen, sondern reizte fakultativ auch Stellen mit Hornhaut, so dass das jeweilige Tier den Hitzereiz erst später merkte. Um zu großen Ungenauigkeiten zu vermeiden, wurde jede Hinterpfote bei jedem Tier viermal getestet.

Frühere Studien über die analgetische Wirkung von Mirtazapin sind ebenfalls durch die Messungen der Pfotenrückzuglatenzzeiten nach Hitzereizen durchgeführt worden (SCHREIBER et al. 2002a/b). Aus diesem Grund wurden hier ähnliche Untersuchungsparameter verwendet. Diese sind die Zeiten nach Hitzeapplikation, nach denen die Ratten einen Schmerz verspüren und die betroffene Hinterpfote wegziehen (=> Pfotenrückzuglatenzzeit). Die Pfotenrückzuglatenzzeit gilt als etabliertes wissenschaftliches Messverfahren (HARGREAVES et al. 1988, MALCANGIO et al. 1997, GÜHRING et al. 2000, HUDSON et al. 2002, GABRIEL et al. 2004).

Die Messzeitpunkte wurden nach Auswertung der Vorversuche auf 120 und 240 Minuten sowie 24 Stunden nach Mirtazapin-Applikation festgelegt. In den Vorversuchen zeigte sich, dass zu diesen Zeitpunkten mit Maximaleffekten zu rechnen ist. Die Messung nach 24 Stunden wurde wegen der langen Halbwertszeit des Wirkstoffes durchgeführt. So konnte sichergestellt werden, dass keine Späteffekte übersehen werden.

Da mit dem Plantar Tester nicht nur akute, sondern auch chronische Schmerzversuche (nach Neuropathieinduktion) durchgeführt werden können, wird dieser Test auch in der Folgearbeit (DRIEHCEN in Vorbereitung) verwendet. Dadurch ist eine bessere Vergleichbarkeit der Ergebnisse gegeben.

Applikationsart und Mirtazapin-Dosierung

Die intraperitoneale Applikationsform wurde in Anlehnung an verschiedene Veröffentlichungen über Testungen von Mirtazapin an Ratten durchgeführt. So berichten

DE BOER et al. (1988 und 1995), KELDER (1997), MC GRATH et al. (1998) und DEVOTO et al. (2004) über ihre Studien, in denen Mirtazapin den Ratten immer i. p. appliziert wird. Da auch SCHREIBER et al. (2002a und 2002b) über eine i.p.-Applikation bei Mäusen zur Schmerzforschung berichten, wurde diese Form der Verabreichung zunächst auch in der vorliegenden Studie ausgewählt.

Nachdem allerdings der erste Hauptversuch stark schwankende Ergebnisse hervorbrachte, wurde nach konsequenter Fehlersuche im zweiten Hauptversuch eine neue Applikationsart angewendet.

Laut HENKE und ERHARDT (2004) gilt die intraperitoneale Applikationsform als problematisch, da es auch bei sachkundiger Durchführung zu einer Substanzapplikation in Darm oder Blase des Tieres kommen kann. Dadurch kommt es zu einer verzögerten Resorption und damit zu verzögertem oder ausbleibendem Wirkeintritt.

Der erste Hauptversuch fand im Spätsommer mit teilweise hohen Temperaturen statt, so dass sich die Ratten bei diesen Temperaturen nicht wohl fühlten. Auch waren die räumlichen Bedingungen zu Beginn des Versuches nicht optimal, da Klimaanlage und Lüftung des Öfteren defekt waren. Außerdem arbeiteten mehrere Versuchsgruppen gleichzeitig in dem Untersuchungszimmer, so dass die Ratten sichtlich aufgeregt und abgelenkt waren.

Durch diese ungünstigen Faktoren und die vermeintlich unterschiedliche Resorption des Wirkstoffes kam es zu einer unkontrollierten Beeinflussung der Messergebnisse, die es in dem zweiten Hauptversuch zu vermeiden galt.

So wurden die zu untersuchenden Substanzen zu Beginn des zweiten Hauptversuches neu gelöst, portioniert und bis zum Gebrauch eingefroren.

Als neuer Applikationsweg für den zweiten Hauptversuch wurde die intrathekale Applikation über einen Dauerkatheter gewählt. Sie hat den Vorteile, dass die Substanzen immer an den gleichen Resorptionsort gelangen, nämlich direkt in den Liquor cerebrospinalis. Von dort wird das Mirtazapin schnell resorbiert und metabolisiert. Außerdem ist ein solcher Dauerkatheter für die Tiere stressärmer, da sie nicht bei jeder Injektion einen weiteren Schmerz verspüren und die Tiere bleiben dadurch deutlich handzahmer.

Natürlich wurde den Tieren nach der OP zum Legen des Dauerkatheters ein starkes Analgetikum (Buprenorphin) verabreicht. Außerdem wurden die ersten Messungen frühestens

fünf Tage post operativ durchgeführt, damit die Wundheilung abgeschlossen und das Händeln nicht schmerzhaft für die Tiere war.

Eine intrathekale Applikation eines Analgetikum wird beim Menschen i. d. R. nicht eingesetzt. Trotzdem wurde diese Art hier verwendet, da die Studie nicht nach geeigneten Formen der Mirtazapin-Verabreichung oder dessen Wirkeintritt, sondern sich vielmehr mit dem Vergleich des Razemates sowie des R(-)- und S(+)-Enantiomers in Bezug auf ihre analgetische Wirkung bei Tieren befassen sollte. Dazu war es nötig, die Studie unter möglichst standardisierten Bedingungen sicher durchzuführen.

Falls eines der beiden Enantiomere eine gute Schmerzhemmung bewirkt, helfen weitere Studien, die richtige Applikationsart und Dosierung z.B. für den Menschen zu bestimmen.

Die angewendete Dosierung erfolgte ebenfalls in Anlehnung an die beiden Veröffentlichungen von SCHREIBER et al. aus dem Jahr 2002. Dort wird eine analgetische Wirkung in einem Dosisbereich von 2,5mg/kg bis 7,5mg/kg beschrieben. Da die Tests an Mäusen durchgeführt wurden, stand in der vorliegenden Studie erst eine genaue Dosisfindung für die Ratte an. Wie oben bereits erläutert, wurden zwei verschiedene Applikationsarten verwendet, dementsprechend gab es auch zwei verschiedene Dosisbereiche.

Da Mirtazapin eine sehr lange Halbwertszeit und hohe Bioverfügbarkeit hat (KELDER 1997, ORGANON 2003), wurde den Tieren der Wirkstoff nur einmal verabreicht und dann in den angegebenen Intervallen die Wirkung gemessen. Wegen der vollständigen Elimination (KELDER et al.1997, ORGANON 2003), wurden die Tiere erst nach einem bestimmten zeitlichen Abstand (i.d.R. nach 3 bis 4 Tagen) erneut getestet.

4.2 Diskussion der Ergebnisse

Vorversuch / Dosisfindung

SCHREIBER et al. (2002a und 2002b) haben bei Mäusen einen möglichen analgetischen Effekt von Mirtazapin untersucht. Die dabei verwendeten Dosen wurden in der vorliegenden Arbeit als Richtwerte angenommen. In den Vorversuchen sollten diese Dosierungen an Ratten getestet werden, um sie eventuell zu übernehmen oder zu ändern.

Daher ist auch die Versuchsdurchführung eng an die beiden Veröffentlichungen gekoppelt. Pro Dosis wurde bewusst jeweils nur eine Ratte getestet, da es tatsächlich nur um die Bestätigung oder Veränderung der vorgegebenen Dosierungen ging.

SCHREIBER et al. (2002a/b) bestätigten, dass Mirtazapin in bestimmten Dosierungen analgetisch wirkt.

Außerdem sollte auch sichergestellt werden, dass für die Hauptversuche keine toxischen Dosen verwendet werden. Aus diesem Grund wurde ein sehr großer Dosisbereich getestet. So konnte festgestellt werden, dass Mirtazapin zu gegenteiligen Effekten führt: Ab einer Dosierung von 7,5mg/kg reagierten die Tiere eher hyperalgetisch auf den applizierten Hitzereiz (siehe Abb. 14, S. 51 und Tab. 19, S.63). Auch waren die Tiere in ihrem Allgemeinverhalten gestört, zeigten Unruhe, teilweise Hyperaktivität und fast ausnahmslos Muskelzuckungen in den Hinterbeinen.

Diesen Nebeneffekt des Mirtazapin beobachteten auch SCHREIBER et al. (2002a und 2002b). Sie berichteten von einem Absinken der Pfotenrückzugslatenzzeit ab einer Dosierung von 10mg/kg. Deutlich wird dieser Effekt in einer Dosis-Wirkungskurve, dort zeigt sich ein biphasischer Kurvenverlauf.

Eine Erklärung für diesen biphasischen Kurvenverlauf gibt es bis jetzt noch nicht. Auch SCHREIBER et al. (2002a/b) stellen keine weiteren Vermutungen an.

Eine Erklärung könnte sich eventuell durch die Untersuchungen von DODD et al. (2000) ergeben. Sie belegen, dass die beiden Enantiome unterschiedlich schnell von Leberenzymen abgebaut werden. Daher liegt nach einer i.v. Gabe des Razemates von 30mg/kg beim Menschen im Blut auch eine unterschiedliche Verteilung der Enantiomere vor. Nach DODD et al. (2000) liegt das S(+)-Enantiomer zu 1/3 und das R(-)-Enantiomer zu 2/3 vor.

