

Aus der
Klinik für Anästhesiologie des Universitätsklinikums Düsseldorf
Direktor: Prof. Dr. B. Pannen

und aus dem

Zentrum für Präklinische Forschung
der Technischen Universität München
Direktor: Prof. Dr. med. B. Gänsbacher
(Leitung: PD Dr. J. Henke, Dr. Th. Brill)

Angefertigt unter der Leitung von

Priv.-Doz. Dr. med. Rainer Freynhagen, DEAA (Düsseldorf)

und

Priv.-Doz. Dr. med. vet. Julia Henke (München)

Vorgelegt über
Prof. Dr. med. vet. M. Stangassinger
Institut für Physiologie, Physiologische Chemie und Tierernährung
der Tierärztlichen Fakultät
Ludwig- Maximilians-Universität München

**Zur Wirkung von Mirtazapin und seiner Enantiomere auf chronisch
neuropathische Schmerzen bei der Ratte**

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

**von
Carina Driehsen
Nettetal**

München, 2008

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

Dekan: Univ.- Prof. Dr. J. Braun
Berichterstatter: Univ.- Prof. Dr. M. Stangassinger
Korreferent: Univ.- Prof. Dr. Schmahl

Tag der Promotion: 18. Juli 2008

Für meine Familie

1. Einleitung	1
2. Schrifttum	3
2.1 Schmerz	3
2.1.1 Schmerzeinteilung	3
2.1.2 Schmerzentstehung und Weiterleitung	3
2.1.3 Chronische Schmerzen	5
2.2 Einteilung neuropathischer Schmerzsyndrome	6
2.2.1 Charakteristika neuropathischer Schmerzen	6
2.2.2 Pathophysiologie des neuropathischen Schmerzes	6
2.2.2.1 Periphere Sensibilisierung	7
2.2.2.2 Zentrale Sensibilisierung	8
2.2.2.3 Degeneration hemmender Neurone	9
2.2.2.4 Zentrale Reorganisation	9
2.2.3 Häufigkeit des Auftretens neuropathischer Schmerzen	11
2.3 Diagnostik neuropathischer Schmerzen	11
2.4 Therapie neuropathischer Schmerzen	13
2.4.1 Antikonvulsiva mit Wirkung auf Kalziumkanäle	16
2.4.2 Antikonvulsiva mit Wirkung auf Natriumkanäle	16
2.4.3 Langwirksame Opioide	16
2.4.4 Lokale Behandlungen	17
2.4.5 Antidepressiva	17
2.4.5.1 Tricyclische Antidepressiva	18
2.4.5.2 Selektive Serotonin-Wiederaufnahmehemmer (SSRI)	19
2.4.5.3 Kombinierte Serotonin- und Noradrenalin-Wiederaufnahme- Hemmer (SSNRI)	19
2.4.5.4 Mirtazapin	21
2.5 Experimentelle Methoden zur Untersuchung neuropathischer Schmerzen	27

3. Material und Methoden	29
3.1 Zielvorstellung	29
3.2 Versuchstiere	30
3.3 Haltung und Fütterung	31
3.4 Pharmaka und Dosierung	31
3.5 Allgemeiner Versuchsplan	32
3.5.1 Versuchsablauf	32
3.5.2 Ansetzen der Testsubstanz	34
3.6 Messapparaturen	35
3.6.1 Dynamic Plantar Test 7370	35
3.6.2 Dynamic Plantar Aesthesiometer 37400	37
3.7 Intrathekale Katheterisierung und Chronic Constriction Injury-Operationen	39
3.8 Sektion	42
3.9 Statistische Auswertung	43
4. Ergebnisse	44
4.1 Ergebnisse zur Untersuchung der thermalen Hyperalgesie	44
4.1.1 PWT zu den einzelnen Messzeitpunkten	47
4.1.2 Tabellarische Aufführung der mittleren PWT aller Untersuchungen zur thermalen Hyperalgesie	50
4.2 Ergebnisse zur Untersuchung der mechanischen Allodynie	53
4.2.1 PWT zu den einzelnen Messzeitpunkten	55
4.2.2 Tabellarische Aufführung der mittleren PWT aller Untersuchungen zur mechanischen Allodynie	58

