

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

Evaluation der Wirkung von Lokalanästhetika bei der
chirurgischen Ferkelkastration unter Isofluran-Narkose
anhand der Auswertung von klinischen und
labordiagnostischen Parametern

von Anna Maria Saller
aus Starnberg

München 2021

Aus dem Zentrum für Klinische Tiermedizin
der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

Lehrstuhl für Krankheiten des Schweines

Arbeit angefertigt unter der Leitung von: Univ.-Prof. Dr. Mathias Ritzmann

Mitbetreuung durch: Dr. Susanne Zöls

Angefertigt am Zentrum für Präklinische Forschung
des Klinikums rechts der Isar der Technischen Universität München

Mentorin: Prof. Dr. Christine Baumgartner

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

Dekan: Univ.-Prof. Dr. Reinhard K. Straubinger, Ph.D.

Berichterstatter: Univ.-Prof. Dr. Mathias Ritzmann

Korreferent: Prof. Dr. Herbert Kaltner

Tag der Promotion: 17. Juli 2021

Die vorliegende Arbeit wurde gemäß § 6 Abs. 2 der Promotionsordnung für die Tierärztliche Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München in kumulativer Form verfasst.

Folgende wissenschaftliche Arbeit ist in dieser Dissertationsschrift enthalten:

Local anesthesia in piglets undergoing castration — A comparative study to investigate the analgesic effects of four local anesthetics on the basis of acute physiological responses and limb movements

Short title: Analgesic effects of local anesthesia in piglets undergoing castration

Anna M. Saller¹, Julia Werner¹, Judith Reiser¹, Steffanie Senf², Pauline Deffner², Nora Abendschön², Christine Weiß², Johannes Fischer¹, Andrea Schörwerth³, Regina Miller³, Yury Zablotski², Shana Bergmann³, Michael H. Erhard³, Mathias Ritzmann², Susanne Zöls², Christine Baumgartner^{1□*}

¹ Center of Preclinical Research, Technical University of Munich, Bavaria, Germany

² Clinic for Swine, Center for Clinical Veterinary Medicine, LMU Munich, Bavaria, Germany

³ Chair of Animal Welfare, Ethology, Animal Hygiene and Husbandry, LMU Munich, Bavaria, Germany

□ Current address: Center of Preclinical Research, Klinikum rechts der Isar der Technischen Universität München, Munich, Germany

* christine.baumgartner@tum.de

PLOS ONE 2020; 15(7): e0236742.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0236742>

Received: March 31, 2020 Accepted: July 13, 2020 Published: July 30, 2020

Meinen Eltern

„What goes around comes around.“

Eknath Easwaran

INHALTSVERZEICHNIS

I.	EINLEITUNG.....	1
II.	ERWEITERTE LITERATURÜBERSICHT	5
1.	Kastration männlicher Saugferkel	5
1.1.	Gesetzlicher Hintergrund	5
1.2.	Indikationen für die Kastration männlicher Saugferkel	5
2.	Chirurgische Kastration.....	7
2.1.	Methodik.....	7
2.2.	Möglichkeiten der Anästhesie bei der chirurgischen Kastration.....	8
2.2.1.	Allgemeinanästhesie	9
2.2.1.1.	Injektionsanästhesie	9
2.2.1.2.	Inhalationsanästhesie: Isofluran	10
2.2.2.	Lokalanästhesie	13
2.2.2.1.	Procain.....	16
2.2.2.2.	Lidocain	17
2.2.2.3.	Andere Lokalanästhetika.....	18
2.2.2.4.	Injektionstechniken der Lokalanästhetika bei der Ferkelkastration	20
3.	Schmerz	21
3.1.	Physiologie der Schmerzentstehung und –verarbeitung	21
3.2.	Schmerzwahrnehmung beim Tier und beim Neugeborenen.....	23
3.3.	Parameter der Schmerzerkennung beim Schwein	25
4.	Schmerz und hämodynamische Parameter	26
4.1.	Blutdruck	26
4.1.1.	Allgemeines zum Blutdruck.....	26
4.2.	Herzfrequenz	29
4.2.1.	Allgemeines zur Herzfrequenz	29
4.3.	Hämodynamische Parameter und Schmerz.....	30
5.	Schmerz und Katecholamine.....	32
5.1.	Stressregulation, Katecholaminfreisetzung	32
5.2.	Katecholamine als Schmerzparameter beim Schwein.....	33
6.	Schmerz und Kortisol	34

6.1.	Stressregulation, Kortisolfreisetzung	34
6.2.	Kortisol als Schmerzparameter beim Schwein	35
7.	Schmerz und Chromogranin A.....	36
7.1.	Stressregulation, Chromogranin A-Freisetzung	36
7.2.	Chromogranin A als Schmerzparameter	36
8.	Schmerz und Abwehrbewegungen: Scoring-Möglichkeiten in der Ferkelkastration.....	37
III.	ERWEITERTER MATERIAL- UND METHODENTEIL	41
1.	Zielsetzung des Versuchsvorhabens	41
2.	Genehmigung des Versuchsvorhabens	41
3.	Versuchsdurchführung	42
3.1.	Versuchstiere und -gruppen	42
3.2.	Versuchsablauf	43
3.2.1.	Vorbereitung	43
3.2.2.	Präparation der Halsgefäße	45
3.2.3.	Blutprobenentnahmen	46
3.2.4.	Einstellen der Narkosetiefe	46
3.2.5.	Injektion.....	47
3.2.6.	Kastration	48
3.2.7.	Post castrationem (p.c.)	48
4.	Datenauswertung und Statistik.....	48
4.1.	Datenauswertung.....	48
4.2.	Statistische Analysen	49
IV.	PUBLIZIERTE STUDIENERGEBNISSE	51
1.	Abstract	52
2.	Introduction	53
3.	Materials and methods	55
4.	Results	62
5.	Discussion.....	69
6.	Conclusions	74

7.	References	75
8.	S1 Appendix.....	83
V.	ERWEITERTE STUDIENERGEBNISSE	87
1.	Systolischer und diastolischer Blutdruck im Gruppenvergleich	87
1.1.	Systolischer arterieller Blutdruck	87
1.2.	Diastolischer arterieller Blutdruck.....	88
2.	Zeitlicher Verlauf der Blutdruck- und Herzfrequenz-Werte im Gruppenvergleich.....	89
2.1.	Mittlerer Arterieller Blutdruck (MAP).....	89
2.2.	Herzfrequenz	91
3.	Zwischenzehenreflexe post castrationem im Gruppenvergleich.....	93
4.	Isoflurankonzentration in Abhängigkeit von Alter und Körpergewicht.....	94
VI.	DISKUSSION	97
VII.	ZUSAMMENFASSUNG	123
VIII.	SUMMARY	125
IX.	TABELLENVERZEICHNIS	127
X.	ABBILDUNGSVERZEICHNIS.....	129
XI.	LITERATURVERZEICHNIS	133
XII.	ANHANG.....	165
XIII.	DANKSAGUNG.....	167

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

° C	Grad Celsius
A	Adrenalin
ACTH	Adrenocorticotropes Hormon
ARAS	aufsteigendes retikuläres Aktivierungssystem
ATP	Adenosintriphosphat
α -MSH	Melanozyten-stimulierendes Hormon
CgA	Chromogranin A
cm	Zentimeter
CRH	Corticotropin-Releasing-Hormon
CO ₂	Kohlenstoffdioxid
Ca ²⁺	Calcium-Kation
COMT	Catecholamin- <i>O</i> -Methytransferase
d	Tag
DAP	diastolischer arterieller Blutdruck (diastolic arterial pressure)
EEG	Elektroenzephalogramm
EKG	Elektrokardiogramm
EU	Europäische Union
FerkBetSachkV	Ferkelbetäubungssachkundeverordnung
G	Gauge
IASP	International Association for the Study of Pain
i.m.	intramuskulär
i.t.	intratestikulär
IQR	Interquartilsabstand (Inter Quartile Range)

kg	Kilogramm
KGW	Körpergewicht
l	Liter
LA	Lokalanästhetikum
MAC	minimale alveoläre Konzentration (minimum alveolar concentration) / minimum anesthetic concentration
MAO	Monoaminoxidase
MAP	mittlerer arterieller Blutdruck (mean arterial pressure)
mg	Milligramm
µg	Mikrogramm
min	Minute
ml	Milliliter
mm	Millimeter
mmHg	Millimeter Quecksilbersäule
MRL	Rückstandshöchstmenge (maximum residue limit)
NA	Noradrenalin
Na ⁺	Natrium-Kation
NaCl	Natriumchlorid
nm	Nanometer
NNM	Nebennierenmark
n	Anzahl / Tierzahl
n.s.	nicht signifikant
p	Signifikanzwert
pK _a	Maß für die Stärke einer Säure
POMC	Proiomelanokortin

p.c.	post castrationem
p.i.	post injectionem
RM	Rückenmark
SAP	systolischer arterieller Blutdruck (systolic arterial pressure)
s.c.	subkutan
SD	Standardabweichung (standard deviation)
TierSchG	Tierschutzgesetz
ZNS	Zentrales Nervensystem
ZZR1	Zwischenzehenreflex zur Einstellung der Narkosetiefe vor Injektion
ZZR2	Zwischenzehenreflex zur Überprüfung der Narkosetiefe vier Minuten nach Kastration

I. EINLEITUNG

Schmerz wird durch die International Association for the Study of Pain (IASP) als „ein unangenehmes Sinnes- oder Gefühlserlebnis, das mit einer tatsächlichen oder potentiellen Gewebeschädigung einhergeht oder einer solchen ähnelt“ definiert (RAJA et al., 2020). Die Beschreibung der Schmerzempfindung, beispielsweise über Fragebögen, wie sie beim Menschen der Goldstandard der Schmerzbestimmung ist, ist bei Tieren nicht möglich (GÉLINAS, 2016). Dass sich Tiere nicht verbal äußern können, bedeutet aber nicht, dass sie keine Schmerzen empfinden können. Darauf weist die IASP in den zu der Schmerz-Definition gehörenden Pain Notes als eigenen Punkt explizit hin (RAJA et al., 2020). Deshalb existieren verschiedenste alternative Ansätze, um Schmerzen auch bei Tieren für den Menschen erkennbar bzw. messbar zu machen. Bei Schweinen ist bereits eine Vielzahl von Methoden untersucht, bei denen zum Beispiel das Verhalten, physiologische Parameter und die Vokalisation verwendet wurden (ISON et al., 2016).

Chirurgische Eingriffe sind besonders schmerzhaft, sodass bei diesen eine adäquate Betäubung gemäß § 5 Absatz 1 Tierschutzgesetz vorgeschrieben ist. Die Kastration von männlichen Saugferkeln stellt einen gängigen chirurgischen Eingriff im Rahmen der Ferkelaufzucht dar. Diese wurde bis zum 31.12.2020 unter der lange existierenden Annahme, dass Neonaten kein Schmerzempfinden besitzen, aus Kosten- und Praktikabilitätsgründen überwiegend betäubungslos durch den Landwirt durchgeführt. Mit Beginn des Jahres 2021 wurde die betäubungslose Kastration durch eine Änderung des deutschen Tierschutzgesetzes verboten (TierSchG, 2020).

Die Kastration wird vollzogen, da sich mit der Pubertät und der Hodenreifung ein unangenehmer Geruch des Ebers und des Eberfleisches entwickelt, welcher durch den Verbraucher bei Verzehr nicht erwünscht ist (ZAMARATSKAIA et al., 2005; MILLER, 2020). Ab der Pubertät zeigen sich zudem durch die gebildeten Hormone geschlechtsspezifische Verhaltensweisen in intakten Ebern. Darunter fallen beispielsweise gesteigerte Aggressivität innerhalb der gehaltenen Gruppen oder

Aufreiten auf Partnertiere mit Penisverletzungen, welche die Haltung von Mastebnern deutlich erschweren (RYDHMER et al., 2006; WEILER et al., 2016; REITER et al., 2017).

Da die chirurgische Kastration nachgewiesenermaßen massive Schmerzen mit sich bringt, darf sie nur noch unter adäquater Betäubung mit Schmerzausschaltung durchgeführt werden (TAYLOR & WEARY, 2001; CARROLL et al., 2006; PRUNIER et al., 2006; VON BORELL et al., 2009; ABENDSCHÖN et al., 2020). Die aktuell zulässigen Alternativen für die betäubungslose Kastration sind die Kastration unter Allgemeinanästhesie, insbesondere mit dem Inhalationsanästhetikum Isofluran, die Jungebermast oder die Immunokastration (WALDMANN et al., 2018; BONNEAU & WEILER, 2019). Als sogenannter „vierter Weg“ steht die Lokalanästhesie zur Diskussion, weshalb durch das Bundesministerium für Ernährung und Landwirtschaft eine „Studie zur Evaluierung und Optimierung der Schmerzausschaltung durch Lokalanästhesie bei der Saugferkelkastration“ initiiert wurde.

Ziel dieser Studie ist es, eine Entscheidungshilfe für das Bundesministerium bereitzustellen, in der systematisch untersucht werden soll, ob die Lokalanästhesie eine gesetzeskonforme und praktikable Alternative zu den bereits zulässigen darstellt. Im Rahmen dieser Studie wird in einem ersten Laborstudienteil in Akutversuchen in leichter Isofluran-Narkose (Minimalanästhesiemodell) Nozizeption unter Ausschaltung des Einflusses von Angst und Stress evaluiert. Dieses Modell ermöglicht die nozizeptive Komponente des multidimensionalen Komplexes Schmerz unter Ausschaltung der Umgebungsreize zu untersuchen. In darauffolgenden „chronischen“ Studienteilen soll die Anwendbarkeit beim wachen Tier untersucht und in einer abschließenden Feldstudie die als am besten bewertete Methode im Betrieb unter Feldbedingungen evaluiert werden.

Die vorliegende Arbeit wurde im Rahmen des ersten Laborstudienteils angefertigt und untersucht die Veränderung hämodynamischer Parameter (Blutdruck und Herzfrequenz) während der chirurgischen Saugferkelkastration mit und ohne Lokalanästhesie. Des Weiteren wurden hormonelle Blutwerte (Katecholamine, Kortisol, Chromogranin A) sowie auftretende Abwehrbewegungen bestimmt und ausgewertet. Ziel ist es, im

Rahmen dieser Akutversuche mittels hämodynamischer und neurohumoraler Parameter den Einfluss verschiedener Lokalanästhetika auf die Nozizeption bei der Ferkelkastration unter Ausschaltung von Angst und Stress zu bestimmen.

II. ERWEITERTE LITERATURÜBERSICHT

1. Kastration männlicher Saugferkel

1.1. Gesetzlicher Hintergrund

Die Mindestanforderungen zum Schutz von Schweinen werden in der Richtlinie 2008/120/EG EU-weit geregelt und in Deutschland im Rahmen des Tierschutzgesetzes umgesetzt (RL2008/120/EG; TierSchG, 2020).

Das deutsche Tierschutzgesetz besagt, dass niemand „einem Tier ohne vernünftigen Grund Schmerzen, Leiden oder Schäden zufügen“ darf und wurde erstmals am 24. November 1933 als Reichstierschutzgesetz zum Schutz der „wehrlosen Kreatur“ verabschiedet (SCHÄFFER & KÖNIG, 2015; TierSchG, 2020). Seitdem erfuhr es viele Änderungen, wobei mit der Novellierung des Tierschutzgesetzes vom 04. Juli 2013 der gesetzliche Rahmen für die Ferkelkastration neu definiert wurde (TierSchG, 2020). Die zuvor gesetzeskonforme betäubungslose Kastration von männlichen Saugferkeln unter acht Tagen wurde damit verboten, ohne jedoch mögliche Methoden der Betäubung konkret zu benennen (TierSchG, 2020). Aufgrund der Uneinigkeit bei der praktischen Umsetzbarkeit der existierenden Alternativen konnte die ursprünglich vorgesehene Übergangsfrist bis 31. Dezember 2018 nicht eingehalten werden (BT-Druck 19/5522, 2018). Die Frist wurde deshalb bis zum 31. Dezember 2020 verlängert (BT-Druck 19/5522, 2018). Unter acht Tage alte männliche Schweine dürfen seitdem nur unter Betäubung kastriert werden (TierSchG, 2020). Nach § 5 Absatz 1 Satz 4 TierSchG (2020) kann hierfür ein Tierarzneimittel verwendet werden, das nach arzneimittelrechtlichen Vorschriften für die Schmerzausschaltung bei diesem Eingriff zugelassen ist und den Zustand der Wahrnehmungs- und Empfindungsfähigkeit, ausgenommen der Schmerzempfindung, nicht beeinträchtigt.

1.2. Indikationen für die Kastration männlicher Saugferkel

Im Regelfall werden neugeborene männliche Ferkel von bis zu 7 Tagen kastriert, um den unangenehmen Geruch des Fleisches, der sich in der Pubertät entwickeln würde, zu unterbinden (BONNEAU & WEILER, 2019).

Einer der beiden Geruchsstoffe, welcher wesentlich zu dem unangenehmen Geruch des Fleisches beiträgt, ist das Steroidhormon Androstenon (5α -Androst-16-en-3-on) (PATTERSON, 1968). Es wird in den Leydig-Zellen der Hoden produziert und über die Blutbahnen im Körper verteilt (BONNEAU & WEILER, 2019). Androstenon wird in der Leber metabolisiert, in die Speicheldrüsen aufgenommen oder im Fettgewebe und somit auch im essbaren Schweinefleisch gespeichert (BONNEAU, 1982; BONNEAU & WEILER, 2019). Der Geruch wird als urinartig beschrieben und kann ab 0,5 – 1,0 g pro Gramm Fett wahrgenommen werden (PATTERSON, 1968; ANDRESEN, 2006). Die Fähigkeit, den Geruch von Androstenon wahrnehmen zu können, hat vermutlich einen genetischen Ursprung im OR7D4 RT-Gen (LUNDE et al., 2012). Die Wahrnehmung des Geruchs ist individuell verschieden (BONNEAU & WEILER, 2019). Nach BONNEAU und WEILER (2019) empfinden circa ein Drittel der Menschen den Geruch auch bei geringen Konzentrationen als abstoßend und ein Drittel hingegen als angenehm. Ein Drittel wiederum kann den Geruch gar nicht wahrnehmen (BONNEAU & WEILER, 2019).

Der andere Geruchsstoff, welcher wesentlich zu dem markanten Ebergeruch beiträgt, ist Skatol (3-Methylindol) (BONNEAU & WEILER, 2019). Es ist ein Abbauprodukt der Aminosäure L-Tryptophan und weist einen fäkalartigen Geruch auf (ANDRESEN, 2006). Die mikrobielle Degradation von L-Tryptophan zu Skatol erfolgt im Dickdarm von Schweinen und wird dann in das Blut aufgenommen (JENSEN et al., 1995; DESLANDES et al., 2001). Wenn Skatol nicht in der Leber metabolisiert wird, lagert es sich neben Leber und Niere auch im Fettgewebe des Ebers ab (DESLANDES et al., 2001). Die gemessene Konzentration im Blut korreliert mit der gemessenen Konzentration im Kot von Schweinen, sodass neben genetischer Disposition auch ein Rückschluss auf die Beeinflussung der Skatol-Gehalte im Fett durch die Fütterung zulässig ist (CLAUS et al., 1993; LUNDSTRÖM et al., 1994; WESOLY & WEILER, 2012). Das Bakterium, das unter anderem für die Umwandlung zu Skatol im Darm zuständig ist, ist der Lactobacillus-Stamm 11201 (YOKOYAMA et al., 1977; HONEYFIELD & CARLSON, 1990; DESLANDES et al., 2001). Die

Umwandlung resultiert nach Reduktion an der 3. Position der Indol-Ringstruktur in den Endprodukten Skatol und Indol, welches ebenfalls zum Ebergeruch beitragen soll (WESOLY & WEILER, 2012). ANDRESEN (2006) fasst zusammen, dass Skatol bei einer Konzentration zwischen 0,21 und 0,25 µg pro Gramm Fett durch den Verbraucher detektierbar ist.

Beide Geruchsstoffe lagern sich aufgrund der lipophilen Eigenschaften im Fett des heranwachsenden Ebers ab (CLAUS et al., 1994). Ab einer gewissen Akkumulationsstufe von 0,5 – 1 g pro Gramm Fett entwickelt sich ein strenger Geruch des Fleisches, welcher vor allen Dingen beim Erhitzen von darauf sensiblen Personen wahrgenommen werden kann (ANDRESEN, 2006; BONNEAU & WEILER, 2019). PLONAIT (2004) gibt als Gewichtsgrenze der Eber, über welcher der Geruch vor allem durch Frauen wahrgenommen werden kann, 40 kg Körpergewicht an.

Außerdem entwickeln Eber mit Eintritt der Pubertät unerwünschte aggressive und sexuelle Verhaltensweisen, welche durch die Kastration unterbunden werden können (RYDHMER et al., 2006). Neben Lahmheiten können auch Penisverletzungen durch Bisse bei unkastrierten Ebern ein großes tierschutzrechtliches Problem darstellen (WEILER et al., 2016; REITER et al., 2017). Zudem ist es so möglich, Sauen und kastrierte Eber in der Mast in den gleichen Buchten zu halten und so das Management der Mastbetriebe zu erleichtern (ALUWÉ et al., 2016).

2. Chirurgische Kastration

2.1. Methodik

Vor der Kastration ist sicherzustellen, dass nur anatomisch gesunde Ferkel dem Prozedere unterzogen und Kryptorchiden oder Ferkel mit Skrotalhernien ausgeschlossen werden (PLONAIT, 2004; HEINRITZI, 2006a). In der früher praktizierten, betäubungslosen chirurgischen Kastration wurden die Ferkel aus der Box der Mutter gefangen und ohne adäquate Betäubung kastriert (PLONAIT, 2004; HEINRITZI, 2006a). Bei der Kastration unter Betäubung ist es das Ziel, den Eingriff bei den Ferkeln tierschutzkonform und schmerzlos durchzuführen (TierSchG, 2020).

Für die Kastration werden die Ferkel entweder an den Hintergliedmaßen in der Luft gehalten, auf dem Rücken liegend rücklings zwischen die Beine des Operateurs geklemmt oder in ein geeignetes Gestell eingespannt (PLONAIT, 2004; HEINRITZI, 2006a). Die Hodenregion wird mit einem antibakteriellen Spray desinfiziert (PLONAIT, 2004). Im Anschluss werden die Hoden mit einer Hand nach kaudal gedrückt und es wird mit einer Skalpellklinge das Skrotum über beiden Hoden mit einem Querschnitt oder zwei zur Raphe scroti parallelen Längsschnitten bis in das Hodengewebe inzidiert, was einer unbedeckten Kastration entspricht (PLONAIT, 2004; HEINRITZI, 2006a). Dabei muss der Processus vaginalis soweit eingeschnitten worden sein, dass die Tunica vaginalis nicht zusammen mit dem Hoden aus der Kastrationswunde gepresst wird (PLONAIT, 2004). Anschließend werden die Hoden nacheinander durch leichten Druck entwickelt (PLONAIT, 2004). Durch Zug an den freigelegten Hoden erscheint der Samenstrang außerhalb der Kastrationswunde und kann anschließend mit dem Skalpell oder einem Emaskulator durchtrennt werden (PLONAIT, 2004; HEINRITZI, 2006a). Die Samenstrangstümpfe gleiten danach wieder zurück in die Wundöffnung, welche offenbleibt (PLONAIT, 2004; HEINRITZI, 2006a). Nach lokaler Desinfektion wird das Ferkel zu seiner Mutter zurückgesetzt (PLONAIT, 2004; HEINRITZI, 2006a).

2.2. Möglichkeiten der Anästhesie bei der chirurgischen Kastration

POTSCHKA und ZÖLS (2016) geben als Charakteristika für die optimale Anästhesie bei der chirurgischen Ferkelkastration an, dass sie eine effektive intraoperative Schmerzausschaltung, eine Hemmung der Sensitivierung nozizeptiver Bahnen sowie eine Hemmung postoperativer Schmerzen aufweisen soll. Des Weiteren muss ein schneller Wirkungseintritt gewährleistet sein, und es darf keine Beeinflussung des Verhaltens nach dem Eingriff sowie keine Beeinträchtigung des Bewusstseins durch die Anästhesie erfolgen (POTSCHKA & ZÖLS, 2016). Als Möglichkeiten werden unter diesen Gesichtspunkten neben der Anwendung von Analgetika die Allgemein- oder die Lokalanästhesie diskutiert (POTSCHKA & ZÖLS, 2016).

2.2.1. Allgemeinanästhesie

ERHARDT (2012) definiert die Allgemein- oder Vollnarkose (= Allgemein- oder Vollanästhesie) als „einen durch Anästhetika hervorgerufenen reversiblen Zustand der Bewusstlosigkeit (Hypnose), der Skelettmuskelentspannung (Immobilisation, Relaxation) und der Schmerzlinderung (Analgesie)“. In korrekter Ausführung bzw. im korrekten Narkosestadium erlaubt sie schmerzlose chirurgische Eingriffe am Patienten (TRANQUILLI & GRIMM, 2015). In Abhängigkeit von der Applikationsweise der Anästhetika unterscheidet man zwischen zwei verschiedenen Anästhesieformen: Injektionsanästhesie und Inhalationsanästhesie (ERHARDT, 2012).

2.2.1.1. Injektionsanästhesie

Injektionsanästhetika werden grundsätzlich parenteral per injectionem verabreicht (ERHARDT, 2012). Nach ihrer klinisch-anästhesiologischen Hauptwirkung werden sie unterteilt in Sedativa, Hypnotika und Analgetika (LÖSCHER, 2010a). Derzeit ist Ketamin, ein Anästhetikum aus der Gruppe der Phencyclidine, und Azaperon, ein Neuroleptikum aus der Klasse der Butyrophenone, für Schweine zugelassen (ERHARDT et al., 2012a, 2012b; VETIDATA, 2021). Beide Anästhetika werden intramuskulär verabreicht und wirken in Kombination synergistisch (ERHARDT et al., 2012c). Ketamin bietet trotz seiner analgetischen Komponente jedoch keine ausreichende viszerale Schmerzabdeckung (Abdominal- und Pleurahöhle) und sollte somit eher bei somatischen Schmerzen angewandt werden (LÖSCHER, 2010a; ERHARDT et al., 2012b). Vermutlich ist es bei der Ferkelkastration als alleiniges Analgetikum deshalb nicht ausreichend (NUSSBAUMER, 2012). Nach HEINRITZI (2006d) führt die Kombination aus Ketamin und Azaperon ebenfalls nicht zu einer ausreichenden Allgemeinanästhesie mit chirurgischer Toleranz. ENZ et al. (2013) bestätigen diese Beobachtung in ihrer Studie bei 34 % der untersuchten Ferkel, welche während der Kastration noch Abwehrbewegungen zeigten. NUSSBAUMER et al. (2011) empfehlen zur Verbesserung der Analgesie während der Kastration eine Ergänzung mit Butorphanol.

ENZ et al. (2013) beschreiben weiterhin, dass sich nach der Injektion von Ketamin und Azaperon meist eine verlängerte, schlecht kontrollierbare

Nachschlafphase ergab. Die untersuchten Ferkel benötigten im Durchschnitt 112 Minuten, bis sie wieder koordiniert gehen konnten (ENZ et al., 2013). Zudem beklagten 83 % der Betriebsleiter kastrationsbedingte Verluste (ENZ et al., 2013).

Ein starkes Absinken der Körpertemperatur während der Narkose ist ebenfalls beschrieben, welches auf das Azaperon zurückzuführen ist (NUSSBAUMER et al., 2011; ENZ et al., 2013).

2.2.1.2. Inhalationsanästhesie: Isofluran

Für Ferkel bis zum 7. Lebensstag ist derzeit Isofluran als einziges Inhalationsanästhetikum zugelassen (VETIDATA, 2021). SCHULZ (2007) zeigt, dass sich die Inhalationsanästhesie mittels Isofluran als stressmindernde Alternative während der Ferkelkastration darstellt. Hierbei wird das bei Raumtemperatur flüssige, volatile Anästhetikum über einen Verdampfer in den gasförmigen Zustand überführt und einem Trägergas (z. B. Sauerstoff) zugesetzt (ERHARDT et al., 2012d).

Isofluran ist ein halogenierter Ether und gehört somit zu den halogenierten Kohlenwasserstoffen (PRIEN et al., 1990). Der Siedepunkt liegt bei 48,5 °C und der Dampfdruck bei 239,5 mmHg bei 20 °C (LÖSCHER, 2010a; ERHARDT et al., 2012d). Weiter weist Isofluran einen niedrigen Blut-Gas-Löslichkeitskoeffizienten auf und kann aus den Alveolen schnell über das Blut in das Zentrale Nervensystem (ZNS) diffundieren (ERHARDT et al., 2012d). Die Anflutung ist mit circa 3 Minuten dementsprechend rasch und die relativ niedrige Verstoffwechslungsrate mit < 0,2 % trägt dazu bei, dass es bei fast vollständiger Abatmung nicht gewebetoxisch ist (LÖSCHER, 2010a; STEFFEY et al., 2015). Somit werden Leber und Niere bei der Ausscheidung kaum belastet (ERHARDT, 2012d; LARSEN, 2016). Isofluran zeigt eine gute hypnotische und muskelrelaxierende Wirkung, seine analgetische Potenz ist jedoch schwach, weswegen es für einen chirurgischen Eingriffen mit einem Analgetikum kombiniert werden muss (SCHULTE AM ESCH & GOTTSCHALK, 2011; ERHARDT et al., 2012d). Den Effekt zusätzlicher Analgetika untersuchten HUG et al. (2018) für die Ferkelkastration unter einer Narkose mit 1,8 %

Isofluran und empfehlen eine Kombination aus Lidocain (4 und 8 mg/kg) i.t. und Meloxicam (0,4 mg/kg) i.m.

Als unangenehme Begleiterscheinung bei der Anwendung von Isofluran zeigt sich ein etherartig stechender Geruch sowie eine Reizung der Schleimhäute, sodass darauf Acht gegeben werden muss, beispielsweise die Augen der Patienten zu schützen (SCHULTE AM ESCH & GOTTSCHALK, 2011; ERHARDT et al., 2012d).

Außerdem ist Isofluran atemdepressiv und bedingt eine Senkung des peripheren Gefäßwiderstands, was zu einer Hypotension führt (LÖSCHER, 2010a; SCHULTE AM ESCH & GOTTSCHALK, 2011). Bei einigen Spezies, vor allem Menschen, Hunden und Schweinen, kann Isofluran eine maligne Hyperthermie induzieren, welche sich durch auftretende Muskelstarre, eine steigende Körpertemperatur, erhöhten Sauerstoffverbrauch, Azidose und Hyperkaliämie auszeichnet (LÖSCHER, 2010a). Ursache hierfür ist ein Defekt im Ryanodin-Rezeptor (LÖSCHER, 2010a). Dies führt zu einer vermehrten Freisetzung von Kalzium-Ionen aus dem sarkoplasmatischen Retikulum, welche unter anderem durch halogenierte Inhalationsanästhetika getriggert wird (LÖSCHER, 2010a).

Bedingt durch die sehr niedrige Metabolisierungsrate und dem damit an die Umwelt abgegebenen Volumen, welches fast vollständig dem zugeführten Teil entspricht, gilt Isofluran als ein stark schädliches Treibhausgas (SULBAEK ANDERSEN et al., 2010). Auf 100 Jahre gesehen zeigt es ein 510-faches Treibhauspotential verglichen mit CO₂ (SULBAEK ANDERSEN et al., 2010).

Im Hinblick auf die Arbeitsplatzsicherheit ist zu beachten, dass Isofluran zu einem gewissen Anteil über Cytochrom P450 2E1 metabolisiert wird und damit trifluoroacetylierte Zwischenprodukte entstehen (LIVERTOX, 2018). Diese stehen in Verdacht, immunologische Reaktionen auszulösen, welche sich toxisch auf die Leber auswirken können (LIVERTOX, 2018). SCHULTE AM ESCH und GOTTSCHALK (2011) beschreiben weiterhin eine mögliche leichte bis schwere akute Leberschädigung, welche aus der verminderten Leberdurchblutung aufgrund

eines verminderten Herzzeitvolumens durch halogenierte Inhalationsanästhetika herrührt.

Durch das Inkrafttreten der Verordnung zur Durchführung der Betäubung mit Isofluran bei der Ferkelkastration durch sachkundige Personen (Ferkelbetäubungssachkundeverordnung, FerkBetSachkV) ist diese alternative Methode vermehrt in den Mittelpunkt der Aufmerksamkeit gerückt (FerkBetSachkV). Mit einem von der zuständigen Behörde ausgestellten gültigen Nachweis über ihre Sachkunde nach § 6 Absatz 2 (sachkundige Person) darf nach § 2 der Verordnung auch eine Person, welche kein Tierarzt oder Tierärztin ist, eine Betäubung bei der Kastration eines Ferkels mit Isofluran durchführen, sofern die weiteren Voraussetzungen (§ 3 Tierarzneimittel zur Betäubung, § 4 Verfahren der Ferkelkastration unter Betäubung, § 5 Orte und Narkosegeräte) der Verordnung erfüllt sind (FerkBetSachkV). Für die Beantragung des Sachkundenachweises nach § 6 Absatz 2 bei der Behörde ist folgendes erforderlich (FerkBetSachkV):

- Vollendung des 18. Lebensjahres
- Erfüllung der erforderlichen Zuverlässigkeit
- Abschluss eines Ausbildungsberufes oder Studienganges, in dem der Umgang mit Ferkeln gelehrt wird, oder die Ausübung einer mindestens zweijährigen Tätigkeit in einem landwirtschaftlichen Betrieb mit Ferkelerzeugung, die den Umgang mit Ferkeln umfasst hat
- Teilnahme an einem mindestens zwölfstündigen Lehrgang nach § 6 Absatz 1 Nummer 1
- Absolvieren einer Praxisphase nach § 6 Absatz 1 Nummer 2
- erfolgreiches Ablegen einer Prüfung über die theoretischen Kenntnisse sowie
- erfolgreiches Ablegen einer Prüfung über die praktischen Fähigkeiten

Die Teilnahme an theoretischen und praktischen Fortbildungsmaßnahmen sind in der Verordnung ebenfalls geregelt (FerkBetSachkV).

Ob die Narkose mit Isofluran eine ausreichend gute Alternative zur betäubungslosen Kastration darstellt ist noch nicht abschließend geklärt. SCHULZ (2007) zeigt anhand der gemessenen Katecholaminausschüttung in ihrer Studie, dass die Stressbelastung bei der Kastration von Ferkeln unter Isofluran-Narkose niedriger ist als bei betäubungslos kastrierten Tieren. Allerdings besteht der postoperative Schmerz weiterhin (SCHULZ, 2007). SCHWENNEN et al. (2016) und HUG et al. (2018) zeigen in ihren Studien, dass die Isofluran-Narkose alleine keine adäquate Schmerzausschaltung während der Kastration herbeiführt. Die Verwendung eines zusätzlichen Analgetikums wird daher dringend in verschiedenen Publikationen empfohlen (SCHULZ, 2007; STEIGMANN, 2013; HUG et al., 2018).

2.2.2. Lokalanästhesie

Lokalanästhetika sind Substanzen, welche regional um die Nervenfasern herum appliziert werden und so eine Weiterleitung von Schmerzreizen unterbinden (LÖSCHER, 2010b). Nach Injektion wandelt sich das Lokalanästhetikum (LA) aufgrund des neutralen bis basischen GewebepHs zum Teil in eine freie Base um (TACKE et al., 2012). Eine Diffusion durch die Lipidmembran der Nervenzelle ist so möglich (TACKE et al., 2012). Die tertiäre Aminogruppe wird protoniert und das LA kann an einen spannungsabhängigen Na⁺-Kanal binden, welchen es in seiner inaktiven Konformation stabilisiert (LEMKE, 2014). So wird der Na⁺-Einstrom gehemmt, und es kommt eine verminderte bis keine Weiterleitung der Erregung zustande (TACKE et al., 2012).

Abhängig von der Applikation unterscheidet man zwischen sechs Formen der Lokalanästhesie (LÖSCHER, 2010b; TACKE et al., 2012). Bei der *Oberflächenanästhesie* wird das LA beispielsweise direkt auf die Schleimhäute oder die Kornea des Auges aufgebracht und so lokal die Schmerzrezeptoren betäubt (LÖSCHER, 2010b; TACKE et al., 2012). Bei der *Infiltrationsanästhesie* wird das LA nicht direkt in den Nerven injiziert, sondern es erfolgt eine Betäubung durch regionales Umspritzen (LÖSCHER, 2010b; TACKE et al., 2012). Dagegen erfolgt bei der *Leitungsanästhesie* die Verabreichung des LAs gezielt in den Nervenstamm oder um die Nervenstränge (TACKE et al., 2012). Bei der *Epidural-* und

Spinalanästhesie wird das LA in den Epidural- bzw. den Spinalraum appliziert und bei Durchführung einer *intravenösen Regionalanästhesie* intravenös in eine blutleere Vene nach Abbinden einer Extremität verabreicht (TACKE et al., 2012).

Eine weitere Einteilung der Lokalanästhetika erfolgt auf Basis des chemischen Aufbaus, welcher prinzipiell gleich ist und aus einem lipophilen aromatischen Ring, einer hydrophilen, meist tertiären, Amino-Gruppe und einer Zwischengruppe, welche entweder aus einem Amid oder einem Ester besteht (GARCIA, 2015). Auf Basis des chemischen Aufbaus kann somit zwischen einem Amidtyp und einem Estertyp unterschieden werden (GARCIA, 2015). Lokalanästhetika vom Estertyp haben eine kurze Halbwertszeit, da sie direkt am Applikationsort nach Resorption durch unspezifische Pseudocholinesterasen im Blutplasma hydrolysiert werden (LÖSCHER, 2010b; GARCIA, 2015). Lokalanästhetika vom Amidtyp sind sehr stabil, werden nicht durch Cholinesterasen gespalten und erst in der Leber verstoffwechselt (LÖSCHER, 2010b; GARCIA, 2015).

Nach peripherer Injektion eines LAs kann es sich auf unterschiedlichen Wegen im Körper verteilen (Abbildung 1) (GARCIA, 2015). Wichtig ist dabei der Anteil, zu welchem das LA in das Blut aufgenommen wird, da sich hieraus die toxische Plasmakonzentration entwickelt und so die therapeutische Breite bestimmt wird (GARCIA, 2015).

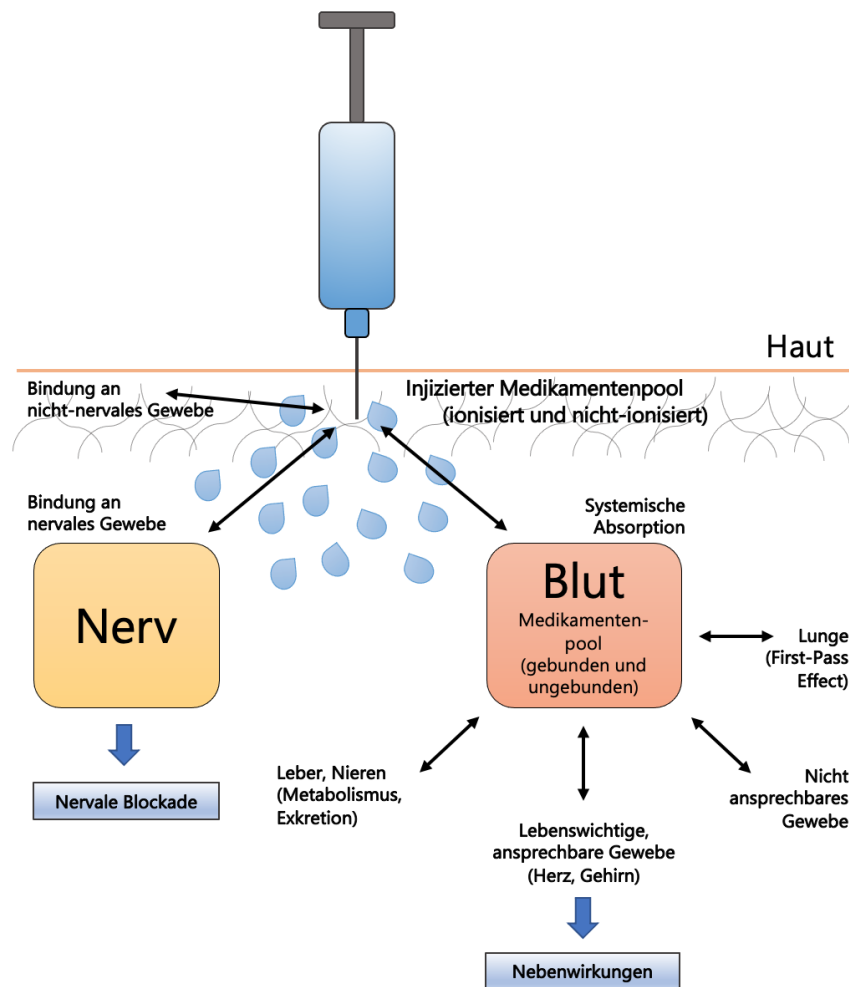


Abbildung 1: Mögliche Verteilungswege von Lokalanästhetika nach peripherer Injektion (nach GARCIA, 2015).

Die Geschwindigkeit des Wirkeintritts von Lokalanästhetika wird von der Dissoziationskonstante (pK_a -Wert) beeinflusst, die das Verhältnis von ionisiertem LA und nichtionisierter Base angibt (TACKE et al., 2012). Nur als nichtionisierte Base kann das LA durch die Zellmembran diffundieren (TACKE et al., 2012). Die Wirkdauer der Lokalanästhetika erhöht sich unter anderem mit der jeweiligen Proteinbindung (TACKE et al., 2012).

Durch den Zusatz von sogenannten Sperrkörpern kann der Wirkungseintritt um das 2 bis 3-fache beschleunigt und die Wirkdauer um das 2 bis 3-fache verlängert werden (TACKE et al., 2012). Zum Einsatz kommen hierbei beispielsweise Adrenalin oder Noradrenalin, die eine Vasokonstriktion bewirken und so eine schnelle Abflutung der Lokalanästhetika

verhindern (LÖSCHER, 2010b; TACKE et al., 2012). Auch die Blutungsneigung im operativen Gebiet wird mit dem Einsatz von Sperrkörpern reduziert (LÖSCHER, 2010b).

2.2.2.1. Procain

Procain gehört aus chemischer Sicht, wie aus Abbildung 2 ersichtlich, zu den Lokalanästhetika des Estertyps (GARCIA, 2015). Es hat von den in der vorliegenden Arbeit untersuchten Lokalanästhetika die kürzeste Wirkdauer (s. Tabelle 1), da es schnell durch Pseudocholinesterasen inaktiviert wird (GARCIA, 2015). Aufgrund dessen ist es für Oberflächenanästhesien nicht geeignet und findet seine Hauptanwendung in der Leitungs- und Infiltrationsanästhesie (LÖSCHER, 2010b). Es gilt zu beachten, dass für Procain über einer Konzentration von 4 % eine gewebsschädigende Wirkung angegeben ist, was vermutlich auf den sauren pH-Wert des LAs als handelsübliches Hydrochlorid zurückzuführen ist (HOSPIRA, 2004; LÖSCHER, 2010b). Die Wirkung von Procain tritt laut Literatur nach 5 bis 20 Minuten ein und hält für etwa 30 bis 90 Minuten an (LÖSCHER, 2010b; TACKE et al., 2012; LEMKE, 2014). Bei Epiduralanästhesien ist ein Wirkeintritt erst nach 15 bis 20 Minuten beschrieben (MIBE, 2008). Als Procainamid (Ester- durch Amidgruppe ersetzt) kann es zur Behandlung tachykarder Arrhythmien eingesetzt werden (LÖSCHER, 2010b; SAMARIN et al., 2015). Beim Potenzvergleich innerhalb der Lokalanästhetika fungiert Procain als Referenzstoff sowohl mit einer relativen anästhetischen Potenz als auch einer Toxizität von 1 (LÖSCHER, 2010b).

Procain ist als einziges Lokalanästhetikum beim Schwein für die Infiltrationsanästhesie und abhängig vom Präparat für Leitungs-, Epineural- und Perineuralanästhesie zugelassen (VETIDATA, 2021). Es besteht je nach Präparat eine kurze Wartezeit von null bis einem Tag(en) (VETIDATA, 2021).

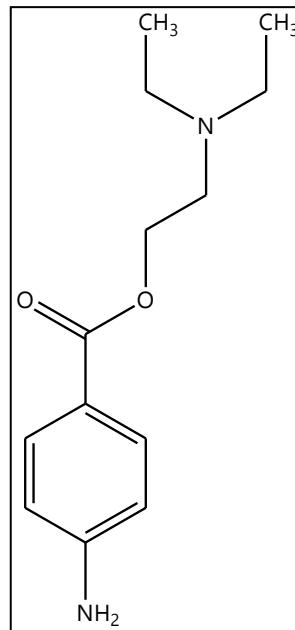


Abbildung 2: Chemische Strukturformel von Procain als LA des Estertyps (modifiziert nach PUBCHEM, 2021a).