Da die Einzelwirkungen der beiden Enantiomere noch nicht vollständig untersucht sind, besteht die Möglichkeit, dass die unterschiedlichen Abbauvorgänge und die damit verbundenen unterschiedlichen Wirkungen unter anderem die biphasische Kurve mitbedingen. KELLER (2004) schreibt, dass in höheren Dosierungen die serotonergen Wirkungen in den Vordergrund treten und die sedierende Komponente zurücktritt. Die Myoklonien die die Ratten bei bestimmten Dosierungen zeigten, werden auch in der Fachinformation über Mirtazapin von ORGANON (2003) erwähnt. So führte bei Untersuchungen an Ratten, die Gabe von 6mg/kg/Tag gelegentlich zu Krampfanfällen, Tremor und Muskelzuckungen.

Bei der intravenösen Applikation bei Beagle-Hunden fallen ruckartige Bewegungen, Zittern, Verhaltensveränderungen und gesteigerte Erregung auf (ORGANON, 2003).

Dadurch könnten sich auch die Verhaltensbeobachtungen bei einzelnen Tieren der vorliegenden Studie erklären lassen.

Als weitere Verhaltensänderungen lassen sich das Ablecken der Wände, des Bodens, das Aufnehmen des eigenen Urins und das ausgiebige Trinken nach zurücksetzen in den Käfig bei den eigenen Untersuchungen werten. Dieses Verhalten zeigten die Tiere auch nur bei höheren Dosierungen, ab 10mg/kg Tier.

ORGANON (2003) berichtet in der speziellen Fachinformation, dass 22% der Patienten unter 65 Jahre (n=1.247) und 30% der Patienten über 65 Jahre (n=131) nach der Einnahme von Mirtazapin über Mundtrockenheit klagten.

Daher liegt die Vermutung nahe, dass die in den eigenen Untersuchungen verwendeten Tiere unter einem trockenen Maul und damit an Durst litten. Mögliche Ursachen für diese Nebenwirkung könnten z.B. auch ein vermehrter Harnabsatz oder eine unzureichende Wasseraufnahme sein. Beides konnte bei den getesteten Ratten nicht beobachtet werden.

Erster Hauptversuch

Die Ergebnisse des ersten Hauptversuches, in dem die zu testenden Substanzen intraperitoneal verabreicht wurden, lassen keine Aussage über eine analgetische Komponente des Mirtazapin zu.

Zwischen den einzelnen PWTs in den getesteten Dosierungen, 0,1mg/kg bis 5mg/kg, liegen teilweise extrem große Schwankungen (siehe Tab. 19, S.63). Auffällig waren die auftretenden

Verhaltensveränderungen. Denn obwohl keine eindeutige Erhöhung bzw. Erniedrigung der PWTs zu erkennen war, zeigten die Tiere die bereits oben erwähnten Nebenwirkungen wie Muskelzuckungen und Erregung. Weiterhin auffällig war, dass viele Tiere bereits nach durchschnittlich 40 Minuten deutlich ruhiger erschienen. Die Ratten lagen dann viel und dösten, bzw. schliefen teilweise. Nach dem Hitzereiz waren alle betroffenen Tiere jedoch hellwach und beobachteten aufmerksam ihre Umgebung.

Es lässt sich keine Tendenz dieser Nebenwirkungen zu einer bestimmten Substanzgruppe erkennen. Nach Razemat, R(-)- und S(+)-Enantiomer-Gabe traten gleichermaßen Myoklonien und Sedation auf.

Die Sedation der Tiere lässt sich durch das pharmakologische Profil des Wirkstoffes erklären. Mirtazapin blockiert u.a. den H₁-Rezeptor, was Sedation und Schläfrigkeit bedingen kann (DE BOER et al. 1988, ORGANON 2003 und KELLER 2004). ORGANON (2003) beschreibt jedoch auch, dass Mirtazapin eine deutlich geringere Sedierung hervor ruft, als zu erwarten ist. Dies ließe sich durch Gewöhnungseffekte und durch die aktivierende Wirkung der vermehrten Noradrenalin-Freisetzung erklären.

Da Ratten i.d.R. nachtaktive Tiere sind (NORTON et al. 1975) und Mirtazapin einschläffördernd ist (DE BOER et al. 1997), wäre es möglich, dass die Ratten nicht sediert waren, sondern vielmehr ihren normalen zirkadianen Rhythmus durchliefen. Bei diesem schlafen sie zu Beginn der Hellphase physiologischerweise sehr tief und Mirtazapin würde lediglich das Einschlafen fördern.

Diese Spekulation lässt sich durch das Verhalten der Kontroll-Tiere (NaCl-Applikation) untermauern. Denn auch diese Tiere zeigten ein ruhiges Verhalten während der Tests. Einige der Kontroll-Tiere rollten sich zeitweise zusammen und schliefen fest.

Zweiter Hauptversuch

Im zweiten Hauptversuch kommt es zu signifikanten Ergebnissen. In diesem Versuch wurden die zu testenden Substanzen intrathekal appliziert.

Durch die Tests lässt sich die analgetische Komponente des Mirtazapin-Razemates bestätigen. Auch zeigt sich in dieser Testreihe eine Dosisabhängigkeit der Wirkung. Wie bereits bei SCHREIBER et al. (2002a/b) erwähnen, wirkt Mirtazapin in einem bestimmten Dosisbereich analgetisch. In der vorliegenden Studie liegt dieser Bereich zwischen 0,1mg/kg bis 0,01mg/kg

(siehe Abb. 27-30, S. 87-90). Bei einer Dosierung von 1mg/kg erniedrigten sich die PWTs deutlich (siehe Abb. 27, S. 87).

Der antinozizeptive Effekt des Mirtazapin resultiert wahrscheinlich aus einer Verstärkung der inhibitorischen Wirkung serotonerger und noradrenerger Transmittersysteme auf die Schmerztransmission im spinothalamischen System. Dabei scheint die Blockade der peripheren 5-HT_{2A}-Rezeptoren eine besondere Rolle zu spielen (ORGANON, 2003). Gerade in niedrigeren Dosen als zur Depressionsbehandlung ist Mirtazapin analgetisch wirksam (KELLER, 2004). Diese Aussage kann auch durch die vorliegende Studie bestätigt werden. Natürlich kann diese Studie nicht den Wirkmechanismus der analgetischen Komponente klären.

SCHREIBER et al. (2002a) verdeutlichen, dass der antinozizeptive Effekt aus einer Kombination der serotonergen und noradrenergen Wirkung mit der Beeinflussung des endogenen Opioid- Systems resultiert. Diese Aussage bestätigen SCHREIBER et al. (2002b) in einer Folgestudie selbst. Mirtazapin wirkt demnach auf δ - und κ -Opioid-Rezeptoren, etwas schwächer auch auf μ -Rezeptoren.

Bei zeitgleicher Gabe von Opioiden und Mirtazapin potenziert sich der analgetische Effekt signifikant. Eine entscheidende Rolle spielt dabei der κ_3 -Rezeptor, zu dem Mirtazapin eine hohe Affinität besitzt (SCHREIBER et al., 2002b).

Diese Wirkung auf Opioid-Rezeptoren sollte in weiterführenden Studien näher untersucht werden.

Bei bestätigter Wirkung auf diese Rezeptoren könnte Mirtazapin gerade in der Therapie starker Schmerzen eingesetzt werden. Bei dieser Therapie müssen vielfach Opioide eingesetzt werden, die im Gegensatz zu Antidepressiva, ein hohes Suchtpotential besitzen (ORGANON, 2003).

ORGANON (2003) gibt erste Zahlen über die analgetische Wirkung des Mirtazapin an. So gaben zu Beginn einer Studie 77% der Patienten (n=2.633) an, unter starken chronischen Schmerzen zu leiden. Bereits nach sechswöchiger Behandlung mit Mirtazapin gaben 24% der Patienten an, gar nicht mehr unter Schmerzen zu leiden. Bei 65% der Patienten konnten die Schmerzen „sehr stark“ oder „stark“ verringert werden.

Die Beobachtung, dass Mirtazapin sowohl bei überwiegend „psychisch“ (z.B. Fibromyalgien) als auch bei überwiegend „organisch“ (z.B. Karzinome) bedingten Schmerzen gut wirkt, lässt

auf einen eigenständigen, von der antidepressiven Wirkung unabhängigen schmerzreduzierenden Effekt schließen (DEMLING, 2001).

Auch KELLER (2004) gibt ähnliche Indikationsgebiete für Mirtazapin an. Er würde es als Komedikation zu Opiaten bei Tumorschmerzen einsetzen. Das größere Indikationsgebiet sieht er allerdings als Monotherapie zur Behandlung bei chronischen Spannungskopfschmerzen, bei neuropathischen Schmerzzuständen und bei Fibromyalgien.

Um diese Aussagen eventuell zu bekräftigen und um die vorliegende Studie in diese Richtung weiterzuführen, entsteht gerade eine Folgearbeit, die die Wirkung von Mirtazapin bei neuropatisch induzierten Schmerzen untersucht (DRIEHCEN, in Vorbereitung).

Auch im zweiten Hauptversuch zeigten manche Tiere einige Verhaltensänderungen. So konnte z.B. bei 4 Tieren (1mg/kg, n=6) starke Myalgien beobachtet werden. Davon zeigte ein Tier bei der Messung auch besonders starke Reaktionen auf den Hitzereiz. Zeitgleich erniedrigten sich die PWTs signifikant.

Man kann also eventuell davon ausgehen, dass die Tiere einen Schmerz nicht nur eher, sondern auch stärker verspürten.

So kann erneut die biphasische Dosis-Wirkungskurve des Razemates bestätigt werden (SCHREIBER et al., 2002a/b).

Des Weiteren schienen jeweils 2 Tiere (0,1mg/kg u. 0,01mg/kg, n=6) nach der Mirtazapin-Gabe sediert zu sein. ORGANON (2003) gibt an, dass es gerade bei niedriger Dosierung zu Benommenheit, Schläfrigkeit bis hin zur Sedierung kommt. KELLER (2004) schreibt, dass Mirtazapin in niedriger Dosis analgetisch wirksam ist.