5. Diskussion	61
5.1 Diskussion der Methodik	61
5.1.1 Versuchstiere	61
5.1.2 Messsysteme und Parameter	62
5.1.3 Applikationsart und Dosierungen des Mirtazapins	64
5.2 Diskussion der Ergebnisse	65
5.3 Schlussfolgerung	71
6. Zusammenfassung	73
7. Summary	75
8. Literaturverzeichnis	77

Verzeichnis der verwendeten Abkürzungen

Abb.	Abbildung
ACH	Acetylcholin
AD	Außendurchmesser
Appl.	Applikation
Bsp.	Beispiel
bzw.	beziehungsweise
ca.	circa
CGRP	Calcitonin Gene- Related Peptid
CCI	Chronic Constriction Injury
cm	Zentimeter
CPRS I	Komplexe Regionale Schmerzsyndrome Typ I = CRPS Typ I
CPRS II	Komplexe Regionale Schmerzsyndrome Typ II= CRPS Typ II
CYP2D6	Cytochrom P 2D6
CYP3A4	Cytochrom P 3A4
et al.	et alii = „und andere“
evt.	eventuell
Fa.	Firma
g	Gramm
GABA	Gamma amino butyric acid
h	Stunde
H- Rezeptor	Histamin Rezeptor
H ⁺	Wasserstoff
HCL	Salzsäure
i.d.F.	in der Fassung
i.d.R	in der Regel
i.p.	intraperitoneal
i.t.	intrathekal
i.v.	intravenös
ID	Innendurchmesser
K ⁺	Kalium
kg	Kilogramm
M.	Musculus

Abkürzungsverzeichnis

mg	Milligramm
min	Minute
ml	Milliliter
mm	Millimeter
N.	Nervus
Na	Natrium
NaCl	Natriumchlorid
NMDA	N- Methyl- D- Aspartat
NRM	Nucleus raphe magnus
NW	Nebenwirkung
OP	Operation
PAG	Periaquäduktales Grau
PG	Prostaglandin
PGE ₂	Prostaglandin E ₂
Prä Appl	Vor der Applikation
PWT	Paw Withdrawal time= Pfotenrückzugslatenzzeit
Sek.	Sekunde
sog.	sogenannt
SPF	Specific Pathogen Free
Std.	Stunde
Tab.	Tabelle
TCA	Tricyclische Antidepressiva
u.a.	unter anderem
u.U.	unter Umständen
v.a.	vor allem
z.B.	zum Beispiel
ZNS	Zentralnervensystem
µl	Mikroliter
5-HT	5-Hydroxytryptamin; Serotonin

1. Einleitung

Neuropathische Schmerzen (Schmerzen, die nach Schädigungen zentraler oder peripherer nozizeptiver Systeme entstehen (FREYNHAGEN & BARON, 2006)) stellen sich klinisch auf vielfältige Art und Weise dar. Ihnen liegen verschiedenste pathophysiologische Veränderungen des peripheren und zentralen nozizeptiven Systems zugrunde. Die Therapie dieser Schmerzen ist dadurch äußerst schwierig.

In der Humanmedizin wird seit ca. 30 Jahren eine konsequente Schmerztherapie verfolgt. Erst durch die Einführung neuer nebenwirkungsarmer nichtsteroidaler Antiphlogistika (NSAIDs) wurde es auch in der Tiermedizin möglich, akute und chronische Schmerzzustände behandeln zu können und die Einsicht in die Notwendigkeit der Schmerztherapie beim Tier wuchs. Als Analgetika beim Tier verwendet man vor allem Opioide, nichtsteroidale Antipyretika und nichtsteroidale Antiphlogistika (HENKE & ERHARDT 2004). Die medikamentöse Basistherapie neuropathischer Schmerzen in der Humanmedizin besteht aus einer Kombination von Antidepressiva, Antikonvulsiva mit Wirkung auf neuronale Kalzium- und Natriumkanäle und langwirksamen Opioiden (FREYNHAGEN & BARON 2006). Aktuelle Studien zur Wirksamkeit und Sicherheit von Antidepressiva bei neuropathischen Schmerzen zeigen, dass tricyklische Antidepressiva effektive Substanzen in der Therapie darstellen (SAARTO et al., 2005). In den letzten Jahren werden zunehmend moderne selektiv wirksame Antidepressiva aufgrund geringerer Nebenwirkungen zur Schmerztherapie eingesetzt.