2.2.2.2. Lidocain

Lidocain ist ein LA des Amidtyps (Abbildung 3) (GARCIA, 2015). Es findet hauptsächlich in der Infiltrations- und Leitungsanästhesie Anwendung, wird jedoch auch in höherer Dosierung (4-5 %) für die Oberflächenanästhesie eingesetzt (LÖSCHER, 2010b). Bei einem schnellen Wirkeintritt nach 2 bis 5 Minuten wirkt Lidocain 60 bis 120 Minuten (LÖSCHER, 2010b; TACKE et al., 2012). Zusätzlich weist Lidocain eine antiarrhythmische Wirkung auf, welche systemisch zur Behandlung von ventrikulären tachykarden Arrhythmien eingesetzt wird (LÖSCHER, 2010b; SAMARIN et al., 2015). Lidocain hat eine Wirkpotenz von 1,5 – 2 bei einer Toxizität von 1,5 – 2 (LÖSCHER, 2010b).

Zugelassen ist Lidocain derzeit nur als Präparat zur Lokalanästhesie als 2 %-ige Lösung bei Hunden, Katzen und Pferden, die nicht der Lebensmittelgewinnung dienen (VETIDATA, 2021). Außerdem ist derzeit ein Präparat einer 5 %-igen Lösung auf dem Markt, welches auch bei Pferden, die für die Lebensmittelgewinnung bestimmt sind, eingesetzt werden darf (VETIDATA, 2021).

In Norwegen wurde nach einer Umfrage, welche im Jahr 2006 veröffentlicht wurde, von 95 % der Tierärzte Lidocain 2 % als Lokalanästhetikum zur Ferkelkastration verwendet (FREDRIKSEN & NAFSTAD, 2006).

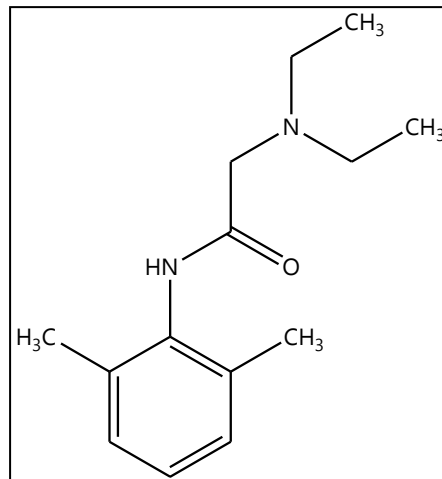


Abbildung 3: Chemische Strukturformel von Lidocain als LA des Amidtyps (modifiziert nach PUBCHEM, 2021b).

2.2.2.3. Andere Lokalanästhetika

Als Alternativen zu beiden vorhergenannten Lokalanästhetika wurden im Rahmen der vorliegenden Studie zusätzlich Bupivacain und Mepivacain, beides Lokalanästhetika des Amidtyps (Abbildung 4), untersucht (TACKE et al., 2012).

Mepivacain verhält sich ähnlich wie Lidocain, wird jedoch mit einer verlängerten Wirkdauer beschrieben (Tabelle 1) (LÖSCHER, 2010b). Es bietet einen schnellen Wirkeintritt von 2 bis 5 Minuten bei mittellanger Wirkdauer bis zu 3 Stunden (TACKE et al., 2012; GARCIA, 2015; ACCORD, 2019). Außerdem weist es wie Lidocain eine Wirkpotenz von 1,5 – 2 bei einer Toxizität von 1,5 – 2 auf (LÖSCHER, 2010b). Es bewirkt, anders als andere Lokalanästhetika, keine Vasodilatation, sodass eine Zugabe von Adrenalin als Sperrkörper entfällt (GARCIA, 2015; VETIDATA, 2021). Mepivacain weist im Vergleich zu Lidocain eine schlechtere oberflächenanästhetische Wirkung auf und ist derzeit in der Tiermedizin nur für die Anwendung zur intraartikulären und epiduralen Anästhesie bei lebensmittelliefernden Equiden zugelassen (GARCIA, 2015; VETIDATA, 2021).

Bupivacain weist eine hohe relative anästhetische Potenz im Vergleich zu Procain auf (Tabelle 1) (LÖSCHER, 2010b). Genaue Werte variieren jedoch je nach Literatur stark (LÖSCHER, 2010b; LEMKE, 2014; GARCIA, 2015). Es zeichnet sich besonders durch eine lange Wirkdauer aus, welche ebenfalls laut Literatur zwischen 120 bis 360 Minuten stark schwankt

(Tabelle 1) (LÖSCHER, 2010b). Der Wirkeintritt erfolgt mäßig schnell mit 10 bis 20 Minuten ähnlich zu Procain (LEMKE, 2014). Zu beachten ist jedoch die hohe relative Toxizität im Vergleich zu Procain von 5 - 10, die nur einen geringen Dosierungsspielraum zulässt (LÖSCHER, 2010b). Ein handelsfähiges Präparat ist derzeit in der Tiermedizin nicht auf dem Markt (VETIDATA, 2021).

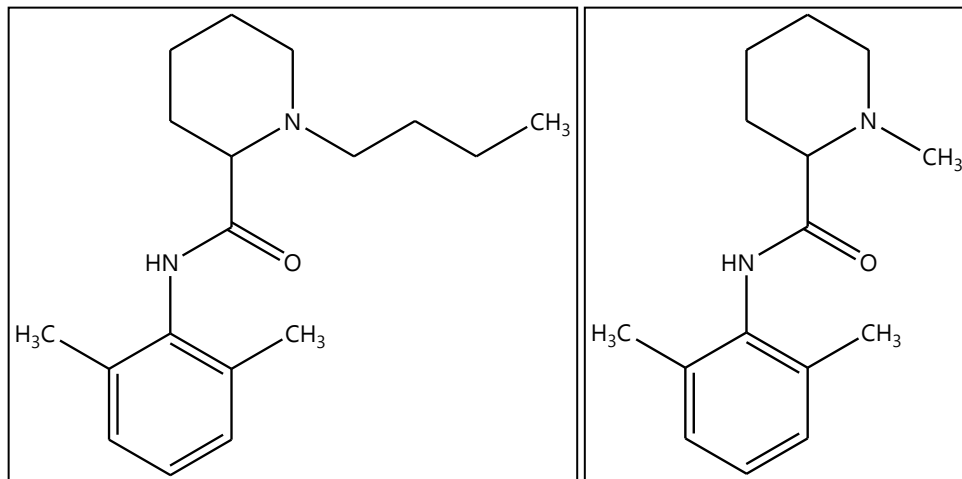


Abbildung 4: Chemische Strukturformel von Bupivacain (links) und Mepivacain (rechts) als Lokalanästhetika des Amidtyps (modifiziert nach PUBCHEM, 2021c; PUBCHEM, 2021d).

Tabelle 1: Eigenschaften der Lokalanästhetika Procain, Lidocain, Bupivacain und Mepivacain (modifiziert nach LÖSCHER, 2010b; TACKE et al., 2021; LEMKE, 2014; GARCIA, 2015).

Lokalanästhetikum	Relative anästhetische Potenz ¹⁾	Relative Toxizität ¹⁾	pK _a	Plasma-proteinbindung (%)	Wirkungseintritt (Minuten)	Wirkdauer (Minuten)
Estertyp						
Procain	1	1	8,89	6	5-20	30-90
Amidtyp						
Lidocain	1,5-2	1,5-2	7,77	64	2-5	60-120
Mepivacain	1,5-2	1,5-2	7,72	77	2-5	90-180
Bupivacain	4-10	5-10	8,1	95	10-20	120-360

¹⁾im Vergleich zu Procain

2.2.2.4. Injektionstechniken der Lokalanästhetika bei der Ferkelkastration

Die Techniken, welche zur Applikation der Lokalanästhesie bei der Kastration verwendet werden können, variieren in der Literatur je nach Studiendesign:

- Intratestikuläre Injektionsmethode: Hierbei wird der Hoden mit zwei Fingern fixiert bzw. mit dem Zeigefinger nach kaudal gedrückt und die Kanüle mittig in das Parenchym eingestochen (HEINRITZI, 2006c; ZANKL, 2007; HUG et al., 2018; PÉREZ-PEDRAZA et al., 2018).
- Subkutane/intraskrotale Injektionsmethode: Hierbei wird ein definiertes Volumen direkt unter die Skrotalhaut bzw. in das Skrotum appliziert (ZANKL, 2007; VALENZUELA et al., 2019).
- Inguinale Injektionsmethode: Hierbei wird eine definierte Menge beidseits inguinal auf Höhe des letzten Zitzenpaares verabreicht, mit dem Ziel, möglichst den Samenstrang zu betäuben (RAUH et al., 2019).
- Intrafuniculare Injektionsmethode: HAGA und RANHEIM (2005) evaluieren eine Methode, bei welcher der Samenstrang direkt betäubt wird. Eine genaue Beschreibung des Prozederes erfolgt

nicht (HAGA & RANHEIM, 2005). Es wird jedoch darauf verwiesen, dass diese Injektionstechnik schwieriger und zeitraubender ist (RANHEIM et al., 2005). Außerdem wird auf eine erhöhte Gefahr der intravaskulären Injektion hingewiesen, da mit dem Samenstrang auch der Plexus pampiniformis verläuft (RANHEIM et al., 2005).

- Kombinationen der genannten Methoden mit dem Ziel, möglichst alle Strukturen der einzelnen Schritte (Hautschnitt, Samenstrangdurchtrennung) der Kastration zu betäuben (KLUIVERS-POODT et al., 2013). Dies kann beispielsweise durch Anheben einer Hautfalte und einem definierten Platzieren der Kanülenspitze im Skrotalspalt erreicht werden (BONASTRE et al., 2016; ABENDSCHÖN et al., 2020). Alternativ wird beim „Zurückziehen“ nach der intratestikulären Injektion noch eine kleine Menge in das Skrotum abgegeben (HANSSON et al., 2011; KLUIVERS-POODT et al., 2012).

3. Schmerz

3.1. Physiologie der Schmerzentstehung und –verarbeitung

Der Begriff *Schmerz* darf nie für sich alleine gesehen werden, sondern als multimodale Erfahrung, die immer auch mit den Gefühlsempfindungen Angst und Stress zusammenhängt, welche dem Zustand eine subjektive Komponente geben (HENKE et al., 2012c). Schmerz stellt die Interpretation eines nozizeptiven Stimulus dar, wobei Nozizeption die nervale und somit eine objektivierbare Antwort auf einen schmerzhaften Stimulus (Noxe) ist (HENKE et al., 2012b).

Die Noxe löst an den sogenannten Nozizeptoren, ubiquitär vorkommende, freie, sensorische Nervenendigungen mit circa 90 % Vorkommen in der Haut, einen Reiz aus (SANN, 2010; HENKE et al., 2012a). Nozizeptoren haben unterschiedliche Qualitäten und leiten den Reiz als afferente Nervenfasern an die Substantia gelatinosa des Hinterhorns des Rückenmarks (RM) weiter (HENKE et al., 2012a).

A- δ -Nozizeptoren sind myelinisiert und leiten den Schmerz schnell (HENKE et al., 2012a). Dadurch entsteht der klassisch scharfe Erstsmerz, welcher kurz und gut lokalisierbar ist (HENKE et al., 2012a). A- δ -Nozizeptoren reagieren auf starke mechanische Belastung und extreme Temperaturen (BEHREND, 2012). C-Fasern sind hingegen unmyelinisiert und zuständig für den langsamen, dumpfen, brennenden Zweitschmerz (HENKE et al., 2012a). Dieser Schmerz ist schlecht lokalisierbar und länger anhaltend (HENKE et al., 2012a). Diese Fasern sind großflächig stimuliert auch verantwortlich für den viszerale Schmerz (HENKE et al., 2012a).

In der Substantia gelatinosa des RMs wird das Signal auf ein zweites Neuron umgeschaltet (HENKE et al., 2012a). Einerseits nimmt das Signal nun über den sogenannten Reflexbogen, unter Umgehung der Weiterleitung zum Gehirn, den Rückweg und verursacht entweder eine motorische Reaktion, wie beispielsweise den Wegziehreflex, oder über die vegetative Komponente eine Aktivierung des Sympathikus, welche sich beispielsweise durch einen Anstieg von Herzfrequenz und Blutdruck äußert (SANN, 2010). Andererseits kreuzt das zweite Neuron auf die gegenüberliegende Seite und das Signal gelangt über den Tractus spinothalamicus (Vorderseitenstrang) zu den Thalamuskernen des Gehirns (HENKE et al., 2012a). Es erfolgt zudem eine Aktivierung der Formatio reticularis, wodurch als vegetative Komponente über den Sympathikus Atem- und Kreislaufzentrum beeinflusst werden, und des aufsteigenden, retikulär aktivierenden Systems (ARAS), welches den Wachheitsgrad sowie die Aufmerksamkeit regelt (SANN, 2010; HENKE et al., 2012a). Es existieren weiterhin Verbindungen zum somatosensorischen Kortex (Hirnrinde), in der die Erkennung des Entstehungsortes des Schmerzes erfolgt (sensorisch-diskriminative Funktion) (SANN, 2010; HENKE et al., 2012a). Außerdem bestehen Verbindungen zum limbischen System, welche in Verbindung mit den unspezifischen Thalamuskernen die emotionale affektive Komponente (z.B. Aggression bei Schmerzen) in der Schmerzverarbeitung darstellen (SANN, 2010; HENKE et al., 2012a). Zudem wird auch die Verbindung zum Hypophysenvorderlappen aktiviert, sodass eine Ausschüttung des Adrenocorticotropen Hormons (ACTH) und

von β -Endorphinen als körperinternes, analgetisch wirksames System, ins Blut erfolgt (HENKE et al., 2012a). Die motorische Komponente schließt die absteigenden motorischen Bahnen des Zentralen Nervensystems mit ein (SANN, 2010). Hier werden motorische Reaktionen als Antwort auf das nozizeptive Geschehen, wie beispielsweise Abwehrbewegungen, initiiert (SANN, 2010).

3.2. Schmerz Wahrnehmung beim Tier und beim Neugeborenen

In der Humanmedizin wird die Selbsteinschätzung des Schmerzempfindens beim erwachsenen Menschen als „Goldstandard“ zur Klassifizierung von Schmerz herangezogen, Tieren ist jedoch aufgrund des fehlenden Sprechvermögens eine Beschreibung der Empfindung durch sie selbst nicht möglich (MELZACK, 1975; BELTRAMINI et al., 2017). In der allgemein anerkannten Definition von Schmerz, welche durch die International Association for the Study of Pain (IASP) 2020 neu überarbeitet von RAJA et al. (2020) veröffentlicht wurde, wird Schmerz als „ein unangenehmes Sinnes- oder Gefühlserlebnis [bestimmt], das mit einer tatsächlichen oder potentiellen Gewebeschädigung einhergeht oder einer solchen ähnelt“.

Das National Research Council (US) Committee on Recognition and Alleviation of Pain in Laboratory Animals weist jedoch darauf hin, dass Schmerz in Tieren nur schwierig zu erheben ist (GEBHARD et al., 2009). Wichtig hierfür sind eine Kombination aus strukturierter klinischer Untersuchung sowie gute Kenntnisse des normalen Aussehens und Verhaltens der zu untersuchenden Tiere nötig (GEBHARD et al., 2009). Außerdem kann die Beobachtung des unterschiedlichen Verhaltens von Tieren vor und nach Schmerzmedikation dazu beitragen, die Schmerzerkennung zu verbessern (GEBHARD et al., 2009). Allerdings sollte auch die mögliche verhaltensändernde Wirkung des Medikaments selbst in Betracht gezogen werden (GEBHARD et al., 2009). So wirken beispielsweise Opioide verhaltensändernd auch bei schmerzfreien Tieren (ROUGHAN & FLECKNELL, 2000).

SANN (2010) definiert Schmerz bei Tieren als „aversive, sensorische Erfahrung, die durch aktuelle oder potentielle Verletzungen verursacht

wird, protektive motorische oder vegetative Reaktionen auslöst, zur erlernten Vermeidung solcher Reize führt und somit das Verhalten modifiziert“. Er beschreibt Zeichen der vorhandenen Nozizeption als sog. „pseudoaffektive Reaktionen, die durch Veränderungen von Blutdruck, Herzfrequenz und Atmung sowie durch motorische Reflexe, protektive Reaktionen oder Vokalisation charakterisiert sind“ (SANN, 2010).

Ebenfalls fiel auch in der Humanmedizin die Schmerzerkennung beim Neugeborenen lange Zeit schwer und änderte sich erst 1987 grundlegend mit der Veröffentlichung von ANAND und HICKEY (1987) (OHLSSON & SHAH, 2016). Der Grund hierfür war, dass man bis zur Veröffentlichung dieser Studie annahm, dass Neonaten nicht im Stande wären, Schmerzen generell zu empfinden, zu lokalisieren oder so zu interpretieren, wie Erwachsene es tun (ANAND & HICKEY, 1987; PERRY et al., 2018). Man nahm an, dass Reaktionen auf schmerzhafte Stimuli nur Reflexe seien (GOKSAN et al., 2015). Zudem hatte man Bedenken, dass Anästhetika Nebenwirkungen bei Anwendung am Neugeborenen mit sich bringen würden (BERDE et al., 2005; PERRY et al., 2018). Diese Auffassung wurde in den letzten Jahrzehnten revidiert und es wurde nachgewiesen, dass mit Abschluss der 24. Schwangerschaftswoche das nozizeptive System bereits so weit entwickelt ist, dass Neugeborene die Noxe lokalisieren und durch reflexhafte Bewegungen vermeiden können (PERRY et al., 2018). Außerdem wurde durch Magnetresonanzbildgebung und Verhaltensstudien gezeigt, dass Neugeborene ebenfalls eine Schmerzempfindung besitzen (GOKSAN et al., 2015; CONG et al., 2017).

Bei neugeborenen Tieren führten die oben genannten Problemstellungen unter anderem dazu, dass die betäubungslose Kastration von unter acht Tage alten männlichen Ferkeln laut Tierschutzgesetz mit einer Übergangsfrist noch bis 31. Dezember 2020 als legal galt (BT-Druck 19/5522, 2018; TierSchG, 2020). Die Fehlinterpretation eines mangelnden Schmerzempfindungsvermögens ist vor allen Dingen auf ungerichtete Schmerzreaktionen zurückzuführen, mit welchen Neonaten einem erneuten Schmerzreiz ausweichen wollen (HENKE et al., 2012c). Jedoch weisen Neonaten ein viel sensibleres Schmerzempfinden auf als Adulte

(HENKE et al., 2012c). Beim neonatalen Organismus kommt es bei Reizeinwirkung zu einer vermehrten Ausbildung von C-Fasern (HENKE et al., 2012c). Eine wiederholte Stimulation von A- β -Fasern führt zu einer Sensibilisierung, die schon durch häufige Berührungsreize verursacht werden kann (HENKE et al., 2012c). Außerdem führt eine asynchrone Entwicklung von nozizeptiven Bahnen und segmentalen wie deszendierenden Hemmmechanismen zu größeren Rezeptorfeldern und einer niedrigeren Schmerzschwelle (HENKE et al., 2012c). Eine Hyperalgesie ist die Folge. Es besteht zudem kein anatomisch oder physiologisch nachweisbarer Grund, dass Tiere weniger Schmerzen empfinden, als Menschen (HENKE et al., 2012c). Deshalb erwähnt auch die IASP in einem Zusatz zu der neu veröffentlichten Schmerzdefinition, dass nur die Unfähigkeit Schmerz auszudrücken nicht automatisch bedeutet, dass Menschen oder Tiere keinen Schmerz erleben können (RAJA et al., 2020).

3.3. Parameter der Schmerzerkennung beim Schwein

Dass Schmerz auch bei Schweinen erkennbar vorhanden sein muss zeigte 2014 eine Studie, in der 48 % der befragten Landwirte und 67 % der befragten Tierärzte der Aussage widersprachen, dass Schweine Schmerzen gegenüber nicht so sensitiv wären wie Menschen (ISON & RUTHERFORD, 2014). ISON et al. (2016) teilen Parameter zur Schmerzerkennung bei Schweinen in zwei Hauptkategorien ein:

- *Verhalten*: Dies beinhaltet schmerzassoziiertes Fluchtverhalten, Haltung und Haltungsänderung, Veränderungen im Normalverhalten, Erhebung von Verhaltensscores und quantitative sensorische Testung (ISON et al., 2016).
- *Physiologie*: Dies beinhaltet die Erfassung von Neurotransmission (c-Fos- und Substanz P-Bestimmung), Messung von Kortisol/ACTH und autonome Reaktionen (Blutglucose, Laktat, EEG, mittlerer arterieller Blutdruck und Herzfrequenz). Des Weiteren fallen hierunter die Messung von endogener Opioid-Ausschüttung (β -Endorphine) und der Immunfunktion (Bestimmung der Entzündung anhand der Konzentration von

Zytokinen: Tumor-Nekrose-Faktor- α und Interleukin-1- β ; und Akute-Phase-Proteinen: Haptoglobin, C-reaktives Protein, Serumamyloid A; Bestimmung von Serum-Biomarkern Aspartat-Aminotransferase und Kreatinkinase) (ISON et al., 2016).

Als isolierte, dritte Möglichkeit nennen sie die *Vokalisation* zur Erfassung und Evaluation von Schmerz (ISON et al., 2016).

Ein Bericht des *Committee on Pain and Distress in Laboratory Animals* beschreibt ebenfalls die Schmerzerkennung bei Schweinen mit Hilfe von Änderungen im Allgemeinen sowie im Sozialverhalten, Gang und Haltung sowie fehlendem Nestbau (GEBHARD et al., 2009). Außerdem deckt sich die Beobachtung der Häufung von Fluchtversuchen oder Verstecken in der Einstreu sowie zunehmender *Vokalisation* mit ISON et al. (2016) (GEBHARD et al., 2009). Als Zusatz wird eine Aggressionssteigerung bei adulten Schweinen und eine Bewegungsunlust genannt (GEBHARD et al., 2009). ESCRIBANO et al. (2013) evaluiert als zusätzlichen Stressmarker im Schwein Chromogranin A, auf welchen in Kapitel 7 näher eingegangen werden soll.

4. Schmerz und hämodynamische Parameter

4.1. Blutdruck

4.1.1. Allgemeines zum Blutdruck

„Blutdruck“ per se bezeichnet den arteriellen Blutdruck im Körperkreislauf, dem Hochdrucksystem des Körpers (SILBERNAGL & DESPOPOULOS, 2012b). Er kann unterteilt werden in den systolischen (systolic arterial pressure, SAP, P_S), als maximalen, und den diastolischen (diastolic arterial pressure, DAP, P_D), als niedrigsten pulsatilen Blutdruck folgend auf die jeweiligen Phasen des Herzens, der Systole bzw. Diastole (VON ENGELHARDT, 2010). Als Blutdruckamplitude wird die Differenz zwischen den Drücken $P_S - P_D$ bezeichnet (SILBERNAGL & DESPOPOULOS, 2012b).

Das ausgestoßene Schlagvolumen des Herzens gelangt zuerst in die Aorta, welche sich, durch eine hohe Elastizität bedingt, ausdehnt und den

plötzlichen, punktuellen Druckanstieg langsam in die arteriellen Gefäße der Peripherie abgibt (Windkesselfunktion) (VON ENGELHARDT, 2010; RETTIG, 2019). Hierdurch entsteht der sogenannte Druckpuls, welcher je nach Nähe der Arterie zum Herzen charakteristische Formen annimmt: je näher die Arterie am Herzen liegt, desto stärker ist die Ausprägung der Inzisur in der Blutdruckkurve (VON ENGELHARDT, 2010). Sie entsteht durch einen kurzen Rückstrom des Blutes kurz vor und während des Schließens der Taschenklappen am Ende der Austreibungsphase (VON ENGELHARDT, 2010) (Abbildung 5). Die Amplitude, welche zur Bestimmung von SAP und DAP verwendet werden kann, erhöht sich je weiter die Arterien in der Peripherie zu finden sind (VON ENGELHARDT, 2010). Dies erklärt sich einerseits dadurch, dass die Arterienwände in der Peripherie an Elastizität verlieren und sich andererseits die Druckwellen, welche sich an Aufzweigungen reflektieren, addieren (VON ENGELHARDT, 2010). Vom Druckpuls zu unterscheiden ist der sogenannte Stompuls, der die Fließgeschwindigkeit des Blutes darstellt (VON ENGELHARDT, 2010).

Es existieren sowohl invasive (direkte, blutige) als auch nicht-invasive (indirekte, unblutige) Methoden zur Messung des Blutdrucks (VON ENGELHARDT, 2010; EBERSPÄCHER-SCHWEDA, 2020a). Erstere werden aufgrund der größeren Messgenauigkeit und der Möglichkeit der kontinuierlichen Messung als „Goldstandard“ der Blutdruckbestimmung erachtet (VON ENGELHARDT, 2010; HOLLSTEIN, 2019; WATSON & CHINNADURAI, 2019; EBERSPÄCHER-SCHWEDA, 2020a; IZER & WILSON, 2020).

Der mittlere arterielle Blutdruck (mean arterial pressure, MAP) ist der Druck, welcher durchschnittlich während der Dauer eines Schlagintervalls (Systole und Diastole) im Gefäßsystem vorherrscht (Abbildung 5) (EGNER, 2007; DEMERS & WACHS, 2020). Berechnet wird dieser über die Formel nach SPÖRRI (1987):

$$\text{MAP} = \text{DAP} + \frac{1}{3} (\text{SAP} - \text{DAP})$$

Herznah entspricht der MAP in den Arterien fast genau dem arithmetischen Mitteldruck, in herzfernen Arterien ist er etwas niedriger (SCHÄFFLER, 2017).

Den Blutdruck im adulten Schwein gibt ERHARDT et al. (2007) mit 110 bis 120 mmHg in der Systole zu 70 bis 80 mmHg in der Diastole an. Dies entspricht einem gesunden humanen Erwachsenen (RETTIG, 2019). Säuglinge weisen im Alter von 2 Tagen einen Blutdruck (SAP/DAP (MAP)) von 68/43 (51) mmHg, im Alter von 6 Monaten 102/75 (62.5) mmHg und im Alter von 12 Monaten 101/75 (64) mmHg auf (KENT et al., 2007). Zum Vergleich zeigen HAGA und RANHEIM (2005) mit ihrer Blutdruckmessung an 47 Ferkeln mit einem Alter um die 22 Tagen, dass der MAP bei diesen Ferkeln in Ruhe zwischen 60-65 mmHg liegt. Auch HANCOCK et al. (2018) verzeichnen MAP-Werte zwischen 60-70 mmHg bei ihren Versuchen an 2-10 Tage alten Ferkeln.

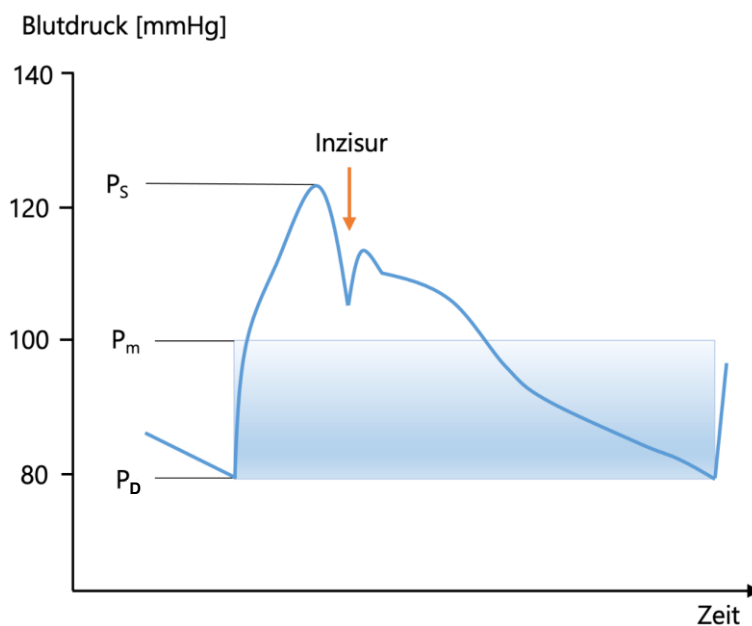


Abbildung 5: Aortennahe Blutdruckkurve mit Inzisur als Zeichen des Klappenschlusses. Eingezeichnet sind systolischer arterieller Druck (SAP), mittlerer arterieller Druck (MAP) und diastolischer arterieller Druck (DAP) (modifiziert nach RETTIG, 2019).

4.2. Herzfrequenz

4.2.1. Allgemeines zur Herzfrequenz

Die Herzfrequenz bezeichnet die Anzahl der Herzkontraktionen pro Minute und ist abhängig von Lebensalter, Geschlecht, sportlichem Trainingszustand, Körpertemperatur, Vigilanz, vegetativen Faktoren und körperlicher Belastung (KRAUSE, 2020).

Das Herz wird sowohl durch den Sympathikus als auch durch den Parasympathikus innerviert (FLEISCHMANN & HESCHELER, 2019). Hierbei beeinflussen sie das Herz unterschiedlich (FLEISCHMANN & HESCHELER, 2019):

- chronotrope Wirkung (Frequenzveränderung)
- inotrope Wirkung (systolische Herzkraftentwicklung)
- dromotrope Wirkung (Geschwindigkeit der atrioventrikulären Überleitung)
- bathmotrope Wirkung (Erregbarkeit des Herzens) (FLEISCHMANN & HESCHELER, 2019).

Für die Herzfrequenz ist vor allen Dingen die chronotrope Wirkung relevant, welche über die spontane diastolische Depolarisation gesteuert wird (FLEISCHMANN & HESCHELER, 2019). Als positiv chronotrope Wirkung wird eine Frequenzerhöhung durch Sympathikusaktivierung bezeichnet, in welcher die diastolische Depolarisation steiler verläuft und somit das Aktionspotential früher ausgelöst wird (FLEISCHMANN & HESCHELER, 2019). Im Gegensatz dazu steht die negativ chronotrope Wirkung (FLEISCHMANN & HESCHELER, 2019). Diese findet durch eine Parasympathikusaktivierung statt, die das Membranpotenzial hyperpolarisieren und somit die diastolische Depolarisation flacher verlaufen lässt (FLEISCHMANN & HESCHELER, 2019).

Im Hinblick auf das Schwein gibt HEINRITZI (2006b) die Herzfrequenz eines Mastschweins mit 80-100 (± 20 %) Schlägen pro Minute an. Die Herzfrequenz eines Saugferkels ist mit 120-200 (± 20 %) Schlägen pro Minute somit doppelt so hoch wie die eines adulten Schweines

(HEINRITZI, 2006b). Die höhere Herzfrequenz lässt sich durch das geringere Schlagvolumen bei einem neonatalen Herz erklären (WALSER, 2009). Das Herz ist noch wenig belastungsfähig, da weniger kontraktiles Gewebe ausgebildet ist als beim adulten Tier (verringerte Inotropie) (RANKIN, 2002; WALSER, 2009). Als einzige Möglichkeit verbleibt dem Neugeborenen so nur die Steigerung des Herz-Zeit-Volumens über eine Erhöhung der Herzfrequenz (positiv chronotrope Wirkung) (RANKIN, 2002).

4.3. Hämodynamische Parameter und Schmerz

Der sogenannte Schmerzreflex verursacht bei leichtem bis mittlerem Schmerz einen Blutdruck- sowie einen Herzfrequenzanstieg, welcher durch den somatosympathischen Reflex ausgelöst wird (NIJHAWAN & WARLTIER, 2000). Bei starkem Schmerz, wie beispielsweise durch ein Trauma oder viszerale Dehnung verursacht, kann es jedoch auch zu einer Aktivierung des Parasympathikus bzw. eine Deaktivierung des Sympathikus kommen (NIJHAWAN & WARLTIER, 2000; KLABUNDE, 2005). Dies kann zu einem Blutdruck- bzw. einem Herzfrequenzabfall führen (NIJHAWAN & WARLTIER, 2000; KLABUNDE, 2005). BOVA et al. (2015) erachten einen Anstieg von Blutdruck oder Herzfrequenz ab 20 % von der Baseline in Yucatan-Minipigs als ausreichenden Grenzwert, um einen Reiz als so schmerzhaft zu identifizieren, dass eine Reaktion mit einem notfallmäßigen Schmerzbehandlungsprotokoll (rescue analgesic protocol) nötig ist.

HAGA et al. (2001) zeigen anhand von zehn Schweinen mit einem Gewicht von 19 bis 29 kg, dass der mittlere arterielle Blutdruck der sensitivste Parameter ist, um bei Isofluran-anästhesierten Schweinen Schmerz zu quantifizieren. HAGA und DOLVIK (2005) weisen ebenfalls nach, dass die MAP-Messung bei Pferden unter Isofluran-Narkose sensibler bei der Bestimmung nozizeptiver Reize ist als die Messung der Herzfrequenz. HAGA und RANHEIM (2005) evaluieren die intratestikuläre und intrafuniculare Injektionstechnik von Lidocain zur Lokalanästhesie in der Ferkelkastration mittels invasiver Blutdruckmessung und Herzfrequenz neben dem EEG. Dabei stellen sie eine signifikante Verbesserung aller Parameter der Gruppen unter Lokalanästhesie zu der Positivkontrolle mit

Kastration ohne Betäubung fest (HAGA & RANHEIM, 2005). WHITE et al. (1995) untersuchen an 1 bis 24 Tage alten Ferkeln, ob die Kastration unter Lokalanästhesie mit Lidocain stressarm für das Ferkel abläuft. Dazu nutzen sie neben Atemfrequenzbestimmung und Vokalisation die Herzfrequenzbestimmung und nicht-invasive Blutdruckmessung und überprüfen gleichzeitig, ob diese Parameter sich dafür eignen, Stress während der Kastration anzuzeigen (WHITE et al., 1995). Als Vergleich dienen betäubungslos kastrierte Tiere (WHITE et al., 1995). Hierbei zeigen Ferkel ohne Lokalanästhesie eine signifikant erhöhte Herzfrequenz sowie erhöhte Frequenzen an Schreien mit höchster Energie (WHITE et al., 1995). Die nicht-invasive Blutdruckmessung mit einer aufblasbaren Manschette liefert hingegen keine verwertbaren Ergebnisse (WHITE et al., 1995). HUG et al. (2018) versuchen unter Isofluran-Narkose neben der Atemfrequenz und end-tidaler CO₂-Konzentration mittels der Herzfrequenz und oszillatorisch gemessenem MAP Unterschiede während der Saugferkelkastration zu finden. Sie vergleichen zwei Gruppen, welche eine parenterale Butorphanol- oder Meloxicam-Injektion oder eine intratestikuläre Lidocain-Injektion erhalten hatten (HUG et al., 2018). Keiner der gemessenen Parameter erbringt jedoch signifikante Unterschiede im Vergleich zur Positivkontrolle ohne Analgesie (HUG et al., 2018). HANCOCK et al. (2018) prüfen, ob sich eine Injektionsnarkose aus Alfaxalon und Lidocain in verschiedenen Dosierungen intratestikulär verabreicht für die Saugferkelkastration eignet. Sie bestimmen als physiologische Parameter neben Sauerstoffsättigung, Atemfrequenz, rektaler Temperaturmessung und endtidaler CO₂-Konzentration die Herzfrequenz durch Pulsoxymetrie und Auskultation sowie Blutdruck durch oszillatorische Messung (HANCOCK et al., 2018). Zwischen den Gruppen werden keine statistisch signifikanten Unterschiede gemessen, außer einem kontinuierlichen Anstieg der Herzfrequenz in allen Gruppen und einem Anstieg der Atemfrequenz in Gruppen mit niedrigerer Dosierung (HANCOCK et al., 2018).

5. Schmerz und Katecholamine

5.1. Stressregulation, Katecholaminfreisetzung

Der Überbegriff „Katecholamine“ bezeichnet drei Hormone, welche für die Regulation von „Fight or Flight“-Mechanismen, wie beispielsweise Angst, Stress oder Schmerz, zuständig sind: Adrenalin (A) und dessen Vorstufe Dopamin und Noradrenalin (NA) (SILBERNAGL & DESPOPOULOS, 2012a; BORGES et al., 2018).

Sie haben ihren Ursprung in der Aminosäure L-Tyrosin, wobei diese in bestimmten Neuronen enzymatisch zu L-Dopa umgewandelt wird (SILBERNAGL & DESPOPOULOS, 2012a). Aus L-Dopa entsteht durch das Enzym Aromatische-L-Aminosäure-Decarboxylase der Transmitter Dopamin, der bei Anwesenheit des zweiten Enzyms Dopamin- β -Hydroxylase im Neuron zu NA umgewandelt wird (SILBERNAGL & DESPOPOULOS, 2012a). Im Nebennierenmark (NNM) und anderen adrenergen Neuronen der Medulla oblongata wird ein Großteil von NA über das Enzym Phenylethanolamin-N-Methyltransferase schließlich zu A umgewandelt (DEUTZMANN, 2012; SILBERNAGL & DESPOPOULOS, 2012a). Ausgelöst wird diese Umwandlung im NNM von sympathischen Reizen und Kortisol aus der Nebennierenrinde (DEUTZMANN, 2012). Zusammen werden A und NA dann mit ATP als Co-Transmitter in chromaffinen Sekretgranula gespeichert (DEUTZMANN, 2012). Bei sympathischer Erregung kommt es über die Ausschüttung von Acetylcholin, der Erregung nikotinischer Rezeptoren und der daraus resultierenden Depolarisation der Plasmamembran der chromaffinen Zellen des NNM zu einem Ca^{2+} -Einstrom in die Zellen (DEUTZMANN, 2012). Die Vorgänge resultieren in der Exozytose von A und NA in einem Verhältnis von 4:1 (DEUTZMANN, 2012). Im Blutplasma der peripheren Blutbahn ist das Verhältnis von A:NA jedoch umgekehrt mit 1:5 (DEUTZMANN, 2012). Dies lässt sich darauf zurückführen, dass NA auch von den oben bereits erwähnten noradrenergen postganglionären sympathischen Nervenenden ins Blut abgegeben wird, ein sog. Spillover (DEUTZMANN, 2012; RETTIG, 2019).

Die Freisetzung erfolgt schnell, da die bereits fertig synthetisierten Hormone in den Zellen gespeichert sind und bei Bedarf direkt durch Exozytose bereitgestellt werden können (DEUTZMANN, 2012). Die Halbwertszeit der beiden Hormone ist mit 20 Sekunden bis 10 Minuten kurz (MÖSTL, 2010). Als Möglichkeiten der Inaktivierung beschreibt MÖSTL (2010) die Aufnahme in die sympathischen Nerven, die Aufnahme in die chromaffinen Zellen des NNM, die enzymatische Inaktivierung durch die Enzyme Catecholamin-O-Methyltransferase (COMT) und Monoaminoxidase (MAO) oder den Abbau, z.B. zu Vanillinmandelsäure.

5.2. Katecholamine als Schmerzparameter beim Schwein

In vielen Studien wurden bereits Adrenalin und Noradrenalin als Stress- bzw. Schmerzparameter im Blutplasma untersucht (VORWALLNER, 2003; SCHULZ, 2007; MÜHLBAUER, 2009; ZIMMERMANN, 2010; RAUH et al., 2019). Zu beachten gilt es hierbei vor allen Dingen, dass die Halbwertszeit der Katecholamine sehr kurz ist und somit der Zeitpunkt der Bestimmung sorgfältig gewählt werden sollte (STROBEL, 2002; OTTEN et al., 2004; MÖSTL, 2010).

VORWALLNER (2003) beispielsweise evaluiert die Belastung, welcher Saugferkel bei der betäubungslosen Kastration ausgesetzt sind, anhand von Katecholaminkonzentrationen und stellt eine signifikante Erhöhung um das Zwei- bis Zehnfache zu den gemessenen Werten vor der Kastration fest. Nach 5 bzw. 10 Minuten sinken die Konzentrationen wieder auf den Ausgangswert ab (VORWALLNER, 2003). SCHULZ (2007) untersucht unter anderem anhand gemessener Katecholaminkonzentrationen, ob eine Inhalationsnarkose mit Isofluran als adäquate Alternative zur betäubungslosen Kastration angesehen werden kann. Es kann gezeigt werden, dass sowohl Fixation als auch Kastration unter Isofluran-Narkose eine wesentlich verringerte Ausschüttung an Katecholaminen hervorrufen (SCHULZ, 2007). MÜHLBAUER (2009) zeigt anhand eines erheblichen Anstiegs von Adrenalin und Noradrenalin sowohl bei Fixation als auch bei Kastration unter CO₂-Narkose, dass diese Form der Narkose keine rechtskonforme Alternative zur betäubungslosen Kastration darstellt. Auch ZIMMERMANN (2010) findet anhand erhöhter Katecholaminkonzentrationen heraus, dass die CO₂-Narkose eine stressbedingte

Mehrbelastung für das Ferkel darstellt und somit nicht für diese Indikation empfohlen werden kann. RAUH et al. (2019) zeigen in einer Untersuchung zur Lokalanästhesie in der Ferkelkastration anhand von Lidocain und Procain, dass ein signifikanter Anstieg von Adrenalin und Noradrenalin im Blutplasma in allen Gruppen gleichermaßen direkt im Anschluss an die Kastration vorhanden ist, wobei die Adrenalin- und Noradrenalin-Konzentrationen bei Procain 2 % und die Adrenalin-Konzentration bei der betäubungslosen Kastration noch höher ausfällt. Fünf Minuten nach Kastration fallen beide Parameter stark ab (RAUH et al., 2019).

6. Schmerz und Kortisol

6.1. Stressregulation, Kortisolfreisetzung

Kortisol ist der wichtigste Vertreter der Glukokortikoide, welche als Stresshormone in Belastungssituationen des Körpers durch Bereitstellung von Energiereserven fungieren (RITTER, 2019). Sie werden in der Nebennierenrinde gebildet (RITTER, 2019). Die Freisetzung von Kortisol findet seinen Ursprung in der Hypothalamus-Hypophysen-Achse (RITTER, 2019). Im Hypothalamus wird das Corticotropin-Releasing-Hormon (CRH) sezerniert, welches wiederum die Freisetzung von Adrenocorticotropem Hormon (ACTH) stimuliert (HUBER, 2015; RITTER, 2019). Letzteres wird in den kortikotropen Proopiomelanokortin (POMC)-Zellen bzw. den basophilen Zellen des Hypophysenvorderlappens gebildet (ECKERT et al., 2002; RITTER, 2019). CRH unterliegt einer pulsatilen Ausschüttung (4-mal täglich) mit circadianer Rhythmik (RITTER, 2019). Den Höhepunkt (Peak) erreicht es morgens (RITTER, 2019). Dieser Rhythmus steuert mittels der ACTH-Ausschüttung auch die Kortisol-Ausschüttung aus der Nebennierenrinde, für die ACTH verantwortlich ist (HUBER, 2015; RITTER, 2019). Die Freisetzung von CRH wird jedoch auch über andere Faktoren beeinflusst, welche durch physischen oder psychischen Stress zusätzliche Energiereserven fordern, z.B. Angst, Schmerz oder ein Schockgeschehen (RITTER, 2019). Kortisol wird durch Glucuronidierung inaktiviert und mit dem Urin ausgeschieden (RITTER, 2019).

6.2. Kortisol als Schmerzparameter beim Schwein

Mögliche Wege, die Kortisolkonzentration im Schwein bei akutem Stress zu bestimmen, liegen in der Analyse von Blutserum (ZÖLS, 2006; GOTTARDO et al., 2016; HOFMANN et al., 2019), Blutplasma (KLUIVERS-POODT et al., 2012; SUTHERLAND et al., 2012; MARŠÁLEK et al., 2015; BONASTRE et al., 2016), und dem Speichel (RUIS et al., 1997; DE JONG et al., 2000). Die Kortisolausschüttung unterliegt einer circadianen Rhythmik (RITTER, 2019). Diese entwickelt sich jedoch erst mit zunehmendem Alter, wie verschiedene Studien belegen (EVANS et al., 1988; GALLAGHER, 2002; SKARLANDTOVÁ et al., 2011). So können GALLAGHER et al. (2002) eine circadiane Rhythmik im Speichelkortisol bereits ab einem Alter von 6 Tagen bei weiblichen Ferkeln nachweisen. Männliche Ferkel hingegen entwickeln eine von der Tageszeit abhängige Speichelkonzentration erst ab einem Alter von 10 Tagen (GALLAGHER et al., 2002). EVANS et al. (1988) zeigen dagegen an weiblichen Läufern, dass im Alter von 4 Wochen noch keine circadianen Schwankungen im Blutbild zu sehen sind. Der vollständig entwickelte Rhythmus kann erst beginnend ab der 20. Woche und vollständig ab der 28. Woche nachgewiesen werden (EVANS et al., 1988). Auch SKARLANDTOVÁ et al. (2011) bestimmen die Plasma-Kortisolkonzentration morgens und nachmittags und stellen keinen Unterschied in den verwendeten 12 Wochen alten Sauen fest. HILLMANN et al. (2008) zeigen anhand von Kortisol-Speichelproben, dass die circadiane Rhythmik sich nicht nur anhand des zunehmenden Alters, sondern auch anhand der zunehmenden Gewichte von Mastschweinen entwickelt.