Außer der Bestätigung, dass das Razemat bei Ratten analgetisch wirkt, kann die eigene Studie zwei weitere Aussagen machen:

So hat das R(-)-Enantiomer ebenfalls signifikante ($p < 0,0001$) antinozizeptive Effekte, besonders deutlich in den Dosierungen 0,01mg/kg und 0,1mg/kg i.t..

Das S(+)-Enantiomer wirkt dagegen in gleicher Dosis signifikant ($p < 0,0001$) pronozizeptiv.

Da die beiden Enantiomere weltweit noch nicht auf dem Markt erhältlich sind, gibt es nur begrenzt Fachliteratur, die dazu noch unterschiedliche Aussagen machen. Daher ist es schwierig diese Thesen, außer durch die eigenen Ergebnisse, zu belegen. DE BOER (1988)

schreibt, dass beide Enantiomere sich ähnlich verhalten, wobei das S(+)-Enantiomer etwas effektiver am Rezeptor zu sein scheint.

Auch MC GRATH (1998) stellt fest, dass keines der beiden Enantiomere effektiver als das Razemat zu sein scheint.

Als sicher gilt, dass das R(-)-Enantiomer fast ausschließlich die α_2 -Heterorezeptoren und die 5-HT₃-Rezeptoren blockiert. Das S(+)-Enantiomer hingegen blockiert eher die α_2 -Auto-/Heterorezeptoren und die 5HT₂-Rezeptoren.

Betrachtet man diese Aussagen zusammen mit der von ORGANON (2003), wonach besonders der 5-HT_{2A}-Rezeptor für den analgetischen Effekt verantwortlich sein soll, liegt die Vermutung nahe, dass das S(+)-Enantiomer schmerzhemmend wirken müsste.

Doch wie bereits oben erwähnt, wirkt das S(+)-Enantiomer in der eigenen Studie deutlich pronozizeptiv.

Auch nach der Gabe der Enantiomere kam es zu Verhaltensauffälligkeiten bei einzelnen Ratten: So waren jeweils 3 Tiere (0,1mg/kg und 1mg/kg, n=6) und 2 Tiere (0,01mg/kg, n=6) nach der S(+)-Mirtazapin-Gabe sehr unruhig, bzw. zeigten gesteigerte Aktivität. Zeitgleich reagierten jeweils 2 der Ratten verstärkt auf den Hitzereiz.

In der Fachliteratur gibt ORGANON (2003) an, dass 10% der Patienten (n=359) über Schlaflosigkeit und 5% der Patienten über Unruhe klagen.

Bei den Tieren der eigenen Studie erniedrigte sich die PWT besonders deutlich. Man könnte vermuten, dass es einen Zusammenhang zwischen der gesteigerten Aktivität, der Erniedrigung der PWTs und der stärkeren Schmerzwahrnehmung nach S(+)-Mirtazapin-Gabe gibt.

Bei den Tieren, die in den Untersuchungen das R(-)-Enantiomer erhalten, erhöhen sich die PWTs deutlich. Außer bei der niedrigsten Dosierung (0,001 mg/kg), scheint das R(-)-Enantiomer bei allen anderen Dosierungen einen analgetischen Effekt zu haben. Dieses Ergebnis lässt sich nicht durch die Fachliteratur bestätigen.

Es bleibt demnach nichts anderes übrig, als weitere Studien zu empfehlen. Vielleicht können die dabei erzielten Ergebnisse eine eindeutige Aussage über die Wirkung der beiden Enantiomere des Mirtazapin zulassen.

4.3 Schlussfolgerung / Ausblick

Zusammenfassend betrachtet, lässt die vorliegende Studie drei Schlussfolgerungen zu:

- Mirtazapin-Razemat ist in niedrigen Dosen bei der Ratte analgetisch wirksam.
- R(-)-Mirtazapin ist analgetisch wirksam, jedoch nicht stärker als das Razemat.
- S(+)-Mirtazapin ist nicht analgetisch wirksam, es besitzt im Gegenteil einen pronozizeptiven Effekt.

Doch welche Vorteile könnte das Mirtazapin oder sein (R-)-Enantiomer in der Schmerztherapie haben?

Zum einen, dass es sowohl i.v., als auch oral gegeben werden kann (KELLER, 2004). Zum anderen, dass eine einmalige Gabe am Tag ausreicht, da Mirtazapin eine lange biologische Halbwertszeit hat (KELDER et al.1997, KELLER 2004). Gerade in der Tiermedizin sind Medikamente von Vorteil, die nur einmal täglich verabreicht werden müssen (HENKE und ERHARDT 2001).

Ein weiterer Vorteil ist, dass Mirtazapin aufgrund seines pharmakologischen Profils keine anticholinergen Effekte bzw. Nebenwirkungen hervorruft (DE BOER et al. 1995,ORGANON 2003, KELLER 2004). In klinischen Studien wurden keine oder nur geringfügige Effekte auf Herzfrequenz, Blutdruck oder Körpertemperatur beobachtet (ORGANON 2003).

Über die Nebenwirkungen des R(-)-Mirtazapin sind noch keine speziellen Studien veröffentlicht worden. Dieses wird sich sicherlich in naher Zukunft ändern. Möglicherweise zeigt sich dann ein geringeres Nebenwirkungsspektrum als beim Razemat, so dass R(-)-Mirtazapin als Therapeutikum vorzuziehen wäre. Lediglich ein Tier zeigt in den eigenen Untersuchungen leichte Myoklonien, die rasch wieder nachlassen. Ansonsten erscheinen die Tiere nach der R(-)-Enantiomer-Gabe vom Allgemeinbefinden her, bis auf die deutlich erhöhten PWTs, normal.

Als Vorteil wäre das nicht vorhandene Suchtpotential des Antidepressivum Mirtazapin, im Gegensatz zu Opioiden, zu werten (ORGANON, 2003). So könnte Mirtazapin rein theoretisch anstelle von Opiaten oder in Kombination mit diesen in der Therapie starker oder chronischer Schmerzen eingesetzt werden (KELLER 2004).

5 Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wurde die Wirkung von Mirtazapin (Remergil®) auf akute, durch Hitze induzierte Schmerzen an der Ratte, im Vergleich zu mit isotonem NaCl behandelten Kontrolltieren, untersucht.

Insbesondere sollte dabei geklärt werden, ob das Razemat oder eines der beiden Enantiomere des Mirtazapin analgetisch wirken.

Insgesamt wurden 41 männliche Wistar-Ratten mit Hilfe des sog. Plantar Testers mehrfach einem bestimmten Hitzereiz an den Hinterpfoten ausgesetzt. Gemessen wurde die Zeit, nach der das Tier die Hitze als schmerzhaft empfindet und die Pfote wegzieht (Pfortenrückzuglatenzzeit).

Vom tierexperimentellen Ablauf ist die Studie untergliedert in einen Vorversuch und zwei Hauptversuche. Im Vorversuch wurden die aus Studien an Mäusen übernommene Dosierungen vorgetestet. Die hierbei erzielten Ergebnisse waren maßgebend für die in den Hauptversuchen verwendeten Dosierungen.

So wurde im ersten Hauptversuch den Tieren der Wirkstoff in Form von Mirtazapin-Razemat, (R-)-Mirtazapin und (S+)-Mirtazapin jeweils in vier verschiedenen Dosierungen (0,1mg/kg - 5mg/kg) i.p. appliziert und nach bestimmten Zeitintervallen (0, 120, 240 Minuten und 24 Stunden) die Testung durchgeführt.

Im zweiten Hauptversuch wurde die „sichere“ intrathekale Applikationsform gewählt und deshalb auch die Dosierung verändert. Sie lagen in Bereichen von 0,001mg/kg bis 1mg/kg. Bei dieser Applikationsform zeigte sich, dass das Mirtazapin-Razemat und das R(-)-Mirtazapin in den vorgegebenen Dosisbereichen analgetisch wirksam sind. Bei den untersuchten Tieren stiegen die Pfortenrückzuglatenzzeiten signifikant an. Allerdings zeigte das R(-)-Enantiomer keinen stärkeren analgetischen Effekt als das Razemat, wohl aber weniger Nebenwirkungen. Weiterhin zeigte sich, dass das S(+)-Mirtazapin einen gegenteiligen Effekt bedingt. Nach der Gabe des S(+)-Enantiomers erniedrigten sich die Latenzzeiten signifikant. Die Tiere spürten den Hitzereiz eher, waren also hyperalgetisch geworden.

Zusammenfassend betrachtet zeigten das Mirtazapin-Razemat und das (R-)-Enantiomer einen analgetischen Effekt bei Ratten. Eventuell lässt sich dieser Effekt auch in der Therapie von chronischen Schmerzpatienten ausnutzen.

6 Summary

The effect of mirtazapine in acute pain induced by heat in rats.

The present study examines the effect of mirtazapine (Remergil®) in acute pain induced by heat in rats, in comparison to rats treated with 0.9% NaCl.

Mirtazapine is a frequently used antidepressant. In clinical studies were patients received mirtazapine a pain reduction was report. The aim of our study was to investigate, whether one or both of the enantiomeres of mirtazapine has an analgesic effect in a classical animal pain model.

A total of 41 male Wistar rats were examined with the Plantar Test®. The Plantar Test® (Heargraves` Method) enables the researcher to discern the response to thermal stimulation in the unrestrained rat. When the rat feels pain and withdraw its hind paw, the sudden drop of reflected radiation switches off the infrared source and starts a digital solid state timer. The time thus measured is the so-called paw withdrawal threshold (PWT).