Hinsichtlich des optimalen Zeitpunkts zur Bestimmung der Serum-Kortisolkonzentration nach der Kastration am wachen Tier zeigt sich in der Literatur eine klare Tendenz zur Bestimmung innerhalb von 30 bis 60 Minuten nach dem initialen Schmerzreiz (ZÖLS, 2006; SCHIELE, 2010; HOFMANN et al., 2019). ZÖLS (2006) zeigt einen Peak der Kortisolkonzentration im Serum 1 Stunde nach der Kastration von männlichen Saugferkeln, welcher nach 4 Stunden bereits stark nachgelassen und nach 28 Stunden wieder den Ausgangswert erreicht hatte. Auch in der Dissertation von SCHIELE (2010) kann ein Peak im Serum nach $\frac{1}{2}$ und 1

Stunde gemessen werden, der nach 4 Stunden stark abfällt und sich nach 24 Stunden wieder auf Basalniveau befand. HOFMANN et al. (2019) zeigen einen starken Anstieg des Serumkortisols nach Kastration, der nach seinem Peak bei 30 bis 60 Minuten (je nach Versuchsgruppe) wieder stetig abfällt und nach 240 Minuten post castrationem teilweise sogar unter Basalniveau liegt.

7. Schmerz und Chromogranin A

7.1. Stressregulation, Chromogranin A-Freisetzung

Chromogranin A (CgA) ist, zusammen mit den Katecholaminen, ein aus den chromaffinen Zellen des NNM sezerniertes, saures Protein (BANKS & HELLE, 1965; BLASCHKO et al., 1967; SMITH & WINKLER, 1967). Zusätzlich kann es in sekretorischen Granula in Neuronen und in exokrinen Zellen gefunden werden (FELDMAN & EIDEN, 2003). Es ist Teil der Chromogranin-Familie, welche aus den Chromograninen A, B und C sowie den Secretograninen III/1B1075, IV/HISL-19, V und VI besteht (FELDMAN & EIDEN, 2003; LOUTHAN, 2011).

LOUTHAN (2011) beschreibt, dass CgA bei sympathoadrenaler Aktivierung mittels Exozytose zusammen mit den Katecholaminen an das NNM und an sympathische Nervenendigungen abgegeben wird. Ab diesem Zeitpunkt zeigt es eine Korrelation mit den jeweiligen Konzentrationen von Adrenalin hauptsächlich nach NNM-Stimulation und mit Noradrenalin dementsprechend nach sympathischer Stimulation (LOUTHAN, 2011).

7.2. Chromogranin A als Schmerzparameter

Chromogranin A (CgA) eignet sich ebenfalls als biochemischer Stressparameter, da es zusammen mit Katecholaminen zusammen aus dem NNM sezerniert wird (BLASCHKO et al., 1967; ESCRIBANO et al., 2015). Die Bestimmung erfolgt aus dem Speichel oder dem Blutplasma (KANNO et al., 1988; AKIYOSHI et al., 2005; NINOMIYA & SATO, 2011; ESCRIBANO et al., 2013; ESCRIBANO et al., 2014; HOFMANN et al., 2019). Neben dem Menschen, bei welchem der Peak nach einem Stressstimulus bei 90-120 Minuten berichtet wird, wurde bereits in verschiedenen anderen Spezies CgA als Stressparameter evaluiert

(TAKIYYUDDIN et al., 1990). So zeigen KANNO et al. (1998) nach Parasympathicus-Stimulation einer Ratte, dass ein Anstieg sowohl im Plasma als auch im Speichel verzeichnet werden kann. Dass auch bei Rindern ein erhöhter CgA-Spiegel nach einem sozialen Stressstimulus auftritt, dokumentieren NINOMIYA und SATO (2011). AKIYOSHI et al. (2005) untersuchen die Stressabhängigkeit von CgA in Plasma und Speichel beim Hund. ESCRIBANO et al. (2013) können anhand von Stressstimuli bei Mastschweinen zeigen, dass ein signifikanter Anstieg von CgA im Speichel nach 15 Minuten vorhanden ist. In einer weiteren Studie zeigen ESCRIBANO et al. (2014), dass CgA keine circadiane Rhythmik, wie beispielsweise Kortisol, aufweist, welches einen Vorteil für den erforschten Parameter darstellt. Allerdings kann ein Unterschied zwischen niedrigeren Werten im Frühjahr und erhöhten Werten im Herbst gemessen werden (ESCRIBANO et al., 2014). HOFMANN et al. (2019) finden anhand der Evaluierung von CgA in Verbindung mit Kortisol, dass die Lokalanästhesie mit Procain 2 % inguinal und scrotal, Lidocain 1 % intratestikulär und Lidocain 5 % inguinal und scrotal keine vollständige Schmerzausschaltung bietet.

8. Schmerz und Abwehrbewegungen: Scoring-Möglichkeiten in der Ferkelkastration

Auf das Setzen von nozizeptiven Reizen kann neben hämodynamischen und humoralen Antworten auch eine Abwehrreaktion erfolgen (STEIGMANN, 2013; HUG et al., 2018). Diese kann im Rahmen der Schmerzevaluation auf Basis eines Bewertungsschemas (Scores) zu Evaluierung verschiedener anästhesie-Typen in der Saugferkel-Kastration erfasst werden (LEIDIG et al., 2009; STEIGMANN, 2013; BERCHTOLD, 2015; HUG et al., 2018).

STEIGMANN (2013) wendet einen Bewegungscore zur Beurteilung der Wirksamkeit der Isofluran-Narkose in Kombination mit dem Schmerzmittel Flunixin-Meglumin bei der Ferkelkastration an, indem sie sowohl die Hautschnitte und die Absetzung der Hoden getrennt bewertet: jeweils 0-3 Punkte, wobei 0 = keine Reaktion, 1 = leichte und vereinzelte Reaktionen, 2 = mäßig starke und häufige und 3 = heftige und ständige Reaktionen

bedeuten. LEIDIG et al. (2009) evaluieren die Wirksamkeit der Lokalanästhesie mit Procain 2 % und wenden dazu am wachen Ferkel einen Abwehrscore abhängig von Dauer (0 = keine Bewegung, 1 = eine Bewegung, 2 = wiederholte Bewegungen, 3 = andauernde Bewegungen) und Intensität (0 = keine Bewegung, 1 = ein Bein, 2 = mehr als eine Gliedmaße, 3 = Beteiligung der Wirbelsäule, 4 = wie 3, aber höhere Intensität) an. Den höchsten Summenscore erreichen Ferkel aus der Kastrationsgruppe ohne Lokalanästhesie (LEIDIG et al., 2009). BERCHTOLD (2015) beurteilt die Qualität einer intramuskulären Injektionsarkose aus verschiedenen Dosierungen und Kombinationen mit Azaperon, Ketamin, Romifidin und Butorphanol unter anderem anhand eines Summenscores, welcher die Anzahl der Bewegungen in Verbindung mit der Intensität der Bewegung auf einer Skala von 1 bis 3 bzw. 4 kombiniert. HUG et al. (2018) adaptieren den Score von BERCHTOLD (2015) für ihre Studie zur Evaluierung von Butorphanol, Meloxicam alleine oder in Kombination mit unterschiedlichen Dosierungen von Lidocain unter Isoflurananästhesie bei der Ferkelkastration (Tabelle 2). Hierbei zeigen mehr Ferkel in der Meloxicam-Gruppe (11 von 17 Tiere) Abwehrbewegungen als in der Kombination von Meloxicam mit Lidocain 4 % (3 von 18 Tiere) bzw. 8 % (3 von 17 Tiere), wobei der Summenscore nur von Meloxicam und Meloxicam/Lidocain 4 % einen signifikanten Unterschied zeigt (HUG et al., 2018).

Tabelle 2: Scoring Schema, um die Narkosetiefe bei allen Schritten der Kastration zu beurteilen [modifiziert nach BERCHTOLD (2015) und HUG et al. (2018)].

Score	Anzahl der Bewegungen	Intensität der Bewegungen
0	Keine Bewegung	Keine Bewegung
1	Eine Bewegung, Zuckung	Bewegung einer Gliedmaße, Bewegung des Kopfes
2	Wiederholte Bewegung, > 2 Zuckungen	Bewegung von mehr als einer Gliedmaße, kontinuierliche Bewegung des Kopfes
3	Kontinuierliche Bewegungen	Wie 2, inkl. Wirbelsäule
4	-	Wie 3, aber stärkere Reaktion

III. ERWEITERTER MATERIAL- UND METHODENTEIL

1. Zielsetzung des Versuchsvorhabens

Ziel der vorliegenden Studie war es, unter leichter Isofluran-Narkose zu untersuchen, wie sich die Lokalanästhetika Procain 4 %, Lidocain 2 %, Bupivacain 0,5 % und Mepivacain 20 mg/ml nach kombinierter intratestikulärer und subskrotaler Applikation auf die Nozizeption bei der chirurgischen Saugferkelkastration auswirken. Die Evaluierung der Nozizeption erfolgte dabei durch die Bestimmung der Abweichung der hämodynamischen Parameter MAP, SAP und DAP und der Herzfrequenz von einer vor dem Schmerzreiz aufgezeichneten, einminütigen Baselinephase. Außerdem wurden zum Zeitpunkt der Injektion, Hautschnitt und Samenstrangdurchtrennung Abwehrbewegungen bestimmt und anschließend Blutproben zur Analyse von Veränderungen der Katecholamin-, Kortisol- und Chromogranin A-Werte zu einem zuvor bestimmten Baselinewert gemessen.

Die vorliegende Studie ist der erste Teil eines Verbundprojekts zur Evaluierung der Lokalanästhesie als Alternative für die betäubungslose Saugferkelkastration, welches durch das Bundesministerium für Ernährung und Landwirtschaft und der Bundesanstalt für Landwirtschaft und Ernährung in Auftrag gegeben wurde (Fkz.: 2817HS016, 2817HS013).

2. Genehmigung des Versuchsvorhabens

Die Studie wurde in Übereinstimmung mit der EU-Richtlinie 2010/63/EU und dem Deutschen Tierschutzgesetz (2018) durchgeführt. Das Versuchsvorhaben wurde durch die zuständige Behörde der Regierung von Oberbayern unter dem Aktenzeichen ROB-55.2-2532.Vet_02-19-11 im Juni 2019 genehmigt. Die praktische Durchführung der hier behandelten Versuche fand von Juni 2019 bis Februar 2020 statt.

3. Versuchsdurchführung

3.1. Versuchstiere und -gruppen

In den Versuch wurden 54 normalanatomische, männliche Ferkel über 1,4 kg (Mittelwert: 2,09 kg \pm 0,4 kg) mit einem Lebensalter zwischen 3 und 7 Tagen (Mittelwert: 5,3 \pm 1,1 Tage) in die Untersuchung eingeschlossen. Innerhalb der ersten 10 Lebensstunden wurde ein oraler Eisenbolus (1 ml pro Ferkel; URSOFERRAN® 150 mg/ml, Serumwerk Bernburg AG, Bernburg, Deutschland) verabreicht. Die Ferkel wurden anschließend mit einem wasserfesten, handelsüblichen Markierstift markiert sowie ab dem Tag ihrer Geburt bis zum Versuchstag täglich mehrfach auf ihren Gesundheitszustand überprüft und gewogen. In den Versuch wurden nur gesunde Ferkel miteinbezogen. Es erfolgte kein Kupieren der Schwänze oder Einziehen von Ohrmarken.

Am Versuchstag wurden die Tiere randomisiert 6 verschiedenen Versuchsgruppen zugeordnet, um eine möglichst hohe Verteilung der Gruppen pro Wurf zu erlangen. Die Versuchsgruppen teilten sich wie in Tabelle 3 gezeigt auf.

Tabelle 3: Übersicht über die Versuchsgruppen. Gezeigt wird die Tierzahl in den jeweiligen Gruppen, das angewendete Präparat sowie der enthaltene Wirkstoff, Injektionsvolumen und -ort, und ob die Tiere kastriert (+) oder nur fixiert wurden.

Gruppen	Handling (H)	Natriumchlorid (NaCl)	Procain (P)	Lidocain (L)	Bupivacain (B)	Mepivacain (M)
Tierzahl (n)	9	9	9	9	9	9
Präparat	-	Isotone Natriumchloridlösung 0,9 % Braun Injektionslösung, Melsungen AG, Melsungen, Deutschland	Procaine hydrochloride 4 % - VMD, V.M.D. sa, Arendonk, Belgien	Xylocitin® 2 % Mibe GmbH Arzneimittel Brehna, Deutschland	Bupivacain 0,5 % JENA-PHARM, Mibe GmbH Arzneimittel Brehna, Deutschland	Mepidor® 20 mg/ml Injektionslösung für Pferde, Richter Pharma AG, Wels, Österreich
Wirkstoff	-	NaCl 0,9 %	Procain 4 %	Lidocain 2 %	Bupivacain 0,5 %	Mepivacain 2 %
Injektion pro Seite	Fixation, Simulation Injektion	0,5 ml i.t. 0,5 ml s.c.	0,5 ml i.t. 0,5 ml s.c.	0,5 ml i.t. 0,5 ml s.c.	0,5 ml i.t. 0,5 ml s.c.	0,5 ml i.t. 0,5 ml s.c.
Kastration	Fixation, Simulation Kastration	+	+	+	+	+

3.2. Versuchsablauf

3.2.1. Vorbereitung

Vor Versuchsbeginn erfolgte die Vorbereitung aller Geräte, welche für die digitale Erfassung des Blutdrucks, der Herzfrequenz und der Temperatur (PLUGSYS Module, Heart Rate Module HRM, Thermocouple Amplifier Module TCAM, Hugo Sachs Elektronik–Harvard Apparatus GmbH, March-Hugstetten, Germany) erforderlich waren. Die Platzierung des Transducers für die Blutdruckmessung erfolgte auf Herzhöhe des Ferkels.

Allen Tieren wurde 30 Minuten vor Versuchsbeginn eine lokal-anästhetische Creme (Emla®, AstraZenecea GmbH, Wedel, Deutschland) ventral auf Höhe der A. carotis communis bzw. der V. jugularis externa topisch auf den Hals aufgetragen.

Zu Beginn wurde die Narkose bei allen Ferkeln mit 5 % Isofluran (Isofluran Baxter vet., Baxter Deutschland GmbH, Unterschleißheim, Deutschland) und einem Sauerstoff-Flow von 3 l/min bis zur vollständigen Relaxation eingeleitet. Es erfolgte die Applikation von Augensalbe (Bepanthen Augen- und Nasensalbe, Bayer Vital GmbH, Leverkusen, Deutschland) in beide Augen. Watte wurde in beide Ohren platziert, um mögliche akustische Reize zu unterdrücken. Zudem wurde ein Pulsoxymeter (2500A VET, Nonin Medical Inc., Plymouth, MN, USA) zur kontinuierlichen metrischen Erfassung der Herzfrequenz und Sauerstoffsättigung an der Schwanzbasis angebracht. Anschließend erfolgte im Rahmen einer Parallelstudie die subkutane Steckung von fünf EEG-Elektroden (Nadelelektroden, 27G) unter die Kopfhaut. Das Ferkel wurde auf Wärmehandschuhen in Rückenlage positioniert und das Messprogramm (HAEMODYN, Hugo Sachs Elektronik–Harvard Apparatus GmbH, March-Hugstetten, Deutschland) gestartet. Die Messwerte des arteriellen Blutdrucks, der Herzfrequenz und der Temperatur wurden alle vier Sekunden elektronisch erfasst.

Als Vorbereitung für die Präparation der Halsgefäße für die Gefäßschleusen wurde 0,3 ml Lidocain (Lidocaine 2 %, bela-pharm Arzneimittelfabrik, Vechta, Deutschland) auf der linken Halsseite auf Höhe der A. carotis communis bzw. der V. jugularis externa im zuvor eingecremten Bereich subkutan injiziert. Im Anschluss erfolgte die Positionierung der EKG-Klebelektroden auf den zuvor rasierten und entfetteten Hautstellen (Abbildung 6).

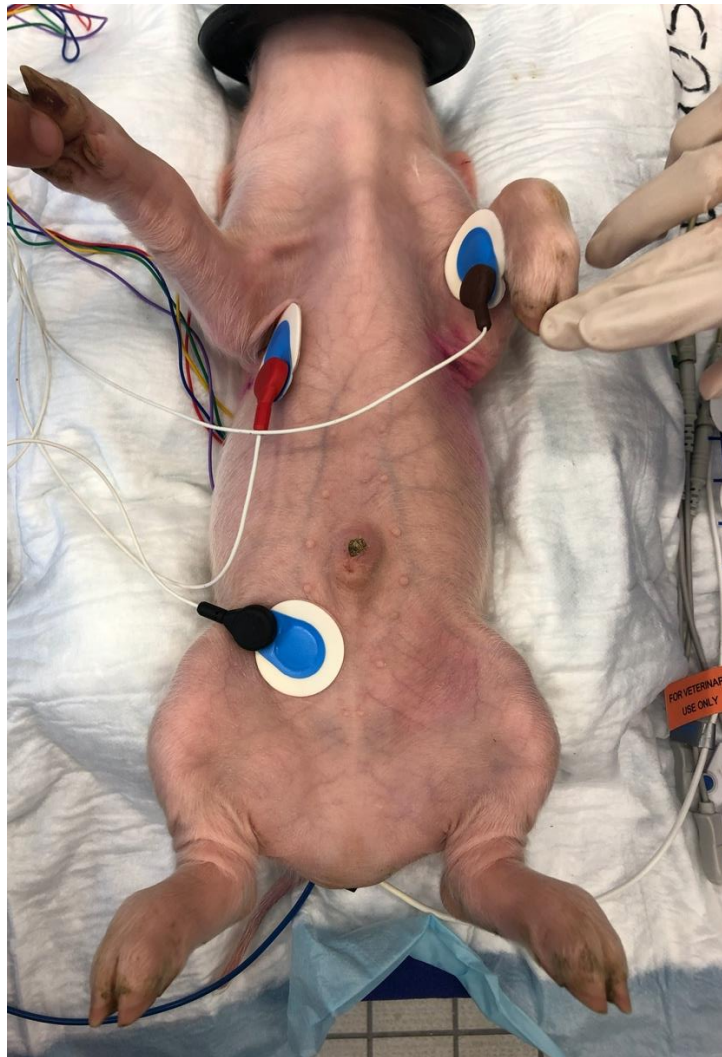


Abbildung 6: Positionierung der EKG-Klebelektroden auf der zuvor rasierten und entfetteten Haut. Rot = rechte Brustwand, braun = linke Vorderextremität, schwarz = rechter kaudaler Quadrant des Abdomens.

3.2.2. Präparation der Halsgefäße

Die Präparation der Gefäße A. carotis communis und V. jugularis externa erfolgte nach einem ca. 3 cm langen Hautschnitt in der zuvor lokal betäubten Hautregion. Beide Gefäße wurden im Rahmen der modifizierten Seldinger Technik mit Fäden doppelt angeschlungen, kranial abgebunden sowie kaudal mit einer 21G-Kanüle punktiert. Über die Punktionskanüle wurde ein Führungsdraht in das Gefäß vorgeschoben, die Kanüle entfernt und über den Draht jeweils eine Gefäßschleuse (3F, Balt extrusion, Montmorency, Frankreich) in das Gefäß eingebracht und mit Fäden fixiert. Im Anschluss wurde ein Mikro-Tip-Katheter (SPR-407 Mikro-Tip®, Millar, Inc., Houston, TX, USA) bei 39°C (Richtwert für Körpertemperatur des

Ferkels) im Wasserbad knapp unter der Wasseroberfläche kalibriert. Die Positionierung des Katheters über die Schleuse in der A. carotis communis erfolgte so, dass die Blutdruckkurve optimal in der verwendeten Software ausgelesen werden konnte (Abbildung 7).

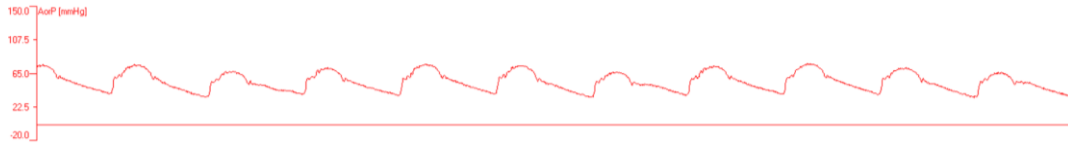


Abbildung 7: Blutdruckkurve nach optimaler Platzierung des Tip-Katheters in der A. carotis communis. Der höchste Punkt der Kurven entspricht dem systolischen arteriellen Blutdruck (SAP), der tiefste Punkt der Kurven dem diastolischen arteriellen Blutdruck (DAP).

3.2.3. Blutprobenentnahmen

Nach einer Stabilisierungsphase von 5 Minuten für die zu messenden Parameter wurden die Blutproben zur Bestimmung der Baseline der Katecholamine, Kortisol und Chromogranin A entnommen. Des Weiteren erfolgten Blutentnahmen zur Bestimmung der Katecholamine jeweils eine Minute nach Injektion und Durchtrennung des Samenstrangs und Blutentnahmen zur Bestimmung von Kortisol und Chromogranin A 20 und 40 Minuten nach Kastration.

3.2.4. Einstellen der Narkosetiefe

In der Zeit von Einleitung der Narkose bis Ende der Präparation wurde die Isoflurankonzentration mit dem Ziel reduziert, das Narkosestadium III.1 nach Guedel (Hypnosestadium) zu erreichen. In Anlehnung an SATAS et al. (1996) wurde die angestrebte Narkosetiefe durch einen Zwischenzehenreflex (ZZR1) der Hintergliedmaße überprüft. Dieser wurde immer durch die gleichen zwei Personen mithilfe der gleichen chirurgischen Klemme ausgeführt, welche an die Haut im Zwischenzehenspalt angesetzt und bis Einrasten der maximal ersten Zacke für maximal 5 Sekunden geschlossen wurde. Eine definierte einmalige Reaktion der überprüften Gliedmaße auf den ZZR1 zeigte die richtige Narkosetiefe an. Hier wurde nach einer Wartezeit von 3 Minuten zur Normalisierung der Messparameter der Versuchsaufbau fortgesetzt. Wurde eine überschießende Reaktion beobachtet, wurde die Isoflurankonzentration nach

Protokoll um 0,2 % erhöht und nach 3 Minuten mit dem Versuch gestartet. Wurde keine Reaktion beobachtet, wurde die Isoflurankonzentration um 0,2 % erniedrigt und nach 3 Minuten Wartezeit ein erneuter ZZR1 am anderen Hinterbein ausgeführt.

3.2.5. Injektion

15 Sekunden vor Injektion des LA, Hautschnitt und Durchtrennung des Samenstrangs wurden alle Tiere durch die gleiche Person in Rückenlage fixiert, wobei die Hüfte des Ferkels in den Handflächen des Fixierenden zu liegen kam und Hinterbeine und Hoden angehoben wurden. Die Lokalanästhesie (LA)-Versuchsgruppen sowie die NaCl-Kontrolle erhielten beidseits eine intratestikuläre Injektion mit 0,5 ml. Beim Zurückziehen der Kanüle wurde eine Falte des Skrotums aufgezogen und es wurden vor Herausziehen der Kanüle nochmals 0,5 ml als Depot subskrotal verabreicht. Die Injektion erfolgte mit einer Automatikspritze (HSW ECO-MATIC®, Henke-Sass Wolf GmbH, Tuttlingen, Deutschland) und einer Kanüle der Stärke 25G (0.5x16 mm, B. Braun TravaCare GmbH, Hallbergmoos, Deutschland).

Die P-Gruppe erhielt eine Injektion mit dem Präparat Procainhydrochlorid 4 % (procaine hydrochloride 4 % - VMD, V.M.D. sa, Arendonk, Belgien). Gruppe L wurde Lidocainhydrochlorid 2 % (Xylocitin® 2 %, Mibe GmbH Arzneimittel, Brehna, Deutschland) und Gruppe B Bupivacainhydrochlorid 0,5 % (Bupivacain 0,5 % JENAPHARM®, Mibe GmbH Arzneimittel, Brehna, Deutschland) appliziert. Gruppe M erhielt das LA Mepivacainhydrochlorid (Mepidor® 20 mg/ml Injektionslösung für Pferde, Richter Pharma AG, Wels, Österreich). Alle Lokalanästhetika wurden, nach einer vergleichenden Überprüfung der Beeinflussung der Messwerte in einem Vorversuch, ohne Sperrkörper, wie beispielsweise Adrenalin, verabreicht.

Der NaCl-Gruppe wurde als „Positivkontrolle“ Natriumchlorid 0,9 % (NaCl 0,9 % Ecoflac® plus, B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland) injiziert. Die „Negativkontrolle“ Gruppe H erhielt keine Injektion und wurde nur fixiert.

3.2.6. Kastration

20 Minuten nach Injektion der Versuchsgruppen bzw. Fixation der Gruppe H erfolgte die Kastration bzw. erneute Fixation der Gruppe H. Die Kastration, ausgeführt immer von den gleichen zwei Personen, verlief bei allen LA-Gruppen und der Gruppe NaCl gleich: Nach einer 15-sekündigen Fixation erfolgten zwei Längsschnitte von circa 2 cm in das Skrotum sowie die Vorverlagerung der Hoden durch leichten Druck außerhalb auf das Skrotum. Eine Warteperiode von 2 Minuten wurde zur Stabilisierung von Blutdruck und Herzfrequenz eingelegt, bevor das Absetzen der Hoden nacheinander mithilfe eines Emaskulators erfolgte.

3.2.7. Post castrationem (p.c.)

Im Anschluss an die Kastration wurde nach 4 Minuten ein erneuter Zwischenzehenreflex (ZZR2) durchgeführt, um zu evaluieren, ob das angestrebte Narkosestadium III.1 nach Guedel auch zum Zeitpunkt der Kastration bzw. zweiten Fixation bei Gruppe H richtig eingestellt war. 90 Minuten nach Kastration wurden die Ferkel in tiefer Narkose mit einer Überdosis Pentobarbital (Euthadorm 500 mg/ml Injektionslösung, CP Pharma, Burgdorf, Germany) intravenös euthanasiert und das Rückenmark zur quantitativen histologischen Bestimmung des Proteins FOS im Rahmen einer Parallelstudie entnommen.

4. Datenauswertung und Statistik

4.1. Datenauswertung

Die aufgezeichneten Daten aus der Software HAEMODYN wurden in eine Tabelle des Programms Microsoft Excel® (Version 16.43, Microsoft Corporation, Redmond, USA) exportiert. Anschließend wurde der Mittelwert von SAP und DAP vor den Messzeitpunkten (Events) Injektion, Hautschnitt, Samenstrangdurchtrennung und ZZR2 über eine Minute erhoben und somit eine Baseline generiert. Anschließend wurden zu den jeweiligen Events das Maximum und das Minimum der gemessenen Werte bestimmt und die größte Abweichung zur jeweiligen Baseline als Prozentwert berechnet. Die Prozentwerte der Einzeltiere wurden pro Gruppe (n = 9) als Mittelwert \pm Standardabweichung (SD) zusammengefasst und als Balkendiagramme dargestellt.

Um Verlaufsgraphen der Blutdruck- und Herzfrequenzwerte der Versuchsgruppen über die Zeit zu generieren, wurden die gemessenen Werte der einzelnen Ferkel im Abstand von fünf Minuten als Mittelwert über jeweils eine Minute bestimmt und als Abweichung von der Baseline als Prozentwert berechnet. Die Ergebnisse werden als Graphen der Mittelwerte \pm SD der Gruppen ($n = 9$) in Abschnitt V.2 präsentiert.

Die Reaktionen auf den ZZR2 4 Minuten p.c. sind unter Abschnitt V.3 als einfache Ja/Nein-Antwort basierend auf den Reaktionen pro Gruppe (x von maximal 9 Tieren) dargestellt. Der mittlere SAP, DAP und MAP der Einzeltiere wurde jeweils über eine Minute unmittelbar vor dem ersten Reiz (ZZR1) als Mittelwert berechnet, und anschließend als Mittelwert \pm SD über alle Tiere bestimmt.

4.2. Statistische Analysen

Die statistischen Analysen der SAP- und DAP-Werte wurden mit der Statistiksoftware R (Version 3.6.1, R Foundation for Statistical Computing, Wien, Österreich) berechnet. Die Abbildungen wurden mit der Statistiksoftware GraphPad Prism (Version 9.0.0 für Windows 64-bit, GraphPad Software, San Diego, California USA, www.graphpad.com) erstellt.

Die Werte wurden jeweils mittels Shapiro-Wilk-Test auf Normalverteilung überprüft. Mittels Levene's Test wurde die Homogenität der Varianzen überprüft. Bei normalverteilten Werten (SAP Injektion, DAP Injektion, DAP Hautschnitt) wurden Mittelwerte und Standardabweichungen (SD) bzw. bei nicht normalverteilten Daten (SAP Hautschnitt, SAP Samenstrangdurchtrennung, DAP Samenstrangdurchtrennung) Median und Quartile ermittelt. Danach wurden parametrische Daten aus unabhängigen Stichproben mit einfaktorierter Varianzanalyse (ANOVA-Test) ermittelt und mit einem Post-hoc-Mehrfachvergleich nach FDR-Korrektur auf Signifikanzen getestet. Für nicht normalverteilte Parameter wurde ein Kruskal-Wallis-Test gefolgt von einer Post-hoc-FDR-Korrektur durchgeführt.

Die Überprüfung einer potentiellen Abhängigkeit der Isoflurankonzentration von Alter und Gewicht sowie einer potentiellen Abhängigkeit des Gewichts vom Alter erfolgte mittels einer linearen Regressionsanalyse. Die Überprüfung auf statistische Signifikanz

zwischen den Reaktionen der Versuchsgruppen auf den ZZR2 wurde mittels dem Exakten Test nach Fisher durchgeführt.

Werte mit $p \leq 0,05$ wurden als statistisch signifikant betrachtet.

IV. PUBLIZIERTE STUDIENERGEBNISSE

Local anesthesia in piglets undergoing castration — A comparative study to investigate the analgesic effects of four local anesthetics on the basis of acute physiological responses and limb movements

Short title: Analgesic effects of local anesthesia in piglets undergoing castration

Anna M. Saller¹, Julia Werner¹, Judith Reiser¹, Steffanie Senf², Pauline Deffner², Nora Abendschön², Christine Weiß², Johannes Fischer¹, Andrea Schörwerth³, Regina Miller³, Yury Zablotski², Shana Bergmann³, Michael H. Erhard³, Mathias Ritzmann², Susanne Zöls², Christine Baumgartner^{1□*}

¹ Center of Preclinical Research, Technical University of Munich, Bavaria, Germany

² Clinic for Swine, Center for Clinical Veterinary Medicine, LMU Munich, Bavaria, Germany

³ Chair of Animal Welfare, Ethology, Animal Hygiene and Husbandry, LMU Munich, Bavaria, Germany

□ Current address: Center of Preclinical Research, Klinikum rechts der Isar der Technischen Universität München, Munich, Germany

* christine.baumgartner@tum.de

PLOS ONE 2020; 15(7): e0236742.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0236742>

Received: March 31, 2020 Accepted: July 13, 2020 Published: July 30, 2020

1. Abstract

Surgical castration of male piglets without analgesia is a painful procedure. This prospective, randomized and double-blinded study aimed to evaluate the analgesic effects of four different local anesthetics for piglet castration during the first week of life.

In total, 54 piglets aged 3 to 7 days were distributed into 6 treatment groups: handling (H); castration without pain relief (sodium chloride, NaCl); and castration with a local anesthetic: 4 % procaine (P), 2 % lidocaine (L), 0.5 % bupivacaine (B) or 20 mg/ml mepivacaine (M). By excluding stress and fear as disruptive factors via a minimum anesthesia model, all piglets received individual minimum alveolar concentration (MAC) isoflurane anesthesia. Twenty minutes before castration, all treatment groups except group H received one injection per testis. Then, 0.5 ml of a local anesthetic or NaCl was injected intratesticularly (i.t.), and 0.5 ml was administered subscrotally. Acute physiological responses to noxious stimuli at injection and castration were evaluated by measuring blood pressure (BP), heart rate (HR), cortisol, epinephrine, norepinephrine and chromogranin A (CgA); limb movements were quantified.

The results confirm that castration without analgesia is highly painful. Surgical castration without pain relief revealed significant changes in mean arterial blood pressure (MAP) and HR. Local anesthetic administration significantly reduced changes in BP and HR associated with castration. Piglets receiving a preoperative local anesthetic exhibited the fewest limb movements during castration, while the NaCl group exhibited the most. Injection itself was not associated with significant changes in MAP or HR. However, many piglets exhibited limb movements during injection, indicating that the injection itself causes nociceptive pain. No significant differences were found between groups regarding parameters of plasma cortisol, catecholamines and CgA. In conclusion, all four local anesthetics administered are highly effective at reducing signs of nociception during castration under light isoflurane anesthesia. However, injection of a local anesthetic seems to be painful.

2. Introduction

In the EU, more than 100 million male piglets are castrated every year to prevent the risk of boar taint in carcasses [1]. Until now in Germany, castration has traditionally been performed without anesthesia in the first week of life, although it has been scientifically shown that surgical castration is a painful procedure [2,3]. Therefore, according to the German Animal Welfare Act, surgical castration of male piglets less than seven days of age without anesthesia will be forbidden in 2021 [4]. Gonadotropin-releasing-hormone (GnRH)-vaccination, boar fattening and surgical castration under general anesthesia are discussed as alternatives to castration without anesthesia. German law also permits the application of local veterinary medicinal products that are able to eliminate pain [4]. However, scientific evidence for the efficacy of local anesthesia for pain relief during castration of piglets is still lacking. For this reason, the discussion about local anesthesia as a legal method in Germany has resurfaced.

As pain sensitivity can differ among different individuals, it is challenging to prove universal pain elimination as requested by German law.

According to the International Association for the Study of Pain (IASP) "pain" is defined as "an unpleasant sensory and emotional experience associated with actual or potential tissue damage, or described in terms of such damage" [5]. One component of the big picture "pain" is "nociception", defined as "the neural process of encoding noxious stimuli" whereby „consequences of encoding may be autonomic (e. g. elevated blood pressure) or behavioral (motor withdrawal reflex or more complex nocifensive behavior). The four steps for the development of feeling pain are transduction, transmission, modulation and perception. Nociception mainly refers to the first three components, only lacking the conscious awareness and emotional component, but including all vegetative, glycemic stress responses and motoric reflex responses, respectively".

In addition to behavioral responses and vocalizations, physiological parameters can be associated with pain [6]. Acute stress, including pain and emotions such as fear and anger, triggers a series of reactions in the

sympathetic nervous system [7]. Typical sympathetic reactions that can be measured in pigs are increased blood pressure (BP) and heart rate (HR) and the secretion of catecholamines (epinephrine and norepinephrine) [8,9], and mean arterial blood pressure (MAP) is one of the most sensitive nociceptive parameters in pigs [10]. Another indicator of sympathetic activity is chromogranin A, a neuroendocrine secretory protein that is released together with epinephrine and norepinephrine and is described as a stress marker in pigs [11,12]. Further, serum cortisol levels can be measured to determine castration-induced neuroendocrine stress reactions [13].

Local anesthetics induce anesthesia by blocking sodium channels in the peripheral nerves in the area in which they were administered. Through channel binding, sodium influx into neurons is inhibited, and no action potential is formed [14]. Current studies on castration under local anesthesia show conflicting results. In a study by Kluivers-Poodt et al. [15], piglets castrated after the administration of lidocaine produced a significantly lower increase in plasma cortisol levels than piglets castrated after the administration of meloxicam. Similar observations were made by Hansson et al. [16], who found that the lidocaine groups produced significantly decreased scores in vocalization and defensive movements. A further study in 2005 showed that electroencephalographic, MAP and pulse rate responses to castration without analgesia were larger than the responses to castration after lidocaine injection [8]. The use of subcutaneous and intratesticular procaine in combination with flunixin provided significantly improved pain relief on the basis of plasma cortisol and vocalization parameters [17]. In contrast, other studies measured no differences in cortisol levels [18,19] when comparing piglet castration after administration of lidocaine and castration without analgesia.

The aim of this study was to investigate whether local anesthesia is able to achieve the elimination of nociception during surgical castration. Four different local anesthetics were evaluated on the basis of nociception-related physiological parameters and limb movements. Differentiating pain from emotions such as fear or anger is challenging in a conscious piglet. For this reason, a minimal anesthesia model using low doses of isoflurane

was chosen. In this way, physiological reactions could be directly associated with nociception during castration.

3. Materials and methods

The study was performed in compliance with the EU Directive 2010/63/EU for animal experiments and the German Animal Welfare Act (2018). All procedures were approved by the Ethical Committee for Animal Experiments of the Government of Upper Bavaria, Munich, Germany (Reference Number ROB-55.2-2532.Vet_02-19-11).

Animals

Fifty-four hybrid German Landrace/German Large White x Pietrain male piglets aged 3 to 7 days (5.3 ± 1.1 days) with weights above 1.4 kg (mean: $2.09 \text{ kg} \pm 0.4 \text{ kg}$) were included in this study. Pregnant sows were transferred to the animal husbandry unit of the Clinic for Swine (Oberschleißheim, Bavaria, Germany) at least two weeks before farrowing. Sows and piglets were housed according to the German Order for the Keeping of Productive Animals and the EU Directive 2010/63/EU for animal experiments. No teeth clipping, ear tagging, or tail docking was applied to the piglets. An oral bolus of iron (1 ml per piglet; URSOFERRAN® 150 mg/ml, Serumwerk Bernburg AG, Bernburg, Germany) was given during the first ten hours of life. Piglets from 15 litters were randomly assigned to one of the six treatment groups ($n = 9$ per group).

Study design

This was a randomized and double-blinded experimental study.

Minimal anesthesia protocol

To measure nociception during injection and castration, a minimal anesthesia protocol was used to exclude disruptive factors such as fear and stress. The aim of the protocol was to keep the piglets in a hypnotic state with anesthesia (stage III plane I according to Guedel's classification). Each group was induced with a dose of 5 % isoflurane (Isoflurane Baxter vet., Baxter Deutschland GmbH, Unterschleißheim, Germany) in oxygen via a

facial mask. Piglets breathed spontaneously, and inspiratory and expiratory isoflurane was assessed (Vamos® plus, Dräger Medical Deutschland GmbH, Unterhaching, Germany).

Following the necessary measurement preparations, adequate anesthetic depth was tested via the toe pinch reflex method, and end-tidal isoflurane was maintained at 1.69 ± 0.3 % with a flow of 3 L minute^{-1} oxygen. The reflex was triggered by closing a surgical clamp to a maximum of the first lock and for a maximum of 5 seconds in the interdigital space of the hind claw. To standardize the pressure as much as possible, the same pair of clamps was used by the same two persons throughout the study. A single reaction to the toe pinch, in the form of a slight withdrawal of the hind limb, was evaluated as appropriate anesthetic depth. If no reaction occurred at all, the isoflurane concentration was reduced by 0.2 %, and after three minutes, another toe pinch was applied to the opposite hoof. Prolonged paddling and movement of the forelimbs, back or head were assessed as overshooting reactions, and isoflurane was increased by 0.2 %. Subsequent to adjustment of the depth of narcosis, injection started after a three-minute waiting period. In the case of piglets moving due to fixation for injection or castration, isoflurane was increased by 0.2 %, and two minutes passed before the intervention was started. Four minutes after castration, an additional toe pinch reflex was tested to verify the state of anesthesia. Anesthesia was maintained over 90 minutes to collect blood samples before the piglet was euthanized with an intravenous overdose of pentobarbital (Euthadorm 500 mg/ml Injektionslösung, CP Pharma, Burgdorf, Germany), and the spinal cord was removed for further study. An overview of the experimental setup is shown in Fig 1.

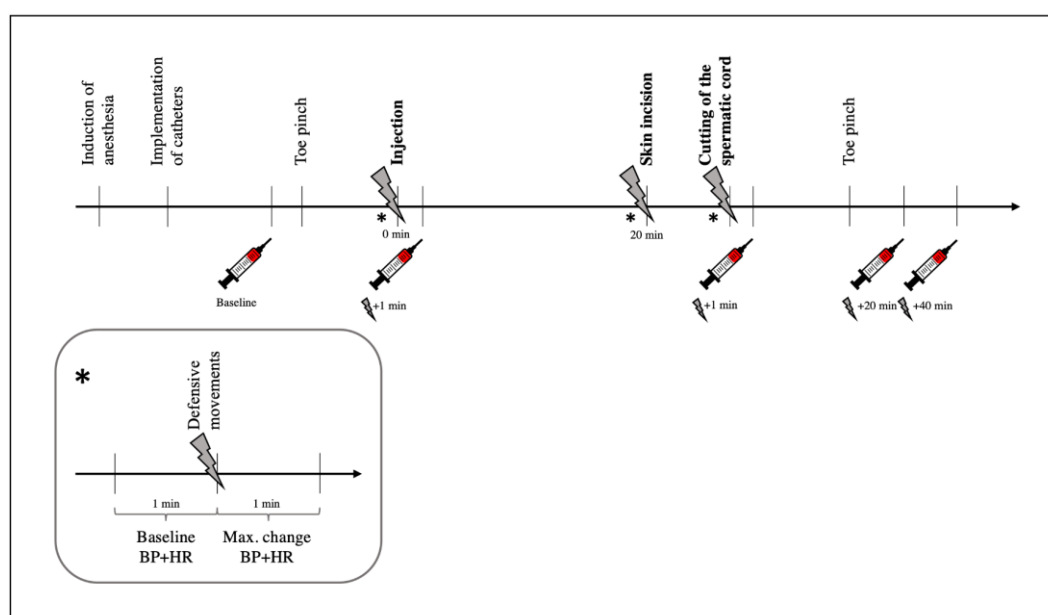




Figure 1. Overview of the Experimental Setup. The symbol  indicates the collection of blood samples. Baseline blood samples for all four blood parameters were taken 5 minutes after the implementation of the measurements. Blood samples for the analysis of epinephrine and norepinephrine were taken 1 minute after injection and 1 minute after the cutting of the spermatic cord. For cortisol and chromogranin A (CgA) measurements, blood samples were collected 20 and 40 minutes after the cutting of the spermatic cord. The symbol  indicates a tissue damage event (injection, skin incision or cutting of the spermatic cord). * shows a more detailed overview of the time points of the measurements of BP, HR and limb movements during an event.

Local anesthesia and castration

Animals were randomly assigned to the six treatment groups. The persons involved were double-blinded. All piglets, except the handling group (H), received a 0.5-ml intratesticular and 0.5-ml subscrotal injection 20 minutes prior to castration. Procaine has the longest onset time —20 minutes— of all tested local anesthetics; thus, this time was chosen to ensure comparability among all experimental groups. An automatic self-filling 1 ml syringe (HSW ECO-MATIC®, Henke-Sass, Wolf GmbH, Tuttlingen, Germany) with a 25G cannula (0.5x16 mm, B. Braun TravaCare GmbH, Hallbergmoos, Germany) was used for injection. The injections included procaine hydrochloride 4 % (P, procaine) (procaine hydrochloride 4 % - VMD, V.M.D. sa, Arendonk, Belgium), lidocaine hydrochloride 2 % (L, lidocaine) (Xylocitin® 2 %, Mibe GmbH Arzneimittel, Brehna, Germany), bupivacaine hydrochloride 0.5 % (B, bupivacaine) (Bupivacain

0.5 % JENAPHARM®, Mibe GmbH Arzneimittel, Brehna, Germany) and mepivacaine hydrochloride (M, mepivacaine) (Mepidor® 20 mg/ml solution for injection for horses, Richter Pharma AG, Wels, Austria). As a positive control, one group received injections with only sodium chloride 0.9 % before castration (NaCl, castration without pain relief). As a negative control, another group underwent simulated injection and castration (H, handling). Surgical castration (groups P, L, B, M, NaCl) was performed using two vertical scrotal incisions. To evaluate the noxious stimulus of skin incision and the noxious stimulus of cutting the spermatic cord separately, a period of 2 minutes for stabilization of hemodynamic parameters was provided before the spermatic cord of the right and left testicle were severed using an emasculator. Piglets in group H were only prepared for castration without the occurrence of any painful procedure. Isoflurane anesthesia and preparations and measurements (blood parameters, BP, HR, movements, etc.) were carried out as in the other experimental groups. The only difference in group H was that injection and castration were only simulated. More precisely, handling of the piglets was performed by one person for injection and castration. Instead of performing an injection, the testis was just fixed and gently touched with a needle cap. Castration was simulated by fixing the testis and gently touching it with the blunt back of the scalpel handle (castration).

Measurements

Implementation of physiologic measurements

In this study, it was assumed that all piglets experienced similar stress from the induction procedure and the establishment of the measurements. Twenty minutes before anesthetic induction, a local anesthetic cream (Emla®, AstraZeneca GmbH, Wedel, Germany) was applied to the piglet's ventral neck to numb the skin for the establishment of venous and arterial access. After anesthetic induction, piglets were placed in a supine position on the heated ground. Eye ointment (Bepanthen Augen- und Nasensalbe, Bayer Vital GmbH, Leverkusen, Germany) was administered, and cotton wool was placed in the external auditory canal to minimize physiological reactions to background noises. Oxygen saturation and HR were measured

via a pulse oximeter (2500A VET, Nonin Medical Inc., Plymouth, MN, USA) placed at the base of the piglet's tail. Body temperature was recorded with the help of a rectal temperature probe and remained constant by providing an additional heat supply. Respiratory frequency and end-tidal carbon dioxide were monitored by capnometry (Vamos[®]plus, Dräger Medical Deutschland GmbH, Unterhaching, Germany) via a breathing filter connected to the mask. Skin at the arterial and venous access site was injected with a maximum of 0.3 ml lidocaine (lidocaine 2 %, bela-pharm Arzneimittelfabrik, Vechta, Germany). The left carotid artery and jugular vein were visualized with gentle preparation, and a catheter (3F, Balt extrusion, Montmorency, France) was introduced to both vessels. For invasive BP measurement, a micro tip catheter (SPR-407 Mikro-Tip[®], Millar, Inc., Houston, TX, USA) was placed in the carotid artery. Before each measurement, the catheter was calibrated. Therefore, the tip of the catheter was placed just beneath the surface of a water bath that was heated to the piglet's body temperature (39 °C). Systolic, diastolic and MAP and an electrocardiogram (ECG) were recorded continuously with appropriate hardware modules and corresponding software (PLUGSYS module, Transducer Amplifier module TAM, heart rate module, HAEMODYN software, Hugo Sachs Elektronik – Harvard Apparatus GmbH, March-Hugstetten, Germany). Baseline values were collected over one minute prior to the "injection" and "castration" events. Mean values and standard deviations of BP and HR were calculated. Subsequently, within one minute after every event, the maximum change from baseline was selected, and the percent deviation from baseline was determined.

Blood samples

To maintain hydration, a crystalloid intravenous infusion (Sterofundin Iso, B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Germany) was administered at a rate of 4 ml/kg/h, and the extracted blood volume was directly substituted. Blood samples (max. 1.8 ml each sample) were taken via the venous port at the following time points. Baseline values for all parameters were taken five minutes after placement of the catheters and prior to the first toe pinch reflex test. For the analysis of catecholamines, EGTA-plasma tubes were prechilled on ice. Samples were collected one minute after injection and

one minute after cutting the spermatic cord. Serum samples for cortisol and CgA were taken 20 and 40 minutes after castration (cutting of the spermatic cord). Blood samples for catecholamines were centrifuged (5 minutes, 3000 U/min, 4 °C) immediately after collection. Serum samples were stored for one hour at room temperature before centrifugation (10 minutes, 3000 U/min, 4 °C). Collected plasma samples were stored at -80 °C, and serum samples were stored at -20 °C until analysis by a certified laboratory.

Limb movements

During injection, incision and spermatic cord transection, each piglet was immobilized by the same person with both hands under the back and the hindquarters in a supine position. This ensured that both the movements of the four limbs and tension of the back could be perceived and assessed. In addition, each event was filmed and evaluated. To assess the quality of limb movements for every piglet and event, a specific score was established modified according to Berchtold [20] and Hug et al. [21]. Both front and hind limbs as well as the spine/back were assessed individually for each testicle. A maximum score of 28 points, with 14 points per testicle, could be reached per event (injection, skin incision, cutting of the spermatic cord) (Table 1).

Table 1. Scoring System Adapted from Berchtold [20] and Hug et al. [21] to Assess Nociception during Castration on the basis of Limb Movements.

Limb Score (each limb is scored separately)	Number of movements
0	No reaction
1	One movement
2	Two to three movements
3	More than three movements, long-lasting movements
Highest Limb Score per testicle	12
Back/Spine Score	Number of movements
0	No reaction
1	Muscle contraction
2	Movements
Highest Back/Spine Score per testicle	2
Maximum Score per testicle:	14
Maximum Score per event:	28

Statistical analysis

For the statistical analysis, groups were tested for changes in BP and HR, age and weight at castration. The distribution of all continuous parameters was tested using the Shapiro-Wilk normality test. For all normally distributed parameters, a parametric one-way ANOVA test was performed. Pairwise t-test comparisons between groups with post-hoc Bonferroni corrections for multiple testing followed by ANOVA. For nonnormally distributed parameters, a Kruskal-Wallis test was performed. Pairwise Wilcoxon tests for comparisons between parameters with post-hoc Bonferroni corrections for multiple testing were followed by the Kruskal-Wallis test. Blood parameters were analyzed using a mixed-effects model due to the presence of repeated measures. Blood parameter data were log-transformed prior to analysis due to nonnormally distributed and heteroscedastic residuals. Pairwise comparisons of factor combinations in the mixed-effects model were conducted via estimated marginal means with post hoc Bonferroni corrections. Statistical significance was considered at $p \leq 0.05$. All statistical analyses were performed using R version 3.6.1 (2019-07-05) [22].

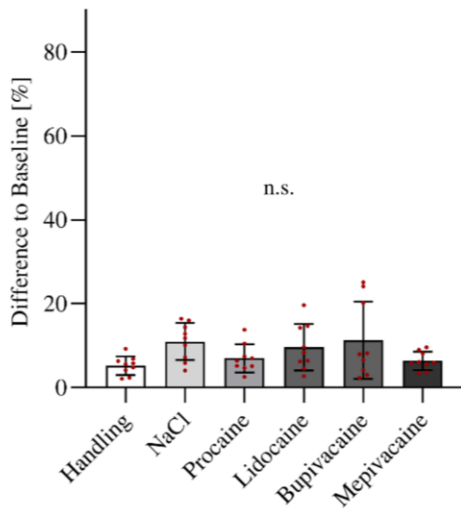
4. Results

The mean \pm standard error of the mean (SEM) body weights of the piglets in each treatment group were as follows: H: 2.2 ± 0.5 ; NaCl: 2.1 ± 0.6 ; P: 1.8 ± 0.3 ; L: 2.5 ± 0.5 ; B: 2.1 ± 0.4 ; and M: 2.2 ± 0.4 kg. The mean \pm SEM ages of the piglets in each treatment group were as follows: H: 5.3 ± 1.2 ; NaCl: 4.9 ± 1.3 ; P: 5.1 ± 1.2 ; L: 5.3 ± 1.4 ; B: 5.6 ± 1.0 ; and M: 5.5 ± 1.0 days. Mean body weight and age did not significantly differ between the treatment groups.

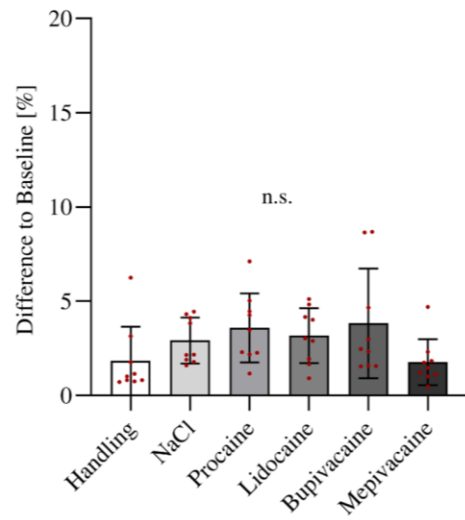
Blood pressure

The mean MAP of all piglets was 55.68 ± 7.15 mmHg. Fig 2 shows the mean of the maximum changes in MAP after injection, skin incision and cutting of the spermatic cord in each treatment group. During injection, no significant difference among the groups was detected. Local anesthetic groups P ($p < 0.001$), L ($p < 0.001$), B ($p < 0.001$) and M ($p < 0.001$) showed statistically significant reductions in maximum MAP changes compared to the NaCl group after skin incision. The deviation from baseline in the NaCl group was 24 %. This was the highest value observed during skin incision and was also significantly different from that in the H group ($p < 0.001$). Regarding cutting of the spermatic cord in local anesthetic groups P ($p < 0.001$), L ($p < 0.001$), B ($p < 0.001$) and M ($p < 0.001$), the deviation in the maximum MAP change was significantly decreased compared to that in the NaCl group. Between the local anesthetic groups and compared to the H group, no significant difference was detected. Similar to skin incision, NaCl had the highest value (45 %) after cutting the spermatic cord and was significantly increased compared to H ($p < 0.001$).

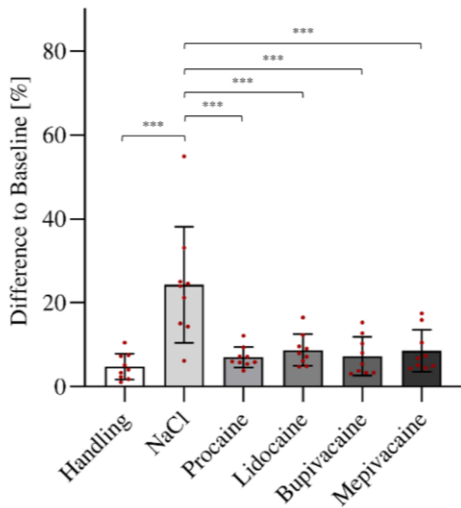
A. Blood pressure: injection



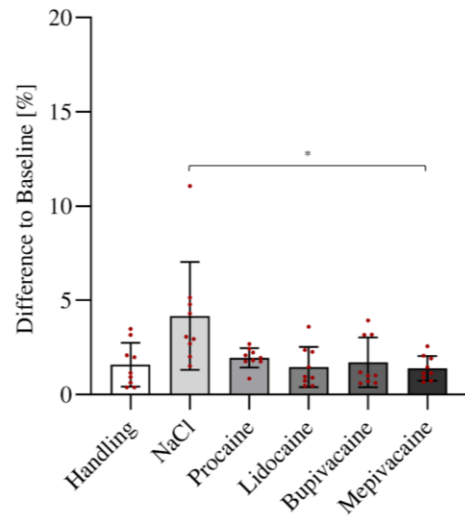
D. Heart rate: injection



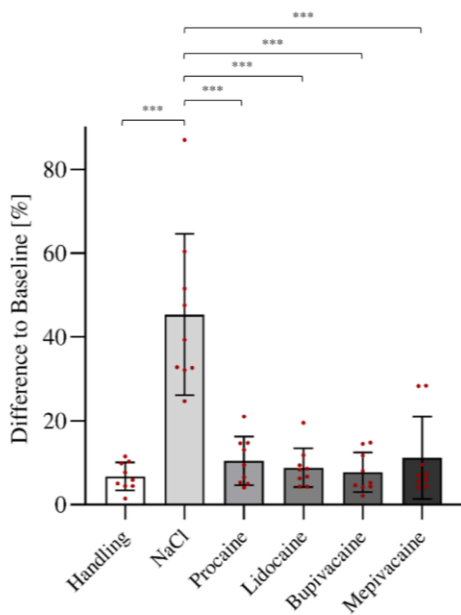
B. Blood pressure: skin incision



E. Heart rate: skin incision



C. Blood pressure: cutting of the spermatic cord



F. Heart rate: cutting of the spermatic cord

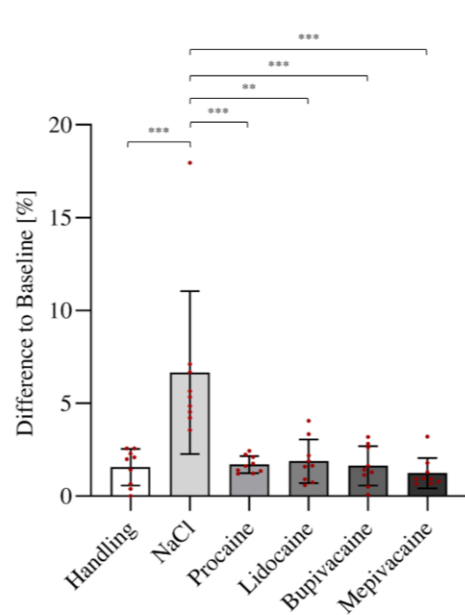


Figure 2. Percent Change in Mean Arterial Blood Pressure (MAP) and Heart Rate (HR). Twenty minutes prior to castration, a 0.5-ml i.t. injection and a 0.5-ml subscrotal injection were administered in each testis. The six bars illustrate the maximum percent change from baseline within 1 minute after injection (A, D), skin incision (B, E) and cutting of the spermatic cord (C, F) in the different experimental groups. Handling = no injection and no castration, only simulation of the procedures; NaCl = injection of sodium chloride (NaCl) and castration; Procaine = injection of procaine 4 % and castration; Lidocaine = injection of lidocaine 2 % and castration; Bupivacaine = injection of bupivacaine 0.5 % and castration; Mepivacaine = injection of mepivacaine 2 % and castration. Values shown are means \pm SEMs. Statistical significance is indicated by * $p \leq 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$; n.s. = no significance among groups.

Heart rate

No significant differences in HR deviation were detected among the treatment and control groups after injection. The HR after skin incision in group M was significantly decreased compared to that in group NaCl ($p < 0.001$). There was no significant difference in the mean HR among the other groups. In general, a highly significant change in HR from baseline after cutting of the spermatic cord was discovered in groups P ($p < 0.001$), L ($p = 0.002$), B ($p < 0.001$) and M ($p < 0.001$) compared to that in group NaCl. Additionally, NaCl was associated with a significant increase compared to H ($p < 0.001$) (Fig 2).

Blood samples

Cortisol

Plasma cortisol concentrations in piglets at time points before surgical castration and 20 and 40 minutes after castration are shown in Table 2. Comparison among the experimental groups revealed no significant differences in plasma cortisol concentrations at any time point. Within the groups, 20 (H: $p < 0.001$, NaCl: $p < 0.001$, P: $p < 0.001$, L: $p < 0.001$, B: $p < 0.001$, M: $p < 0.001$) and 40 (H: $p < 0.001$, NaCl: $p < 0.001$, P: $p < 0.001$, L: $p < 0.001$, B: $p < 0.001$, M: $p < 0.001$) minutes after castration, increased cortisol levels compared to baseline levels were measured.

Table 2. Influence of Treatment on Serum Cortisol Concentrations 20 and 40 Minutes After the Castration of Piglets.

	Handling	NaCl	Procaine	Lidocaine	Bupivacaine	Mepivacaine
Cortisol (µg/L)						
Baseline	65 ± 19.24	71.44 ± 35.73	67.22 ± 14.25	72.56 ± 28.06	67.56 ± 21.56	68.00 ± 13.48
20 m p. castr.	104.78 ± 25.40 ***	92.89 ± 32.79 ***	98.11 ± 31.03 ***	101.33 ± 34.67 ***	107.33 ± 27.73 ***	97.89 ± 19.90 ***
40 m p. castr.	108.89 ± 24.06 ***	91.78 ± 40.90 ***	89.00 ± 33.82 ***	105.44 ± 35.96 ***	110 ± 33.31 ***	98.78 ± 27.03 ***

Mean ± SEM serum cortisol concentrations (µg/L) are shown for the different treatment groups. Values shown are means ± SEMs. A statistically significant change from baseline is indicated by * $p \leq 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$, n.s. = no significance.

Catecholamines

Epinephrine and norepinephrine concentrations in piglets measured before castration as well as one minute after injection and castration are shown in Table 3. No significant differences were found among the groups at any time point. Baseline measurements for both epinephrine and norepinephrine greatly differed among the experimental groups. A significant increase in epinephrine from baseline to castration (H: $p < 0.001$, NaCl: $p < 0.001$, P: $p < 0.001$, L: $p < 0.001$, B: $p < 0.001$, M: $p < 0.001$) and injection to castration (H: $p < 0.001$, NaCl: $p < 0.001$, P: $p < 0.001$, L: $p < 0.001$, B: $p < 0.001$, M: $p < 0.001$) was measured within all groups. No significant differences were found in norepinephrine measurements.

Table 3. Influence of Local Anesthesia on Plasma Catecholamines After the Injection and Castration of Piglets.

	Handling	NaCl	Procaine	Lidocaine	Bupivacaine	Mepivacaine
Epinephrine (ng/L)						
Baseline	199.67 ±	126.56 ±	114.11 ±	174.33 ±	153.67 ±	107.67 ±
	142.83	75.43	67.65	161.30	88.31	62.02
Injection	230.44 ±	113.89 ±	103.89 ±	129.44 ±	165.13 ±	115.00 ±
	197.80	69.39	48.65	103.60	86.84	67.25
	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
Castration	262.11 ±	142.11 ±	245.33 ±	237.44 ±	185.56 ±	207.33 ±
	237.10	105.42	155.45	240.70	106.41	175.51
	*** ◆◆◆	*** ◆◆◆	*** ◆◆◆	*** ◆◆◆	*** ◆◆◆	*** ◆◆◆
Norepinephrine (ng/L)						
Baseline	359 ±	244.33 ±	435.67 ±	424.22 ±	284.78 ±	204.11 ±
	250.74	152.34	263.52	423.93	157.33	164.79
Injection	436.89 ±	273.78 ±	383.44 ±	341.67 ±	430.625 ±	242.00 ±
	405.26	152.32	205.71	361.57	382.24	279.25
	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
Castration	341.56 ±	263.67 ±	620.89 ±	349.11 ±	420.67 ±	231.78 ±
	246.52	88.61	422.36	405.10	406.96	217.45
	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.

Mean ± SEM plasma epinephrine and norepinephrine concentrations (µg/L) are shown for the different treatment groups. Baseline blood samples were taken 5 minutes after placement of the catheters. The remaining samples were taken 1 minute after injection and cutting of the spermatic cord in each case. Values shown are means ± SEMs. A statistically significant change from baseline is indicated by * $p \leq 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$, n.s. = no significance. A statistically significant change from injection is indicated by ◆ $p \leq 0.05$, ◆◆ $p < 0.01$, ◆◆◆ $p < 0.001$, n.s. = no significance.

Chromogranin A

Plasma CgA concentrations in piglets at time points before surgical castration and 20 and 40 minutes after surgery are shown in Table 4. None of the measurements among the groups at any time point were significant.

Table 4. Influence of Treatment on Serum CgA 20 and 40 Minutes After the Castration of Piglets.

	Handling	NaCl	Procaine	Lidocaine	Bupivacaine	Mepivacaine
Chromogranin A ($\mu\text{g/mL}$)						
Baseline	0.90 \pm 0.39	0.68 \pm 0.25	0.97 \pm 0.61	0.73 \pm 0.25	0.96 \pm 0.63	0.88 \pm 0.53
20 m p. castr.	1.28 \pm 1.44 n.s.	0.66 \pm 0.26 n.s.	0.65 \pm 0.45 n.s.	0.72 \pm 0.26 n.s.	0.73 \pm 0.46 n.s.	0.94 \pm 0,70 n.s.
40 m p. castr.	0.85 \pm 0.28 n.s.	0.63 \pm 0.11 n.s.	0.57 \pm 0.29 n.s.	0.80 \pm 0.33 n.s.	0.78 \pm 0.50 n.s.	0.87 \pm 0.53 n.s.

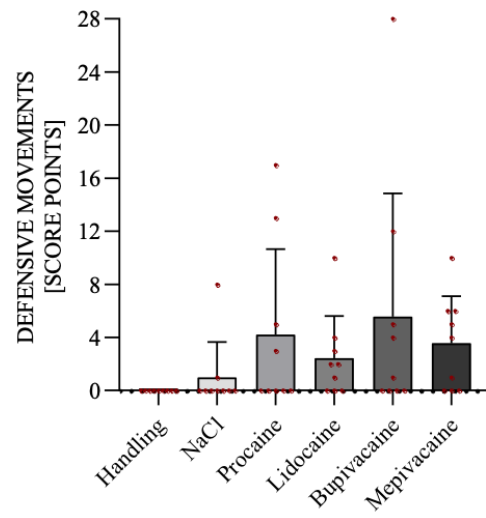
Mean \pm SEM serum CgA concentrations ($\mu\text{g/L}$) are shown for the different treatment groups. Baseline blood samples were taken 5 minutes after placement of the catheters. Values shown are means \pm SEMs. A statistically significant change from baseline is indicated by * $p \leq 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$, n.s. = no significance.

Limb movements

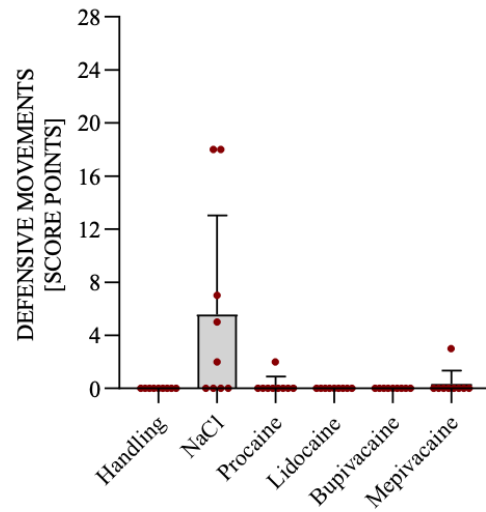
During injection, B scored highest (5.6), followed by P (4.2), M (3.4), L (2.4) and NaCl (1). During skin incision, the NaCl group had the highest score, with 5.6 points on average, followed by the M (0.3) and P (4.2) groups. In the L and B groups, no defensive movements were registered. After cutting the spermatic cord, the NaCl group reached a score of 8.4, and the P group had a score of 0.2. The L, B and M groups did not move at all (Fig. 3).

During injection, two piglets in the NaCl group moved, while no piglets in the H group showed signs of limb movements. Piglets injected with a local anesthetic moved more often (P: $n = 4$; L: $n = 6$; B: $n = 5$; M: $n = 6$) than those in the control groups. Skin incision prompted movements in piglets in only the NaCl ($n = 5$), P ($n = 1$) and M ($n = 1$) groups. Similarly, during the cutting of the spermatic cord, the highest number of piglets showing limb movements could be observed in the NaCl group ($n = 6$). Aside from one piglet in the P group, no limb movements of piglets in the other experimental groups were detected.

A. Defensive Movements: Injection



B. Defensive Movements: Skin Incision



C. Defensive Movements: Cutting of the Spermatic Cord

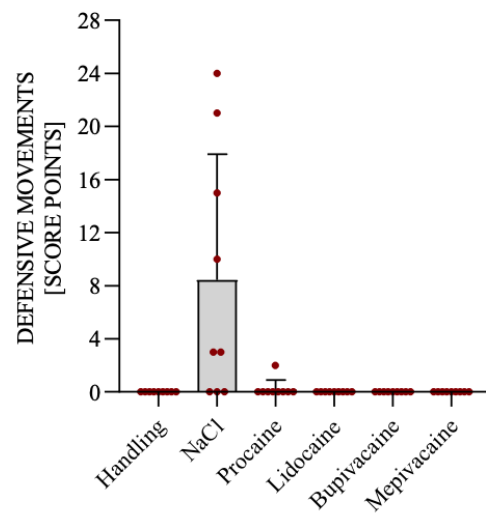


Figure 3. Limb Movement Scores during Injection, Skin Incision and Cutting of the Spermatic Cord. Limb movements were observed during injection (A), skin incision (B) and cutting of the spermatic cord (C). The score was applied to analyze the intensity of limb movements: Handling = neither injection nor castration, only simulation of the procedures; NaCl = castration without preoperative analgesia; Procaine, Lidocaine, Bupivacaine, Mepivacaine = castration under preoperative local anesthetic.

5. Discussion

The present study reconfirmed that surgical castration is a highly painful method [23,24]. A minimal isoflurane anesthesia model was used to assess acute physiological alterations to validate the analgesic effects of four local anesthetics during castration. As nociception-related parameters, invasive BP and HR as well as blood concentrations of cortisol, epinephrine, norepinephrine and chromogranin A were measured. In addition, limb movements of the piglets were studied. As pain-related physiological responses are easily influenced by stress and fear, it is difficult to discriminate pain from handling stress [7]. Therefore, to measure pure nociception, light isoflurane anesthesia was administered. Isoflurane is a volatile agent with no analgesic effects at low dosages. Even if it has moderate cardiodepressive effects, in the clinical range, isoflurane shows no influence on the magnitude of BP or HR changes in response to noxious stimuli [25,26]. Therefore, the use of isoflurane has a low impact on studying nociception.

Our results showed that local anesthesia significantly reduced BP and HR changes after skin incision and cutting of the spermatic cord compared to castration without any pain medication. MAP was the most significant parameter associated with noxious stimuli during castration. This finding is in line with a study that observed that MAP was the most sensitive nociceptive indicator for pigs under isoflurane anesthesia [10]. Haga and Ranheim [8] found similar results when measuring invasive arterial BP during castration with lidocaine performed under halothane anesthesia. During all three steps of the castration procedure, H induced minimal BP changes that were in the range of normal BP fluctuations. Most notably, BP changes in the four local anesthetic groups were comparable to the

change in the H group. This suggests that local anesthesia reduces nociception induced by surgical castration to a level of unpleasantness similar to that felt by piglets handled in the inguinal region under isoflurane anesthesia. Castration without any pain relief provoked the highest increase in BP. Bova et al. [27] determined that if a BP increase of more than 20 % occurs during surgical intervention, relevant pain must be assumed, and rescue analgesia may be necessary. In the NaCl group, BP increased by 24 % during skin incision, and an average increase of 45 % was observed while cutting the spermatic cord. Both events have to be considered highly painful, and it was reconfirmed that manipulating and cutting the spermatic cord is the most painful part of castration [28].

In approximately half of the animals, as the maximum deviation from baseline, a decrease in BP and HR was observed in response to manipulation during the castration procedure. A decrease in BP did not necessarily represent a decrease in HR in the same piglet. Similar observations were made in piglets, lambs and calves under halothane anesthesia undergoing zootechnical procedures [8,25,29]. Van Lieshout et al. [30] attributed this paradoxical effect to a vasovagal response to noxious stimuli. The occurrence of bradycardia and hypotension during severe pain caused by the stretching of abdominal or perineal viscera has been described in the literature [31]. A similar type of pain could be induced through the stretching of the spermatic cord, and therefore the peritoneum, in the castration process. Above a certain concentration, halothane induces a depressor hemodynamic response to noxious stimuli in rats; however, this effect has not been described in animals under isoflurane anesthesia [32]. Other explanations could be alterations in respiratory function or increases in peripheral vascular resistance [29,33]. As the decreases in BP and HR were directly related to a stimulus, we believe that it is reasonable to value both a large increase and a large decrease as a sign of nociception.

All four local anesthetics provided a reduction in limb movements during skin incision and cutting of the spermatic cord. The NaCl group showed the most limb movements during castration, and piglets in the H group did not move at any time point. Several other studies observed a beneficial

effect regarding limb movements in piglets castrated under local anesthesia [2,9,16]. It must be noted that all these studies were carried out in conscious piglets. A point of criticism could be that limb movements are hard to evaluate under isoflurane anesthesia. Volatile anesthetics at certain concentrations are known to block movements in response to noxious stimuli [34]. To ensure that a reaction to noxious stimuli was still possible, the isoflurane concentration was individually titrated via reaction to a toe pinch. Toe pinch was chosen because Eger et al. [35] found that toe clamping is a painful stimulus and prompts the best reflex to determine anesthetic depth in piglets [36]. As the toe pinch was carried out by a human, the pressure applied might be inconsistent. To minimize this variance in applied pressure and localization, the reflex was always tested by the same two persons, and the same clamp was used. Only when a reaction to a toe pinch was observed was the experiment continued. It cannot be fully excluded that in some animals, anesthesia might have blocked some reactions; in the NaCl group, only six out of nine piglets exhibited limb movements. Nevertheless, the limb movements are in line with the BP and HR results, which suggests this model produced reliable results.

Regarding the injection technique used in this study, it must be noted that piglets in all experimental groups receiving i.t. and subscrotal injections showed clear limb movement responses. Additionally, two animals in the NaCl group reacted to the injection. BP and HR in injected piglets were higher than those in the handling group, but no significant difference was found. These reactions in response to injection indicate that injections into the testis are painful. An explanation regarding why piglets injected with a local anesthetic reacted more could be that local anesthetics are acidic solutions that could provoke a burning sensation in the injected area. This suggests that in addition to the injection itself, the pH of the applied solution plays a role as a pain trigger. Hanna et al. [37] showed that pain induced by the injection of local anesthetics is caused by multiple factors and can be reduced by adding bicarbonate. This must be further discussed if intratesticular injection is to meet the requirements of the German welfare act, which requests the total elimination of pain during the surgical

procedure. Perhaps using lower volume, buffered local anesthetics or different injection techniques could further improve injection pain. Hogan et al. [38] suggests warming the local anesthetic to reduce injection pain. The optimization of the injection technique and the verification of whether the same analgesic effects can be achieved by these methods are part of further studies.

Regarding the analysis of stress hormones after castration after the administration of local anesthesia, the results of previous studies are inconclusive. Sutherland et al. [39] did not find a reduced cortisol response after castration with the administration of local anesthetics compared to piglets castrated without anesthesia. In contrast, in two other studies, the serum cortisol levels of piglets treated with local anesthetics were even higher than those in the control groups [40,41]. Rauh et al. [9] even observed an increase in epinephrine and norepinephrine in piglets injected with 2 % procaine, and Hofmann et al. [42] observed similar effects of procaine on cortisol concentrations and 1 % lidocaine on chromogranin A levels. However, due to the use of different local anesthetics, concentrations, application times and types of application in the studies, a direct comparison is not possible.

In the present study, these findings could not be confirmed. Injection into the testis and castration did not cause significant changes in the stress hormone concentrations of cortisol, CgA, epinephrine or norepinephrine in the experimental groups. In the handling group, even higher increases than those in the NaCl group were recorded.

An explanation for the failure of blood hormones to illustrate the nociception experienced by the piglets in our model may be that the procedures were performed under isoflurane anesthesia. The baseline blood samples were taken 31 minutes after the induction of anesthesia (31.04 ± 7.1 minutes). We assume that the high baseline cortisol level, compared to other studies [41,43,44], could be caused by basic stress due to factors such as handling or induction of anesthesia through a mask.

However, the low catecholamine baseline could be explained by the absence of acute stress caused by handling. The baseline was comparable

to studies in which blood samples were taken without stress via a venous port from piglets without anesthesia [45] or without a venous port but under isoflurane anesthesia [44].

Furthermore, in humans, increases in catecholamine and cortisol concentrations under isoflurane anesthesia have been described, and these reactions could also appear in piglets [46]. However, significant increases in cortisol concentrations within groups were observed, suggesting a general, group-independent increase in stress under this model.

Whereas different concentrations and application techniques of lidocaine [2,3,8,9,15-19,21,39,41,47-56] and procaine [9,17,41,42,57-59] have been excessively studied in the context of piglet castration, bupivacaine was analyzed only in combination with lidocaine by Bonastre et al. [60]. To the best of our knowledge, mepivacaine, an approved drug in several European countries for intraarticular and epidural injections in horses, has never been used in studies examining piglet castration. Although all of the local anesthetics used in our study were administered in high doses, no cardiovascular or pulmonary side effects were observed. To speed up the onset of action and to prolong the duration of action, epinephrine is often added to local anesthetics. As a pilot study showed that i.t. in combination with subscrotally injected epinephrine distorted the measurements of the hemodynamic parameters (Fig 1 in S1 Appendix) and plasma epinephrine (Fig 2 in S1 Appendix), no epinephrine was added to the analyzed substances. No significant differences were found between the four local anesthetics, indicating that all of them obtained sufficient analgesic effects under light isoflurane anesthesia, reducing acute nociceptive castration pain.

A limitation of the present study is that nociception is only assessed on the basis of acute cardiovascular and humoral responses and limb movements. To have a more complete picture of nociception, neural nociceptive processing by studying Fos protein expression in the spinal cord and EEG responses has to be included in the evaluation. However, these data were also collected and will be published separately due to high complexity (manuscript in preparation).

Further comparisons between the tested substances are planned in awake piglets considering behavior and postcastration pain, where characteristics such as duration of action and time of onset play a more important role. All these results must be taken into account before a final evaluation of local anesthesia as a method to eliminate pain during piglet castration is possible.

6. Conclusions

Our study demonstrates that the nociception induced by intratesticular and subcutaneous injection and castration can be reliably quantified by measuring cardiovascular responses and limb movements under isoflurane anesthesia. An intratesticular injection with a subcutaneous depot of a local anesthetic prior to castration reduces nociception-related cardiovascular responses and limb movements compared to castration without a local anesthetic.

Our findings confirm the analgesic effect of local anesthetics by blocking nociception during castration in our experimental setup in piglets. However, the injection of local anesthetics caused a visible nociception shown by increased limb movements.

It must be mentioned that our study investigated the analgesic effects of local anesthesia during castration in piglets under light narcosis, which means that nociception was evaluated with the exclusion of stress and fear. If conscious piglets are castrated, then these factors will influence the piglets' behavior and perception of pain. Whether this method is also practicable and effective in conscious piglets and how the different local anesthetics influence wound healing and post-castration behavior will be elucidated in further studies.

7. References

1. European Food Safety Authority (EFSA). Opinion of the scientific panel on animal health and welfare (AHAW) on a request from the commission related to welfare aspects of the castration of piglets. EFSA J. 2004;2: 91.
2. Horn T, Marx G, von Borell E. Behavior of piglets during castration with and without local anesthesia. Dtsch Tierarztl Wochenschr. 1999;106: 271-274.
3. McGlone JJ, Hellman JM. Local and general anesthetic effects on behavior and performance of two- and seven-week-old castrated and uncastrated piglets. J Anim Sci. 1988;66: 3049-3058.
4. Tierschutzgesetz in der Fassung der Bekanntmachung vom 18. Mai 2006 (BGBl. I S. 1206, 1313), das zuletzt durch Artikel 101 des Gesetzes vom 20. November 2019 (BGBl. I S. 1626) geändert worden ist.
5. IASP Task Force on Taxonomy, edited by H. Merskey and N. Bogduk. PART III: Pain Terms, A Current List with Definitions and Notes on Usage. Classification of Chronic Pain. ©1994; 209-214, updated 2011.
6. Ison SH, Clutton RE, Di Giminiani P, Rutherford KM. A review of pain assessment in pigs. Front Vet Sci. 2016;3: 108.
7. Herskin MS. Pain in pigs: characterisation, mechanisms and indicators. In: Spinka M, editor. Advances in pig welfare. Duxford, United Kingdom: Woodhead Publishing; 2018. p. 506.
8. Haga HA, Ranheim B. Castration of piglets: the analgesic effects of intratesticular and intrafunicular lidocaine injection. Vet Anaesth Analg. 2005;32: 1-9.

9. Rauh A, Hofmann K, Harlizius J, Weiss C, Numberger J, Scholz T, et al. Pain and distress response of suckling piglets to injection and castration under local anaesthesia with procaine and licocaine - part 2: defence behaviour, catecholamines, coordination of movements. *Tierarztl Prax Ausg G Grosstiere Nutztiere*. 2019;47: 160-170.
10. Haga HA, Tevik A, Moerch H. Electroencephalographic and cardiovascular indicators of nociception during isoflurane anaesthesia in pigs. *Vet Anaesth Analg*. 2001;28: 126-131.
11. Huang Y, Liu Z, Liu W, Yin C, Ci L, Zhao R, et al. Short communication: salivary haptoglobin and chromogranin A as non-invasive markers during restraint stress in pigs. *Res Vet Sci*. 2017;114: 27-30.
12. Casal N, Manteca X, Escribano D, Ceron JJ, Fabrega E. Effect of environmental enrichment and herbal compound supplementation on physiological stress indicators (chromogranin A, cortisol and tumour necrosis factor-alpha) in growing pigs. *Animal*. 2017;11: 1228-1236.
13. Prunier A, Mounier AM, Hay M. Effects of castration, tooth resection, or tail docking on plasma metabolites and stress hormones in young pigs. *J Anim Sci*. 2005;83: 216-222.
14. Lirk P, Hollmann MW, Strichartz G. The science of local anesthesia: basic research, clinical application, and future directions. *Anesth Analg*. 2018;126: 1381-1392.
15. Kluivers-Poodt M, Houx BB, Robben SR, Koop G, Lambooj E, Hellebrekers LJ. Effects of a local anaesthetic and NSAID in castration of piglets, on the acute pain responses, growth and mortality. *Animal*. 2012;6: 1469-1475.
16. Hansson M, Lundeheim N, Nyman G, Johansson G. Effect of local anaesthesia and/or analgesia on pain responses induced by piglet castration. *Acta Vet Scand*. 2011;53: 34.

17. Rittershaus D. Topische Anästhesieverfahren zur Schmerzreduktion bei der Saugferkelkastration. Inaugural Dissertation, University of Veterinary Medicine Hannover, Foundation. 2009.
18. Courboulay V, Hemonic A, Gadonna M, Prunier A. Castration under analgesia or local anesthesia: impact on pain and labour demand. In: Annual meeting of the European Association for animal production. Saint-Gilles, France; 2010. p. 138.
19. Maršálek P, Svoboda M, Bernardy J, Večerek V. Concentrations of neopterin, biopterin, and cortisol associated with surgical castration of piglets with lidocaine. Czech J Anim Sci. 2015;60: 473-478.
20. Berchtold, S. Optimierung der Injektionsanästhesie für die Ferkelkastration. Inaugural Dissertation, Universität Zürich. 2015.
21. Hug PJ, Cap VH, Honegger J, Schubach-Regula G, Schwarz A, Bettschart-Wolfensberger R. Optimization of analgesia for piglet castration under isoflurane anaesthesia with parenteral butorphanol, meloxicam or intratesticular lidocaine. Schweiz Arch Tierheilkd. 2018;160: 461-467.
22. R Development Core Team. A language and environment for statistical computing. Vienna, R Foundation for Statistical Computing; 2017.
23. Taylor AA, Weary DM, Lessard M, Braithwaite L. Behavioural responses of piglets to castration: the effect of piglet age. Appl Anim Behav Sci. 2001;73: 35-43.
24. von Borell E, Baumgartner J, Giersing M, Jaggin N, Prunier A, Tuytens FA, et al. Animal welfare implications of surgical castration and its alternatives in pigs. Animal. 2009;3: 1488-1496.
25. Zbinden AM, Petersen-Felix S, Thomson DA. Anesthetic depth defined using multiple noxious stimuli during isoflurane/oxygen anesthesia. II. Hemodynamic responses. Anesthesiology. 1994;80: 261-267.

26. Antognini JF, Berg K. Cardiovascular responses to noxious stimuli during isoflurane anesthesia are minimally affected by anesthetic action in the brain. *Anesth Analg.* 1995;81: 843-848.
27. Bova JF, da Cunha AF, Stout RW, Bhumiratana S, Alfi DM, Eisig SB, et al. Bupivacaine mandibular nerve block affects intraoperative blood pressure and heart rate in a Yucatan miniature swine mandibular condylectomy model: a pilot study. *J Invest Surg.* 2015;28: 32-39.
28. Taylor AA, Weary DM. Vocal responses of piglets to castration: identifying procedural sources of pain. *Appl Anim Behav Sci.* 2000;70: 17-26.
29. Johnson CB, Sylvester SP, Stafford KJ, Mitchinson SL, Ward RN, Mellor DJ. Effects of age on the electroencephalographic response to castration in lambs anaesthetized with halothane in oxygen from birth to 6 weeks old. *Vet Anaesth Analg.* 2009;36: 273-279.
30. Van Lieshout JJ, Wieling W, Karemaker JM, Eckberg DL. The vasovagal response. *Clin Sci (Lond).* 1991;81: 575-586.
31. Priebe HJ, Skarvan K. Regulation of the cardiovascular system In: Nijhawan N, Wartier DC, editors. *Cardiovascular physiology.* London: BMJ Publishing Group; 2000. pp. 213-239.
32. Gibbs NM, Larach DR, Skeehan TM, Schuler HG. Halothane induces depressor responses to noxious stimuli in the rat. *Anesthesiology.* 1989;70: 503-510.
33. Taylor PM, Kirby JJ, Shrimpton DJ, Johnson CB. Cardiovascular effects of surgical castration during anaesthesia maintained with halothane or infusion of detomidine, ketamine and guaifenesin in ponies. *Equine Vet J.* 1998;30: 304-309.
34. Eger EI, Raines DE, Shafer SL, Hemmings HC, Jr., Sonner JM. Is a new paradigm needed to explain how inhaled anesthetics produce immobility? *Anesth Analg.* 2008;107: 832-848.

35. Eger EI, Johnson BH, Weiskopf RB, Holmes MA, Yasuda N, Targ A, et al. Minimum alveolar concentration of I-653 and isoflurane in pigs: definition of a supramaximal stimulus. *Anesth Analg.* 1988;67: 1174-1176.
36. Satas S, Haaland K, Thoresen M, Steen PA. MAC for halothane and isoflurane during normothermia and hypothermia in the newborn piglet. *Acta Anaesthesiol Scand.* 1996;40: 452-456.
37. Hanna MN, Elhassan A, Veloso PM, Lesley M, Lissauer J, Richman JM, et al. Efficacy of bicarbonate in decreasing pain on intradermal injection of local anesthetics: a meta-analysis. *Reg Anesth Pain Med.* 2009;34: 122-125.
38. Hogan ME, vanderVaart S, Perampaladas K, Machado M, Einarson TR, Taddio A. Systematic review and meta-analysis of the effect of warming local anesthetics on injection pain. *Ann Emerg Med.* 2011;58: 86-98 e81.
39. Sutherland MA, Backus BL, Brooks TA, McGlone JJ. The effect of needle-free administration of local anesthetic on the behavior and physiology of castrated pigs. *J Vet Behav.* 2017;21: 71-76.
40. Barticciotto LS, Luna SPL, Lorena SERDS, Telles FG, Berto DA. Weight gain, behavioral and cortisol changes after orchietomy with or without local anaesthesia in piglets. *Semin Cienc Agrar.* 2016;37: 1307-1315.
41. Zankl A, Ritzmann M, Zols S, Heinritzi K. The efficacy of local anaesthetics administered prior to castration of male suckling piglets. *Dtsch Tierarztl Wochenschr.* 2007;114: 418-422.
42. Hofmann K, Rauh A, Harlizius J, Weiss C, Scholz T, Schulze-Horsel T, et al. Pain and distress responses of suckling piglets to injection and castration under local anaesthesia with procaine and lidocaine - part 1: cortisol, chromogranin A, wound healing, weights, losses. *Tierarztl Prax Ausg G Grosstiere Nutztiere.* 2019;47: 87-96.

43. Zols S, Ritzmann M, Heinritzi K. Einfluss von Schmerzmitteln bei der Kastration männlicher Ferkel. *Berl Munch Tierarztl Wochenschr.* 2006;119: 193-196.
44. Schulz C, Ritzmann M, Palzer A, Heinritzi K, Zöls S. Auswirkungen einer Isofluran-Inhalationsnarkose auf den postoperativen Kastrationsschmerz von Ferkeln. *Berl Münch Tierärztl Wschr.* 2007;120: 177-182.
45. Mayfield SR, Stonestreet BS, Shaul PW, Brubakk AM, Susa J, Oh W. Plasma catecholamine concentrations of newborn piglets in thermoneutral and cold environments. *J Dev Physiol.* 1989;11: 331-334.
46. Nishiyama T, Yamashita K, Yokoyama T. Stress hormone changes in general anesthesia of long duration: isoflurane-nitrous oxide vs sevoflurane-nitrous oxide anesthesia. *J Clin Anesth.* 2005;17: 586-591.
47. White RG, DeShazer JA, Tressler CJ, Borchert GM, Davey S, Waninge A, et al. Vocalization and physiological response of pigs during castration with or without a local anesthetic. *J Anim Sci.* 1995;73: 381-386.
48. Gutzwiller A. Kastration von Ferkeln unter Lokalanästhesie. *Agrarforschung.* 2003;10: 10-13.
49. Ranheim B, Haga HA, Ingebrigtsen K. Distribution of radioactive lidocaine injected into the testes in piglets. *J Vet Pharmacol Ther.* 2005;28: 481-483.
50. Kluivers-Poodt M, Zonderland JJ, Verbraak J, Lambooi E, Hellebrekers LJ. Pain behaviour after castration of piglets; effect of pain relief with lidocaine and/or meloxicam. *Animal.* 2013;7: 1158-1162.

51. Perez-Pedraza E, Mota-Rojas D, Ramirez-Necoechea R, Guerrero-Legarreta I, Martinez-Burnes J, Lezama-Garcia K, et al. Effect of the number of incisions and use of local anesthesia on the physiological indicators of surgically-castrated piglets. *Int J Vet Sci Med.* 2018;6: 159-164.
52. Telles FG, Luna SPL, Teixeira G, Berto DA. Long-term weight gain and economic impact in pigs castrated under local anaesthesia. *Vet Anim Sci.* 2016;1-2: 36-39.
53. Hancock TM, Caulkett NA, Pajor EA, Grenwich L. An investigation of the effects of intratesticular alfaxalone and lidocaine during castration in piglets. *Vet Anaesth Analg.* 2018;45: 858-864.
54. Rigamonti S, Bettschart-Wolfensberger R, Schwarz A, Nussbaumer I. Ermittlung eines feldtauglichen Injektionsanästhesieprotokolls zur Kastration von 8 bis 14-tägigen Ferkeln. *Schweizer Archiv für Tierheilkunde.* 2018;160: 469-474.
55. Lomax S, Harris C, Windsor PA, White PJ. Herabsetzung des Schmerzempfindens an der Kastrationswunde bei neugeborenen Ferkeln durch eine topisch angewandte Lokalanästhesie. *Tierarztl Umsch.* 2018;73.
56. Yun J, Ollila A, Valros A, Larenza-Menzies P, Heinonen M, Oliviero C, et al. Behavioural alterations in piglets after surgical castration: effects of analgesia and anaesthesia. *Res Vet Sci.* 2019;125: 36-42.
57. Zöls S. Möglichkeiten der Schmerzreduzierung bei der Kastration männlicher Saugferkel. Inaugural Dissertation, Ludwig-Maximilians-Universität. 2006.
58. Leidig MS, Hertrampf B, Failing K, Schumann A, Reiner G. Pain and discomfort in male piglets during surgical castration with and without local anaesthesia as determined by vocalisation and defence behaviour. *Appl Anim Behav Sci.* 2009;116: 174-178.