First, mirtazapine-racemate, R(-)-mirtazapine, S(+)-mirtazapine in four different doses (5 mg / kg - 0.1 mg /kg) and Saline were administered intraperitoneally and after 0, 120, 240 minutes and 24 hours the PWTs were measured.

Second, mirtazapine-racemate, R(-)-mirtazapine, S(+)-mirtazapine in four different doses (1 mg / kg to 0,001 mg / kg) and Saline were administered intrathekally and after 120, 240 minutes and 24 hours the PWTs were measured.

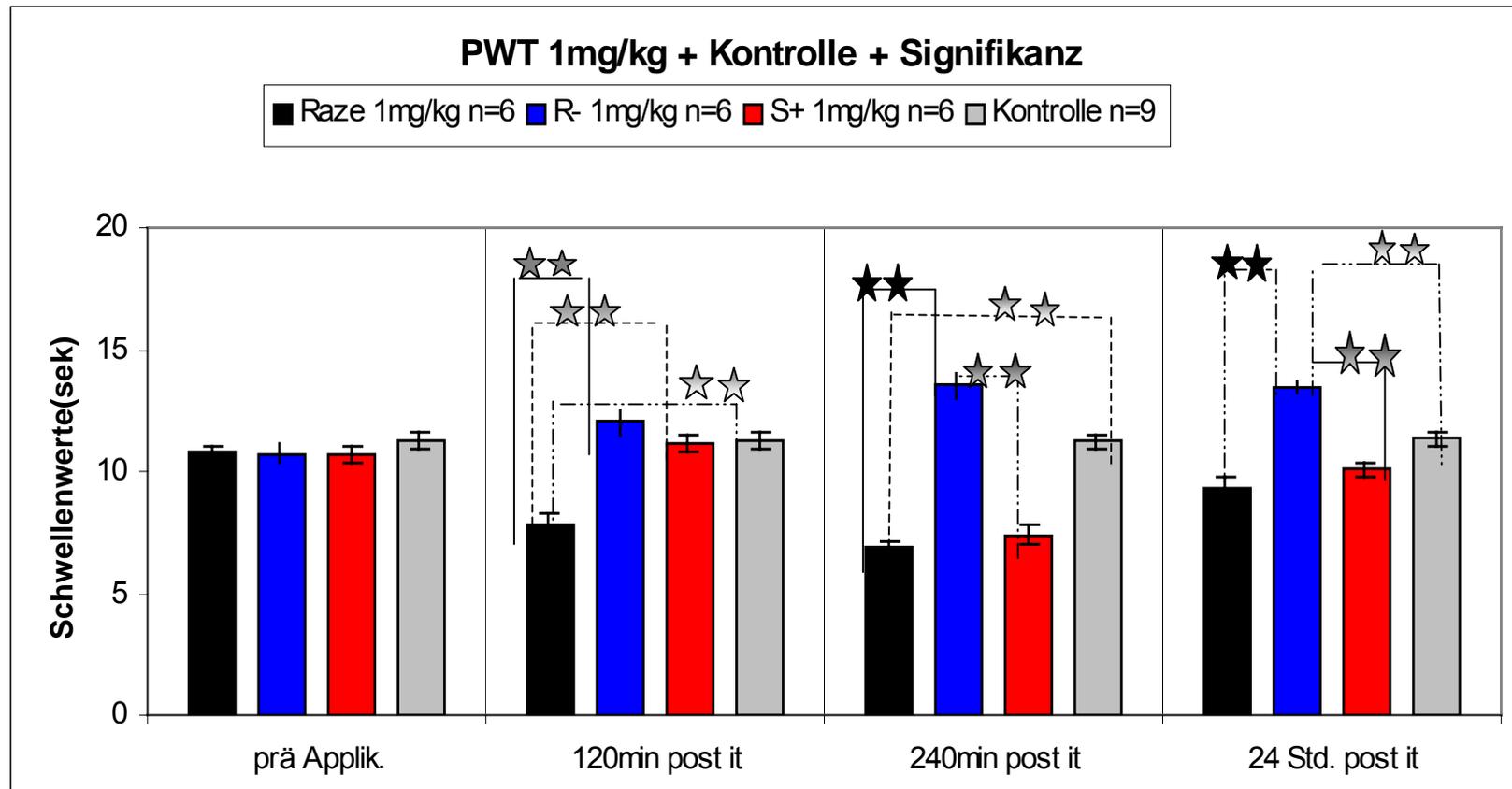
After intraperitoneal administration no effect of either mirtazapine-racemate nor R(-)-mirtazapine or S(+)-mirtazapine in comparison to saline treated animals was found.

However, after intrathekal administration mirtazapine-racemate and R(-)-mirtazapine were analgesic, i.e. increased PWT's in comparison to saline treated animals significantly.

Surprisingly, S(+)-mirtazapine exerted pronociceptive action, i.e. decreased PWTs in comparison to saline treated animals.

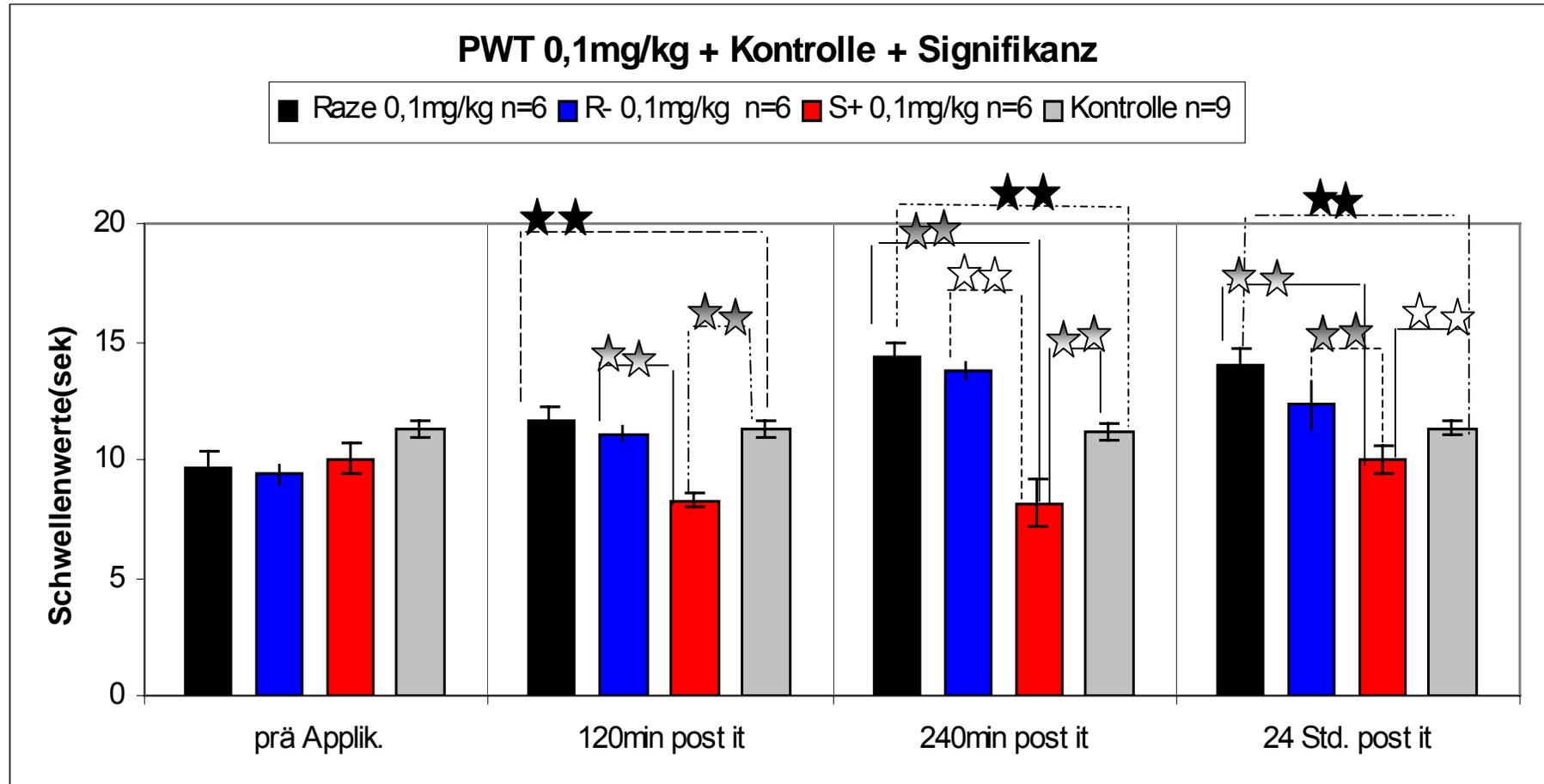
In conclusion, mirtazapine-racemate and R(-)-mirtazapine are analgesic in an established animal pain model and may both be effective in human chronic pain state.

Abb. 27: Graphische Darstellung der mittleren PWTs nach intrathekaler Mirtazapin-Applikation (1mg/kg) mit signifikanten Unterschieden



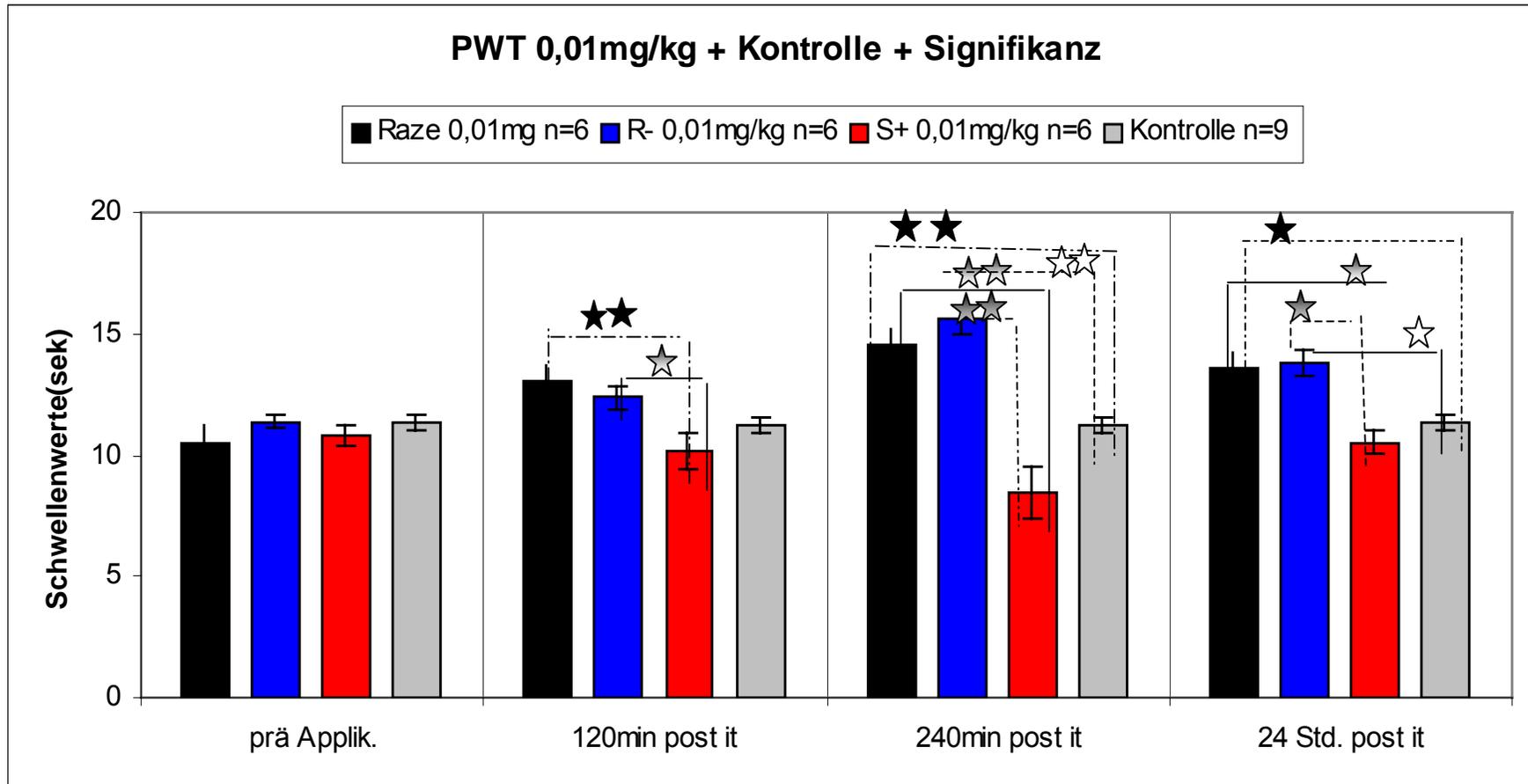
PWT = Pfotenrückzuglatenzzeit, sek = Sekunde, Raze = Mirtazapin-Razemat, R- = R(-)-Mirtazapin, S+ = S(+)-Mirtazapin, Kontrolle = Tiere erhalten NaCl, n=x = Anzahl der getesteten Tiere, prä Applik. = vor der Substanzinjektion, x min post i.t. = x Minuten nach der Substanzinjektion, t = tendenzieller Unterschied. * = signifikanter Unterschied ($p < 0,05$), ** = hoch signifikanter Unterschied ($p < 0,0001$)

Abb. 28: Graphische Darstellung der mittleren PWT nach intrathekaler Mirtazapin-Applikation (0,1mg/kg) mit signifikanten Unterschieden



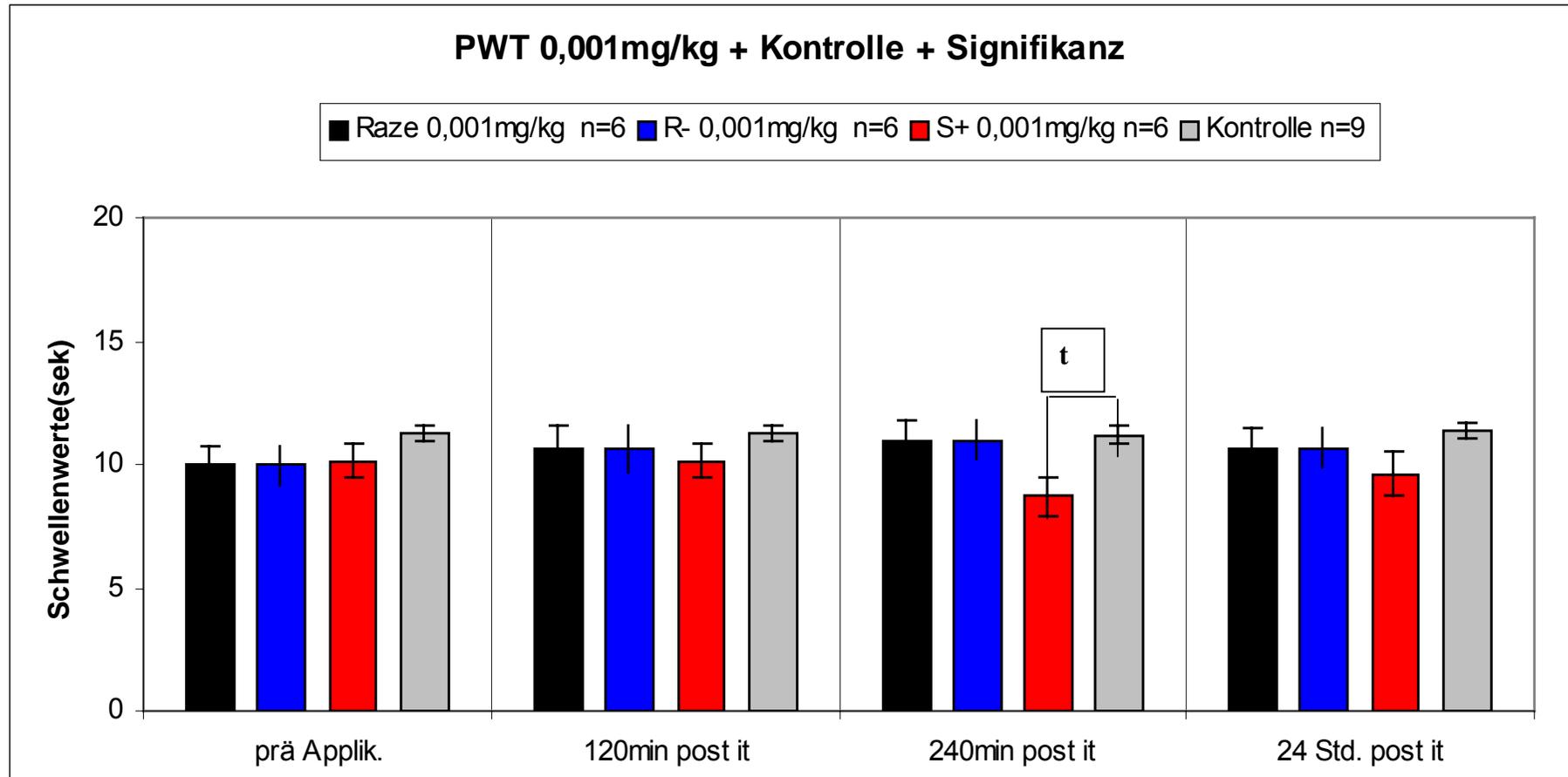
PWT = Pfotenrückzugslatenzzeit, sek = Sekunde, Raze = Mirtazapin-Razemat, R- = R(-)-Mirtazapin, S+ = S(+)-Mirtazapin, Kontrolle = Tiere erhalten NaCl, n=x = Anzahl der getesteten Tiere, prä Applik. = vor der Substanzinjektion, x min post i.t. = x Minuten nach der Substanzinjektion, t = tendenzieller Unterschied, * = signifikanter Unterschied ($p < 0,05$), ** = hoch signifikanter Unterschied ($p < 0,0001$)

Abb. 29: Graphische Darstellung der mittleren PWT nach intrathekaler Mirtazapin-Applikation (0,01mg/kg) mit signifikanten Unterschieden



PWT = Pfotenrückzuglatenzzeit, sek = Sekunde, Raze = Mirtazapin-Razemat, R- = R(-)-Mirtazapin, S+ = S(+)-Mirtazapin, Kontrolle = Tiere erhalten NaCl, n=x = Anzahl der getesteten Tiere, prä Applik. = vor der Substanzinjektion, x min post i.t. = x Minuten nach der Substanzinjektion, t = tendenzieller Unterschied, * = signifikanter Unterschied ($p < 0,05$), ** = hoch signifikanter Unterschied ($p < 0,0001$)

Abb. 30: Graphische Darstellung der mittleren PWT nach intrathekaler Mirtazapin-Applikation (0,001mg/kg) mit signifikanten Unterschieden



PWT = Pfotenrückzuglatenzzeit, sek = Sekunde, Raze = Mirtazapin-Razemat, R- = R(-)-Mirtazapin, S+ = S(+)-Mirtazapin, Kontrolle = Tiere erhalten NaCl, n=x = Anzahl der getesteten Tiere, prä Applik. = vor der Substanzinjektion, x min post i.t. = x Minuten nach der Substanzinjektion, t = tendenzieller Unterschied, * = signifikanter Unterschied ($p < 0,05$), ** = hoch signifikanter Unterschied ($p < 0,0001$)

8 LITERATURVERZEICHNIS

ALLEN J.W., YAKSH T.L. (2004)

Assesment of acute thermal nociception in laboratory animals.