59. Tavella G, Scollo A, Mazzoni C, Contiero B, Gottardo F. Use of local anaesthesia during piglet castration: pain evaluation. In: Atti della Società Italiana di Patologia ed Allevamento dei Suini, XLII Meeting Annuale; Montichiari, Italia: Società Italiana di Patologia ed Allevamento dei Suini; 2016. pp. 69-76.
60. Bonastre C, Mitjana O, Tejedor MT, Calavia M, Yuste AG, Ubeda JL, et al. Acute physiological responses to castration-related pain in piglets: the effect of two local anesthetics with or without meloxicam. *Animal*. 2016;10: 1474-1481.

Supporting information

S1 Appendix. Systemic Influence of Intratesticularly and Subscrotally Injected Epinephrine.

8. S1 Appendix

Systemic Influence of Intratesticular and Subscrotally Injected Epinephrine.

To analyze the influence of epinephrine on BP, HR and plasma epinephrine concentrations, a pilot study was carried out. The experimental setup corresponded to the main study design. The 0.5 ml i.t. and 0.5 ml subscrotal injections contained either NaCl (NaCl; n = 6) or NaCl mixed with epinephrine (0.02 mg/ml) (NaCl+Epi; n = 6). After 20 minutes, castration was performed.

Mean of the maximum changes in MAP and HR after injection, skin incision and cutting of the spermatic cord in each treatment group were calculated. For statistical analysis the distribution was tested with Shapiro-Wilk normality test. For normally distributed data a Welch Two Sample t-test and for nonnormally distributed data a Wilcoxon rank-sum test was used. During injection, no significant difference among the groups was detected. NaCl+Epi group showed significantly increased MAP after skin incision ($p = 0.026$). After cutting of the spermatic cord an increase in NaCl+Epi ($p = 0.066$) was observed as well as a significant increase in HR ($p = 0.011$) (Fig I S1).

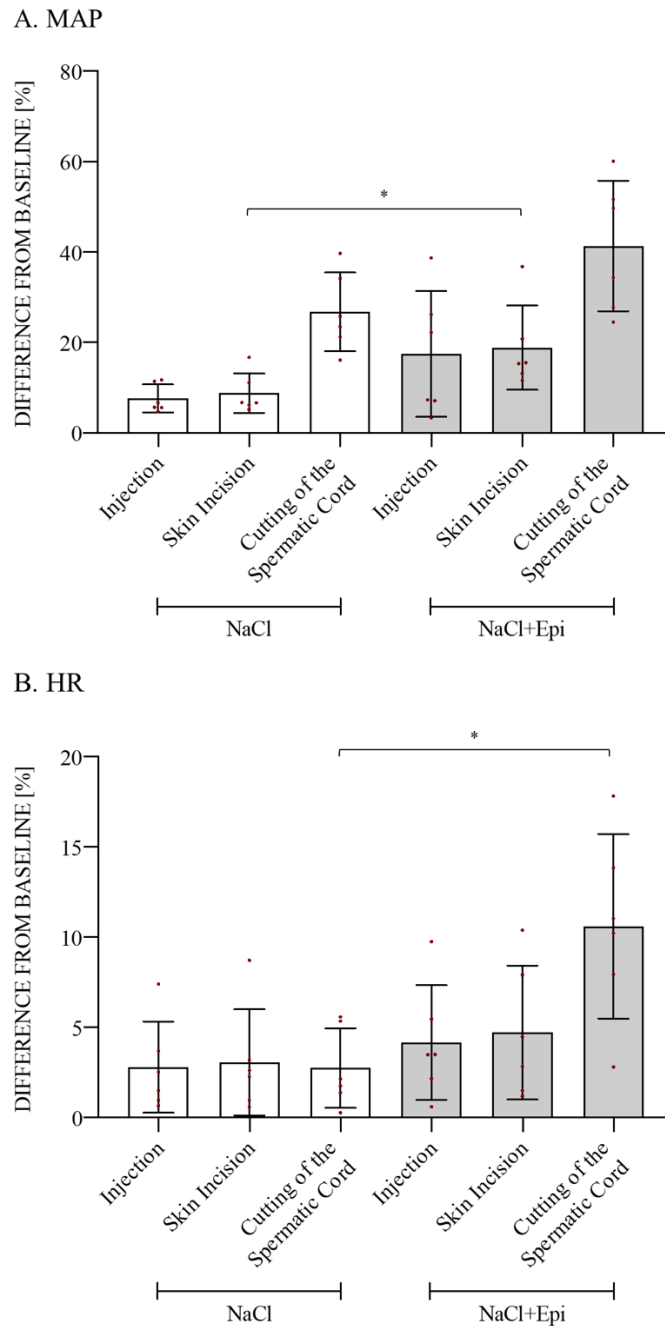


Fig I S 1. Percent Change in Mean Arterial Blood Pressure (MAP, A) and Heart Rate (HR, B) after Intratesticular Epinephrine Injection. Twenty minutes prior to castration, an intratesticular injection of 0.5 ml and an additional 0.5 ml subcutaneous depot were administered to each testis. NaCl = injection of sodium chloride 0.9 %, NaCl+Epi = injection of sodium chloride 0.9 % with 0.02 mg/ml epinephrine. n = 6 per group. Values shown are means \pm SEMs. Statistical significance is indicated by * $p \leq 0.05$, ** $p < 0.01$, * $p < 0.001$; n.s. = no significance.**

Fig II S1 shows increases in plasma epinephrine concentrations in piglets one minute after i.t. and subscrotal injection with epinephrine and castration compared to the NaCl controls. For statistical analysis data were

log-transformed and a mixed-effects model was used. Post-hoc pairwise comparisons were adjusted using Bonferroni correction of p-values. NaCl ($p = 0.015$) and NaCl+Epi ($p = 0.015$) showed a significant increase after cutting of the spermatic cord but no significant difference between groups was observed.

Based on the results of the pilot study, it was decided to use local anesthetics without epinephrine in the main study. In this way, it could be ensured that the measured parameters were not falsified by added epinephrine.

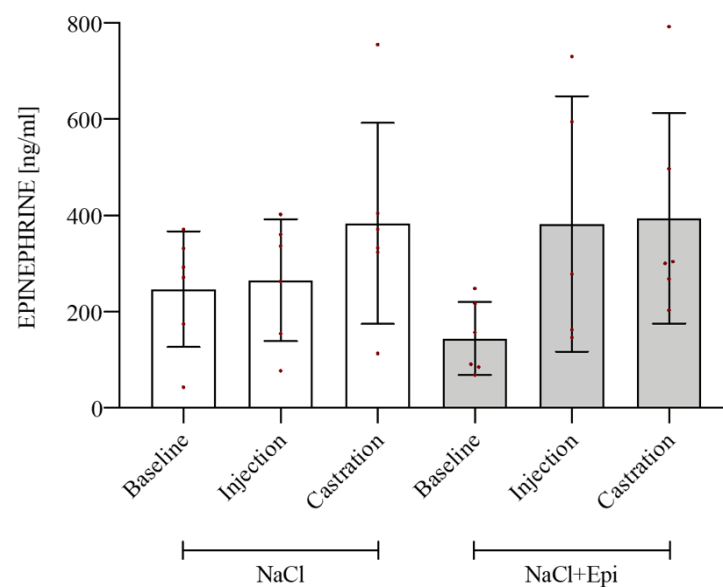


Fig II S 1. Percent Change in Plasma Epinephrine Concentrations One Minute after Intratesticular Epinephrine Injection and Castration. NaCl = injection of sodium chloride 0.9 %, NaCl+Epi = injection of sodium chloride 0.9 % with 0.02 mg/ml epinephrine. $n = 6$ per group. Values shown are means \pm SEMs.

V. ERWEITERTE STUDIENERGEBNISSE

1. Systolischer und diastolischer Blutdruck im Gruppenvergleich

Der mittlere systolische arterielle Blutdruck (SAP) aller Ferkel lag unmittelbar vor dem ZZR1 bei $77,71 \pm 7,97$ mmHg, der mittlere diastolische arterielle Blutdruck (DAP) bei $35,83 \pm 6,53$ mmHg und der mittlere MAP bei $55,68 \pm 7,15$ mmHg.

In Abbildung 8 ist die maximale Abweichung des SAP von der Baseline nach Injektion, Hautschnitt und Samenstrangdurchtrennung in der jeweiligen Gruppe dargestellt. Abbildung 9 zeigt die maximale Abweichung des DAP von der Baseline nach Injektion, Hautschnitt und Samenstrangdurchtrennung in der jeweiligen Gruppe.

1.1. Systolischer arterieller Blutdruck

Zwanzig Minuten vor der Kastration wurde eine Injektion mit 0,5 ml i.t. und 0,5 ml s.c. verabreicht. In Abbildung 8 veranschaulichen die sechs Balken die maximale prozentuale Veränderung gegenüber dem Ausgangswert innerhalb von einer Minute nach Injektion, Hautschnitt und Samenstrangdurchtrennung in den verschiedenen Versuchsgruppen.

Während der Injektion wurden keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen festgestellt. Bei Hautschnitt wurden signifikante Unterschiede der Änderung des SAP zur Baseline zwischen der NaCl-Gruppe und den LA-Gruppen P ($p = 0,006$), B ($p = 0,037$) und M ($p = 0,017$) sowie der Gruppe H ($p < 0,001$) gefunden. Ein tendenziell signifikanter Unterschied zeigte sich zwischen der NaCl- und der L-Gruppe ($p = 0,066$). Die Abweichung der NaCl-Gruppe zur Baseline betrug 18,66 %. Dies war gleichzeitig der höchste Wert, welcher während des Events „Hautschnitt“ verzeichnet wurde. Während der Samenstrangdurchtrennung zeigte die NaCl-Gruppe abermals die höchste Abweichung im Vergleich zur Baseline mit 30,73 %. Dieser Wert zeigte sich als signifikant unterschiedlich zu allen anderen Gruppen: P ($p = 0,004$), L ($p = 0,003$), B ($p = 0,002$), M ($p = 0,002$) und H ($p < 0,001$). Zwischen den LA-Gruppen sowie der

Gruppe H ist sowohl beim Hautschnitt als auch bei der Samenstrangdurchtrennung kein signifikanter Unterschied ermittelt worden.

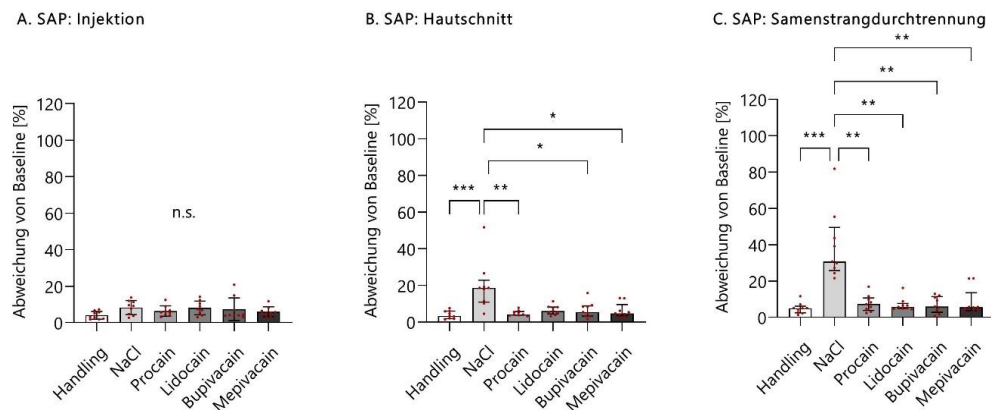


Abbildung 8: Prozentuale Veränderung des systolischen arteriellen Blutdrucks bei Injektion (A), Hautschnitt (B) und Samenstrangdurchtrennung (C) im Gruppenvergleich. Die angegebenen Werte bei Injektion sind Mittelwerte \pm SD. Die angegebenen Werte bei Hautschnitt und Samenstrangdurchtrennung sind Mediane \pm IQR. Die statistische Signifikanz wird angegeben durch * $p \leq 0,05$, ** $p < 0,01$, * $p < 0,001$; n.s. = keine Signifikanz zwischen den Gruppen.**

1.2. Diastolischer arterieller Blutdruck

Die sechs Balken in Abbildung 9 veranschaulichen die maximale prozentuale Veränderung gegenüber dem Ausgangswert innerhalb von einer Minute nach Injektion, Hautschnitt und Samenstrangdurchtrennung in den verschiedenen Versuchsgruppen.

Zwischen den Gruppen wurde bei Injektion und Hautschnitt kein signifikanter Unterschied im DAP gemessen. Bei der Samenstrangdurchtrennung zeigte die Gruppe NaCl mit 48,93 % die höchste Abweichung der untersuchten Gruppen und einen signifikanten Unterschied zu den Gruppen P ($p = 0,017$), L ($p = 0,01$), B ($p < 0,001$), M ($p = 0,001$) und H ($p < 0,001$). Die restlichen Gruppen sind voneinander nicht signifikant verschieden.

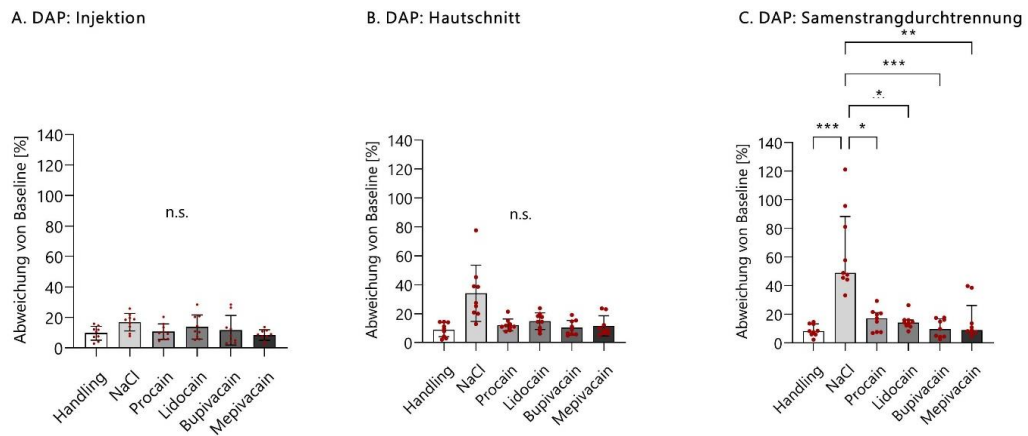


Abbildung 9: Prozentuale Veränderung des diastolischen arteriellen Blutdrucks bei Injektion (A), Hautschnitt (B) und Samenstrangdurchtrennung (C) im Gruppenvergleich. Die angegebenen Werte bei Injektion und Hautschnitt sind Mittelwerte \pm SD. Die angegebenen Werte bei Samenstrangdurchtrennung sind Mediane \pm IQR. Die statistische Signifikanz wird angegeben durch * $p \leq 0,05$, ** $p < 0,01$, * $p < 0,001$; n.s. = keine Signifikanz zwischen den Gruppen.**

Die prozentuale Abweichung des mittleren arteriellen Blutdrucks (MAP) und der Herzfrequenz der Versuchsgruppen wurden im Rahmen der zugehörigen Publikation bestimmt, welche im Abschnitt IV eingefügt ist.

2. Zeitlicher Verlauf der Blutdruck- und Herzfrequenz-Werte im Gruppenvergleich

Die Bestimmung der in den Graphen dargestellten Mittelwerte ist in Abschnitt III.4 Datenauswertung und Statistik beschrieben.

2.1. Mittlerer Arterieller Blutdruck (MAP)

Die sechs Graphen in Abbildung 10 veranschaulichen die prozentuale Veränderung des Mittelwerts gegenüber dem Ausgangswert in jeder der sechs Versuchsgruppen zum Zeitpunkt der Injektion sowie 5, 10 und 15 Minuten post injectionem (p.i.). Dabei ist jeder eingetragene Wert der Mittelwert über die einzelnen Ferkel der Gruppe ($n = 9$), jeweils gemittelt über einen Zeitraum von einer Minute.

Unmittelbar p.i. zeigten die Gruppen P ($3,01 \pm 2,96$ %), B ($3,53 \pm 8,49$ %) und L ($1,48 \pm 4,07$ %) einen leichten Anstieg des MAP. Im weiteren Verlauf schwankten die Gruppen um die Nulllinie, wobei H (bis $-1,63 \pm 17,04$ %), M (bis $-3,15 \pm 7,13$ %) und P (bis $-2,21 \pm 6,41$ %) leicht im negativen Bereich verblieben und NaCl (bis $3,75 \pm 8,28$ %), L ($3,35 \pm 15,56$ %) und

B ($5,93 \pm 8,63$ %) eine ansteigende Tendenz erkennen ließen (Abbildung 10).

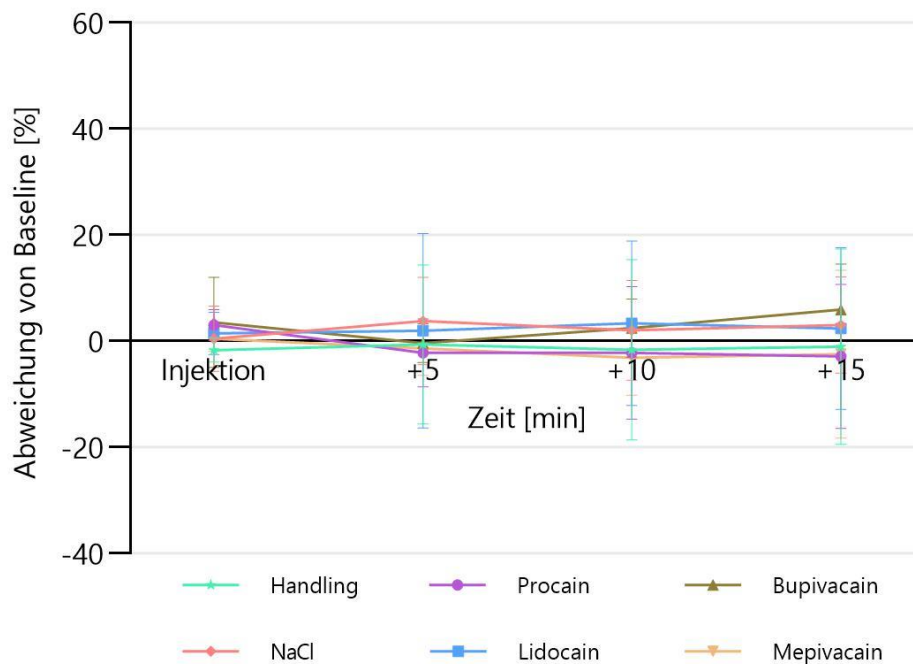


Abbildung 10: Prozentuale Veränderung des mittleren arteriellen Blutdrucks (MAP) über 15 Minuten p.i. im Gruppenvergleich. Die angegebenen Werte sind Mittelwerte \pm SD.

In Abbildung 11 veranschaulichen die sechs Graphen die prozentuale Veränderung des Mittelwerts gegenüber dem Ausgangswert in jeder der sechs Versuchsgruppen zum Zeitpunkt der Kastration sowie 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35 und 40 Minuten p.c. Dabei ist jeder eingetragene Wert der Mittelwert über die einzelnen Ferkel der Gruppe ($n = 9$), jeweils gemittelt über einen Zeitraum von einer Minute.

Post castrationem (p.c.) zeigte die NaCl-Gruppe einen Anstieg von $36,93 \pm 17,45$ % im Mittelwert. Im weiteren Verlauf wurde der Ausgangswert nicht mehr erreicht und verblieb mindestens 10 % über der Baseline vor Kastration. Die Gruppe P verblieb im Verlauf nach der Kastration ebenfalls dauerhaft oberhalb der Baseline (bis $4,62 \pm 9,83$ %). Gruppe L zeigte einen einzelnen, negativen Peak von $-8,85 \pm 8,57$ % 10 Minuten p.c. und schwankte ansonsten konstant um die Nulllinie. Die Gruppe H (bis $-3,94 \pm 6,56$ %) und die Gruppe M (bis $-8,39 \pm 13,09$ %) zeigten nur minimale Schwankungen im negativen Bereich. Gruppe B zeigte einen stetigen Abfall über die gesamten 40 Minuten p.c., mit einem

negativen Peak von $-10,82 \pm 10,32$ % 20 Minuten nach Kastration. Die Graphen der beschriebenen Änderungen sind in Abbildung 11 dargestellt.

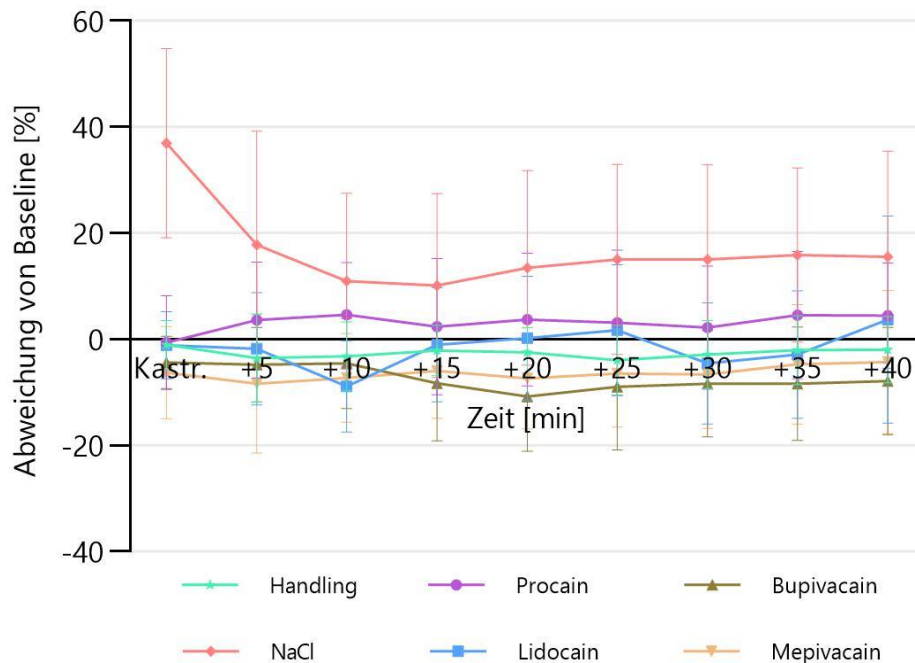


Abbildung 11: Prozentuale Veränderung des MAP über 40 Minuten p.c. im Gruppenvergleich. Die angegebenen Werte sind Mittelwerte \pm SD.

2.2. Herzfrequenz

In Abbildung 12 veranschaulichen die sechs Graphen die prozentuale Veränderung des Mittelwerts gegenüber dem Ausgangswert in jeder der sechs Versuchsgruppen zum Zeitpunkt der Injektion sowie 5, 10 und 15 Minuten p.i. Dabei ist jeder eingetragene Wert der Mittelwert über die einzelnen Ferkel der Gruppe ($n = 9$), jeweils gemittelt über einen Zeitraum von einer Minute.

Nach der Injektion zeigten die Gruppen H (bis $-2,51 \pm 4,99$ %), P (bis $-3,81 \pm 6,24$ %), L (bis $-2,69 \pm 2,43$ %) und M (bis $-4,61 \pm 2,51$ %) eine fallende Tendenz mit einem leichten Anstieg von jeweils unter 1 % bei Minute 15. Einzig Gruppe B (bis $-0,97 \pm 2,24$ %) und Gruppe NaCl (bis $-0,36 \pm 1,85$ %) zeigten nur leichte Schwankungen unterhalb der Nulllinie (Abbildung 12).

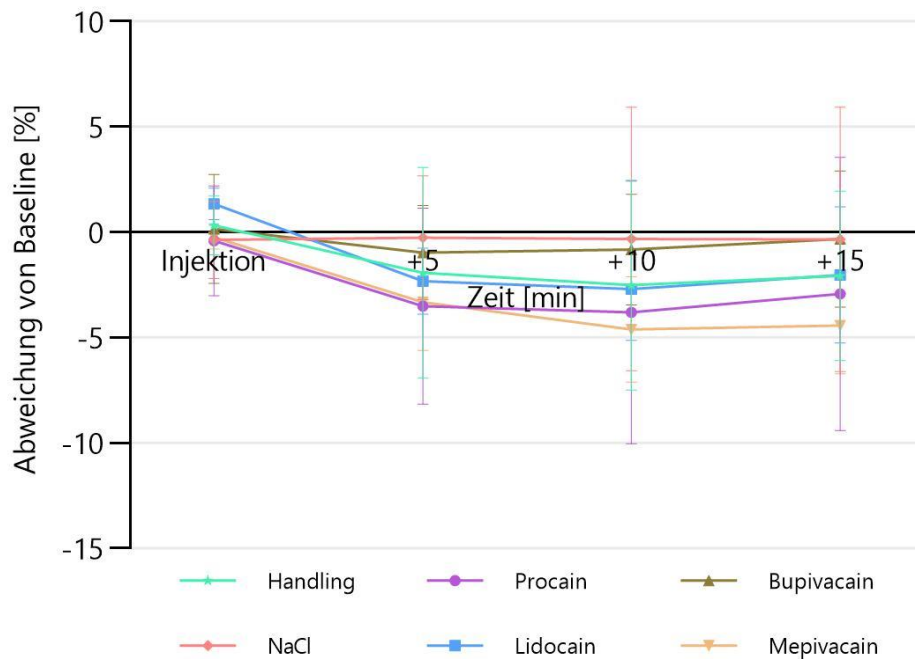


Abbildung 12: Prozentuale Veränderung der Herzfrequenz über 15 Minuten p.i. im Gruppenvergleich. Die angegebenen Werte sind Mittelwerte \pm SD.

Die sechs Graphen veranschaulichen in Abbildung 13 die prozentuale Veränderung des Mittelwerts gegenüber dem Ausgangswert in jeder der sechs Versuchsgruppen zum Zeitpunkt der Kastration sowie 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35 und 40 Minuten p.c. Dabei ist jeder eingetragene Wert der Mittelwert über die einzelnen Ferkel der Gruppe ($n = 9$), jeweils gemittelt über einen Zeitraum von einer Minute.

Nach einem Anstieg der Gruppen NaCl ($2,08 \pm 5,52 \%$) und L ($0,79 \pm 1,04 \%$) p.c. zeigten die Gruppen P, L, M und H in Abbildung 13 eine leicht negative Schwankung um die Nulllinie im weiteren Verlauf. Gruppe M wies einen kontinuierlichen Abfall ab der 20. Minute p.c. bis auf $-3,42 \pm 3,49 \%$ auf. Allein die Gruppen NaCl (bis $-3,77 \pm 9,43 \%$) und B (bis $-6,24 \pm 4,84 \%$) zeigten einen stetigen Abfall der Herzfrequenz p.c.

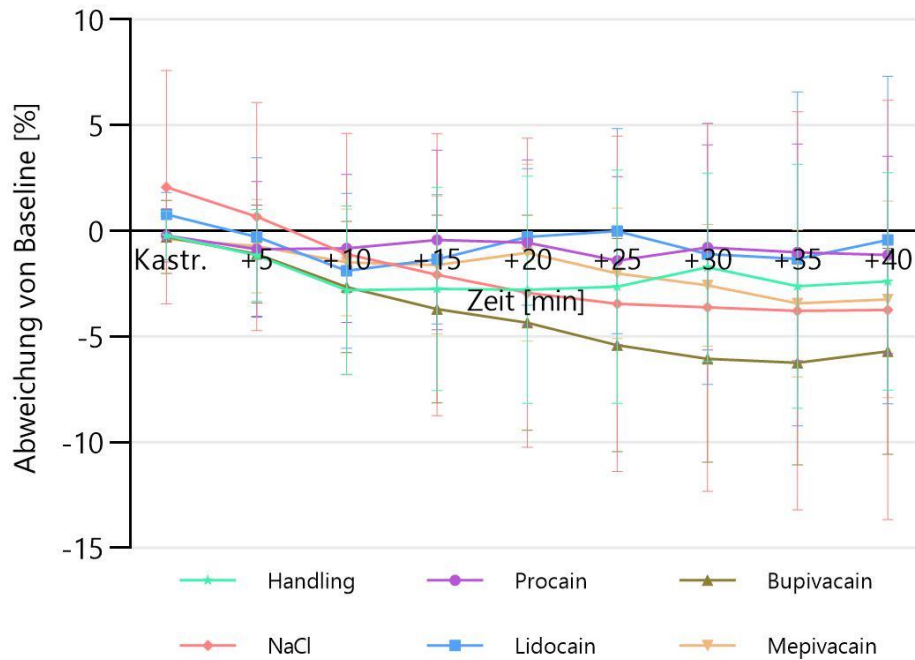


Abbildung 13: Prozentuale Veränderung der Herzfrequenz über 40 Minuten p.c. im Gruppenvergleich. Die angegebenen Werte sind Mittelwerte \pm SD.

3. Zwischenzehenreflexe post castrationem im Gruppenvergleich

Abbildung 14 zeigt die Anzahl der Ferkel, welche pro Versuchsgruppe ($n = 9$) noch auf den ZZR p.c. reagierten. In den Gruppen H und L wiesen die meisten Ferkel eine Reaktion mit jeweils 8 von 9 Tieren auf. In den Gruppen B und M reagierten jeweils 7 von 9 Tieren. In der NaCl-Gruppe zeigten noch 4 von 9 und in der P-Gruppe am wenigsten Tiere mit 3 von 9 Ferkeln eine Reaktion. Die Anzahl der Reaktionen in den Gruppen H und L sind signifikant unterschiedlich zu den Reaktionen in der Procain-Gruppe ($p = 0,05$).

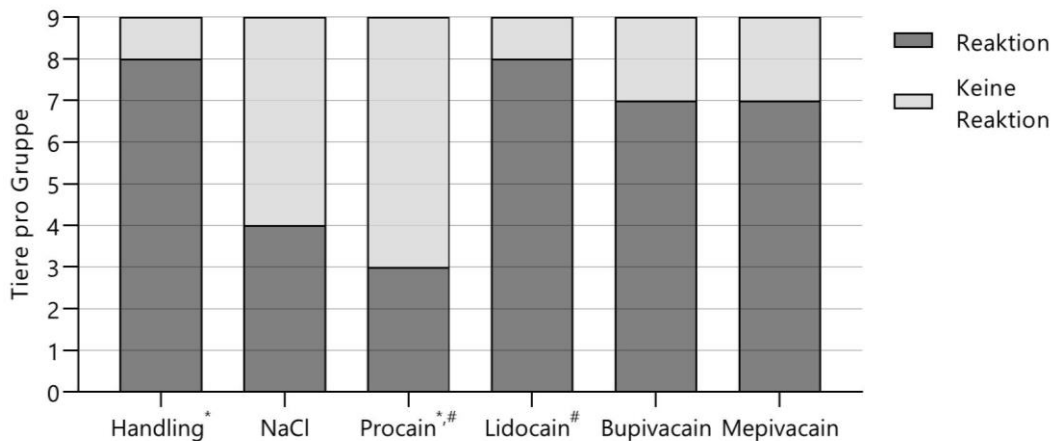


Abbildung 14. Anzahl der Tiere pro Versuchsgruppe, die auf den zweiten Zwischenzehenreflex reagierten. Die statistische Signifikanz wird angegeben durch *,# $p \leq 0,05$.

4. Isoflurankonzentration in Abhängigkeit von Alter und Körpergewicht

Tabelle 4 zeigt das Alter, das Körpergewicht und die benötigte Isoflurankonzentration der Tiere vor Injektion, also dem Zeitpunkt, an welchem das gewünschte Narkosestadium III.1 nach Guedel erreicht war.

Für die Isofluran-Konzentration fand sich keine Abhängigkeit vom Gewicht (kg) (Abbildung 15), aber eine leicht signifikante Abhängigkeit vom Alter der Ferkel (Lebenstag, LT, $p = 0,022$, $R^2 = 0,098$) (Abbildung 16) am Tag der Kastration. Die durchschnittlichen Gewichte der Gruppen in Abhängigkeit vom erreichten Lebenstag bei Kastration ergaben keinen Zusammenhang (Abbildung 17).

Tabelle 4: Übersicht über Alter (Lebenstag, LT), Anzahl (n), Körpergewicht und benötigte Isoflurankonzentration bei Injektion der untersuchten Ferkel. Die angegebenen Werte für Körpergewicht und Isoflurankonzentration sind Mittelwerte \pm SD.

Alter	3. LT	4. LT	5. LT	6. LT	7. LT
Tierzahl (n)	6	6	17	18	7
Körpergewicht (kg)	2,30 \pm 0,65	1,69 \pm 0,17	2,23 \pm 0,48	2,24 \pm 0,39	1,93 \pm 0,38
Isoflurankonzentration (%)	1,28 \pm 0,22	1,60 \pm 0,14	1,67 \pm 0,38	1,62 \pm 0,24	1,73 \pm 0,28

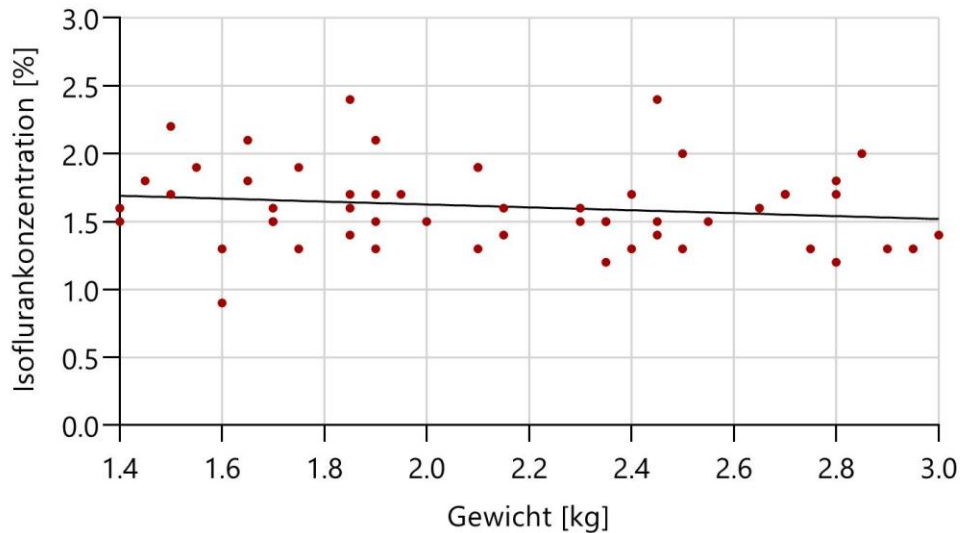


Abbildung 15: Benötigte prozentuale Isoflurankonzentration (%) für das Narkosestadium III.1 (Guedel) in Abhängigkeit von den Gewichten der Ferkel (kg) bei Kastration. Mehrere Tiere eines Gewichts, die die gleiche Isoflurankonzentration benötigten, wurden der Übersichtlichkeit halber als ein Punkt zusammengefasst.

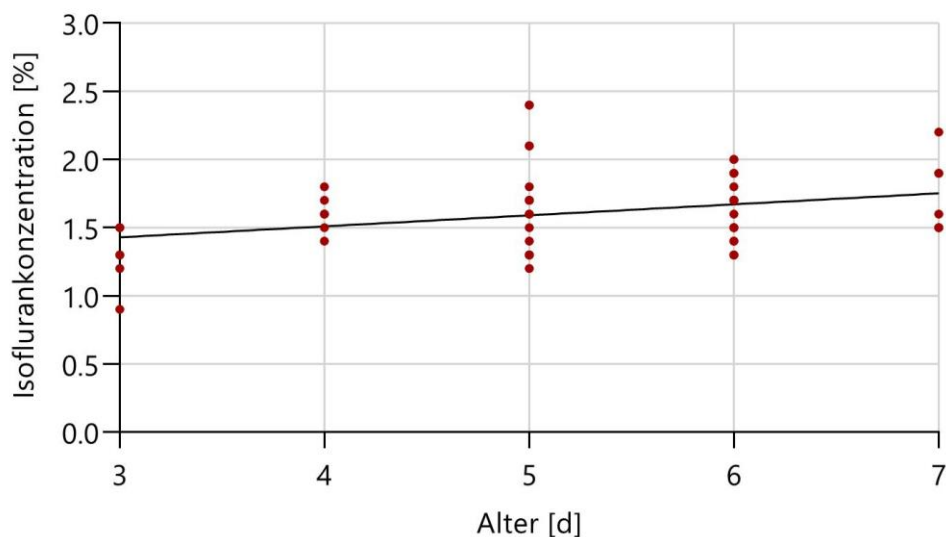


Abbildung 16: Benötigte prozentuale Isoflurankonzentration (%) für das Narkosestadium III.1 (Guedel) in Abhängigkeit von dem Alter (Lebenstag, d) der Ferkel bei Kastration ($p = 0,022$, $R^2 = 0,098$). Mehrere Tiere eines Alters, die die gleiche Isoflurankonzentration benötigten, wurden der Übersichtlichkeit halber als ein Punkt zusammengefasst.

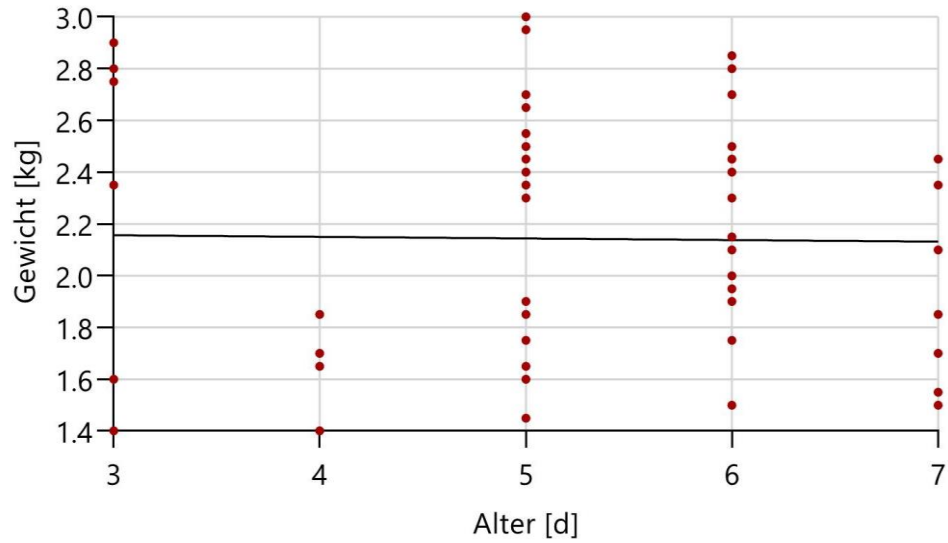


Abbildung 17: Gewichte (kg) der Ferkel in Abhängigkeit des Alters (Lebenstag, d) bei Kastration. Mehrere Tiere eines Alters, die das gleiche Gewicht aufwiesen, wurden der Übersichtlichkeit halber als ein Punkt zusammengefasst.

VI. DISKUSSION

Einer großen Studie von 2008 über die Praxis der Ferkelkastration in Europa zufolge, wurden in Deutschland jährlich 100 % der männlichen, konventionell gehaltenen Ferkel im Alter von bis zu 7 Tagen kastriert – der größte Teil davon betäubungslos (VON BORELL et al., 2008). 76 % der deutschen Bevölkerung und insgesamt 61 % der europäischen Bevölkerung finden eine betäubungslose Kastration von Saugferkeln nicht akzeptabel (ALUWÉ et al., 2020).

Diskussion des Studiendesigns

Die Mehrheit aller Studien bewertet die chirurgische Kastration männlicher Ferkel als schmerzhaften Eingriff (TAYLOR & WEARY, 2001; CARROLL et al., 2006; PRUNIER et al., 2006; VON BORELL et al., 2009; ABENDSCHÖN et al., 2020). Die betäubungslose Kastration wurde deshalb im Rahmen der Änderung des Tierschutzgesetzes seit 01. Januar 2021 verboten (TierSchG). Die vorliegende Studie ist Teil einer groß angelegten und systematischen Untersuchung zur Wirksamkeit der Lokalanästhesie bei der Saugferkelkastration. Ziel dieser Gesamtstudie ist die Bewertung der Eignung von vier Lokalanästhetika als Alternative zur betäubungslosen Kastration, wie sie bis 31.12.2020 noch legal durchgeführt wurde bzw. als Alternative zu den bereits zugelassenen Möglichkeiten. Die vorliegende Teilstudie soll evaluieren, wie sich die vier Lokalanästhetika unter einer leichten Isofluran-Narkose (III.1 nach Guedel) auf die Nozizeption bei der Ferkelkastration auswirken. Hierzu wurde die Bewertung von hämodynamischen (invasive Blutdruck- und Herzfrequenzmessung) und neurohumoralen Parametern (Katecholamine, Kortisol, Chromogranin A) herangezogen. Außerdem wurden Abwehrbewegungen anhand eines Scores und die Reaktion auf den Zwischenzehenreflex post castrationem (ZZR2) evaluiert. Im Rahmen der Versuche der vorliegenden Studie wurden an den Ferkeln weiterhin EEG-Daten aufgezeichnet und die FOS-Proteinexpression im Rückenmark bestimmt. Diese Daten sind wichtig, um ein vollständiges Bild der Verarbeitung nozizeptiver Reize auf allen Ebenen im Organismus zu erhalten. Aufgrund der Komplexität und des Umfangs

der zusätzlichen Themengebiete wurden die Daten in einer separaten Publikation bereits zur Veröffentlichung eingereicht.

Die Wahl der verwendeten Lokalanästhetika fiel auf Procain und Lidocain, da bereits eine Vielzahl an verschiedenen Konzentrationen und Applikationstechniken mit unterschiedlichen Ergebnissen evaluiert wurden (MCGLONE & HELLMAN, 1988; WHITE et al., 1995; HORN et al., 1999; GUTZWILLER, 2003; RANHEIM et al., 2005; HAGA & RANHEIM, 2005; ZÖLS, 2006; ZANKL et al., 2007; LEIDIG et al., 2009; RITTERSHAUS, 2009; COURBOULAY et al., 2010; HANSSON et al., 2011; KLUIVERS-POODT et al., 2012; KLUIVERS-POODT et al., 2013; MARŠÁLEK et al., 2015; TAVELLA et al., 2016; TELLES et al., 2016; SUTHERLAND et al., 2017; HANCOCK et al., 2018; HUG et al., 2018; LOMAX et al., 2018; PEREZ-PEDRAZA et al., 2018; RIGAMONTI et al., 2018; HOFMANN et al., 2019; RAUH et al., 2019; YUN et al., 2019). Bupivacain wurde ebenfalls in die Studie aufgenommen, da die hohe Potenz und die lange Wirkdauer besonders für den postoperativen Schmerz in weiterführenden Studienteilen interessant ist (LÖSCHER, 2010b). Allerdings wurde Bupivacain im Rahmen der Ferkelkastration bislang nur in Kombination mit Lidocain von BONASTRE et al. (2016) untersucht. Als viertes LA wurde Mepivacain ausgewählt, da es nach bisherigem Kenntnisstand zum Einsatz in der Ferkelkastration noch nicht untersucht wurde. Es besteht allerdings bereits eine Zulassung in mehreren europäischen Ländern zur intraartikulären und epiduralen Injektion bei Pferden (VETIDATA, 2021). Zusammen mit dem schnellen Wirkeintritt und der längeren Wirkdauer, verglichen mit Lidocain, ist es durchaus auch für den Anwendungsaspekt in der Ferkelkastration in Betracht zu ziehen (TACKE et al., 2012; GARCIA, 2015; ACCORD, 2019).

Die Ergebnisse zeigten eine signifikante, gruppenunabhängige Reduktion der Blutdruck- und Herzfrequenz-Veränderungen durch die Lokalanästhesie, sowohl nach Hautschnitt als auch nach Durchtrennung des Samenstrangs. Der mittlere arterielle Blutdruck erwies sich als der sensitivste Parameter für die nozizeptiven Reize während der Kastration.

Systolischer (SAP), diastolischer (DAP) und mittlerer (MAP) arterieller Blutdruck im Gruppenvergleich

In der betäubungslos kastrierten Gruppe (NaCl) wiesen die Ergebnisse der Änderung des Blutdrucks von 45,37 % (MAP), 30,73 % (SAP) und 48,93 % (DAP) nach Samenstrangdurchtrennung auf einen stark nozizeptiven Reiz bei Kastration hin. Die Handling-Gruppe H, bei welcher Injektion und Kastration nur simuliert wurden, wies im Vergleich dazu signifikant geringere Blutdruckänderungen auf. Auch die LA-Gruppen zeigten bei der Durchtrennung des Samenstrangs nur geringe Veränderungen beim systolischen, diastolischen und mittleren arteriellen Blutdruck auf und waren damit vergleichbar mit den Ergebnissen aus der Gruppe H. Auf Basis der untersuchten Parameter reduzierte der Einsatz der verwendeten Lokalanästhetika die durch die Kastration induzierte Nozizeption auf ein Minimum, vergleichbar mit einer unangenehmen Berührung im Leistenbereich, wie bei den Tieren der Handling-Gruppe. Die Daten deuten damit auf eine wirksame Reduktion nozizeptiver Parameter (Blutdruck, Herzfrequenz und Abwehrbewegungen) hin.

HAGA et al. (2001) zeigen, dass der mittlere arterielle Blutdruck im Vergleich zu Herzfrequenz und EEG der sensitivste Parameter zur Evaluation der Nozizeption im Isofluran-anästhesierten Schwein ist. In der vorliegenden Studie allerdings stellte sich der DAP als der Druck mit der höchsten Abweichung von der Baseline dar. Jedoch wies er eine größere Streuung der Werte und damit weniger signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen im Vergleich zum MAP auf. HAGA et al. (2001) untersuchen in ihrer Studie nur den MAP, sodass kein Vergleich zwischen SAP, DAP und MAP angestellt werden kann. Auch andere Kastrationsstudien legen ihr Hauptaugenmerk auf die Bestimmung des MAPs (HAGA & RANHEIM, 2005; HUG et al., 2018). HAGA und RANHEIM (2005) untersuchen allerdings, im Unterschied zu der vorliegenden Studie, den MAP während der Kastration mit Lidocain unter Halothananästhesie. Da der MAP durch die Integration der Druckpulscurve über die Zeit bestimmt wird, liegt er zwischen SAP und DAP und orientiert sich an dessen Änderungen (VON ENGELHARDT, 2010). Blutdruckänderungen, welche ausschließlich den SAP oder DAP betreffen, können so leicht übersehen

werden. Durch die kontinuierliche elektronische Erfassung des intraarteriellen Blutdrucks (alle vier Sekunden) konnten mittels der verwendeten Software in der vorliegenden Studie neben dem MAP auch SAP und DAP ausgewertet werden. Dies stellt einen Vorteil gegenüber früheren Studien, die nur den MAP betrachten, dar und ermöglicht einen vollständigeren Überblick über alle potentiellen nozizeptiven Einflüsse auf den Blutdruck. Jedoch sind die einzeln betrachteten Werte (SAP und DAP) womöglich auch fehleranfälliger, da sie jeweils einen isolierten Extremwert darstellen. Dies zeigte sich auch in der vorliegenden Studie in einer geringeren Anzahl normalverteilter Gruppen sowie weniger signifikanten Unterschieden zwischen den Gruppen im Vergleich zum MAP. Der Vorteil des MAPs ist hier, dass durch die Integration der Druckpulskurve über die Zeit eine Möglichkeit zur Reaktion auf Veränderung sowohl des SAPs als auch des DAPs gegeben ist und sich extreme Schwankungen ausgleichen (VON ENGELHARDT, 2010).

Abweichung des diastolischen arteriellen Blutdrucks im Vergleich zum mittleren und systolischen arteriellen Blutdruck

Der DAP zeigte eine höhere Abweichung gegenüber der Baseline als der SAP oder der MAP in allen Versuchsgruppen und zu allen gemessenen Zeitpunkten (Injektion, Hautschnitt und Samenstrangdurchtrennung). Dies könnte damit zusammenhängen, dass der DAP jenen Teil des Blutdrucks widerspiegelt, welcher in der Diastole, d.h. der Entspannungsphase des Herzens, vorherrscht (SILBERNAGL & DESPOPOULOS, 2012b). Da in dieser Phase kein Druck durch den Herzmuskel aufgebaut wird, herrscht der Druck, welcher im bzw. durch das Gefäßsystem generiert wird. Durch die vermehrte Ausschüttung von Katecholaminen, beispielsweise durch Schmerz oder Stress, erhöht sich der Tonus der Gefäßwände und der Blutdruck steigt. BUCKLEY et al. (1979) zeigen, dass der DAP von Saugferkeln dosisabhängig nach Noradrenalin-Injektion ansteigt. Sie detektieren einen Anstieg des DAP je nach Lebensalter (1. bis 7. Lebenstag) von 5-10 % bei 0,1 µg/kg, einen Anstieg von 15-20 % bei 0,5 µg/kg und einen Anstieg von 20-30 % bei 1 µg/kg injiziertem Noradrenalin (BUCKLEY et al., 1979). SCHULZ (2007) und MÜHLBAUER (2009) können

unabhängig voneinander einen geringfügigen Noradrenalinanstieg nach einer betäubungslosen Kastration am wachen Ferkel messen.

Die Isofluran-Narkose, in welcher sich die Ferkel im vorliegenden Versuchsaufbau befanden, konnte ebenso zu einer Stressreaktion des Körpers und damit einer Ausschüttung von Katecholaminen führen. So finden NISHIYAMA et al. (2005) einen kontinuierlichen Katecholamin- und Kortisanstieg unter Isofluran-Narkose im Menschen. Man könnte also annehmen, dass ein möglicher Anstieg des Noradrenalins infolge des nozizeptiven Reizes oder der Isofluran-Narkose, obwohl in dem vorliegenden Versuchsaufbau nicht detektierbar, einen Einfluss auf die gemessenen DAP-Werte hatte.

Eine Erklärung für den geringeren Anstieg des SAP gegenüber des DAP kann sein, dass das juvenile Herz nur eine schwache Fähigkeit aufweist, die Kontraktilität des Herzens zu steigern, und somit den Blutdruck weniger über die Inotropie (Kontraktionskraft des Herzens) als vielmehr über die Chronotropie (Herzfrequenz) regulieren muss (RANKIN, 2002).

Analyse des mittleren arteriellen Blutdrucks (MAP) im zeitlichen Verlauf post injectionem (p.i.) und Auswirkungen der Injektion auf alle evaluierten Parameter

Betrachtet man die Änderungen der MAP-Werte der verschiedenen Versuchsgruppen im zeitlichen Verlauf über einen Zeitraum von 15 Minuten p.i., so schwankten die Werte nach Injektion um den Baseline-Wert. Unmittelbar nach Injektion konnte man bei den LA-Gruppen P, B und L einen leichten Anstieg beobachten.

Der beobachtete Blutdruckanstieg von P, B und L nach der Injektion kann auf ein unangenehmes, möglicherweise nozizeptives Empfinden bei der Injektion hindeuten. Die Ferkel zeigten hier in allen Versuchsgruppen außer der Gruppe H auch deutliche Abwehrbewegungen auf die Injektion (i.t. mit subskrotalem Depot). Die maximalen Änderungen im Blutdruck und der Herzfrequenz waren bei den Ferkeln, die eine Injektion erhielten, zwar höher als in der Handling-Gruppe H, aber nicht signifikant. Offenbar liegt ein nozizeptives Empfinden auch schon bei der Injektion in den Hoden vor. Dieses Empfinden kann durch den Einstich und/oder den

daraufliegenden Volumendruck bedingt sein, welcher bei der Injektion einer Flüssigkeit auf das umliegende Hodengewebe entsteht. LEIDIG et al. (2009) zeigen vermehrte Vokalisation und Abwehrbewegungen als Zeichen einer Schmerzreaktion bei der Injektion von Lokalanästhetika. Die Autoren erklären die Reaktion mit der Stimulation von Nozizeptoren durch den Einstich der Nadel oder durch den Druck des injizierten Volumens (LEIDIG et al., 2009). Auch der niedrige pH-Wert von Lokalanästhetika kann im Gewebe mit einem physiologischen pH von 7,35 bis 7,45 (CEPEDA et al., 2010) bzw. subkutanem Gewebe mit physiologischem pH von 7,3 bis 7,6 (GERWECK & SEETHARAMAN, 1996) ein unangenehmes Brennen nach Injektion verursachen. So finden WALDMANN et al. (1994) bei der Injektion mit Hystacain vermehrte Abwehrbewegungen und begründen diese mit dem niedrigen pH-Wert des LAs von 4,3. Die handelsüblichen LA-Präparate bestehen aus einer leicht sauren wässrigen Lösung des Wirkstoffs (GRAF & NIESEL, 2010). In dieser Lösung liegen die basischen Substanzen protoniert in ionischer Form vor, in der Regel als Hydrochlorid (GRAF & NIESEL, 2010). Dadurch werden die Substanzen wasserlöslich und zusätzlich stabilisiert, wodurch sich die Lagerfähigkeit erhöht (GRAF & NIESEL, 2010). So zeigen beispielsweise FRANK und LALONDE (2012), dass Lidocain 2 % ohne Adrenalin-Zusatz einen pH-Wert von $6,00 \pm 0,27$ aufweist und mit Adrenalin-Zusatz von 1:100.000 sogar auf $\text{pH } 3,93 \pm 0,43$ absinkt. Auch für Bupivacain 0,5 % wird ein pH von nur $5,49 \pm 0,86$ angegeben, wobei der Zusatz von Adrenalin mit 1:400.000 keinen großen Unterschied zu machen scheint ($\text{pH } 5,53 \pm 0,57$) (MCMORLAND et al., 1988). BEST et al. (2015) untersuchen die pH-Werte von Lidocain und Bupivacain und geben für Lidocain 2 % einen pH von $6,42 \pm 0,47$ und für Bupivacain 0,5 % einen pH von $5,55 \pm 0,09$ an. Hierbei finden sie jedoch bei beiden Lokalanästhetika eine drastische pH-Wert-Senkung bei Zusatz von Adrenalin (Lidocain 2 % mit Adrenalin 1:100.000: $\text{pH: } 4,23 \pm 0,08$; Bupivacain 0,5 % mit Adrenalin 1:200.000: $\text{pH: } 4,26 \pm 0,14$). Mepivacain 2 % wird mit einem pH-Wert von $5,85 \pm 0,46$ angegeben und zeigt somit einen ähnlich sauren pH-Wert wie die beiden vorher genannten Lokalanästhetika (CAPOGNA et al., 1989). Um den Wirkungseintritt zu beschleunigen und die Wirkdauer zu verlängern, wird Lokalanästhetika

häufig ein sogenannter Sperrkörper (z.B. Adrenalin) zugesetzt (TACKE et al., 2012). In der vor der Hauptstudie durchgeführten Pilotstudie (Kapitel IV.8) zeigte sich, dass die Injektion eines NaCl-Adrenalin-Gemisches i.t. in Kombination mit subskrotalem Depot die Messungen der hämodynamischen Parameter (Kapitel IV.8, Abbildung I) und des Plasma-Adrenalins (Kapitel IV.8, Abbildung II) beeinflusste. Die zu evaluierenden Lokalanästhetika wurden daraufhin in der Hauptstudie ohne Sperrkörper-Zusatz verwendet, um einen Einfluss auf Blutdruck- und Herzfrequenzänderungen auszuschließen. Die pH-Wert-Absenkung sollte jedoch bei der möglichen späteren Anwendung von Lokalanästhetika mit Sperrkörperzusatz im Feld beachtet werden.

Laut Firmenangaben liegen die pH-Werte der untersuchten Lokalanästhetika ohne Sperrkörper-Zusatz durchgehend im sauren Bereich: Bupivacain 0,5% JENAPHARM® bei 4,0 – 6,0, Xylocitin®-loc 2% bei 5,5 – 6,5, Procaine Hydrochloride 4% bei 3,0 – 4,5 und Mepidor® 20 mg/ml Injektionslösung für Pferde bei ca. 5,4. Auch die verwendete NaCl 0,9 %-Lösung hat nach Angaben der Firma einen leicht sauren pH-Wert von 4,5 – 7,0. Ein Brennen im Gewebe nach Injektion ist somit nicht auszuschließen.

HANNA et al. (2009) zeigen beim Menschen, dass der Schmerz durch die Injektion von Lokalanästhetika verschiedene Ursachen hat. Der Schmerz kann beispielsweise durch Zugabe von Bicarbonat reduziert werden (HANNA et al., 2009). HOGAN et al. (2011) schlagen zur Abmilderung des Injektionsschmerzes auch eine Erwärmung des LAs vor. STRAZAR et al. (2013) beschäftigen sich in ihrer Arbeit ebenfalls mit den unterschiedlichen Möglichkeiten, wie man die Injektion von Lidocain mit Adrenalinzusatz angenehmer gestalten kann. So raten sie zum Beispiel, das LA mit 8,4 % Bicarbonat abzapuffern, anzuwärmen, möglichst Kanülen mit geringem Durchmesser zu verwenden oder die Spritze zu stabilisieren, sodass die Kanüle nicht wackelt (STRAZAR et al., 2013). Weiterhin sollten gepufferte Lokalanästhetika mit geringeren Injektionsvolumina sowie unterschiedliche Injektionstechniken in weiteren Studien untersucht werden, um die Injektion für die Ferkel angenehmer zu gestalten und der Anforderung des Tierschutzgesetzes an eine

Schmerzausschaltung während der Kastration gerecht zu werden (TierSchG, 2020).

Innerhalb der drei Gruppen P, B und L zeigte die Bupivacain-Gruppe mit einer Veränderung von 3,53 %, die höchste MAP-Veränderung direkt nach der Injektion im Vergleich zur Baseline vor Injektion. Auffällig ist der kurze Abfall bei Minute 5 und der stetige und zeitgleich höchste Anstieg innerhalb dieser Gruppe bis Minute 15 auf 5,93 %. Dieser kurzzeitige Blutdruckabfall könnte auf eine hypotone Wirkung nach systemischer Aufnahme von Bupivacain zurückzuführen sein. Eine kreislaufdepressive Wirkung ist bei systemischer Applikation bei den meisten Lokalanästhetika beschrieben (ZINK & ULRICH, 2018). Sie ist jedoch bei Bupivacain aufgrund des Vorkommens als Racemat mit beinhaltenem (R)-(+)-Isomer, welches eine verstärkte Affinität zu den kardialen Na⁺-Kanälen aufweist, erhöht (ZINK & ULRICH, 2018). Zum Zeitpunkt der Injektion lag die Procain-Gruppe, welche dann einen initialen Anstieg von 3,01 % zeigte, knapp unter der Gruppe B. Sie fiel aber nach 5 Minuten auf -2,12 % ab und verblieb im Verlauf konstant bei den anderen Gruppen. Dies kann auf eine unangenehme Empfindung nach Injektion aufgrund des niedrigen pH-Wertes von Procain (3,0-4,5), der nach 5 Minuten bereits wieder neutralisiert wurde, hinweisen.

Eine alternative Erklärung für die gemessenen minimalen Anstiege der LA-Gruppen P, B und L könnte sein, dass diese durch physiologische Blutdruckschwankungen zustande gekommen sind. Hierfür würde die große Streuung der Werte zwischen den Einzeltieren und die damit einhergehende große Standardabweichung (Abbildung 10) sprechen. Üblicherweise wird ein sogenanntes „rescue analgesic protocol“ erst ab einem Blutdruck- und/oder Herzfrequenz-Anstieg von 20 % verabreicht und somit auch erst ab einem dementsprechenden Anstieg ein nozizeptives Empfinden vermutet (BOVA et al., 2015; GAUDET-FERRAND et al., 2018; JAIN et al., 2019). Der Vergleich der maximalen Abweichungen des MAP nach Injektion ließ ebenfalls keine signifikanten Unterschiede zwischen den einzelnen Versuchsgruppen erkennen. Dies lässt vermuten, dass die beobachteten geringen Schwankungen auch zufälliger Natur sein können.

Analyse des mittleren arteriellen Blutdrucks im zeitlichen Verlauf post castrationem (p.c.)

Nach Kastration zeigte die NaCl-Gruppe einen Anstieg des MAP über eine Minute um $36,93 \pm 17,45$ % (maximale Abweichung 24,29 % nach Hautschnitt, 45,37 % nach Samenstrangdurchtrennung) und verblieb im weiteren zeitlichen Verlauf mindestens 10 % über der Baseline vor Kastration. Diese Ergebnisse spiegeln einen akuten, starken nozizeptiven Reiz wider, welcher den Blutdruck schnell ansteigen lässt, und eine länger anhaltende, langsam abfallende Reaktion, welche auf andauerndes Leiden hindeutet. BOVA et al. (2015) setzen in ihrer Arbeit bei Blutdruck- und Herzfrequenzanstieg über 20 % fest, dass ein sogenanntes „rescue analgesic protocol“ bestehend aus Fentanyl und Lidocain anzuwenden sei. Mit einem maximalen Anstieg von 24,29 % während des Hautschnitts und 45,37 % während der Samenstrangdurchtrennung wird so klar ersichtlich, dass die Kastration schmerzhaft ist und nicht betäubungslos durchgeführt werden darf. Ebenfalls konnte in der vorliegenden Studie mittels der untersuchten Parameter gezeigt werden, dass die Samenstrangdurchtrennung der schmerzhafteste Teil der Ferkelkastration ist (TAYLOR & WEARY, 2001). Obwohl der Graph der Blutdruckänderung in der vorliegenden Studie nach dem initialen Anstieg nach Kastration im weiteren Verlauf unterhalb von 20 % verblieb, kehrten die Werte nicht zum Ausgangswert zurück und lagen deutlich über den Vergleichsgruppen der Lokalanästhetika und der Handling-Gruppe. Diese Erkenntnis fügt sich in die Reihe von Studien ein, welche belegen, dass die betäubungslose Kastration schmerzhaft ist und widerspricht auch der lange aufrecht erhaltenen These, dass Neonaten aufgrund des noch nicht vollständig ausgebildeten Nervensystems ein geringeres Schmerzempfinden besitzen als adulte Individuen (ANAND & HICKEY, 1987; TAYLOR & WEARY, 2001; TAYLOR et al., 2001; HAGA & RANHEIM, 2005; VON BORRELL et al., 2009; HANSSON et al., 2011; KLUIVERS-POODT et al., 2012; OHLSSON & SHAH, 2016).

Auch die Blutdruckwerte der Procain-Gruppe erreichten innerhalb von 40 Minuten nach Kastration nicht mehr den Wert der Baseline vor Kastration. Der Anstieg war jedoch um ein Vielfaches geringer als bei der NaCl-

Gruppe und schwankte im weiteren zeitlichen Verlauf zwischen 2,20 % und 4,62 % oberhalb der Baseline. Zum Zeitpunkt der Kastration selbst war der Wert sogar 0,60 % niedriger als der Baseline-Wert vor Kastration. Procain schaffte somit eine Reduktion der nozizeptiven Reaktion, zeigte aber im Hinblick auf die anderen Lokalanästhesiegruppen eine tendenziell schlechtere Wirkung. Auch HOFMANN et al. (2019) zeigen in ihrer Studie, dass auf Basis von Kortisol- und Chromogranin A-Werten Procain im Vergleich zu Lidocain eine insuffiziente Schmerzabdeckung bei der chirurgischen Ferkelkastration bietet und teilweise schlechter abschneidet als betäubungslos kastrierte Tiere. Auch RAUH et al. (2019) stellen dar, dass die Ergebnisse der erfassten Verhaltens- und endokrinologischen Parameter (Adrenalin und Noradrenalin) der Procain-Gruppe im Hinblick auf die Schmerzausschaltung bei der chirurgischen Kastration schlechter ausfallen als die Vergleichsgruppen mit Lidocain und Handling. ZÖLS (2006) und ZANKL (2007) finden ebenfalls keine zufriedenstellende Schmerzausschaltung bei Anwendung von Procain in der chirurgischen Kastration von Saugferkeln. Obwohl Procain bereits in vorhergehenden Studien als weniger wirksames LA beschrieben wurde, wurde es dennoch in diese Studie aufgenommen. Grund hierfür ist, dass Procain in Deutschland derzeit das einzig zugelassene LA für Schweine ist (VETIDATA, 2021). Eine Zulassung anderer Lokalanästhetika würde aufgrund des langwierigen Prozederes der Bestimmung von Rückstandshöchstmengen (MRL-Werte) einen möglichen Einsatz stark verzögern.

Gruppe L wies bei Minute 10 nach Kastration einen negativen Peak im mittleren arteriellen Blutdruck auf. Möglich ist, dass durch die Eröffnung der Gefäße bei Kastration ein Teil des LAs unabsichtlich auch systemisch verabreicht wurde. Durch den fehlenden Sperrkörper des LAs in der vorliegenden Studie und die damit fehlende vasokonstriktive Wirkung an der Injektionsstelle ist diese Möglichkeit höher als bei handelsüblichen Lokalanästhetika mit zugesetztem Sperrkörper. Da Lidocain eine hypotone Wirkung besitzt, ist es also möglich, dass es nach Kastration bei einigen Tieren zu einer vorübergehenden Blutdrucksenkung und somit auch einer Senkung des Mittelwertes geführt hat (MUIR, 2015; MIBE, 2020).

Gruppe B zeigte einen Blutdruck-Abfall bis Minute 20 auf -10,81 % und verblieb anschließend auf einem Niveau von ca. -8 % unterhalb der Baseline vor Kastration. Auch bei Bupivacain ist es möglich, dass das LA einen Einfluss auf den Kreislauf genommen hat. Durch seine langsamere Anflutungszeit und die niedrige therapeutische Breite des LAs ist es möglich, dass auch nach 20 Minuten noch aufgrund des fehlenden Sperrkörpers eine systemische Wirkung auf die kardiovaskulären Parameter, d.h. Blutdruck und Herzfrequenz, im Körper eingetreten sein kann (GARCIA, 2015; MUIR, 2015; MIBE, 2019). Im Zusammenhang mit den möglichen Erklärungen der Verläufe des Blutdrucks ist allerdings zu sehen, dass die Standardabweichungen hoch waren und eine große Streuung zwischen den Einzeltieren vorlag. Insofern ist es möglich, dass die beobachteten Effekte zufällig aufgetreten sein können.

Die Blutdruck-Werte der Mepivacain- sowie der Handling-Gruppe verliefen nach Kastration bzw. der simulierten Kastration konstant leicht unterhalb der Werte der Baseline vor dem Event. Gruppe M lag hierbei noch unter Gruppe H zwischen -4,27 und -8,39 %. Durch den geringeren vasodilatatorischen Effekt von Mepivacain verglichen mit anderen Lokalanästhetika erscheint das Risiko geringer, dass das LA über die Kastrationswunde in die Blutbahn gelangen konnte (GARCIA, 2015). In der Gruppe H wurde der Ablauf der Kastration nur simuliert und keine invasiven Eingriffe vorgenommen. So kann auch erklärt werden, weshalb bei beiden Gruppen keine extremen Peaks nach der Kastration als Hinweis auf Nebenwirkungen auftraten.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass allen voran die NaCl-Gruppe als die Gruppe mit den stärksten nozizeptiven Reaktionen im MAP auffiel. Unter den LA-Gruppen fiel Gruppe P durch den positiven Anstieg des MAPs im 40-Minuten-Verlauf nach Kastration auf. Dies lässt darauf schließen, dass hier keine länger anhaltende suffiziente Ausschaltung der Nozizeption vorhanden war. Zwischen Gruppe L, B und M ließ sich keine Abstufung treffen. Allerdings ist hervorzuheben, dass Gruppe M den konstantesten Graphen parallel zur Negativkontrollgruppe H aufwies. Gruppe H zeigte sowohl bei Injektion als auch bei Kastration einen konstant verlaufenden Graphen knapp unterhalb des Baseline-Werts.

Dieser Effekt könnte auf das gewählte Versuchsmodell zurückzuführen sein. Durch den Einsatz einer Inhalationsnarkose mit dem Narkosegas Isofluran ist es möglich, dass es im Narkoseverlauf aufgrund der hypotensiven Wirkung von Isofluran zu einem leichten Blutdruckabfall gekommen ist (LÖSCHER, 2010a). Da die Schwankungen jedoch nur im Bereich von maximal -3,94 % (+ 25 Minuten p.c.) aufgetreten sind, lässt sich dies als vernachlässigbare, möglicherweise auch natürliche Blutdruckschwankung einordnen.

Herzfrequenz im Verlauf post injectionem und post castrationem

Bei der Messung der Herzfrequenz zeigte einzig Gruppe L direkt nach Injektion einen Anstieg im Mittelwert gegenüber der Baseline von 1,34 %. Alle anderen Gruppen wiesen keinen Anstieg des Mittelwerts über eine Minute während Injektion auf und schwankten minimal im weiteren Verlauf um den Baseline-Wert.

In der 20-minütigen Zeitspanne nach Injektion, in der die Tiere keinen manipulativen Reizen ausgesetzt waren, fielen die Herzfrequenzen aller Gruppen leicht ab. Einzig die Gruppe NaCl zeigte einen parallelen Verlauf zur Nulllinie und damit keine Veränderung zum Baseline-Wert. Gruppe B war mit minimal -0,97 % die Gruppe mit dem niedrigsten Abfall, wohingegen die durchschnittliche Herzfrequenz der M-Gruppe bei Minute 10 nach Injektion auf -4,61 % absank und einen ähnlichen Verlauf wie Gruppe P (Minimum von -3,81 %) zeigte. Die Handling-Gruppe fiel auf minimal -2,51 % ab und lag damit zwischen den anderen Gruppen, fast parallel zu der Lidocain-Gruppe. Der Abfall der Herzfrequenz über die Zeit bei fast allen Gruppen kann auf die Ausschaltung der externen Reize infolge der Isofluran-Narkose zurückzuführen sein. Über die Zeit von 20 Minuten, ohne Stimulation der Tiere oder anhaltend unangenehme Reize, ist es möglich, dass die Herzfrequenz deswegen absank.

Die NaCl-Injektion hatte keinen betäubenden Effekt zur Folge. Es ist möglich, dass das Ferkel die unangenehme Empfindung von Einstich und Druck im Gewebe anhaltend wahrgenommen hat, da die Herzfrequenz nicht wie in den meisten Gruppen, einschließlich der Negativ-Kontrollgruppe H, im Laufe der 20 Minuten abgefallen ist. Auch die

Gruppe B verhielt sich ähnlich. Durch den mittelschnellen Wirkungseintritt kann es sein, dass bei dieser Gruppe aufgrund des verzögerten Wirkungseintritts von Bupivacain der Druck sowie ein Brennen bei Injektion im Gewebe länger wahrgenommen wurde (GARCIA, 2015). Dem widerspricht jedoch, dass auch die Procain-Gruppe, das LA mit dem langsamsten Wirkungseintritt, einen abfallenden Verlauf in der Herzfrequenz, ähnlich der Gruppe H, zeigte.

Nach Kastration war bei der Gruppe NaCl der höchste Anstieg um 2,08 % zu beobachten. Dies kann als starke nozizeptive Reaktion auf die Kastration gewertet werden. Diese Annahme wird dadurch unterstrichen, dass es sich bei der betäubungslosen Kastration um ein bereits bewiesenes, schmerzhaftes Prozedere handelt (TAYLOR & WEARY, 2001; TAYLOR et al., 2001; HAGA & RANHEIM, 2005; HANSSON et al., 2011; KLUIVERS-POODT et al., 2012). Allerdings beschreiben BOVA et al. (2015) und JAIN et al. (2019) einen intraoperativen Anstieg der Herzfrequenz erst ab 20 % als Auslöser zur Verabreichung von Analgetika. Ein solch massiver Anstieg der Herzfrequenz konnte in der vorliegenden Studie zu keinem Zeitpunkt verzeichnet werden. Dies kann damit zusammenhängen, dass die vegetative Innervation des Herzens noch unreif ist und somit das volle Ausmaß der Nozizeption noch nicht wiedergegeben werden kann (ERHARDT et al., 2012e). Umso wichtiger ist die Erhebung von unterschiedlichen Parametern, um ein umfassendes Bild des nozizeptiven Geschehens eines Organismus zu erhalten.

Auch Gruppe L zeigte einen Anstieg der Herzfrequenz um 0,80 % und war somit die Gruppe mit dem zweithöchsten Anstieg nach Kastration, was auf ein unangenehmes Empfinden hinweisen kann. Auffällig war der Abfall der Herzfrequenz der Gruppen NaCl und B über den Zeitraum von 40 Minuten nach Kastration. Die Gruppe NaCl zeigte nach dem Anstieg bei Kastration einen Abfall um bis zu -3,77 %. Dies ist ein gegenläufiges Verhalten zu den gemessenen Werten des MAP. Bei Isofluran-anästhesierten Pferden stellen HAGA und DOLVIK (2005) ebenfalls einen Anstieg im MAP und einen Abfall der Herzfrequenz als gegenläufige Reaktion nach Kastration fest.

Der Graph der Gruppe B zeigte den stärksten Abfall der Herzfrequenz von allen Versuchsgruppen auf bis zu -6,24 % 35 Minuten p.c. Der starke Abfall der Werte der Bupivacain-Gruppe im MAP deutet darauf hin, dass ein möglicher kardiotoxischer Effekt durch das LA vorlag. Nach Hautschnitt und Samenstrangdurchtrennung wird eine Vielzahl von Blutgefäßen eröffnet, sodass das Eintreten des LAs in die Blutbahn mit systemischer Wirkung p.c. auch aufgrund des fehlenden Sperrkörpers nicht unwahrscheinlich ist. Die kardiotoxischen Effekte sind neben den zentralnervösen Wirkungen bei Bupivacain beschrieben (MIBE, 2019; EBERSPÄCHER-SCHWEDA, 2020b). So kann es unter anderem zu einem Abfall des Blutdrucks und einer Verlangsamung der Herzfrequenz führen (MIBE, 2019). Zentralnervöse Symptome können aufgrund der Allgemeinanästhesie (Isofluran-Narkose) fehlen (MIBE, 2019). Im Zusammenhang mit der Kardiotoxizität des Bupivacains sind Arrhythmien beschrieben (ZINK & ULRICH, 2018). Obwohl alle verwendeten Lokalanästhetika in hohen Dosen verabreicht wurden, sind Arrhythmien in der vorliegenden Studie im aufgezeichneten EKG nicht aufgefallen. Ebenfalls konnten keine anderen akuten, beispielsweise kardiovaskulären oder respiratorischen, Nebenwirkungen beobachtet werden.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die Veränderungen des Blutdrucks in Verbindung mit der Herzfrequenz nach der Kastration größere Änderungen als nach der Injektion zeigten. Dabei erwies sich der Blutdruck sensitiver gegenüber nozizeptiven Reizen als die Herzfrequenz. Daraus kann geschlossen werden, dass die Kastration deutlich schmerzhafter ist als die Injektion. Jedoch ruft auch die Injektion eine Veränderung der kardiovaskulären Parameter hervor, sodass man davon ausgehen muss, dass auch diese Prozedur von den Ferkeln als unangenehm empfunden wird.

Änderungen von Blutdruck und Herzfrequenz in Folge eines nozizeptiven Reizes

Bei ungefähr der Hälfte der Tiere fiel der Blutdruck und teilweise auch unabhängig davon die Herzfrequenz in Folge der Kastration ab. Dies lässt sich damit erklären, dass es bei starken Schmerzen, wie beispielsweise durch ein Trauma oder Dehnung abdominalen oder perinealen Eingeweide

verursacht, zu einer Aktivierung des Parasympathikus bzw. einer Deaktivierung des Sympathikus kommen kann (NIJHAWAN & WARLTIER, 2000; KLABUNDE, 2005). Folglich kann ein paradoxer Effekt auf einen nozizeptiven Reiz in Form eines Blutdruck- bzw. eines Herzfrequenzabfalls zustande kommen, der in der Literatur auf eine vasovagale Aktivierung zurückgeführt wird (VAN LIESHOUT et al., 1991; NIJHAWAN & WARLTIER, 2000; KLABUNDE, 2005). Eine vergleichbare Nozizeption wäre auch durch den Zug am Samenstrang und damit am Peritoneum der Ferkel während der Kastration denkbar. Des Weiteren sind bereits in der Literatur ein Blutdruck- und/oder ein Herzfrequenzabfall bei Ferkeln, Lämmern und Kälbern unter Halothananästhesie bei verschiedenen zootecnischen Eingriffen beschrieben (HAGA & RANHEIM, 2005; JOHNSON et al., 2009; LEHMANN et al., 2017).

Eine mögliche alternative Erklärung für die beobachteten paradoxen kardiovaskulären Reaktionen wäre ein Einfluss durch das verwendete Narkosegas Isofluran. Bei Halothan ist ab einer bestimmten Konzentration ein Abfall des Blutdrucks als Reaktion auf nozizeptive Reize bei Ratten bereits beschrieben (GIBBS et al., 1989). Dieser Effekt wurde jedoch bei Tieren unter Isoflurananästhesie bislang nicht beobachtet, sodass diese Überlegung im vorliegenden Versuchsaufbau ausgeschlossen werden kann. Andererseits könnten für den Abfall des Blutdrucks als Reaktion auf einen nozizeptiven Reiz auch Veränderungen der Atemfunktion oder des peripheren Gefäßwiderstands verantwortlich sein (TAYLOR et al., 1998; JOHNSON et al., 2009). Aufgrund der genannten möglichen Ursachen für die unterschiedlichen hämodynamischen Reaktionen wurde in der vorliegenden Arbeit die maximale Abnahme von Blutdruck und Herzfrequenz in direktem Zusammenhang mit einem potenziell nozizeptiven Stimulus ebenso wie die maximale Zunahme als Zeichen einer wahrgenommenen Nozizeption bewertet. Der Terminus der *maximalen Abweichungen* von der Baseline wurde deswegen bewusst für den Absolutwert der Abweichung gewählt. Die Verlaufsgraphen von MAP und Herzfrequenz nach Injektion und Kastration, die den Verlauf der Mittelwerte der Gruppen über jeweils eine Minute widerspiegeln, berechneten sich jedoch anhand der vorzeichenbehafteten Werte.

Abwehrbewegungen während Injektion und Kastration in Folge eines nozizeptiven Reizes

Während der Injektion und der Kastration (Hautschnitt und Samenstrangdurchtrennung) wurden die Abwehrbewegungen der Ferkel gefilmt und anschließend anhand eines Scores bewertet. Die NaCl-Gruppe wies die meisten Abwehrbewegungen auf. Die LA-Gruppen P, L, B und M zeigten eine Reduktion der Abwehrbewegungen während der Kastration, wohingegen sich in der Gruppe H kein Ferkel während einem der Events (Injektion, Hautschnitt, Samenstrangdurchtrennung) bewegte. In Studien an wachen Ferkeln ist ebenfalls eine Reduktion der Abwehrbewegungen, die unter Lokalanästhesie kastriert wurden, festgestellt worden (HORN et al., 1999; HANSSON et al., 2011; RAUH et al. 2019). Zu überlegen ist in der vorliegenden Studie, ob die Isoflurananästhesie nur mehr ein abgeschwächtes Bild der Abwehrreaktionen zulässt. Bei volatilen Anästhetika ist beschrieben, dass sie konzentrationsabhängig Bewegungen als Reaktion auf nozizeptive Reize hemmen (EGER et al., 2008). Somit ist es möglich, dass man im wachen Zustand vermehrt Abwehrreaktionen hätte feststellen können. Hierbei ist jedoch abermals zu bedenken, dass Ferkel beim Handling in Zusammenhang mit Angst und Stress ebenfalls vermehrt Abwehrreaktionen zeigen (ABENDSCHÖN et al., 2020). Daraus kann man schließen, dass die beobachteten Abwehrreaktionen auf das nozizeptive Empfinden zurückzuführen sind.

Um sicherzustellen, dass eine Reaktion auf nozizeptive Reize noch möglich war, wurde in der vorliegenden Studie die Isoflurankonzentration individuell anhand des Vorliegens des Zwischenzehenreflexes eingestellt. Da in der NaCl-Gruppe nur sechs von neun Ferkel Abwehrbewegungen zeigten, könnte es dennoch möglich sein, dass bei manchen Tieren durch die Anästhesie Abwehrreaktionen unterdrückt waren. Insgesamt betrachtet spiegeln sich die beobachteten Abwehrbewegungen jedoch in den Ergebnissen von Blutdruck und Herzfrequenz wider. Hierbei wird abermals deutlich, dass Nozizeption ein komplex zu erforschendes Themengebiet darstellt und nicht nur ein Parameter alleine zur Evaluation verwendet werden darf.

Ergebnisse der analysierten Stresshormone im Gruppenvergleich

Die Literatur zeigt sich divergierend bezüglich der Evaluation von Schmerz, Stress oder Angst anhand von neurohumoralen Parametern während der Ferkelkastration unter Lokalanästhesie. Dies lässt sich auf die Verwendung von unterschiedlichen Lokalanästhetika, Konzentrationen, Anwendungszeiten und -arten zurückführen. Ein direkter Vergleich ist somit nur schwer anzustellen.

SUTHERLAND et al. (2017) beispielsweise zeigen, dass die Kortisolkonzentrationen im Blutplasma bei Ferkeln nach Kastration, unabhängig von Anwendung einer Lokalanästhesie, ansteigen. Im Gegensatz dazu verblieben die Handling-Kontrolltiere auf einem niedrigeren Niveau (SUTHERLAND et al., 2017). Diese Erkenntnis deckt sich mit erhöhten Kortisol-Werten post castrationem in den Studien von PRUNIER et al. (2005) und CARROLL et al. (2006). In anderen Studien waren die Serumkortisolspiegel von Ferkeln, die mit Lokalanästhetika kastriert wurden, teilweise sogar höher als in den Kontrollgruppen (ZANKL et al., 2007; BARTICCIOTTO et al., 2016). RAUH et al. (2019) beobachten sogar einen Anstieg von Adrenalin und Noradrenalin bei Ferkeln, denen Procain 2 % injiziert wurde. Bei der Bestimmung von Kortisol- und Chromogranin A-Werten im Rahmen der Ferkelkastration mit Einsatz von Procain 2 % bzw. Lidocain 1 % und 5 % kommen HOFMANN et al. (2019) zu einem ähnlichen Ergebnis.

In der vorliegenden Studie konnte von keinem der analysierten neurohumoralen Parameter eine Aussage über die Wirkung der Lokalanästhetika in der Ferkelkastration getroffen werden. Weder in den Messungen der Katecholamine unmittelbar nach den Events (Injektion, Kastration) noch in den Messungen von Kortisol und Chromogranin A nach 20 und 40 Minuten konnte ein Unterschied zwischen den Gruppen gefunden werden. Zudem wurden in Gruppe H bei allen bestimmten neurohumoralen Parametern höhere Werte gemessen als in der Gruppe NaCl. Damit wird deutlich, dass es in der vorliegenden Studie nicht möglich war, Nozizeption mittels Blutparameter zu messen. Eine mögliche Erklärung hierfür könnte sein, dass der Versuchsaufbau eine leichte Isofluran-Narkose mit Spontanatmung beinhaltet hat. Eine Narkose in

dieser Form benötigt eine Maskeneinleitung, die auch Stress für das Tier bedeutet. Obwohl auch das Handling zuvor in einer ruhigen Umgebung und in unmittelbarer Nähe zum Stall ohne lange Transportwege stattgefunden hat, kann nicht garantiert werden, dass das Tier stressfrei eingeschlafen ist. Diese Vermutung stützen auch die hohen Basis-Kortisolwerte verglichen mit anderen Studien (ZÖLS et al., 2006; SCHULZ et al., 2007; ZANKL et al., 2007). Die Baseline-Blutproben wurden im Durchschnitt 31 Minuten ($31,04 \pm 7,10$ Minuten) nach Narkoseeinleitung entnommen. Das würde dem Kortisol-Peak entsprechen, der bereits in anderen Studien nach 30 bis 60 Minuten beschrieben ist (ZÖLS, 2006; SCHIELE, 2010; HOFMANN et al., 2019). Die gleichzeitig niedrige Katecholamin-Baseline könnte durch das Fehlen von akutem Handling-Stress erklärt werden. Sowohl Ausschüttung als auch Abbau der Katecholamine im Körper erfolgt durch Exozytose und einer Halbwertszeit von 20 Sekunden bis 10 Minuten schnell (MÖSTL, 2010; DEUTZMANN, 2012). Mit dieser Annahme geht einher, dass die Baseline vergleichbar mit Studien war, bei denen an wachen Ferkeln ohne Handling-Stress über einen venösen Port Blut abgenommen wurde (MAYFIELD et al., 1989). Ebenfalls vergleichbar waren die Baseline-Werte mit Ferkeln, von denen Blutproben unter Isofluran-Narkose stressarm ohne venösen Port gewonnen wurden (SCHULZ et al., 2007).

Signifikante Anstiege wurden in der vorliegenden Studie nur in den gemessenen Adrenalin- und Kortisolkonzentrationen innerhalb der Gruppen gefunden. Möglich ist, dass die längere Dauer der Isofluran-Narkose selbst einen möglichen Stressanstieg innerhalb der Gruppen zur Folge hatte. NISHIYAMA et al. (2005) beschreiben einen kontinuierlichen Anstieg der Katecholamin- und Kortisolkonzentrationen unter länger andauernder Isoflurananästhesie beim erwachsenen Menschen. Es ist deshalb möglich, dass eine ähnliche Reaktion auch bei den untersuchten Ferkeln aufgetreten sein könnte.

Zwischenzehenreflex post castrationem

Abbildung 14 stellt dar, wie viele Tiere p.c. noch eine Reaktion auf den Zwischenzehenreflex zur Überprüfung der Narkosetiefe gezeigt haben. Auffallend sind hier vor allen Dingen die Gruppen H und L, da noch fast alle Tiere dieser Gruppen (8 von 9 Tieren) auf das Klemmen im Zwischenklauenspalt reagierten und einen signifikanten Unterschied zu Gruppe P aufweisen. Im Gegensatz dazu zeigten wenige Tiere aus den Gruppen NaCl (4 von 9 Tieren) und P (3 von 9 Tieren) eine Reaktion. Dies kann darauf hindeuten, dass die Tiere in diesen Gruppen in einem falschen Narkosestadium (III.2 nach Guedel), d.h. zu tief in Narkose lagen und möglicherweise den Reiz im Zwischenklauenspalt nicht mehr wahrgenommen haben. Dieser Annahme widerspricht jedoch, dass die Abwehrreaktionen zum Zeitpunkt der Samenstrangdurchtrennung, welche 4 Minuten vor ZZR2 stattgefunden hat, bei eben jenen Gruppen intensiver waren (NaCl: 8,4 Scorepunkte; P: 0,2 Scorepunkte) und sich mehr Tiere bewegt haben (NaCl: 6 von 9 Tieren; P: 1 von 9 Tieren) als bei den Vergleichsgruppen.

Eine alternative Erklärung für die geringere Anzahl an Ferkeln mit Reaktion auf den ZZR2 in den Gruppen NaCl und P könnte die Ausschüttung von β -Endorphinen in Folge der schmerzhaften Kastration sein. Als Antwort auf Stress gibt der Organismus unter anderem vermehrt β -Endorphine als endogene Opioide an das System ab (HUBER, 2015). β -Endorphine entstehen zusammen mit ACTH, α -Melanozytenstimulierendem Hormon (α -MSH) und anderen biologisch aktiven Peptiden aus dem Vorläuferprotein POMC (HUBER, 2015). Sie vermitteln über μ - und δ -Opioidrezeptoren eine analgetische Wirkung, sodass der Organismus in Stresssituationen nicht noch durch zusätzlich empfundenen Schmerz gehemmt wird (HUBER, 2015). Außerdem bewirken β -Endorphine durch ein negatives Feedback eine verminderte Ausschüttung von CRH und schwächen somit die Stressachse im Organismus zusätzlich ab (HUBER, 2015). Durch den erlebten nozizeptiven Reiz der Kastration in den Gruppen NaCl und P ist es wahrscheinlich, dass vermehrt β -Endorphine freigesetzt wurden und somit der leichtere Reiz durch den Zwischenzehenreflex nicht mehr in dem Ausmaß wahrgenommen wurde

wie in den Gruppen der anderen Lokalanästhetika und der Handling-Gruppe. MARCHANT-FORDE et al. (2009) zeigen in ihren Untersuchungen, dass im Vergleich mit einer Gruppe, bei der der Samenstrang durchgerissen wurde, gerade bei Durchschneiden des Samenstrangs erhöhte β -Endorphin-Werte im Blutplasma gemessen werden können. Dies ist nach den Autoren auf ein vermehrtes Blutungsverhalten zurückzuführen, welches gerade bei Durchschneiden des Samenstrangs auftritt (MARCHANT-FORDE et al., 2009). MOLINA (2001) unterstreicht diese Aussage mit dem Ergebnis einer Untersuchung an Ratten, in denen β -Endorphine in Folge einer Blutung um das Vierfache angestiegen sind.

Methodenkritik am gewählten Minimalanästhesiemodell

Schmerzbedingte physiologische Reaktionen werden durch Stress und Angst beeinflusst, weshalb es schwierig ist, Schmerzen von Stress/Angst, die durch einfaches Handling des Tieres hervorgerufen werden können, zu unterscheiden (HERSKIN, 2018). Deshalb wurde das Minimalanästhesiemodell mit Isofluran in dem vorliegenden Versuchsaufbau ausgewählt, um akute physiologische Veränderungen als Folge der Nozizeption während der Ferkelkastration mit und ohne Lokalanästhetika unter Ausschluss von Stress und Angst zu evaluieren.