In: Luo D. Z. (Hrsg.): Pain Research - Methods and Protocols, Humana Press Inc., New Jersey, 11-23

ARIENS E. J. (1984)

Stereochemistry, a basic for sophisticated nonsense in pharmacokinetics and clinical pharmacology.

Eur. J. Pharmacol. 26, 663-668

BLIER (2001)

Putative mechanism of action of antidepressant drugs in affective and anxiety disorders and pain.

J. Psysc. Neurosc. 26(1), 37-43

BULLINGHAM R., MC QUAY H. J., MOORE A., BENNET M. (1980)

Buprenorphine kinetics.

Clin. Pharmacol. Ther. 28, 667- 672

DE BOER TH., MAURA G., RAITERI M., DE VOSS C. J., WIERINGA J., PINDER R. M. (1988)

Neurochemical and autonomic pharmacological profiles of the 6-aza-analogue of Mianserin, ORG 3770 and ist enantiomers.

Neuropharmacology 27, 399-408

DE BOER TH., RUIGT G. S. F., BERENDSEN H. H. G. (1995)

The α_2 -selective adrenoceptor antagonist ORG 3770 (Mirtazapin, Remeron®) enhances noradrenergic and serotonergic transmission.

Hum. Psychopharmacol. 10, 107-118

DEMLING J.H. (2001)

Behandlung von Schmerzzuständen mit Mirtazapin: Eine Anwendungsbeobachtung.
Synopsis 7, 41-44

DENECKE H., HÜNSELER C. (2000)

Messen und Erfassen von Schmerz.
Schmerz 14, 302- 308

DEVOTO P., FLORE G., PIRA L., LONGU G., GESSA G.L. (2004)

Mirtazapin-induced corelease of dopamin and noradrenaline from noradrenergic neurons in the medial prefrontal and optical cortex.
Eur. J. Pharmacol. 487, 105-111

DOCHERTY J. R. (1998)

Subtypes of functional α_1 - and α_2 -adrenoceptors.
Eur. J. Pharmacol. 361, 1-15

DODD S., BURROWS G. D., NORMAN T. R. (2000)

Chiral determination of mirtazapine in human blood plasma by high-performance liquid chromatography.
J. Chromatogr. B. 748, 439-443

DRIEHCEN C. (IN VORBEREITUNG)

Die Wirkung von Mirtazapin auf neuropathisch induzierte Schmerzen bei der Ratte.
Vet. Med. Diss., München

EBERT U., FREY H.-H., SCHULZ R., (2002)

Pharmakologie des zentralen Nervensystems.
In: Frey H.-H., Löscher W. (Hrsg.): Lehrbuch der Pharmakologie und Toxikologie für die Veterinärmedizin, Enke Verlag, Stuttgart, 118-119, 136-138

ERHARDT W. (1992)

Anästhesie beim Tier.
In: Kronberger L. (Hrsg.): Experimentelle Chirurgie, Enke Verlag, Stuttgart, 67- 91

ERHARDT W., HENKE J., KROKER R. (2004)

Pharmaka zur perioperativen Schmerzlinderung.

In: Erhardt W., Henke J., Haberstroh J. (Hrsg.): Anästhesie und Analgesie beim Klein- und Heimtier, sowie bei Vögeln, Reptilien, Amphibien und Fischen, Schattauer, Stuttgart, 117-131

FALKEI P. (1999)

Mirtazapine: Other indications.

J. Clin. Psych. 60, 36-40

FELASA (1994)

Pain and distress in laboratory rodents and lagomorphs. Report of the Federation of European Laboratory Animal Science Association. Working group on pain and distress.

Lab. Anim. 28, 97- 112

FITZAL S. (1997)

Ketamin und Neuroprotektion.

Anästhesist 46, S65-S70

FREYNHAGEN R., BARON R. (2003)

Neuropathischer Schmerz.

In: FREYNHAGEN R., BARON R. (Hrsg.): Neuropathischer Schmerz. Ein praxisorientierter Leitfaden, Pfizer GmbH, Karlsruhe

FREYNHAGEN R. (2004)

Nervenschmerzen. Von der Theorie zur Therapie.

MedReport 13, 1-2, 28

FREYNHAGEN R. (2005)

„Mixed Pain“ as a new rationale: Pie in the Sky or Pie on the Plate?

Psychoneuro 31 (2), 103-105

LITERATURVERZEICHNIS

FREYNHAGEN R., JUNKER U. (2005)

Chamäleon neuropathischer Schmerz.

Münch. Med. Wschr. 18, 40-42

FREY H.-H., LÖSCHER W. (2002)

Pharmakologie des Zentralen Nervensystems (ZNS).

In: Frey H.-H., Löscher W. (Hrsg.): Lehrbuch der Pharmakologie und Toxikologie für die Veterinärmedizin, 2. Aufl., Enke Verlag, Stuttgart, 106- 108, 115- 116, 118- 119

FORTH W. (2001)

Schmerztherapie.

In: Forth W., Henschler D., Rummel W., Forstermann U., Starke K. (Hrsg.): Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie, Urban und Fischer Verlag München, 241- 256

GABRIEL A., PIETRUCK C., MEUSER T., PIERCE PALMER P., GROND S. (2004)

Regulation der spinalen Expression von Nociceptin unter neuropathischen Schmerzen.

Anaesthesist 53, 621-628

GREENE S. A., THURMON J. C. (1988)

Xylazin – A review of its pharmacology and use in veterinary medicine.

J. Vet. Pharmacol. Therap. 11, 295- 313

GÖTHERT M., BÖHNISCH H., SCHLICKER E., HELMCHEN H. (2001)

Pharmakotherapie psychischer Erkrankungen.

In: Forth W., Henschler D., Rummel W., Forstermann U., Starke K. (Hrsg.): Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie, Urban und Fischer Verlag München, 219-220, 335-351

GÜHRING H., GÖRING M., ATEŞ M., COSTE O., ZEILHOFER H. U., PAHL A., REHSE K., BRUNE K. (2000)

Suppressed injury-induced rise in spinal Prostaglandin E2 production and reduced early thermal hyperalgesia in iNOS-deficient mice.

Neurosci 20, 6714- 6720

GUIMARAES S., MOURA D. (2001)

Vascular adrenoceptors : an update.

Pharmacol. Rev. 53, 319-356

HARGREAVES K., DUBNER R., BROWN F., FLORES C., JORIS J. (1988)

A new and sensitive method for measuring thermal nociceptive cutaneous hyperalgesia.

Pain 32, 77-88

HANDWERKER H. O. (2000)

Allgemeine Sinnesphysiologie.

In: Schmidt R. F., Thews G., Lang F. (Hrsg.): Physiologie des Menschen, 28. Aufl., Berlin-Heidelberg, 195-215

HENKE J., ERHARDT W. (2001)

Wie entsteht Schmerz?

In: Henke J., Erhardt W. (Hrsg.): Schmerzmanagement bei Klein- und Heimtieren, Enke Verlag, Stuttgart, 11- 21

HENKE J., ERHARDT W. (2004)

Nager.

In: Erhardt W., Henke J., Haberstroh J. (Hrsg.): Anästhesie und Analgesie beim Klein- und Heimtier, sowie bei Vögeln, Reptilien, Amphibien und Fischen, Schattauer, Stuttgart, 370-395

HENKE J., ERAHRDT W. (2004)

Analgesie.

In: Erhardt W., Henke J., Haberstroh J. (Hrsg.): Anästhesie und Analgesie beim Klein- und Heimtier, sowie bei Vögeln, Reptilien, Amphibien und Fischen, Schattauer, Stuttgart, 370-395

LITERATURVERZEICHNIS

HUDSON L. J., BEVAN ST., MC NAIR K., GENTRY C, FOX A., KUHN R., WINTER J.
(2002)

Metabotropic glutamate receptor 5 upregulation in A- fibers after spinal nerve injury: 2-Methyl-6-(Phenylethynyl)-Pyridine (MPEP) reverses the induced thermal hyperalgesia.
Neurosci 22, 2660- 2668

ILLES P., ALGAIER C. (2001)

Schmerztherapie.

In: Forth W., Henschler D., Rummel W., Forstermann U., Starke K. (Hrsg.): Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie, Urban und Fischer Verlag München, 241- 256

INTERNATIONAL ASSOCIATION FOR THE STUDY OF PAIN (1979)

Report of subcommittee on taxonomy.

Pain 6, 249-252

KELDER J., FUNKE C., DE BOER TH., DELBRESSINE L., LEYSEN D., NICKOLSON V.
(1997)

A comparison of the physicochemical and biological properties of Mirtazapine and Mianserin.
J. Pharm. Pharmacol. 49, 403-411

KELLER CH. (2004)

Therapeutischer Einsatz von Antidepressiva bei Depressionen.

In: Keller Ch. (Hrsg.): Schmerz und Depression, Uni-Med Verlag AG, Bremen, 36-71

KELLER M. B., PINDER R. M. (2000)

The role of Mirtazapin in the pharmacotherapy of depression.

J. Clin. Psychiatry 61, 609-616

KRAMER S., NOLTE I., ALBRECHT J., KLEINA., BUSSE L., FARLOPOULOS S. (1998)

Schmerztherapie bei Hund und Katze – klinische Erfahrung mit Buprenorphin.

Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 111, 285- 290

KRESS H. G. (1997)

Wirkmechanismen von Ketamin.

Anästhesist 46, S8-S19

LASA (1990)

The assessment and control of the severity of scientific procedures on laboratory animals.

Lab. Anim. 24, 97-130

LAUX G., BRUNNAUER A., VON ENHUBER A. (2001)

Driving performance under antidepressants.

World J. Biol. Psych. 73, 231-238

LEANDER J. D. (1988)

Buprenorphin is a potent kappa opioid receptor antagonist in pigeons and mice.

Eur. J. Pharmacol. 151, 457-461

LÖFFLER G. (1998)

Endokrines Gewebe I: Grundlagen der endokrinen Regulation von Lebensvorgängen.

In: Löffler G., Petrides P. E. (Hrsg.): Biochemie und Pathobiochemie, 6. Aufl., Springer

Verlag, Berlin 762-763

LÖSCHER W. (2002)

Pharmaka mit Wirkung auf das Zentralnervensystem.

In: Löscher W., Ungemach F. R., Kroker R. (Hrsg.), 5. Aufl., Blackwell Verlag GmbH,

Berlin-Wien, 33-41, 67-69, 78-87, 89-90

LORGANO M. D., ROMANO M.R. (2003)

Pharmacological characterization of the 5-HT_{1A}, 5-HT₂ and 5-HT₃ receptors in the bovine ciliary muscle.

Eur. J. Pharmacol. 464, 69-74

MALCANGIO M., GARRETT N. E., CRUWYS S., TOMLINSON D. R.

(1997)

Nerve growth factor- and neurotrophin-3- induced changes in nociceptive threshold and the release of Substance P from the rat isolated spinal cord.

J Neurosci. 17, 8459-8467

MALKMUS SH.A., YAKSH T.L. (2004)

Intrathecal catheterization and drug delivery in the rat.

In: Luo D.Z. (Hrsg.): Pain Research – Methods and Protocols, Humana Press Inc., New Jersey, 109-121

MC GARTH C., BURROWS G. D., NORMAN T. R. (1998)

Neurochemical effects of the enantiomers of mirtazapine in normal rats.

Eur. J. Pharmacol. 356, 121-126

MESSESLINGER K. (1997)

Was ist ein Nozizeptor?

Der Anästhesist 46, 142-153

MILLAN M. J., GOBERT A., RIVET J.-M., ADHUMEAU-AUCLAIR A., CUSSAC D., NEWMAN-TANCREDI A., DEKEYNE A., NICOLAS J.-P., LEJEUNE F. (2000)

Mirtazapine enhances frontocortical dopaminergic and corticolimbic adrenergic, but not serotonergic, transmission by blockade of α_2 -adrenergic and serotonin_{2c} receptors: a comparison with citalopram.

Eur. J. Neurosci 12, 1079-1095

MUELLER D. (1998)

Sweet sister morphine – Temgesic®.

Kleintiermed. 2, 23-26

MUIR W. W. (1993)

Zur Prämedikation verwendete Pharmaka, spezielle Injektionsanästhetika.

In: Muir W. W., Hubbell J. A., Skarda R. T. (Hrsg.): Veterinäranaesthesie, Schattauer, Stuttgart, 10-18, 60-65, 69-70

MUTAI M. (2000)

The rat as an experimental animal in chemical safety studies.

In: Krinke G. J., Lowenstine L.J., Cork L.C., Arai K., Masahito P., Buist D., Barthold St.W., Ishikawa T., Sinosich M., Herrling P., Wolfe-Cootes S., Cary M.(Hrsg.): The laboratory rat-
The Handbook of Experimental Animals, Academic Press, San Diego, 17-19, 21-22

MUTH-SELBACH U., DYBEK E., KOLLOSCH K., STEGMANN J.U., HOLTHUSEN H.,
LIPFERT P., ZEILHOFER H.U. (2004)

The spinal antinociceptive effect of nocistatin in neuropathic rats is blocked by D-serine.
Anaesthesiology 101, 753-8

MUTSCHLER E., GEISLINGER G., KROEMER K., SCHÄFER- KORTING M. (2001)

Arzneimittelwirkungen.

In: Mutschler E. (Hrsg.): Lehrbuch der Pharmakologie und Toxikologie, 8. Aufl., Wiss. Verl.-
Ges., Stuttgart, 205-223

NORTON S., CULVER B., MULLENIX P. (1975)

Measurement of the effects of drugs on activity of permanent groups of rats.

Psychopharmacol. Commun. 1, 131-138

ORGANON (2003)

Chemie, Pharmakologie und klinische Wirksamkeit.

Produktmonographie Remergil®, Wissenschaftliche Information, 6.Aufl., 1-76

OTTO K. (1998)

Analgesie der Versuchstiere.

Tierschutzbeauftragte 2, 148-152

PADDLEFORD R. R., ERHARDT W. (1992)

Anticholinergika und Anästhetika zur Prämedikation von Allgemeinanästhesien.

In: Paddleford R.R., Erhardt W. (Hrsg.): Anästhesie bei Kleintieren.

Schattauer, Stuttgart, New York, 19-33

LITERATURVERZEICHNIS

PETRIDES P. E. (1998)

Nervengewebe.

In: Löffler G., Petrides P. E. (Hrsg.): Biochemie und Pathobiochemie, 6. Aufl., Springer Verlag, Berlin, 988-989

PSCHYREMBEL (1994)

Klinisches Wörterbuch.

257. Aufl., Nikol Verlagsgesellschaft mbH, Hamburg, 1380

REINBOLD H. (1998)

Differenzierter Umgang mit Antidepressiva.

Psych.Gen. Verlag,

ROBINSON R. (1979)

Adaptation to the laboratory.

In: Barker H.J., Russell J, Weisbroth St.H. (Hrsg.): The laboratory rat-vol. I-Biology and Diseases, Academic Press, New York, 38-44

SAGER M. (1997)

Empfehlung zur Schmerztherapie beim Versuchstier.

Merkblatt der Tierärztlichen Vereinigung für Tierschutz e. V. Hamburg

SANDFORD J., EWBANK R., MOLONY V. TAVERNOR W. D., UVAROV O. (1986)

Guidelines for the recognition and assessment of pain in animals.

Vet. Rec. 118, 334-338

SCHAIBLE H.-G., SCHMIDT R. F. (2000)

Nozizeption und Schmerz.

In: Schmidt R. F., Thews G., Lang F. (Hrsg.): Physiologie des Menschen, 28. Aufl., Berlin-Heidelberg, 236-249

SCHMIDT R. F., THEWS G. (2000)

Physiologie des Menschen.

In: Schmidt R. F., Thews G., Lang F. (Hrsg.): Physiologie des Menschen, 28. Aufl., Berlin-Heidelberg, 195-334

SCHREIBER S., RIGAI T., KATZ Y., PICK CH. G. (2002A)

The Antinociceptive effect of mirtazapine in mice is mediated through serotonergic, noradrenergic and opioid mechanisms.

Brain Reseach Bulletin 58, 601-605

SCHREIBER S., BLEICH A., PICK CH. G. (2002B)

Venlafaxine and Mirtazapine.

J. Molec. Neurosci. 18, 143-149

SORGE J., WERRY CH., PICHLMAYR I. (1997)

Stark wirksame Opiode zur Therapie chronischer Schmerzen.

Schmerz 11, 400-410

STARKE K. (2001)

Grundlagen der Pharmakologie des Nervensystems.

In: Forth W., Henschler D., Rummel W., Forstermann U., Starke K. (Hrsg.): Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie, Urban und Fischer Verlag München, 128-130

UGO BASILE (2002)

General, Installation, Reproducibility of the test.

Instruction Manual, 2.Aufl., 1-1

WOOLF C., CHONG M. (1993)

Preemptive analgesia – treating postoperative pain by preventing the establishment of central sensitization.

Anaesthesiology 77, 362

LITERATURVERZEICHNIS

WRIGHT M. (1982)

Pharmacological effects of Ketamine and its use in veterinary medicine.

J. Am. Vet. Med. Ass. 180, 1462-1470

ZEILHOFER H.U., MUTH-SELBACH U., GUHRING H., ERB K., AHMADI S. (2000)

Selective suppression of inhibitory synaptic transmission by nocistatin in the rat spinal cord dorsal horn.

J. Neurosci 20, 4922-9

ZIMMERMANN M. (2000A)

Das somatoviscerale sensorische System.

In: Schmidt R. F., Thews G., Lang F. (Hrsg.): Physiologie des Menschen, 28. Aufl., Berlin-Heidelberg, 216-334

ZIMMERMANN M. (2000B)

Tiermodelle in der Schmerzforschung.

Tierschutzbeauftragte 1, 6

ZOHMANN A. J.

(1998)

Schmerztherapie bei der Katze: Die Ursachen des Schmerzes, die medikamentöse Behandlung.