Bereits frühere Studien haben einen vergleichbaren Versuchsaufbau gewählt, hauptsächlich um nozizeptive Reize im EEG detektieren zu können (HAGA et al., 1999; HAGA & DOLVIK, 2002, 2005; HAGA & RANHEIM, 2005; JOHNSON et al., 2005). Etabliert wurde das Minimalanästhesiemodell von MURRELL et al. (2003) mithilfe des Inhalationsanästhetikums Halothan. Als Vorteil des Narkosegases für das Modell wird benannt, dass es nicht antinozizeptiv wirkt und eine geringere Depression des Kortex aufweist, was bei Ableitung eines EEGs wichtig ist (MURRELL & JOHNSON, 2006). Auch Isofluran wirkt in niedriger Dosierung nicht analgetisch (SCHULTE AM ESCH & GOTTSCHALK, 2011). Ein möglicher Einwand gegen die Verwendung von Isofluran in der vorliegenden Studie könnte jedoch die hypotensive Wirkung des Anästhetikums sein (LÖSCHER, 2010a). Obwohl Isofluran durchaus eine moderate kardiodepressive Wirkung hat, zeigt es in der verwendeten

klinischen Dosierung keine Auswirkungen auf die Reaktion von Blutdruck und Herzfrequenz auf nozizeptive Reize (ZBINDEN et al., 1994; ANTOGNINI & BERG, 1995). Die starke Reaktion des Blutdrucks in der NaCl-Gruppe bei der Kastration im Vergleich zu der weniger reaktiven Gruppe H kann zusätzlich als Nachweis (Proof of Concept) angesehen werden, dass mit diesem System dennoch zuverlässig Nozizeption nachweisbar ist. Entgegen aller Bedenken erwies sich der Blutdruck sogar als sensitivster Parameter, um Nozizeption anzuzeigen.

Ein weiterer Kritikpunkt an dem gewählten Modell könnte sein, dass die Isofluran-Narkose schlechter über die Maskeninhalation zu steuern ist und die Ferkel womöglich zu tief in Narkose gelegen haben könnten. Durch das Einstellen der Narkosetiefe bei jedem Ferkel (ZZR1) wurde gewährleistet, dass eine individuelle Narkosetiefe unterhalb der MAC erreicht wurde. Dazu wurde ein Zwischenzehenreflex (ZZR1) unmittelbar vor der Injektion ausgeführt. EGER et al. (1988) zeigen bereits, dass das Auslösen des Zwischenzehenreflexes (ZZR) ein schmerzhafter Reiz ist. SATAS et al. (1996) beschreiben weiterhin, dass der ZZR den besten Reflex zur Bestimmung der Anästhesietiefe bei Ferkeln darstellt. Der ZZR1 wurde in der vorliegenden Studie manuell ausgeführt, wobei sicherzustellen war, dass der Druck so reproduzierbar wie möglich ausgeübt wurde. Auch eine Varianz der Position der Klemme war zu vermeiden. Dazu wurde der Reflex immer von denselben zwei Personen mit der gleichen Klemme getestet. Die Klemme wurde immer maximal bis zum Einrasten des ersten Arretierungsrasters geschlossen und für maximal 5 Sekunden angesetzt. Erst nach einer sichtbaren Reaktion auf den ZZR1, wurde das Experiment fortgesetzt. Erfolgte keine Reaktion, wurde die Isoflurankonzentration reduziert und der ZZR1 wiederholt. War die Reaktion andererseits überschießend, wurde die Isoflurankonzentration dementsprechend erhöht. Darüber hinaus diente ein weiterer Zwischenzehenreflex (ZZR2) als nachträgliche Überprüfung der ausreichenden Anästhesietiefe 4 Minuten nach Kastration. Auch hier kann das unterschiedliche Reaktionsmuster zwischen NaCl und Gruppe H als Proof of Concept angesehen werden.

Korrelation zwischen Gewicht, Alter und Isoflurankonzentration

Kleiber's Law beschreibt, dass bei zunehmender Körpermasse der Grundumsatz pro g KGW abnimmt (NIKLAS & KUTSCHERA, 2015). Deshalb liegt die Annahme nahe, dass für leichtere Tiere eine erhöhte Isoflurandosis benötigt wurde, um die gewünschte Narkosetiefe des Versuchsmodells (III.1 nach Guedel) zu erreichen. Andererseits neigen kleinere Tiere aufgrund der vergleichsweise großen Körperoberfläche dazu, in Narkose schneller auszukühlen. Hypothermie senkt die MAC (Minimum Anesthetic Concentration) von Isofluran (VITEZ et al., 1974; SATAS et al., 1996). Diese Tatsache wiederum würde eine niedrigere benötigte Isoflurankonzentration bei leichteren Tieren vermuten lassen. Durch eine stetige Wärmezufuhr bei gleichzeitiger rektaler Temperaturkontrolle wurde allerdings in der vorliegenden Studie ein Auskühlen der Ferkel verhindert.

Eine Korrelation zwischen Gewicht und der benötigten Isoflurankonzentration konnte in dieser Studie nicht gefunden werden. Die Konzentrationen lagen zwischen $1,28 \pm 0,53$ % und $1,69 \pm 0,38$ %. Dies deckt sich mit den Ergebnissen von O'CALLAGHAN et al. (1983), die keine Korrelation zwischen benötigter Isoflurankonzentration und dem Körpergewicht beim Menschen feststellen können. Hingegen kann METTE (2008) bei ihrer Studie zur benötigten Isoflurankonzentration für die Narkoseeinleitung und dem Zug am Samenstrang einen signifikanten Unterschied zwischen Schweinen unter und über 20 kg von circa 1 % finden, wobei Schweine über 20 kg zusätzlich eine Prämedikation aus Ketamin und Azaperon erhielten. Die Gewichte der untersuchten Tiere bewegen sich zwischen 2,4 und 239,0 kg (METTE, 2008). Im Vergleich dazu wogen die untersuchten Ferkel in der vorliegenden Studie lediglich zwischen 1,4 und 3,0 kg und wiesen somit eine weitaus geringere Schwankungsbreite auf. In diesem Bereich konnte kein Einfluss des Gewichts der Ferkel auf die benötigte Isofluran-Konzentration gefunden werden.

Ebenfalls konnte keine Korrelation zwischen Gewicht und Alter, jedoch eine Korrelation zwischen Alter und benötigter Isoflurankonzentration festgestellt werden. Einer Studie von CAMERON et al. (1984) zufolge nimmt die MAC von Isofluran bei Kindern im Alter von einem Monat bis zu

3 Jahren stetig ab. Neonaten hingegen zeigen innerhalb des ersten Lebensmonats eine zunehmende MAC (CAMERON et al., 1984). Diese Ergebnisse konnten in der vorliegenden Studie bei neugeborenen Ferkeln mit einer leicht signifikanten Abhängigkeit der Isoflurankonzentration vom Alter ($p = 0,022$) bestätigt werden. Zu beachten ist jedoch, dass in der vorliegenden Studie und der Studie von CAMERON et al. (1984) die angestrebten Narkosetiefen (MAC und Hypnosestadium III.1 nach Guedel) unterschiedlich waren. Außerdem wurde in der vorliegenden Studie eine geringere Altersspanne der Ferkel (3. bis 7. Lebenstag) im Vergleich zu CAMERON et al. (1984) untersucht. Eine mögliche Erklärung für die höhere benötigte Isoflurankonzentration zum Erreichen der gewünschten Narkosetiefe mit zunehmendem Alter könnte sein, dass bei Neonaten das Gehirn noch nicht vollständig entwickelt ist bzw. eine andere Zusammensetzung als bei Adulten aufweist (KETTY, 1956). CAMERON et al. (1984) vermuten zudem, dass ein Einfluss des postnatalen Hormonhaushalts auf die benötigte Isoflurankonzentration zum Erreichen der MAC vorliegen kann.

Schlussfolgerung und Ausblick

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass durch das angewendete Minimalanästhesiemodell unter leichter Isofluran-Narkose mittels der untersuchten Parameter Nozizeption gut quantifiziert werden konnte. Die untersuchten Lokalanästhetika Procain, Lidocain, Bupivacain und Mepivacain trugen dazu bei, im Versuchsaufbau der vorliegenden Studie, eine teilweise signifikante Reduktion der untersuchten Parameter bei der Kastration männlicher Saugferkel zu erreichen. Eine genaue Abstufung lässt sich innerhalb der untersuchten Lokalanästhetika nur schwer vornehmen, da keine signifikanten Unterschiede zwischen den Lokalanästhesie-Gruppen gefunden werden konnten. Dies lässt darauf schließen, dass alle Lokalanästhetika den akuten nozizeptiven Reiz bei Kastration abschwächen konnten und somit eine potente analgetische Wirkung aufweisen. Der Blutdruck war hierbei der verlässlichste der gemessenen Parameter und bestätigte, dass die Samenstrangdurchtrennung der schmerzhafteste Teil der Kastration ist. Gestützt wurde dieser Parameter durch Auswertung der Veränderung der Herzfrequenz

und der aufgetretenen Abwehrbewegungen. Auf Basis der untersuchten Blutparameter (Katecholamine, Kortisol, Chromogranin A) ließ sich vermutlich aufgrund des gewählten Versuchsmodells keine Aussage treffen. Durch den Einsatz von Lokalanästhetika ließ sich eine Reduktion der nozizeptiven Parameter bis auf das Niveau der Negativ-Kontrolle Handling erreichen. Damit lässt sich zeigen, dass die betäubungslose Kastration nicht kritiklos hingenommen werden darf und durch die Anwendung von Lokalanästhetika unter standardisierten Laborbedingungen (Minimalanästhesiemodell) eine deutliche, teilweise signifikante Reduktion nozizeptiver Reaktionen möglich war.

Die Injektion stellte jedoch eine unangenehme bis schmerzhaft Erfahrung für das Ferkel dar, was unter anderem durch intensiviert Abwehrbewegungen zu sehen war. Außerdem erscheint sie für den Landwirt in der ausgeführten Form, ein intratestikuläres kombiniert mit einem subkutanen Depot, noch wenig praktikabel.

Es muss weiter bedacht werden, dass die vorliegende Studie die analgetische Wirkung der Lokalanästhesie während der Kastration bei Ferkeln unter leichter Isofluran-Narkose untersuchte. Das bedeutet, dass die Nozizeption unter Ausschluss von Stress und Angst bewertet wurde. Wenn wache Ferkel kastriert werden, beeinflussen diese Faktoren das Verhalten und die Schmerzwahrnehmung der Tiere.

Im Rahmen der Verbundstudie wird nun in weiteren Studienabschnitten untersucht, ob durch Veränderung der Dosierungen, des injizierten Volumens sowie der Injektionstechnik die Praktikabilität und Effektivität der Lokalanästhesie bei der Ferkelkastration noch positiv beeinflusst werden können. Auch Wirkdauer und Wirkzeit sowie Pufferung der Lokalanästhetika werden eine wichtige Rolle bei der Entwicklung der optimalen Methode spielen. Außerdem soll in weiteren Studienteilen an wachen Tieren anhand möglichem Schmerzverhaltens während und nach der Kastration sowie der Beurteilung der Wundheilung und unter Feldbedingungen evaluiert werden, ob sich die Ergebnisse an anästhesierten Tieren aus der vorliegenden Studie in der Praxis reproduzieren lassen. Schlussendlich soll durch das Studienkonzept eine Entscheidungsgrundlage für die Frage erstellt werden, ob die

Lokalanästhesie eine geeignete Alternative zur betäubungslosen Kastration darstellt und wenn ja, welches der untersuchten Lokalanästhetika sich am effektivsten erweist.

VII. ZUSAMMENFASSUNG

Die betäubungslose Kastration von Saugferkeln ist sehr schmerzhaft und stellt seit dem 01.01.2021 einen Verstoß gegen das Tierschutzgesetz dar. Neben den Alternativen Kastration unter Isofluran-Narkose, der Jungebermast und der Immunokastration steht die Kastration unter Lokalanästhesie als „vierter Weg“ in der Diskussion.

Die vorliegende Arbeit untersuchte anhand klinischer und labor-diagnostischer Parameter, ob die Lokalanästhesie unter Laborbedingungen der Forderung nach einer wirksamen Schmerzausschaltung während der Kastration von bis zu 7 Tage alten männlichen Saugferkeln gerecht wird. Hierzu wurden 54 normalanatomische, männliche Ferkel über 1,4 kg in die Studie eingeschlossen und in eine leichte Isofluran-Narkose (Narkosestadium III.1 nach Guedel) versetzt. Es erfolgte eine intratestikuläre Injektion mit subkutanem Depot mit den Lokalanästhetika Procain 4 % (P), Lidocain 2 % (L), Bupivacain 0,5 % (B) und Mepivacain 20 mg/ml (M) ohne Sperrkörperzusatz. Nach 20 Minuten Einwirkzeit erfolgte die Kastration. Als Vergleichsgruppen diente eine Positiv-Kontrollgruppe (NaCl), in welcher eine NaCl-Injektion anstatt eines Lokalanästhetikums erfolgte sowie eine Negativ-Kontrollgruppe (Handling), welche den Versuchsablauf ohne einen schmerzhaften Eingriff (Injektion oder Kastration) durchlief. Während des Versuchs erfolgte eine kontinuierliche, invasive Blutdruckmessung mit einem Tip-Katheter in der Arteria carotis, eine Herzfrequenzbestimmung mittels Elektrokardiogramm und eine Erfassung der Abwehrbewegungen während der Kastration. Außerdem wurden Blutproben zur Bestimmung von Katecholaminen, Kortisol und Chromogranin A nach Injektion und Kastration entnommen sowie ein Zwischenzehenreflex (ZZR) nach Kastration zur Verifizierung der richtigen Narkosetiefe durchgeführt.

Die Kastration unter Lokalanästhesie zeigte eine signifikante Reduktion der Veränderungen während der Kastration im systolischen arteriellen Blutdruck (SAP) von 30,73 %, im diastolischen arteriellen Blutdruck (DAP) von 48,93 % und im mittleren arteriellen Blutdruck (MAP) von 45,37 % im Vergleich zur betäubungslos kastrierten Kontrollgruppe (NaCl).

Außerdem zeigte sich eine Reduktion der Herzfrequenzänderungen und Abwehrbewegungen bei allen Lokalanästhesie-Gruppen. Die bestimmten Blutparameter lieferten keine signifikant unterschiedlichen Ergebnisse zwischen den Gruppen.

Zwischen Alter und benötigter Isoflurankonzentration der Ferkel konnte eine schwache Korrelation gefunden werden, wohingegen das Körpergewicht keinen Zusammenhang mit Alter oder benötigter Isoflurankonzentration erkennen ließ.

Zusammenfassend lässt sich auf Basis des aussagekräftigsten Parameters Blutdruck (SAP, DAP und MAP) in Verbindung mit der Gesamtheit aller bestimmten Parameter feststellen, dass die betäubungslose Kastration eine schmerzhafteste Prozedur darstellt und bestätigt somit eine Vielzahl bereits durchgeführter Studien. Die untersuchten Lokalanästhetika konnten die gemessenen nozizeptiven Reaktionen des Ferkels signifikant abschwächen. Die Ergebnisse weisen darauf hin, dass die Lokalanästhesie in dem vorliegenden Versuchsaufbau unter leichter Isofluran-Narkose eine mögliche Alternative zur betäubungslosen Kastration darstellt. Aufbauend auf diesen Erkenntnissen muss im Rahmen des durchgeführten Verbundprojekts untersucht werden, ob sich das Verfahren auch zur Anwendung am wachen Ferkel eignet und letztendlich, inwiefern es sich bis zur Praxisreife weiterentwickeln lässt.

VIII. SUMMARY

The castration of male suckling piglets without anesthesia is very painful and has been a violation of the German Animal Welfare Act since January 1st, 2021. In addition to the current alternative methods, namely castration under isoflurane anesthesia, young boar fattening, and immunocastration, the castration under local anesthesia is being discussed as the "fourth way".

Using clinical and laboratory diagnostic parameters, the present study investigated whether local anesthesia meets the requirement for an effective elimination of pain during the castration of male suckling piglets up to 7 days old. For this purpose, 54 anatomically normal male piglets over 1.4 kg were included in the study and put under a light isoflurane anesthesia (anesthesia stage III.1 according to Guedel). This was followed for each local anesthesia group by an intratesticular injection in combination with a subcutaneous depot using a local anesthetic: procaine 4% (P), lidocaine 2% (L), bupivacaine 0.5% (B), or mepivacaine 20 mg/ml (M) without the addition of a vasoconstrictive agent. The castration took place after a local anesthetic exposure time of 20 minutes. A positive control group (NaCl) in which sodium chloride (NaCl) was injected instead of local anesthetics, and a negative control group (handling) which went through the test procedure without any painful intervention (neither injection nor castration) served as controls. During the experiment, continuous, invasive blood pressure measurement was carried out using a tip catheter in the carotid artery. The heart rate was determined via an electrocardiogram, and limb movements during the procedure were evaluated. In addition, blood samples were taken to determine the levels of catecholamines, cortisol and chromogranin A after injection and castration. Finally, a toe pinch reflex test was carried out after castration to verify the correct depth of anesthesia.

Castration under local anesthesia showed a significant reduction in changes in systolic arterial blood pressure (SAP) of 30.73 %, in diastolic arterial blood pressure (DAP) of 48.93 %, and in mean arterial blood

pressure (MAP) of 45.37 % during the castration compared to the control group castrated without anesthesia (NaCl). In addition, there was a reduction in changes of the heart rate and the limb movements in all local anesthesia groups. The blood parameters measured did not produce any significant differences in results between the groups.

A weak correlation could be found between age and required isoflurane concentration of the piglets, whereas the body weight showed no correlation with age or required isoflurane concentration.

In summary, on the basis of the most meaningful parameter, i.e., blood pressure (SAP, DAP and MAP), and in conjunction with all other parameters evaluated, it can be concluded that castration without anesthesia is a painful procedure – thus confirming a large number of studies that have already been carried out. However, the local anesthetics examined here were able to significantly reduce the measured nociceptive reactions of the piglets. The results indicate that local anesthesia in the present experimental setup under light isoflurane anesthesia is a possible alternative to castration without anesthesia. Based on these findings, further parts of the collaborative research project will have to investigate whether the method is also suitable for use on awake piglets and, ultimately, to what extent it can be further developed until ready for practical application.

IX. TABELLENVERZEICHNIS

Tabellen aus den Kapiteln II, III und V

Tabelle 1: Eigenschaften der Lokalanästhetika Procain, Lidocain, Bupivacain und Mepivacain (modifiziert nach LÖSCHER, 2010b; TACKE et al., 2021; LEMKE, 2014; GARCIA, 2015)...... 20

Tabelle 2: Scoring Schema, um die Narkosetiefe bei allen Schritten der Kastration zu beurteilen [modifiziert nach BERCHTOLD (2015) und HUG et al. (2018)]. 39

Tabelle 3: Übersicht über die Versuchsgruppen. Gezeigt wird die Tierzahl in den jeweiligen Gruppen, das angewendete Präparat sowie der enthaltene Wirkstoff, Injektionsvolumen und -ort, und ob die Tiere kastriert (+) oder nur fixiert wurden. 43

Tabelle 4: Übersicht über Alter (Lebenstag, LT), Anzahl (n), Körpergewicht und benötigte Isoflurankonzentration bei Injektion der untersuchten Ferkel. Die angegebenen Werte für Körpergewicht und Isoflurankonzentration sind Mittelwerte \pm SD...... 94

Tabellen aus Kapitel IV

Table 1. Scoring System Adapted from Berchtold [20] and Hug et al. [21] to Assess Nociception during Castration on the basis of Limb Movements. 61

Table 2. Influence of Treatment on Serum Cortisol Concentrations 20 and 40 Minutes After the Castration of Piglets...... 65

Table 3. Influence of Local Anesthesia on Plasma Catecholamines After the Injection and Castration of Piglets...... 66

Table 4. Influence of Treatment on Serum CgA 20 and 40 Minutes After the Castration of Piglets...... 67

X. ABBILDUNGSVERZEICHNIS

Abbildungen aus den Kapiteln II, III und V

- Abbildung 1: Mögliche Verteilungswege von Lokalanästhetika nach peripherer Injektion (nach GARCIA, 2015)..... 15
- Abbildung 2: Chemische Strukturformel von Procain als LA des Estertyps (modifiziert nach PUBCHEM, 2021a)..... 17
- Abbildung 3: Chemische Strukturformel von Lidocain als LA des Amidtyps (modifiziert nach PUBCHEM, 2021b)..... 18
- Abbildung 4: Chemische Strukturformel von Bupivacain (links) und Mepivacain (rechts) als Lokalanästhetika des Amidtyps (modifiziert nach PUBCHEM, 2021c; PUBCHEM, 2021d)..... 19
- Abbildung 5: Aortennahe Blutdruckkurve mit Inzisur als Zeichen des Klappenschlusses. Eingezeichnet sind systolischer arterieller Druck (SAP), mittlerer arterieller Druck (MAP) und diastolischer arterieller Druck (DAP) (modifiziert nach RETTIG, 2019)..... 28
- Abbildung 6: Positionierung der EKG-Klebelektroden auf der zuvor rasierten und entfetteten Haut. Rot = rechte Brustwand, braun = linke Vorderextremität, schwarz = rechter kaudaler Quadrant des Abdomens..... 45
- Abbildung 7: Blutdruckkurve nach optimaler Platzierung des Tip-Katheters in der A. carotis communis. Der höchste Punkt der Kurven entspricht dem systolischen arteriellen Blutdruck (SAP), der tiefste Punkt der Kurven dem diastolischen arteriellen Blutdruck (DAP). 46
- Abbildung 8: Prozentuale Veränderung des systolischen arteriellen Blutdrucks bei Injektion (A), Hautschnitt (B) und Samenstrangdurchtrennung (C) im Gruppenvergleich. Die angegebenen Werte bei Injektion sind Mittelwerte \pm SD. Die angegebenen Werte bei Hautschnitt und Samenstrangdurchtrennung sind Mediane \pm IQR. Die statistische Signifikanz wird angegeben durch * $p \leq 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$; n.s. = keine Signifikanz zwischen den Gruppen. 88

- Abbildung 9: Prozentuale Veränderung des diastolischen arteriellen Blutdrucks bei Injektion (A), Hautschnitt (B) und Samenstrangdurchtrennung (C) im Gruppenvergleich. Die angegebenen Werte bei Injektion und Hautschnitt sind Mittelwerte \pm SD. Die angegebenen Werte bei Samenstrangdurchtrennung sind Mediane \pm IQR. Die statistische Signifikanz wird angegeben durch * $p \leq 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$; n.s. = keine Signifikanz zwischen den Gruppen. 89
- Abbildung 10: Prozentuale Veränderung des mittleren arteriellen Blutdrucks (MAP) über 15 Minuten p.i. im Gruppenvergleich. Die angegebenen Werte sind Mittelwerte \pm SD. 90
- Abbildung 11: Prozentuale Veränderung des MAP über 40 Minuten p.c. im Gruppenvergleich. Die angegebenen Werte sind Mittelwerte \pm SD. 91
- Abbildung 12: Prozentuale Veränderung der Herzfrequenz über 15 Minuten p.i. im Gruppenvergleich. Die angegebenen Werte sind Mittelwerte \pm SD. 92
- Abbildung 13: Prozentuale Veränderung der Herzfrequenz über 40 Minuten p.c. im Gruppenvergleich. Die angegebenen Werte sind Mittelwerte \pm SD. 93
- Abbildung 14. Anzahl der Tiere pro Versuchsgruppe, die auf den zweiten Zwischenzehenreflex reagierten. Die statistische Signifikanz wird angegeben durch *[#] $p \leq 0,05$ 94
- Abbildung 15: Benötigte prozentuale Isoflurankonzentration (%) für das Narkosestadium III.1 (Guedel) in Abhängigkeit von den Gewichten der Ferkel (kg) bei Kastration. Mehrere Tiere eines Gewichts, die die gleiche Isoflurankonzentration benötigten, wurden der Übersichtlichkeit halber als ein Punkt zusammengefasst. 95
- Abbildung 16: Benötigte prozentuale Isoflurankonzentration (%) für das Narkosestadium III.1 (Guedel) in Abhängigkeit von dem Alter (Lebenstag, d) der Ferkel bei Kastration ($p = 0,022$, $R^2 = 0,098$). Mehrere Tiere eines Alters, die die gleiche Isoflurankonzentration benötigten, wurden der Übersichtlichkeit halber als ein Punkt zusammengefasst. 95

Abbildung 17: Gewichte (kg) der Ferkel in Abhängigkeit des Alters (Lebenstag, d) bei Kastration. Mehrere Tiere eines Alters, die das gleiche Gewicht aufwiesen, wurden der Übersichtlichkeit halber als ein Punkt zusammengefasst. 96

Abbildungen aus Kapitel IV



Figure 1. Overview of the Experimental Setup. The symbol  indicates the collection of blood samples. Baseline blood samples for all four blood parameters were taken 5 minutes after the implementation of the measurements. Blood samples for the analysis of epinephrine and norepinephrine were taken 1 minute after injection and 1 minute after the cutting of the spermatic cord. For cortisol and chromogranin A (CgA) measurements, blood samples were collected 20 and 40 minutes after the cutting of the spermatic cord. The symbol  indicates a tissue damage event (injection, skin incision or cutting of the spermatic cord). * shows a more detailed overview of the time points of the measurements of BP, HR and limb movements during an event. 57

Figure 2. Percent Change in Mean Arterial Blood Pressure (MAP) and Heart Rate (HR). Twenty minutes prior to castration, a 0.5-ml i.t. injection and a 0.5-ml subscrotal injection were administered in each testis. The six bars illustrate the maximum percent change from baseline within 1 minute after injection (A, D), skin incision (B, E) and cutting of the spermatic cord (C, F) in the different experimental groups. Handling = no injection and no castration, only simulation of the procedures; NaCl = injection of sodium chloride (NaCl) and castration; Procaine = injection of procaine 4 % and castration; Lidocaine = injection of lidocaine 2 % and castration; Bupivacaine = injection of bupivacaine 0.5 % and castration; Mepivacaine = injection of mepivacaine 2 % and castration. Values shown are means \pm SEMs. Statistical significance is indicated by * $p \leq 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$; n.s. = no significance among groups. 64

Figure 3. Limb Movement Scores during Injection, Skin Incision and Cutting of the Spermatic Cord. Limb movements were observed during injection (A), skin incision (B) and cutting of the spermatic cord (C). The score was applied to analyze the intensity of limb movements: Handling = neither injection nor castration, only simulation of the procedures; NaCl = castration without preoperative analgesia; Procaine, Lidocaine, Bupivacaine, Mepivacaine = castration under preoperative local anesthetic.....69

*Fig I S 1. Percent Change in Mean Arterial Blood Pressure (MAP, A) and Heart Rate (HR, B) after Intratesticular Epinephrine Injection. Twenty minutes prior to castration, an intratesticular injection of 0.5 ml and an additional 0.5 ml subcutaneous depot were administered to each testis. NaCl = injection of sodium chloride 0.9 %, NaCl+Epi = injection of sodium chloride 0.9 % with 0.02 mg/ml epinephrine. n= 6 per group. Values shown are means \pm SEMs. Statistical significance is indicated by * $p \leq 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$; n.s. = no significance.84*

Fig II S 1. Percent Change in Plasma Epinephrine Concentrations One Minute after Intratesticular Epinephrine Injection and Castration. NaCl = injection of sodium chloride 0.9 %, NaCl+Epi = injection of sodium chloride 0.9 % with 0.02 mg/ml epinephrine. n = 6 per group. Values shown are means \pm SEMs.85

XI. LITERATURVERZEICHNIS

Abendschön N, Senf S, Deffner P, Miller R, Grott A, Werner J, Saller AM, Reiser J, Weiß C, Zablotski Y, Fischer J, Bergmann S, Erhard MH, Baumgartner C, Ritzmann M, Zöls S. Local Anesthesia in Piglets Undergoing Castration—A Comparative Study to Investigate the Analgesic Effects of Four Local Anesthetics Based on Defensive Behavior and Side Effects. *Animals* 2020; 10: 1752.

Accord. Mepivacainhydrochlorid Accord 10 mg/ml Injektionslösung
Mepivacainhydrochlorid Accord 20 mg/ml Injektionslösung. Utrecht:
Accord Healthcare B.V. 2019; Januar 2019: https://www.accord-healthcare.de/sites/default/files/2020-02/FI_Mepivacain_95176-95177_V.01.pdf. 16.02.2021.

Akiyoshi H, Aoki M, Shimada T, Noda K, Kumagai D, Saleh N, Sugii S, Ohashi F. Measurement of plasma chromogranin A concentrations for assessment of stress responses in dogs with insulin-induced hypoglycemia. *Am J Vet Res* 2005; 66: 1830-1835.

Aluwé M, Bonneau M, Buttazzoni L, Candek-Potokar M, Courboulay V, Failla S, Fontanesi L, Font-i-Furnols M, Fredriksen B, Skrlep M, von Borell E. CASTRUM—Pig Castration for Traditional and Conventional Products: A Report on Methods and their Impacts on Animal Welfare, Meat Quality and Sustainability of European Pork Production Systems. Final Report. 2016: <https://op.europa.eu/en/publication-detail/-/publication/5fe8db00-dbb8-11e6-ad7c-01aa75ed71a1>. 06.03.2021.

Aluwé M, Heyrman E, Almeida JM, Babol J, Battacone G, Čítek J, Font i Furnols M, Getya AK, D., Kostyra E, Kress K, Kušec G, Mörlein D, Semenova A, Škrlep M, Stoyanchev T, Tomašević I, Tudoreanu L, Van Son M, Żakowska-Biemans S, Zamaratskaia G, Van den Broeke A, Egea M. Exploratory Survey on European Consumer and Stakeholder Attitudes towards Alternatives for Surgical Castration of Piglets. *Animals* 2020; 10: 1758.

Anand KJ, Hickey PR. Pain and its effects in the human neonate and fetus. *N Engl J Med* 1987; 317: 1321-1329.

Andresen Ø. Boar taint related compounds: Androstenone/skatole/other substances. *Acta Vet Scand* 2006; 48: 5.

Antognini JF, Berg K. Cardiovascular responses to noxious stimuli during isoflurane anesthesia are minimally affected by anesthetic action in the brain. *Anesth Analg* 1995; 81: 843-848.

Banks P, Helle K. The release of protein from the stimulated adrenal medulla. *Biochem J* 1965; 97: 40c-41c.

Barticciotto LS, Luna SPL, Lorena SERDS, Telles FG, Berto DA. Weight gain, behavioral and cortisol changes after orchietomy with or without local anaesthesia in piglets. *Semin Cienc Agrar* 2016; 37: 1307-1315.

Behrends JC. Sinnesphysiologie: Funktionsprinzipien und somatoviszzerale Sensibilität: Periphere Organisation der somatoviszzeralen Sensibilität und Sensormechanismen. In: *Physiologie*, 2. Auflage. Bob A, Bob K, Hrsg. Stuttgart: Georg Thieme Verlag KG 2012: 594-621.

Beltramini A, Milojevic K, Pateron D. Pain Assessment in Newborns, Infants, and Children. *Pediatr Ann* 2017; 46: e387-e395.

Berchtold S. Optimierung der Injektionsanästhesie für die Ferkelkastration. 2015. Diss. med. vet. Universität Zürich.

Berde CB, Jaksic T, Lynn AM, Maxwell LG, Soriano SG, Tibboel D. Anesthesia and analgesia during and after surgery in neonates. *Clin Ther* 2005; 27: 900-921.

Best CA, Best AA, Best TJ, Hamilton DA. Buffered lidocaine and bupivacaine mixture - the ideal local anesthetic solution? *Plast Surg (Oakv)* 2015; 23: 87-90.

Blaschko H, Comline RS, Schneider FH, Silver M, Smith AD. Secretion of a chromaffin granule protein, chromogranin, from the adrenal gland after splanchnic stimulation. *Nature* 1967; 215: 58-59.

Bonastre C, Mitjana O, Tejedor MT, Calavia M, Yuste AG, Úbeda JL, Falceto MV. Acute physiological responses to castration-related pain in piglets: the effect of two local anesthetics with or without meloxicam. *Animal* 2016; 10: 1474-1481.

Bonneau M. Compounds responsible for boar taint, with special emphasis on androstenone: A review. *Livest Prod Sci* 1982; 9: 687-705.

Bonneau M, Weiler U. Pros and Cons of Alternatives to Piglet Castration: Welfare, Boar Taint, and Other Meat Quality Traits. *Animals (Basel)* 2019; 9: 884.

Borges R, Gandía L, Carbone E. Old and emerging concepts on adrenal chromaffin cell stimulus-secretion coupling. *Pflügers Arch.* 2018; 470: 1-6.

Bova JF, da Cunha AF, Stout RW, Bhumiratana S, Alfi DM, Eisig SB, Vunjak-Novakovic G, Lopez MJ. Bupivacaine mandibular nerve block affects intraoperative blood pressure and heart rate in a Yucatan miniature swine mandibular condylectomy model: a pilot study. *J Invest Surg* 2015; 28: 32-39.

Buckley NM, Brazeau P, Gootman PM, Frasier ID. Renal circulatory effects of adrenergic stimuli in anesthetized piglets and mature swine. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 1979; 237: H690-695.

Cameron CB, Robinson S, Gregory GA. The minimum anesthetic concentration of isoflurane in children. *Anesth Analg* 1984; 63: 418-420.

Capogna G, Celleno D, Tagariello V. The effect of pH adjustment of 2% mepivacaine on epidural anesthesia. *Reg Anesth* 1989; 14: 121-123.

Carroll JA, Berg EL, Strauch TA, Roberts MP, Kattesh HG. Hormonal profiles, behavioral responses, and short-term growth performance after castration of pigs at three, six, nine, or twelve days of age. *J Anim Sci* 2006; 84: 1271-1278.

Casal N, Manteca X, Escribano D, Cerón JJ, Fàbrega E. Effect of environmental enrichment and herbal compound supplementation on physiological stress indicators (chromogranin A, cortisol and tumour necrosis factor- α) in growing pigs. *Animal* 2017; 11: 1228-1236.

Cepeda MS, Tzortzopoulou A, Thackrey M, Hudcova J, Arora Gandhi P, Schumann R. Adjusting the pH of lidocaine for reducing pain on injection. *Cochrane Database Syst Rev* 2010; 12: CD006581.

Claus R, Dehnhard M, Herzog A, Bernal-Barragan H, Giménez T. Parallel measurements of indole and skatole (3-methylindole) in feces and blood plasma of pigs by HPLC. *Livest Prod Sci* 1993; 34: 115-126.

Claus R, Weiler U, Herzog A. Physiological aspects of androstenone and skatole formation in the boar—A review with experimental data. *Meat Sci* 1994; 38: 289-305.

Cong X, Wu J, Vittner D, Xu W, Hussain N, Galvin S, Fitzsimons M, McGrath JM, Henderson WA. The impact of cumulative pain/stress on neurobehavioral development of preterm infants in the NICU. *Early Hum Dev* 2017; 108: 9-16.

Courboulay V, Hemonic A, Gadonna M, Prunier A. Castration under analgesia or local anesthesia: impact on pain and labour demand. Annual Meeting of the European Association for Animal Production. Saint-Gilles: 2010; 138.

de Jong IC, PELLE IT, van de Burgwal JA, Lambooi E, Korte SM, Blokhuis HJ, Koolhaas JM. Effects of environmental enrichment on behavioral responses to novelty, learning, and memory, and the circadian rhythm in cortisol in growing pigs. *Physiol Behav* 2000; 68: 571-578.

DeMers D, Wachs D. Physiology, Mean Arterial Pressure. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2021: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK538226/#_article-24804_s9_. 07.03.2021.

Deslandes B, Gariépy C, Houde A. Review of microbiological and biochemical effects of skatole on animal production. *Livest Prod Sci* 2001; 71: 193-200.

Deutzmann R. Hormonelle Regulation: Hormone des Nebennierenmarks: Adrenalin und Noradrenalin. In: *Physiologie*, 2. Auflage. Bob A, Bob K, Hrsg. München: Elsevier GmbH 2012: 388-396.

Drucksache des Deutschen Bundestages 19/5522 vom 06.11.2018: Entwurf eines Vierten Gesetzes zur Änderung des Tierschutzgesetzes. 2018: 1-7.

Eberspächer-Schweda E. Nicht-invasive und invasive Blutdruckmessung. In: *AnästhesieSkills*, 2., aktualisierte und erweiterte Auflage. Eberspächer-Schweda E, Hrsg. Stuttgart: Georg Thieme Verlag 2020a: 52-57.

Eberspächer-Schweda E. Bupivacain. In: *AnästhesieSkills*, 2., aktualisierte und erweiterte Auflage. Eberspächer-Schweda E, Hrsg. Stuttgart: Georg Thieme Verlag 2020b: 81.

Eckert R, Randall D, Buggren W, French K. Chemische Botenstoffe und Regulatoren. In: *Tierphysiologie*, 4. Auflage. Eckert R, Randall D, Buggren W, French K, Hrsg. Stuttgart: Georg Thieme Verlag 2002: 328-382.

EFSA. Opinion of the scientific panel on animal health and welfare (AHAW) on a request from the commission related to welfare aspects of the castration of piglets. *EFSA J* 2004: 91.

Eger EI, 2nd, Johnson BH, Weiskopf RB, Holmes MA, Yasuda N, Targ A, Rampil IJ. Minimum alveolar concentration of I-653 and isoflurane in pigs: definition of a supramaximal stimulus. *Anesth Analg* 1988; 67: 1174-1176.

Eger EI, 2nd, Raines DE, Shafer SL, Hemmings HC, Jr., Sonner JM. Is a new paradigm needed to explain how inhaled anesthetics produce immobility? *Anesth Analg* 2008; 107: 832-848.

Egner B. Blutdruckmessung - Grundlagen und praktische Umsetzung. In: *Blutdruck auf den Punkt gebracht*, 4. Auflage. Egner B, Carr A, Brown S, Hrsg. Babenhausen: VBS VetVerlag 2007: 1-14.

Enz A, Schüpbach-Regula G, Bettschart R, Fuschini E, Bürgi E, Sidler X. Erfahrungen zur Schmerzausschaltung bei der Ferkelkastration in der Schweiz Teil 2: Injektionsanästhesie. Schweiz Arch Tierheilkd 2013; 155: 661-668.

Erhardt W, Henke J, Carr A, Egener B. Technik. In: Blutdruck auf den Punkt gebracht, 4. Auflage. Egener B, Carr A, Brown S, Hrsg. Babenhausen: VBS VetVerlag 2007: 28-65.

Erhardt W. Definition, Aufgaben und Bedeutung der tierärztlichen Anästhesiologie: Definitionen: Anästhesie (oder auch Narkose). In: Anästhesie und Analgesie beim Klein- und Heimtier mit Exoten, Labortieren, Vögeln, Reptilien, Amphibien und Fischen, 2. Auflage. Erhardt W, Henke J, Haberstroh J, Baumgartner C, Tacke S, Hrsg. Stuttgart: Schattauer GmbH 2012: 7-9.

Erhardt W, Henke J, Tacke S, Baumgartner C, Kroker R. Allgemeinanästhetika: Sedativa. In: Anästhesie und Analgesie beim Klein- und Heimtier mit Exoten, Labortieren, Vögeln, Reptilien, Amphibien und Fischen, 2. Auflage. Erhardt W, Henke J, Haberstroh J, Baumgartner C, Tacke S, Hrsg. Stuttgart: Schattauer GmbH 2012a: 20-33.

Erhardt W, Henke J, Tacke S, Baumgartner C, Kroker R. Allgemeinanästhetika: Analgetika. In: Anästhesie und Analgesie beim Klein- und Heimtier mit Exoten, Labortieren, Vögeln, Reptilien, Amphibien und Fischen, 2. Auflage. Erhardt W, Henke J, Haberstroh J, Baumgartner C, Tacke S, Hrsg. Stuttgart: Schattauer GmbH 2012b: 71-105.

Erhardt W, Henke J, Baumgartner C. Labortiere: Anästhesie von größeren Labortieren. In: Anästhesie und Analgesie beim Klein- und Heimtier mit Exoten, Labortieren, Vögeln, Reptilien, Amphibien und Fischen, 2. Auflage. Erhardt W, Henke J, Haberstroh J, Baumgartner C, Tacke S, Hrsg. Stuttgart: Schattauer GmbH 2012c: 781-785.

Erhardt W, Henke J, Tacke S, Baumgartner C, Kroker R. Allgemeinanästhetika: Inhalierbare volatile Hypnotika (Inhalationsanästhetika). In: Anästhesie und Analgesie beim Klein- und Heimtier mit Exoten, Labortieren, Vögeln, Reptilien, Amphibien und Fischen, 2. Auflage. Erhardt W, Henke J, Haberstroh J, Baumgartner C, Tacke S, Hrsg. Stuttgart: Schattauer GmbH 2012d: 52-71.

Erhardt W, Lendl C, Tacke S. Pädiatrische Patienten: Anatomische und physiologische Besonderheiten des pädiatrischen Patienten. In: Anästhesie und Analgesie beim Klein- und Heimtier mit Exoten, Labortieren, Vögeln, Reptilien, Amphibien und Fischen, 2. Auflage. Erhardt W, Henke J, Haberstroh J, Baumgartner C, Tacke S, Hrsg. Stuttgart: Schattauer GmbH 2012e: 437-439.

Escribano D, Soler L, Gutiérrez AM, Martínez-Subiela S, Cerón JJ. Measurement of chromogranin A in porcine saliva: validation of a time-resolved immunofluorometric assay and evaluation of its application as a marker of acute stress. *Animal* 2013; 7: 640-647.

Escribano D, Gutiérrez AM, Fuentes-Rubio M, Cerón JJ. Saliva chromogranin A in growing pigs: a study of circadian patterns during daytime and stability under different storage conditions. *Vet J* 2014; 199: 355-359.

Escribano D, Gutiérrez AM, Tecles F, Cerón JJ. Changes in saliva biomarkers of stress and immunity in domestic pigs exposed to a psychosocial stressor. *Res Vet Sci* 2015; 102: 38-44.

Evans FD, Christopherson RJ, Aherne FX. Development of the circadian rhythm of cortisol in the gilt from weaning until puberty. *Can J Anim Sci* 1988; 68: 1105-1111.

Feldman SA, Eiden LE. The chromogranins: their roles in secretion from neuroendocrine cells and as markers for neuroendocrine neoplasia. *Endocr Pathol* 2003; 14: 3-23.

Ferkelbetäubungssachkundeverordnung, V. v. 08.01.2020 (BGBl. I S. 96).

Fleischmann B, Hescheler J. Herzerregung. In: *Physiologie*, 7. Auflage. Speckmann E-J, Hescheler J, Köhling R, Hrsg. München: Elsevier GmbH 2019: 396-403.

Frank SG, Lalonde DH. How acidic is the lidocaine we are injecting, and how much bicarbonate should we add? *Can J Plast Surg* 2012; 20: 71-73.

Fredriksen B, Nafstad O. Surveyed attitudes, perceptions and practices in Norway regarding the use of local anaesthesia in piglet castration. *Res Vet Sci* 2006; 81: 293-295.

Garcia ER. Local Anesthetics. In: *Veterinary Anesthesia and Analgesia: The Fifth Edition of Lumb and Jones*, 5. Auflage. Grimm KA, Lamont LA, Tranquilli WJ, Greene SA, Robertson SA, Hrsg. New York: John Wiley & Sons, Inc. 2015: 332-354.

Gaudet-Ferrand I, De La Arena P, Bringuier S, Raux O, Hertz L, Kalfa N, Sola C, Dadure C. Ultrasound-guided pudendal nerve block in children: A new technique of ultrasound-guided transperineal approach. *Paediatr Anaesth* 2018; 28: 53-58.

Gebhard GF, Basbaum AI, Bird SJ, Flecknell P, Karas AZ, Kelley ST, Mason G, Sneddon LU, Soriano SG, Shafford HL. 3, Recognition and Assessment of Pain. In: *Recognition and Alleviation of Pain in Laboratory Animals*. National Research Council (US) Committee on Recognition and Alleviation of Pain in Laboratory Animals, Hrsg. Washington (DC): National Academies Press (US) 2009: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK32656/#ch3.s2>. 13.03.2021.

Gélinas C. Pain assessment in the critically ill adult: Recent evidence and new trends. *Intensive Crit Care Nurs* 2016; 34: 1-11.

Gerweck LE, Seetharaman K. Cellular pH gradient in tumor versus normal tissue: potential exploitation for the treatment of cancer. *Cancer Res* 1996; 56: 1194-1198.

Gibbs NM, Larach DR, Skeehan TM, Schuler HG. Halothane induces depressor responses to noxious stimuli in the rat. *Anesthesiology* 1989; 70: 503-510.

Goksan S, Hartley C, Emery F, Cockrill N, Poorun R, Moultrie F, Rogers R, Campbell J, Sanders M, Adams E, Clare S, Jenkinson M, Tracey I, Slater R. fMRI reveals neural activity overlap between adult and infant pain. *Elife* 2015; 4.