Kleintier Konkret 5, 24-28

8.1 TABELLENVERZEICHNIS

Tab. 1:	Schmerzeinteilung	3
Tab. 2:	Klassifizierung sensibler Nervenfasern.....	5
Tab. 3:	Prozesse der Schmerzwahrnehmung	6
Tab. 4:	Zusammenfassung der wichtigsten Spezies unabhängige Veränderung bei Schmerzen	11
Tab. 5:	Allgemeine Kriterien zur Auswahl von Analgetika	13
Tab. 6:	Allgemeine Forderungen an Analgetika in der Tiermedizin.	13
Tab. 7:	Einteilung der Analgetika.....	14
Tab. 8:	Einteilung der Antidepressiva	16
Tab. 9:	Übersicht über pharmakologische Wirkmechanismen von Remergil®	22
Tab. 10:	Verwendete Wirkstoffe und deren Dosierung.....	29
Tab. 11:	Anzahl der Testungen in den Vorversuchen	30
Tab. 12:	Anzahl der Testungen in dem ersten Hauptversuch.....	31
Tab. 13:	Anzahl der Testungen in dem zweiten Hauptversuch.....	31
Tab. 14:	Benennung der Pfotenrückzugslatenzzeiten.....	37
Tab. 15:	Verwendete Dosis und Menge der Substanzen	38
Tab. 16:	Anzahl der Proben insgesamt	39
Tab. 17:	Dosierungen und Anzahl der Proben insgesamt	43
Tab. 18:	Zusammenfassung der Ergebnisse der Vorversuche.....	53
Tab. 19:	Mittlere PWTs nach i.p.-Gabe von Razemat, R(-)- und S(+)-Mirtazapin (5mg/kg-0,1mg/kg).....	63
Tab. 20:	Zusammenfassung der Ergebnisse des Zweiten Hauptversuches.....	71
Tab. 21:	Mittlere PWTs nach i.t.-Gabe von Razemat, R(-)- und S(+)-Mirtazapin (1mg/kg-0,001mg/kg).....	73

8.2 Abbildungsverzeichnis

Abb. 1:	Das nozizeptive Schmerzsystem	8
Abb. 2:	Strukturformel Mirtazapin.....	20
Abb. 3:	Strukturformel der Enantiomere.....	23
Abb. 4:	Plantar Tester.....	32
Abb. 5:	Plantar Tester II.....	33
Abb. 6:	Plantar Tester III.....	34
Abb. 7:	Schematische Darstellung des i.t.-Katheters	42
Abb. 8:	Sektionsbeginn	44
Abb. 9:	Katheterlage und Färbung des dem Katheterende benachbarten Gewebe	45
Abb. 10:	Die Pfotenrückzugslatenzzeit (PWT) bei einer Dosierung von 0,1 mg/kg (n=1)	47
Abb. 11:	Die Pfotenrückzugslatenzzeit (PWT) bei einer Dosierung von 1 mg/kg (n=1)	48
Abb. 12:	Die Pfotenrückzugslatenzzeit (PWT) bei einer Dosierung von 2,5 mg/kg (n=1).....	49
Abb. 13:	Die Pfotenrückzugslatenzzeit (PWT) bei einer Dosierung von 5 mg/kg (n=1).....	50
Abb. 14:	Die Pfotenrückzugslatenzzeit (PWT) bei einer Dosierung von 7,5 mg/kg (n=1).....	51
Abb. 15:	Die Pfotenrückzugslatenzzeit (PWT) bei einer Dosierung von 10 mg/kg (n=1).....	52
Abb. 16:	Die Pfotenrückzugslatenzzeit (PWT) bei einer Dosierung von 15 mg/kg (n=1).....	53
Abb. 17:	Die Pfotenrückzugslatenzzeit (PWT) bei einer Dosierung von 5 mg/kg (n=4)	55
Abb. 18:	Die Pfotenrückzugslatenzzeit (PWT) bei einer Dosierung von 2,5 mg/kg (n=4).....	57
Abb. 19:	Die Pfotenrückzugslatenzzeit (PWT)	

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

	bei einer Dosierung von 1 mg/kg (n=4).....	59
Abb. 20:	Die Pfotenrückzugslatenzzeit (PWT) bei einer Dosierung von 0,1 mg/kg (n=4).....	61
Abb. 21:	Dosis-Wirkungskurve vom Razemat, R(-)- und S(+)-Mirtazapin 240 Minuten nach i.p. Applikation aller getesteter Dosisbereiche.....	62
Abb. 22:	Die Pfotenrückzugslatenzzeit (PWT) bei einer Dosierung von 0,1 mg/kg (n=6).....	65
Abb. 23:	Die Pfotenrückzugslatenzzeit (PWT) bei einer Dosierung von 0,1 mg/kg 0,1 mg/kg (n=6).....	67
Abb. 24:	Die Pfotenrückzugslatenzzeit (PWT) bei einer Dosierung von 0,1 mg/kg 0,01 mg/kg (n=6).....	79
Abb. 25:	Die Pfotenrückzugslatenzzeit (PWT) bei einer Dosierung von 0,1 mg/kg 0,001 mg/kg (n=6).....	70
Abb. 26:	Dosis-Wirkungskurve vom Razemat, R(-)- und S(+)-Mirtazapin 240 Minuten nach i.t. Applikation aller getesteter Dosisbereiche.....	72
Abb. 27:	Graphische Darstellung der mittleren PWT nach intrathekaler Mirtazapin-Applikation (1mg/kg) mit signifikanten Unterschieden.....	87
Abb. 28:	Graphische Darstellung der mittleren PWT nach intrathekaler Mirtazapin-Applikation (0,1mg/kg) mit signifikanten Unterschieden.....	88
Abb. 29:	Graphische Darstellung der mittleren PWT nach intrathekaler Mirtazapin-Applikation (0,01mg/kg) mit signifikanten Unterschieden.....	89
Abb. 30:	Graphische Darstellung der mittleren PWT nach intrathekaler Mirtazapin-Applikation (0,001mg/kg) mit signifikanten Unterschieden.....	90

8.3 ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

Abb.	Abbildung
bzw.	Beziehungsweise
ca.	circa
d.h.	das heißt
et al.	et alii
Fa.	Firma
i.d.R.	in der Regel
i.p.	intraperitoneal
i.t.	intrathecal
i.v.	intravenös
mg/kg	Milligramm pro Kilogramm
min.	Minuten
n	Anzahl der Tiere pro Versuchsgruppe
NaCl	Natriumchloridlösung
p	Signifikanz
p. appl.	post applicationem
PWT	paw withdrawal threshold (Pfotenrückzugslatenzzeit)
s.a.	siehe auch
sog.	sogenannte
Tab.	Tabelle
u.a.	unter anderem
z.B.	zum Beispiel
z.T.	zum Teil
α	alpha
κ	kappa
μ	mu
5-HT	5-Hydroxytryptamin (Serotonin)

9 DANKSAGUNG

Herrn Univ.-Prof. Dr. med. vet. M. Stangassinger danke ich für die Übernahme der Arbeit an die Tierärztliche Fakultät der LMU-München.

Bei Herrn Prof. Dr. med. P. Lipfert, Leitender Oberarzt der Klinik für Anästhesiologie des Universitätsklinikums Düsseldorf, möchte ich mich für die Möglichkeit, die Einrichtungen des Institutes für Experimentelle Anästhesiologie und die der Ambulanz für Schmerztherapie der Universität Düsseldorf nutzen zu können, bedanken.

Herrn Dr. med. R. Freynhagen, Leiter der Ambulanz für Schmerztherapie des Universitätsklinikums Düsseldorf, danke ich für das Überlassen des Themas.

Mein besonderer Dank geht an Frau Dr. med. U. Muth-Selbach, Anästhesistin in der Ambulanz für Schmerztherapie des Universitätsklinikums Düsseldorf, für ihre wertvollen Ratschläge, bereitwillige Weitergabe von wichtigen Kenntnissen, Betreuung während des praktischen und schriftlichen Teils, für Ihre Herzlich- und Menschlichkeit und ihr immer offenes Ohr für Sorgen und Probleme.

Ganz herzlich bedanken möchte ich mich auch bei Herrn Prof. Dr. med. vet. Dr. med. habil. W. Erhardt vom Institut für Experimentelle Onkologie und Therapieforschung, Klinikum Rechts der Isar, München für die nette und vor allem sehr menschliche Betreuung meines Themas und die fachliche Beratung und Durchsicht meiner Arbeit.

Herrn Prof. Dr. K. Osterkorn danke ich für die Unterstützung bei der Erstellung der Statistik.

Danken möchte ich auch Frau Dr. A. Treiber für die Möglichkeit, die Einrichtungen in der TVA der Universität Düsseldorf nutzen zu können. Dabei soll mein Dank auch allen Tierpflegern und vor allem auch Frau Theis für die Überwindung mancher bürokratischer Hindernisse gelten.

DANKSAGUNG

Besonders danken möchte ich des Weiteren Frau L. Stahnke für ihre Herzlichkeit, Unterstützung, Wärme und vielen netten, aufbauenden Worte.

Der Firma Organon danke ich für die Bereitstellung des Remergil® und der beiden Enantiomere.

Ein großes Dankeschön geht an meine Exkommilitonin, jetzige Doktorandin-Gefährtin und liebe Freundin Frau H. Könighaus für die bereitwillige Weitergabe von Informationen, dem geduldigen Zuhören, Motivieren, Gedankenaustausch und ganz besonders für ihr „Dasein“.

Danken möchte ich auch meiner Freundin Frau R. Hartmann, die trotz ihrer knappen Zeit mir wertvolle Tipps und Ratschläge gegeben hat. Des Weiteren danke ich natürlich auch allen meinen Freunden, die nicht namentlich erwähnt werden, für ihr Interesse, Motivation und so manche „Ablenkungsmanöver“.

Worte alleine reichen nicht aus, um besonders meinen Eltern und meinem Bruder für ihre großartige, liebevolle, geduldige und stolze Unterstützung zu danken. Ohne den starken Rückhalt meiner Familie wäre diese Arbeit nie gelungen.

10 LEBENS LAUF

Persönliches

Name :	Jennifer Vogt
Geburtstag :	19.Mai.1978
Geburtsort :	Gelsenkirchen
Staatsangehörigkeit :	deutsch
Eltern :	Hartmut und Marlies Vogt
Geschwister :	Oliver Vogt

Ausbildung und Beruf

1984 – 1988	kath. Grundschule, Gelsenkirchen
1988 – 1997	Schalken Gymnasium, Gelsenkirchen
1998 – 2004	Studium der Veterinärmedizin Universität Leipzig
2004 – 2005	Dissertation in der Anästhesiologie der Heinrich- Heine- Universität Düsseldorf und am Institut für experimentelle Onkologie und Therapie- forschung, Klinikum rechts der Isar der Technischen Universität München
August 2005	Assistentenstelle in der Tierärztlichen Praxis Klaus Ebel