Gottardo F, Scollo A, Contiero B, Ravagnani A, Tavella G, Bernardini D, De Benedictis GM, Edwards SA. Pain alleviation during castration of piglets: a comparative study of different farm options. *J Anim Sci* 2016; 94: 5077-5088.

Graf BM, Niesel HC. Pharmakologie der Lokalanästhetika. In: *Lokalanästhesie, Regionalanästhesie, Regionale Schmerztherapie*, 3. Auflage. Van Aken H, Wulf H, Hrsg. Stuttgart: Georg Thieme Verlag 2010: 55-107.

Gutzwiller A. Kastration von Ferkeln unter Lokalanästhesie. *Agrarforschung Schweiz* 2003; 10: 10-13.

Haga HA, Tevik A, Moerch H. Bispectral index as an indicator of anaesthetic depth during isoflurane anaesthesia in the pig. *J Vet Anaesth* 1999; 26: 3-7.

Haga HA, Tevik A, Moerch H. Electroencephalographic and cardiovascular indicators of nociception during isoflurane anaesthesia in pigs. *Vet Anaesth Analg* 2001; 28: 126-131.

Haga HA, Dolvik NI. Evaluation of the bispectral index as an indicator of degree of central nervous system depression in isoflurane-anesthetized horses. *Am J Vet Res* 2002; 63: 438-442.

Haga HA, Ranheim B. Castration of piglets: the analgesic effects of intratesticular and intrafunicular lidocaine injection. *Vet Anaesth Analg* 2005; 32: 1-9.

Haga HA, Dolvik NI. Electroencephalographic and cardiovascular variables as nociceptive indicators in isoflurane-anaesthetized horses. *Vet Anaesth Analg* 2005; 32: 128-135.

Hancock TM, Caulkett NA, Pajor EA, Grenwich L. An investigation of the effects of intratesticular alfaxalone and lidocaine during castration in piglets. *Vet Anaesth Analg* 2018; 45: 858-864.

Hanna MN, Elhassan A, Veloso PM, Lesley M, Lissauer J, Richman JM, Wu CL. Efficacy of bicarbonate in decreasing pain on intradermal injection of local anesthetics: a meta-analysis. *Reg Anesth Pain Med* 2009; 34: 122-125.

Hansson M, Lundeheim N, Nyman G, Johansson G. Effect of local anaesthesia and/or analgesia on pain responses induced by piglet castration. *Acta Vet Scand* 2011; 53: 34.

Heinritzi K. Zootechnische Maßnahmen: Saugferkelkastration. In: Schweinekrankheiten. Heinritzi K, Gindele HR, Reiner G, Schnurrbusch U, Hrsg. Stuttgart: Eugen Ulmer KG, UTB GmbH 2006a: 42-43.

Heinritzi K. Besonderheiten bei der speziellen Untersuchung des Schweins. In: Schweinekrankheiten. Heinritzi K, Reiner G, Gindele HR, Schnurrbusch U, Hrsg. Stuttgart: Eugen Ulmer KG, UTB GmbH 2006b: 23-27.

Heinritzi K. Applikationstechniken: Parenterale Injektion. In: Schweinekrankheiten. Heinritzi K, Reiner G, Gindele HR, Schnurrbusch U, Hrsg. Stuttgart: Eugen Ulmer KG, UTB GmbH 2006c: 44-46.

Heinritzi K. Anästhesie. In: Schweinekrankheiten. Heinritzi K, Gindele HR, Reiner G, Schnurrbusch U, Hrsg. Stuttgart: Eugen Ulmer KG, UTB GmbH 2006d: 48-50.

Henke J, Tacke S, Erhardt W. Analgesie: Anatomische und neurophysiologische Grundlagen des Schmerzes. In: Anästhesie und Analgesie beim Klein- und Heimtier mit Exoten, Labortieren, Vögeln, Reptilien, Amphibien und Fischen, 2. Auflage. Erhardt W, Henke J, Haberstroh J, Baumgartner C, Tacke S, Hrsg. Stuttgart: Schattauer GmbH 2012a: 398-404.

Henke J, Tacke S, Erhardt W. Analgesie: Begriffsdefinitionen zur Analgesie. In: Anästhesie und Analgesie beim Klein- und Heimtier mit Exoten, Labortieren, Vögeln, Reptilien, Amphibien und Fischen, 2. Auflage. Erhardt W, Henke J, Haberstroh J, Baumgartner C, Tacke S, Hrsg. Stuttgart: Schattauer GmbH 2012b: 385.

Henke J, Tacke S, Erhardt W. Analgesie: Schmerz beim Tier. In: Anästhesie und Analgesie beim Klein- und Heimtier mit Exoten, Labortieren, Vögeln, Reptilien, Amphibien und Fischen, 2. Auflage. Erhardt W, Henke J, Haberstroh J, Baumgartner C, Tacke S, Hrsg. Stuttgart: Schattauer GmbH 2012c: 385-398.

Herskin MS. Pain in pigs: characterisation, mechanisms and indicators. In: Advances in pig welfare. Špinka M, Hrsg. Duxford: Woodhead Publishing 2017: 506.

Hillmann E, Schrader L, Mayer C, Gygas L. Effects of weight, temperature and behaviour on the circadian rhythm of salivary cortisol in growing pigs. *Animal* 2008; 2: 405-409.

Hofmann K, Rauh A, Harlizius J, Weiß C, Scholz T, Schulze-Horsel T, Escibano D, Ritzmann M, Zöls S. Schmerz- und Stressbelastung bei der Injektion und Kastration von Saugferkeln unter Lokalanästhesie mit Procain und Lidocain. Teil 1: Kortisol, Chromogranin A, Wundheilung, Gewichtsentwicklung, Saugferkelverluste. *Tierärztl Prax Ausg G Grosstiere Nutztiere* 2019; 47: 87-96.

Hogan ME, vanderVaart S, Perampaladas K, Machado M, Einarson TR, Taddio A. Systematic review and meta-analysis of the effect of warming local anesthetics on injection pain. *Ann Emerg Med* 2011; 58: 86-98.e1.

Hollstein G. Invasive Blutdruckmessung. Pschyrembel Online
Walter de Gruyter GmbH 2019:
<https://www.pschyrembel.de/Invasive%20Blutdruckmessung/K03WM>.
06.01.2021.

Honeyfield DC, Carlson JR. Effect of Indoleacetic Acid and Related Indoles on *Lactobacillus* sp. Strain 11201 Growth, Indoleacetic Acid Catabolism, and 3-Methylindole Formation. *Appl Environ Microbiol* 1990; 56: 1373-1377.

Horn T, Marx G, von Borell E. Behavior of piglets during castration with and without local anesthesia. *Dtsch Tierärztl Wochenschr* 1999; 106: 271-274.

Hospira. NOVOCAIN- procaine hydrochloride injection, solution Lake Forest: Hospira, Inc. 2004; April 2007: <https://dailymed.nlm.nih.gov/dailymed/fda/fdaDrugXsl.cfm?setid=c80c810a-60e0-49bd-139c-95aec3a286fc&type=display>. 16.02.2021.

Huang Y, Liu Z, Liu W, Yin C, Ci L, Zhao R, Yang X. Short communication: Salivary haptoglobin and chromogranin A as non-invasive markers during restraint stress in pigs. *Res Vet Sci* 2017; 114: 27-30.

Huber K. Spezielle Endokrinologie. In: *Physiologie der Haustiere*, 5., vollständig überarbeitete Auflage Auflage. Breves G, Diener M, Gäbel G, von Engelhardt W, Hrsg. Stuttgart: Enke Verlag 2015: 538-548.

Hug PJ, Cap VH, Honegger J, Schüpbach-Regula G, Schwarz A, Bettschart-Wolfensberger R. Optimization of analgesia for piglet castration under isoflurane anaesthesia with parenteral butorphanol, meloxicam or intratesticular lidocaine. *Schweiz Arch Tierheilkd* 2018; 160: 461-467.

Ison SH, Rutherford KM. Attitudes of farmers and veterinarians towards pain and the use of pain relief in pigs. *Vet J* 2014; 202: 622-627.

Ison SH, Clutton R, Rutherford K, Di Giminiani P. A Review of Pain Assessment in Pigs. *Front Vet Sci* 2016; 3.

Izer J, Wilson R. Comparison of invasive and non-invasive blood pressure measurements in anesthetized female Dorset cross-bred lambs (*Ovis aries*). *Res Vet Sci* 2020; 132: 257-261.

Jain N, Gera A, Sharma B, Sood J, Chugh P. Comparison of Surgical Pleth Index-guided analgesia using fentanyl versus conventional analgesia technique in laparoscopic cholecystectomy. *Minerva Anesthesiol* 2019; 85: 358-365.

Jensen MT, Cox RP, Jensen BB. 3-Methylindole (skatole) and indole production by mixed populations of pig fecal bacteria. *Appl Environ Microbiol* 1995; 61: 3180-3184.

Johnson CB, Wilson PR, Woodbury MR, Caulkett NA. Comparison of analgesic techniques for antler removal in halothane-anaesthetized red deer (*Cervus elaphus*): electroencephalographic responses. *Vet Anaesth Analg* 2005; 32: 61-71.

Johnson CB, Sylvester SP, Stafford KJ, Mitchinson SL, Ward RN, Mellor DJ. Effects of age on the electroencephalographic response to castration in lambs anaesthetized with halothane in oxygen from birth to 6 weeks old. *Vet Anaesth Analg* 2009; 36: 273-279.

Kanno T, Asada N, Yanase H, Iwanaga T, Nishikawa Y, Hoshino M, Yanaihara N. Autonomic control of submandibular chromogranin A secretion in the anaesthetized rat. *Biomed Res* 1998; 19: 411-414.

Kent AL, Kecskes Z, Shadbolt B, Falk MC. Blood pressure in the first year of life in healthy infants born at term. *Pediatr Nephrol* 2007; 22: 1743-1749.

Kety SS. Human cerebral blood flow and oxygen consumption as related to aging. *J Chronic Dis* 1956; 3: 478-486.

Klabunde RE. Autonomic Neural Control. In: *Cardiovascular Physiology Concepts*. Sun B, Hrsg. Baltimore: Lippincott Williams&Wilkins 2005: 118-129.

Kluivers-Poodt M, Houx BB, Robben SR, Koop G, Lambooi E, Hellebrekers LJ. Effects of a local anaesthetic and NSAID in castration of piglets, on the acute pain responses, growth and mortality. *Animal* 2012; 6: 1469-1475.

Kluivers-Poodt M, Zonderland JJ, Verbraak J, Lambooij E, Hellebrekers LJ. Pain behaviour after castration of piglets; effect of pain relief with lidocaine and/or meloxicam. *Animal* 2013; 7: 1158-1162.

Krause U. Herzfrequenz (HF). Pschyrembel Online Walter de Gruyter GmbH 2020: <https://www.pschyrembel.de/Herzfrequenz/K09Q3>. 06.01.2021.

Larsen R. Inhalationsanästhesie. In: *Anästhesie und Intensivmedizin für die Fachpflege*, 9. Auflage. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg 2016: 139-151.

Leidig MS, Hertrampf B, Failing K, Schumann A, Reiner G. Pain and discomfort in male piglets during surgical castration with and without local anaesthesia as determined by vocalisation and defence behaviour. *Appl Anim Behav Sci* 2009; 116: 174-178.

Lemke KA. Local Anesthetics. In: *Pain Management in Veterinary Practice*. Egger CM, Love L, Doherty T, Hrsg. New York: John Wiley & Sons, Inc. 2014: 85-92.

Lirk P, Hollmann MW, Strichartz G. The Science of Local Anesthesia: Basic Research, Clinical Application, and Future Directions. *Anesth Analg* 2018; 126: 1381-1392.

LiverTox. Isoflurane. Bethesda (MD): National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases 2018: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK548501/>. 04.01.2020.

Lomax S, Harris C, Windsor PA, White PJ. Herabsetzung des Schmerzempfindens an der Kastrationswunde bei neugeborenen Ferkeln durch eine topisch angewandte Lokalanästhesie. *Tierärztl Umsch* 2018; 73.

Löscher W. Pharmaka mit Wirkung auf das Zentralnervensystem: Narkotika. In: Pharmakotherapie bei Haus- und Nutztieren, 8. Auflage. Löscher W, Ungemach FR, Kroker R, Hrsg. Stuttgart: Enke Verlag 2010a: 68-86.

Löscher W. Lokalanästhetika. In: Pharmakotherapie bei Haus- und Nutztieren, 8. Auflage. Löscher W, Ungemach FR, Kroker R, Hrsg. Stuttgart: Enke Verlag 2010b: 134-140.

Louthan O. Chromogranin a in physiology and oncology. *Folia Biol (Praha)* 2011; 57: 173-181.

Lunde K, Egelanddal B, Skuterud E, Mainland JD, Lea T, Hersleth M, Matsunami H. Genetic Variation of an Odorant Receptor OR7D4 and Sensory Perception of Cooked Meat Containing Androstenone. *PLOS ONE* 2012; 7: e35259.

Lundström K, Malmfors B, Stern S, Rydhmer L, Eliasson-Selling L, Mortensen AB, Mortensen HP. Skatole levels in pigs selected for high lean tissue growth rate on different dietary protein levels. *Livest Prod Sci* 1994; 38: 125-132.

Marchant-Forde JN, Lay DCJ, McMunn KA, Cheng HW, Pajor EA, Marchant-Forde RM. Postnatal piglet husbandry practices and well-being: the effects of alternative techniques delivered separately. *J Anim Sci* 2009; 87: 1479-1492.

Maršálek P, Svoboda M, Bernardy J, Večerek V. Concentrations of neopterin, biopterin, and cortisol associated with surgical castration of piglets with lidocaine. *Czech J Anim Sci* 2015; 60: 473-478.

Mayfield SR, Stonestreet BS, Shaul PW, Brubakk AM, Susa J, Oh W. Plasma catecholamine concentrations of newborn piglets in thermoneutral and cold environments. *J Dev Physiol* 1989; 11: 331-334.

McGlone JJ, Hellman JM. Local and general anesthetic effects on behavior and performance of two- and seven-week-old castrated and uncastrated piglets. *J Anim Sci* 1988; 66: 3049-3058.

McMorland GH, Douglas MJ, Axelson JE, Kim JHK, Blair I, Ross PLE, Gambling DR, Swenerton JE. The effect of pH adjustment of bupivacaine on onset and duration of epidural anaesthesia for Caesarean section. *Can J Anaesth* 1988; 35: 457-461.

Melzack R. The McGill Pain Questionnaire: major properties and scoring methods. *PAIN* 1975; 1: 277-299.

Mette A. Untersuchungen zur Isofluran-Narkose beim Schwein. 2008. Diss. med. vet. Ludwig-Maximilians-Universität München.

mibe. Procain 1 % JENAPHARM® Procain 2 % JENAPHARM®. Brehna: mibe GmbH Arzneimittel 2008; https://www.mibe.de/tl_files/dp_de/content/produkte_mibe/fachinformationen/procain_1prozent/Fachinformationen.pdf. 16.02.2021.

mibe. Bupivacain 0,5 % JENAPHARM® Injektionslösung. Brehna: mibe GmbH Arzneimittel 2019; September 2019; https://www.mibe.de/tl_files/dp_de/content/produkte_mibe/gebrauchsinformationen/bupivacain_05/GI%20Bupivacain05-092019.pdf. 16.01.2021.

mibe. Xylocitin®-loc 2 % 2 ml Injektionslösung. Brehna: mibe GmbH Arzneimittel 2020; Februar 2020; https://www.mibe.de/tl_files/dp_de/content/produkte_mibe/gebrauchsinformationen/xylocitin_loc2_2ml/GI%20Xylocitin%20loc2%202ml%2002-2020.pdf. 16.01.2021.

Miller R. Drivers of Consumer Liking for Beef, Pork, and Lamb: A Review. *Foods* 2020; 9: 428.

Molina PE. Opiate modulation of hemodynamic, hormonal, and cytokine responses to hemorrhage. *Shock* 2001; 15: 471-478.

Möstl E. Spezielle Endokrinologie: Nebenniere. In: *Physiologie der Haustiere*, 3. Auflage. von Engelhardt W, Breves G, Hrsg. Stuttgart: Enke Verlag 2010: 524-528.

Mühlbauer IC. Untersuchungen zur Belastung bei der Kastration von Saugferkeln unter CO₂-Narkose. 2009. Diss. med. vet. Ludwig-Maximilians-Universität München.

Muir WW. Cardiovascular Physiology. In: *Veterinary Anesthesia and Analgesia: The Fifth Edition of Lumb and Jones*, 5. Auflage. Grimm KA, Lamont LA, Tranquilli WJ, Greene SA, Robertson SA, Hrsg. New York: John Wiley & Sons, Inc. 2015: 417-472.

Murrell JC, Johnson CB, White KL, Taylor PM, Haberham ZL, Waterman-Pearson AE. Changes in the EEG during castration in horses and ponies anaesthetized with halothane. *Vet Anaesth Analg* 2003; 30: 138-146.

Murrell JC, Johnson CB. Neurophysiological techniques to assess pain in animals. *J Vet Pharmacol Ther* 2006; 29: 325-335.

Nijhawan N, Warltier DC. Regulation of the cardiovascular system. In: *Cardiovascular Physiology*, 2. Auflage. Priebe H-J, Skarvan K, Hrsg. London: BMJ Books 2000: 213-239.

Niklas KJ, Kutschera U. Kleiber's Law: How the Fire of Life ignited debate, fueled theory, and neglected plants as model organisms. *Plant Signal Behav* 2015; 10: e1036216.

Ninomiya S, Sato S. Assessment of the effect of presenting a companion's face picture on social isolation stress using saliva sampling in cows. *Anim Sci J* 2011; 82: 787-791.

Nishiyama T, Yamashita K, Yokoyama T. Stress hormone changes in general anesthesia of long duration: isoflurane–nitrous oxide vs sevoflurane–nitrous oxide anesthesia. *J Clin Anesth* 2005; 17: 586-591.

Nussbaumer I, Indermühle N, Zimmermann W, Leist Y. Ferkelkastration mittels Injektionsnarkose: Erfahrungen mit der Kombination Azaperon, Butorphanol und Ketamin. *Schweiz Arch Tierheilkd* 2011; 153: 33-35.

Nussbaumer I. Castration of piglets under general anaesthesia: a possible approach. *Vet Sci Dev* 2012; 2: e9.

O'Callaghan AC, Hawes DW, Ross JAS, White DC, Wloch RT. Uptake of isoflurane during clinical anaesthesia: Servo-control of liquid anaesthetic injection into a closed-circuit breathing system. *Br J Anaesth* 1983; 55: 1061-1064.

Ohlsson A, Shah PS. Paracetamol (acetaminophen) for prevention or treatment of pain in newborns. *Cochrane Database Syst Rev* 2016; 10: CD011219.

Otten W, Kanitz E, Puppe B, Tuchscherer M, Brüssow K-P, Nurnberg G, Stabenow B. Acute and long term effects of chronic intermittent noise stress on hypothalamic-pituitary-adrenocortical and sympathoadrenomedullary axis in pigs. *Anim Sci* 2004; 78: 271-283.

Patterson RLS. 5 α -androst-16-ene-3-one:—Compound responsible for taint in boar fat. *J Sci Food Agric* 1968; 19: 31-38.

Pérez-Pedraza E, Mota-Rojas D, Ramírez-Necoechea R, Guerrero-Legarreta I, Martínez-Burnes J, Lezama-García K, Mora-Medina P, Rosas M, Martínez V, González-Lozano M. Effect of the number of incisions and use of local anesthesia on the physiological indicators of surgically-castrated piglets. *Int J Vet Sci Med* 2018; 6: 159-164.

Perry M, Tan Z, Chen J, Weidig T, Xu W, Cong XS. Neonatal Pain: Perceptions and Current Practice. *Crit Care Nurs Clin North Am* 2018; 30: 549-561.

Plonait H. Die Kastration männlicher Schweine. In: *Lehrbuch der Schweinekrankheiten*, 4. Auflage. Waldmann KH, Wendt M, Hrsg. Stuttgart: Parey Verlag 2004: 542-546.

Potschka H, Zöls S. Chirurgische Ferkelkastration mit Betäubung. *Prakt Tierarzt* 2016; 97: 725–728.

Prien T, Theissen J, Lawin P. Inhalation anesthesia with halogenated hydrocarbons: value of isoflurane. *Anasth Intensivther Notfallmed* 1990; 25: 129-134.

Prunier A, Mounier AM, Hay M. Effects of castration, tooth resection, or tail docking on plasma metabolites and stress hormones in young pigs. *J Anim Sci* 2005; 83: 216-222.

Prunier A, Bonneau M, von Borell EH, Cinotti S, Gunn M, Fredriksen B, Giersing M, Morton DB, Tuytens FAM, Velarde A. A review of the welfare consequences of surgical castration in piglets and the evaluation of non-surgical methods. *Anim Welf* 2006; 15: 277-289.

PubChem. Compound Summary for CID 4914. Procaine. National Center for Biotechnology Information 2021a: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Procaine>. 17.03.2021.

PubChem. Compound Summary for CID 3676. Lidocaine. National Center for Biotechnology Information 2021b: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Lidocaine>. 17.03.2021.

PubChem. Compound Summary for CID 2474. Bupivacaine. National Center for Biotechnology Information 2021c: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Bupivacaine>. 17.03.2021.

PubChem. Compound Summary for CID 4062. Mepivacaine. National Center for Biotechnology Information 2021d: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Mepivacaine>. 17.03.2021.

Raja SN, Carr DB, Cohen M, Finnerup NB, Flor H, Gibson S, Keefe FJ, Mogil JS, Ringkamp M, Sluka KA, Song X-J, Stevens B, Sullivan MD, Tutelman PR, Ushida T, Vader K. The revised International Association for the Study of Pain definition of pain: concepts, challenges, and compromises. *PAIN* 2020; 161.

Ranheim B, Haga HA, Ingebrigtsen K. Distribution of radioactive lidocaine injected into the testes in piglets. *J Vet Pharmacol Ther* 2005; 28: 481-483.

Rankin DC. Neonatal Anesthesia. In: *Veterinary Anesthesia and Pain Management Secrets*. A. GS, Hrsg. Philadelphia: Hanley & Belfus, Inc. 2002: 211-213.

Rauh A, Hofmann K, Harlizius J, Weiß C, Numberger J, Scholz T, Schulze-Horsel T, Otten W, Ritzmann M, Zöls S. Schmerz- und Stressbestimmung bei der Injektion und Kastration von Saugferkeln unter Lokalanästhesie mit Procain und Lidocain. Teil 2: Abwehrverhalten, Katecholamine, koordinierte Bewegungsabläufe. *Tierärztl Prax Ausg G Grosstiere Nutztiere* 2019; 47: 160-170.

Reiter S, Zöls S, Ritzmann M, Stefanski V, Weiler U. Penile Injuries in Immunocastrated and Entire Male Pigs of One Fattening Farm. *Animals (Basel)* 2017; 7.

Rettig R. Kreislauf. In: *Physiologie*, 7. Auflage. Speckmann E-J, Hescheler J, Köhling R, Hrsg. München: Elsevier GmbH 2019: 420-451.

Richtlinie 2008/120/EG des Rates vom 18. Dezember 2008 über Mindestanforderungen für den Schutz von Schweinen.

Rigamonti S, Bettschart-Wolfensberger R, Schwarz A, Nussbaumer I. Ermittlung eines feldtauglichen Injektionsanästhesieprotokolls zur Kastration von 8 bis 14-tägigen Ferkeln. *Schweiz Arch Tierheilkd* 2018; 160: 469-474.

Ritter M. Koordination spezieller Organfunktionen: Hormone. In: *Physiologie*, 7. Auflage. Speckmann E-J, Hescheler J, Köhling R, Hrsg. München: Elsevier GmbH 2019: 719-773.

Rittershaus D. Topische Anästhesieverfahren zur Schmerzreduktion bei der Saugferkelkastration. 2009. Diss. med. vet. Tierärztliche Hochschule Hannover.

Roughan JV, Flecknell PA. Effects of surgery and analgesic administration on spontaneous behaviour in singly housed rats. *Res Vet Sci* 2000; 69: 283-288.

Ruis MA, Te Brake JH, Engel B, Ekkel ED, Buist WG, Blokhuis HJ, Koolhaas JM. The circadian rhythm of salivary cortisol in growing pigs: effects of age, gender, and stress. *Physiol Behav* 1997; 62: 623-630.

Rydhmer L, Zamaratskaia G, Andersson HK, Algers B, Guillemet R, Lundström K. Aggressive and sexual behaviour of growing and finishing pigs reared in groups, without castration. *Acta Agric Scand A Anim Sci* 2006; 56: 109-119.

Samarin MJ, Mohrien KM, Oliphant CS. Continuous intravenous antiarrhythmic agents in the intensive care unit: strategies for safe and effective use of amiodarone, lidocaine, and procainamide. *Crit Care Nurs Q* 2015; 38: 329-344.

Sann H. Sinnesphysiologie: Nozizeption und Schmerz. In: *Physiologie der Haustiere*, 3. Auflage. von Engelhardt W, Breves G, Hrsg. Stuttgart: Enke Verlag 2010: 75-80.

Satas S, Haaland K, Thoresen M, Steen PA. MAC for halothane and isoflurane during normothermia and hypothermia in the newborn piglet. *Acta Anaesthesiol Scand* 1996; 40: 452-456.

Schäffer J, König L. Der deutsche Tierschutz - ein Werk des Führers! *DTBI* 2015: 1244-1256.

Schäffler A. Mittlerer arterieller Blutdruck (MAP). *Pschyrembel Online* Walter de Gruyter GmbH 2017: <https://www.pschyrembel.de/Mittlerer%20arterieller%20Blutdruck/K03> WP. 05.01.2021.

Schiele DM. Untersuchungen über den Einsatz von topischer Kryobehandlung und Lokalanästhesie bei der Kastration männlicher Saugferkel. 2010. Diss. med. vet. Ludwig-Maximilians-Universität München.

Schulte am Esch JS, Gottschalk A. Allgemeinanästhesie: Inhalationsanästhetika. In: Duale Reihe Anästhesie: Intensivmedizin, Notfallmedizin, Schmerztherapie, 4. Auflage. Schulte am Esch JS, Hrsg. Stuttgart: Georg Thieme Verlag KG 2011: 149-159.

Schulz C. Auswirkung einer Isofluran-Inhalationsnarkose auf den Kastrationsstress und die postoperativen Kastrationsschmerzen von Ferkeln. 2007. Diss. med. vet. Ludwig-Maximilians-Universität München.

Schulz C, Ritzmann M, Palzer A, Heinritzi K, Zöls S. Auswirkung einer Isofluran-Inhalationsnarkose auf den postoperativen Kastrationsschmerz von Ferkeln. Berl Münch Tierärztl Wochenschr 2007; 6: 177-182.

Schwennen C, Kolbaum N, Waldmann KH, Hötig D. Evaluation of the anaesthetic depth during piglet castration under an automated isoflurane-anaesthesia at farm level. Berl Münch Tierärztl Wochenschr 2016; 129: 40-47.

Silbernagl S, Despopoulos A. Vegetatives Nervensystem. In: Taschenatlas Physiologie, 8. Auflage. Stuttgart: Georg Thieme Verlag KG 2012a: 82-91.

Silbernagl S, Despopoulos A. Herz und Kreislauf. In: Taschenatlas Physiologie, 8. Auflage. Stuttgart: Georg Thieme Verlag KG 2012b: 198-234.

Skarlandtová H, Bičíková M, Neužil P, Mlček M, Hrachovina V, Svoboda T, Medová E, Kudlička J, Dohnalová A, Havránek S, Kazihnítková H, Máčová L, Kittnar O. Is there circadian variation in cortisol levels in young sows in heart catheterization? Prague Med Rep 2011; 112: 184-192.

Smith AD, Winkler H. Purification and properties of an acidic protein from chromaffin granules of bovine adrenal medulla. Biochem J 1967; 103: 483-492.

Spörri H. Blutkreislauf. In: Lehrbuch der Veterinär-Physiologie, 7. Auflage. Wittke G, Hrsg. Berlin und Hamburg: Verlag Paul Parey 1987: 209-301.

Steffey EP, Mama KR, Brosnan RJ. Inhalation Anesthetics. In: Veterinary Anesthesia and Analgesia: The Fifth Edition of Lumb and Jones, 5. Auflage. Grimm KA, Lamont LA, Tranquilli WJ, Greene SA, Robertson SA, Hrsg. New York: John Wiley & Sons, Inc. 2015: 297-331.

Steigmann M. Evaluierung der Schmerzausschaltung bei der Kastration männlicher Ferkel unter automatisierter Isoflurannarkose. 2013. Diss. med. vet. Tierärztliche Hochschule Hannover.

Strazar AR, Leynes PG, Lalonde DH. Minimizing the pain of local anesthesia injection. *Plast Reconstr Surg* 2013; 132: 675-684.

Strobel G. Sympathoadrenerges System und Katecholamine im Sport. *Dtsch Z Sportmed* 2002; 53: S. 84-85.

Sulbaek Andersen MP, Sander SP, Nielsen OJ, Wagner DS, Sanford TJ, Jr, Wallington TJ. Inhalation anaesthetics and climate change. *Br J Anaesth* 2010; 105: 760-766.

Sutherland MA, Davis BL, Brooks TA, Coetzee JF. The physiological and behavioral response of pigs castrated with and without anesthesia or analgesia. *J Anim Sci* 2012; 90: 2211-2221.

Sutherland MA, Backus BL, Brooks TA, McGlone JJ. The effect of needle-free administration of local anesthetic on the behavior and physiology of castrated pigs. *J Vet Behav* 2017; 21: 71-76.

Tacke S, Erhardt W, Henke J, Baumgartner C, Kroker R. Lokalanästhetika. In: Anästhesie und Analgesie beim Klein- und Heimtier mit Exoten, Labortieren, Vögeln, Reptilien, Amphibien und Fischen, 2. Auflage.

Erhardt W, Henke J, Haberstroh J, Baumgartner C, Tacke S, Hrsg. Stuttgart: Schattauer GmbH 2012: 112-113.

Takiyyuddin MA, Cervenka JH, Sullivan PA, Pandian MR, Parmer RJ, Barbosa JA, O'Connor DT. Is physiologic sympathoadrenal catecholamine release exocytotic in humans? *Circulation* 1990; 81: 185-195.

Tavella G, Scollo A, Mazzoni C, Contiero B, Gottardo F. Use of local anaesthesia during piglet castration: pain evaluation. *Atti della Società Italiana di Patologia ed Allevamento dei Suini, XLII Meeting Annuale Montichiari: Società Italiana di Patologia ed Allevamento dei Suini 2016: 69–76.*

Taxonomy ITFo. PART III: Pain Terms, A Current List with Definitions and Notes on Usage. In: *Classification of Chronic Pain, 2. Auflage.* Merskey H, Baranowski AP, Hrsg. Washington (DC): International Association for the Study of Pain. 1994: 209–214.

Taylor AA, Weary DM. Vocal responses of piglets to castration: identifying procedural sources of pain. *Appl Anim Behav Sci* 2001; 70: 17-26.

Taylor AA, Weary DM, Lessard M, Braithwaite L. Behavioural responses of piglets to castration: the effect of piglet age. *Appl Anim Behav Sci* 2001; 73: 35-43.

Taylor PM, Kirby JJ, Shrimpton DJ, Johnson CB. Cardiovascular effects of surgical castration during anaesthesia maintained with halothane or infusion of detomidine, ketamine and guaifenesin in ponies. *Equine Vet J* 1998; 30: 304-309.

Team RDC. A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Hrsg. Wien. 2017.

Telles F, Luna S, Teixeira G, Berto D. Long-term weight gain and economic impact in pigs castrated under local anaesthesia. *Vet Anim Sci* 2016; 1: 36-39.

Tierschutzgesetz, neugefasst durch Bek. v. 18.5.2006 (BGBl. I S. 1206, 1313); zuletzt geändert durch Art. 280 V v. 10.07.2020 (BGBl I S. 1328).

Tranquilli WJ, Grimm KA. Introduction: Use, Definitions, History, Concepts, Classification, and Considerations for Anesthesia and Analgesia. In: *Veterinary Anesthesia and Analgesia: The Fifth Edition of Lumb and Jones*, 5. Auflage. Grimm KA, Lamont LA, Tranquilli WJ, Greene SA, Robertson SA, Hrsg. New York: John Wiley & Sons, Inc. 2015: 3-10.

Valenzuela C, Torres C, Muñoz V, Simbaina JC, Sánchez A, Bustamante T, Sepúlveda JM, Piron R, Del Campo M, Lagos N. Evaluation of Neosaxitoxin as a local anesthetic during piglet castration: A potential alternative for Lidocaine. *Toxicon* 2019; 164: 26-30.

Van Lieshout JJ, Wieling W, Karemaker JM, Eckberg DL. The vasovagal response. *Clin Sci* 1991; 81: 575–586.

VETIDATA. Leipzig: Veterinärmedizinischer Informationsdienst für Arzneimittelanwendung, Toxikologie und Arzneimittelrecht 2021: <https://www.vetidata.de>. 03.01.2021.

Vitez TS, White PF, Eger Eln. Effects of hypothermia on halothane MAC and isoflurane MAC in the rat. *Anesthesiology* 1974; 41: 80-81.

von Borell E, Oliver M, Fredriksen B, Edwards S, Bonneau M. Standpunkte, Praktiken und Kenntnisstand zur Ferkelkastration in Europa (PIGCAS) – Projektziele und erste Ergebnisse. *J Verbrauch Lebensm* 2008; 3: 216-220.

von Borell E, Baumgartner J, Giersing M, Jäggin N, Prunier A, Tuytens FAM, Edwards SA. Animal welfare implications of surgical castration and its alternatives in pigs. *Animal* 2009; 3: 1488-1496.

von Engelhardt W. Kreislauf: Hämodynamik in den einzelnen Gefäßsystemen. In: *Physiologie der Haustiere*, 3. Auflage. von Engelhardt W, Breves G, Hrsg. Stuttgart: Enke Verlag 2010: 178-188.

Vorwallner H. Untersuchungen zur Catecholaminkonzentration bei der Kastration von Saugferkeln. 2003. Diss. med. vet. Freie Universität Berlin.

Waldmann KH, Otto K, Bollwahn W. Ferkelkastration - Schmerzempfindung und Schmerzausschaltung. *Dtsch Tierärztl Wochenschr* 1994; 101: 105-109.

Waldmann KH, Potschka H, Lahrmann KH, Kästner S. Saugferkelkastration unter Lokalanästhesie? Eine Situationsanalyse aus wissenschaftlicher Sicht. *DTBI* 2018; 66: 1218-1226.

Walser K. Herz und Kreislaufsystem. In: *Neugeborenen- und Säuglingskunde der Tiere*, Studien-Sonderausgabe der 1. Auflage. Walser K, Bostedt H, Hrsg. Stuttgart: Enke Verlag 2009: 4-6.

Watson MK, Chinnadurai SK. Evaluation of noninvasive oscillometric blood pressure monitoring in anesthetized bennett's wallabies (*macropus rufogriseus*). *J Zoo Wildl Med* 2019; 50: 389-395.

Weiler U, Isernhagen M, Stefanski V, Ritzmann M, Kress K, Hein C, Zöls S. Penile Injuries in Wild and Domestic Pigs. *Animals (Basel)* 2016; 6: 25.

Wesoly R, Weiler U. Nutritional Influences on Skatole Formation and Skatole Metabolism in the Pig. *Animals* 2012; 2: 221-242.

White RG, DeShazer JA, Tressler CJ, Borchert GM, Davey S, Wanninge A, Parkhurst AM, Milanuk MJ, Clemens ET. Vocalization and physiological response of pigs during castration with or without a local anesthetic. *J Anim Sci* 1995; 73: 381-386.

Yokoyama MT, Carlson JR, Holdeman LV. Isolation and characteristics of a skatole-producing *Lactobacillus* sp. from the bovine rumen. *Applied and environmental microbiology* 1977; 34: 837-842.

Yun J, Ollila A, Valros A, Larenza-Menzies P, Heinonen M, Oliviero C, Peltoniemi O. Behavioural alterations in piglets after surgical castration: Effects of analgesia and anaesthesia. *Res Vet Sci* 2019; 125: 36-42.

Zamaratskaia G, Rydhmer L, Chen G, Madej A, Andersson HK, Lundström K. Boar taint is related to endocrine and anatomical changes at puberty but not to aggressive behaviour in entire male pigs. *Reprod Domest Anim* 2005; 40: 500-506.

Zankl A. Untersuchungen zur Wirksamkeit und Gewebeverträglichkeit von Lokalanästhetika bei der Kastration männlicher Saugferkel. 2007. Diss. med. vet. Ludwig-Maximilians-Universität München.

Zankl A, Ritzmann M, Zöls S, Heinritzi K. Untersuchungen zur Wirksamkeit von Lokalanästhetika bei der Kastration von männlichen Saugferkeln. *Dtsch Tierärztl Wochenschr* 2007; 114: 418-422.

Zbinden AM, Petersen-Felix S, Thomson DA. Anesthetic depth defined using multiple noxious stimuli during isoflurane/oxygen anesthesia. II. Hemodynamic responses. *Anesthesiology* 1994; 80: 261-267.

Zimmermann S. Untersuchungen zur Wirkung der Betäubung mittels Kohlendioxid bei der Kastration männlicher Saugferkel. 2010. Diss. med. vet. Ludwig-Maximilians-Universität München.

Zink W, Ulrich M. Clinical use and toxicity of local anaesthetics. *Anästh Intensivmed* 2018; 59: 716-728.

Zöls S. Möglichkeiten der Schmerzreduzierung bei der Kastration männlicher Saugferkel. 2006. Diss. med. vet. Ludwig-Maximilians-Universität München.

Zöls S, Ritzmann M, Heinritzi K. Einfluss von Schmerzmitteln bei der Kastration männlicher Ferkel. *Berl Münch Tierärztl Wochenschr* 2006; 119: 193–196.

XII. ANHANG

Aufzeichnungsplan

Tierspezies: Schwein		Tier-ID:	Mutter-ID:
Datum (Kastration): Versuchsgruppe: <input type="checkbox"/> akut <input type="checkbox"/> chronisch		Geburt: Wurfgröße: Gewicht (Versuchsbeginn):	
Rasse: Masthybrid		Interne Nr:	
Herkunft des Tieres:		Geschlecht: männlich	
Klinische Untersuchung: Datum/Uhrzeit:		Kürzel:	
Verhalten: <input type="checkbox"/> aufmerksam, munter		<input type="checkbox"/> _____	
Trinkverhalten: <input type="checkbox"/> trinkt		<input type="checkbox"/> _____	
Körperhaltung: <input type="checkbox"/> physiologisch		<input type="checkbox"/> _____	
Körpertemperatur: _____		_____	
Respirationstrakt: <input type="checkbox"/> obB		<input type="checkbox"/> _____	
Gastrointestinaltrakt: <input type="checkbox"/> obB		<input type="checkbox"/> _____	
Untersuchung Hoden: <input type="checkbox"/> obB		<input type="checkbox"/> _____	
Präemptive Analgesie			
<input type="checkbox"/> Meloxicam i.m. (0,4 mg/kg)		Uhrzeit/Kürzel: _____	
<input type="checkbox"/> Metamizol i.m. (___ mg/kg)		Uhrzeit/Kürzel: _____	
<input type="checkbox"/> Flunixin i.m. (2,2 mg/kg)		Uhrzeit/Kürzel: _____	
<input type="checkbox"/> keine Narkose <input type="checkbox"/> Narkose: Beginn: _____ Ende: _____			
Inhalationsnarkose:		Kürzel:	
<input type="checkbox"/> Einleitung mit 3-4 % Isofluran		<input type="checkbox"/> Propofol 2%	
<input type="checkbox"/> Erhaltung mit 0,8-1,5 % Isofluran			
<input type="checkbox"/> 5% Isofluran während der Kastration			
LA Schema: (Menge Dosierung)			
<input type="checkbox"/> Lidocain: _____		<input type="checkbox"/> Mepivacain: _____	
<input type="checkbox"/> Bupivacain: _____		<input type="checkbox"/> Procain: _____	
<input type="checkbox"/> NaCl			
Wartezeit bis Kastration:		Kürzel:	
Injektion Hoden		Applikationstechnik:	
<input type="checkbox"/> intratestikulär _____		<input type="checkbox"/> Automatikspritze	
<input type="checkbox"/> intrascrotal _____		<input type="checkbox"/> Doppelinjektor	
<input type="checkbox"/> inguinal _____		<input type="checkbox"/> Nadellose Injektion	
<input type="checkbox"/> intratestikulär mit intrascrotalem (subkutanem) Depot _____			
Kastration: <input type="checkbox"/> JA <input type="checkbox"/> NEIN		Kürzel:	
Bemerkung/Besonderheiten/Komplikationen/Maßnahmen/Abbruchkriterien:			
Organentnahme:		Tötungsmethode/Zeitpunkt:	
<input type="checkbox"/> Blut _____ ml		<input type="checkbox"/> Pentobarbital Überdosis i.v. bzw. i.c. in tiefer Allgemeinanästhesie (80 mg/kg)	
<input type="checkbox"/> Hoden		Applizierte Menge: _____ ml	
<input type="checkbox"/> _____		<input type="checkbox"/> keine Tötung, Verbleib: _____	
Unterschrift Projektleiter/ Stellvertreter		Unterschrift Durchführender	

XIII. DANKSAGUNG

Zuallererst gilt mein größter Dank meiner Betreuerin und Mentorin Professor Dr. Christine Baumgartner, welche so freundlich war, mir dieses spannende und gesellschaftlich wichtige Thema zu überlassen. Danke für die jederzeit uneingeschränkte Hilfe und Unterstützung durch Teilen deiner Erfahrungen und die überaus konstruktiven Verbesserungsvorschläge. Außerdem herzlichen Dank für die tolle Arbeitsatmosphäre am Zentrum für Präklinische Forschung (ZPF), welche maßgeblich zur Qualität der Arbeit beigetragen hat.

Ebenso geht mein sehr großer Dank an Herrn Professor Dr. Ritzmann, ohne den das Projekt nicht zustande gekommen wäre. Vielen Dank für die Übernahme der Doktorarbeit an der Tierärztlichen Fakultät der LMU, die sehr gute Kooperation in diesem Projekt und die Bereitstellung der Räumlichkeiten sowie des Personals.

Im Rahmen dessen möchte ich mich auch für die umfassende Betreuung und Unterstützung bei Dr. Susanne Zöls seitens der Klinik für Schweine und PD Dr. Shana Bergmann seitens des Lehrstuhls für Tierschutz, Verhaltenskunde, Tierhygiene und Tierhaltung der LMU bedanken. Vielen Dank für die tolle Zusammenarbeit, Koordination und Planung des Projekts.

Außerdem möchte ich Dr. Julia Werner von ganzem Herzen danken, die mir egal wann für die Beantwortung jeglicher Fragen mit Rat und Tat zur Seite stand. Vielen Dank für deine Vielzahl an Korrekturen, für die konstruktive Zusammenarbeit und die tolle Arbeitsatmosphäre. Ohne dich hätte die Arbeit nicht die Qualität, die sie jetzt hat.

Ein großes Dankeschön geht ebenfalls an meine lieben Kollegen des ZPFs Judith Reiser und Dr. Johannes Fischer. Vielen Dank für ein immer offenes Ohr und zahlreiche Tipps und Tricks nicht nur im Rahmen der Doktorarbeit und unseres Projekts, sondern auch für unseren Berufsalltag.

Ein herzlicher Dank für das überragende Engagement in unserem Projekt geht auch an das Team der Klinik für Schweine Dr. Steffanie Senf,

Dr. Pauline Deffner und Nora Abendschön sowie an das Team des Lehrstuhls für Tierschutz, Verhaltenskunde, Tierhygiene und Tierhaltung Dr. Andrea Grott und Regina Miller.

Vielen Dank auch an Yury Zablotski für die bereits erfolgten und noch folgenden statistischen Auswertungen und die tatkräftige, auch oftmals kurzfristige Unterstützung in unserer Studie.

Für die Bereitstellung der finanziellen Mittel des Projekts möchte ich mich herzlich bei dem Bundesministerium für Ernährung und Landwirtschaft und der Bundesanstalt für Landwirtschaft und Ernährung bedanken.

Ein großer Dank geht auch an meine Freunde und Familie, die mir jederzeit mit einem aufmunternden Wort zur Seite standen. Christian, danke für ein immer offenes Ohr für meine Probleme, egal welcher Art. Max, danke für dein Verständnis, deine Unterstützung und deine ellenlange Geduld mit mir. Das ist nicht selbstverständlich und bedeutet mir sehr viel.

Zuallerletzt möchte ich meinen Eltern von ganzem Herzen danken, die in dieser wirklich arbeitsintensiven Zeit uneingeschränkt für mich da waren, ohne die ein Studium und die Anfertigung dieser Arbeit nicht möglich gewesen wären und auf die ich mich immer bedingungslos verlassen kann. Danke, dass es euch gibt!