Mirtazapin ist eines der ersten dual wirkenden Antidepressiva, das sowohl die noradrenerge als auch die serotonerge Neurotransmission erhöht. In humanen klinischen und einigen tierexperimentellen Studien stellt sich Mirtazapin bisher als ein sicheres, gut verträgliches und deutlich schmerzlinderndes Medikament dar (SCHREIBER et al., 2002a, 2002b; FREYNHAGEN et al., 2006; BOMHOLT et al., 2005; KIRKTON & MC INTYRE 2006; BENDTSEN & JENSEN 2004).

Bei Untersuchungen zur thermalen Hyperalgesie in einem akuten und in einem chronischen Schmerzmodell erwies sich racemisches Mirtazapin als analgetisch wirksam bei Mäusen und Ratten (SCHREIBER et al., 2002a, 2002b; BOMHOLT et al., 2005; FREYNHAGEN et al., 2006). In einer Akutschmerzstudie von FREYNHAGEN et al., (2006) zeigte sich, dass R(-)-Mirtazapin dosisunabhängig antinozizeptiv wirkt, während S(+)-Mirtazapin pronozizeptive Effekte hatte. Das Racemat wies dosisabhängig eine pro- und antinozizeptive Wirkung auf.

Gegenwärtig fehlen Studien zur analgetischen Eigenschaft der Enantiomere bei chronischen Schmerzzuständen. Solche Untersuchungen erscheinen jedoch sinnvoll und notwendig im Hinblick auf die Sicherheit und die Minimierung von Nebenwirkungen beim Einsatz von Antidepressiva.

In der vorliegenden Studie sollten die analgetische Wirkung des Razemats sowie der Enantiomere des Mirtazapins bei neuropathischen Schmerzen am Rattenmodell untersucht werden.

Zur Erzeugung neuropathischer Schmerzen bei der Ratte wurde das etablierte Modell der Chronic Constriction Injury (CCI) nach BENNETT und XIE (1988) angewendet. 10 Tage später wurde das Razemat und die beiden Enantiomere hinsichtlich ihrer antinozizeptiven Wirkung bei der thermalen Hyperalgesie und mechanischen Allodynie untersucht.

Im Einzelnen war diese Untersuchung darauf ausgerichtet folgenden Fragen nachzugehen:

1. Wirkt das Mirtazapin-Razemat pro- oder antinozizeptiv bei thermaler Hyperalgesie oder mechanischer Allodynie und wenn ja, in welchen Dosierungen?
2. Welchen Effekt auf neuropathische Schmerzen haben das R(-)- und S(+)-Mirtazapin im Einzelnen und wie ist ihre jeweilige Potenz im Vergleich zum Razemat?
3. Lässt sich die analgetische Wirkung von R(-)-Mirtazapin bei akuten Schmerzen an einem Tiermodell für chronische neuropathische Schmerzen reproduzieren?
4. Wirkt S(+)-Mirtazapin wie in der Akutschmerzstudie von FREYNHAGEN et al., (2006) auch bei chronischem Schmerz pronozizeptiv?

2. Schrifttum

2.1 Schmerz

„Schmerz ist ein unangenehmes Sinnes - und Gefühlserlebnis, das mit aktueller oder potentieller Gewebeschädigung verknüpft ist oder mit Begriffen einer solchen Schädigung umschrieben wird.“ Diese Definition der INTERNATIONAL ASSOCIATION FOR THE STUDY OF PAIN (IASP, 1978) zeigt, wie vielfältig sich Schmerz äußern kann und wie schwer es ist, ihn zu definieren. Schmerz ist immer subjektiv.

Noch schwieriger ist die Schmerzdefinition beim Tier, da man die zugehörigen Empfindungen bei Tieren nicht erfragen kann. Für das Tier ergibt sich folgende Schmerzdefinition:

„Schmerz bei Tieren ist eine aversive sensorische Erfahrung, die durch aktuelle oder potentielle Verletzungen verursacht wird, die protektive motorische oder vegetative Reaktionen auslöst, zu erlernter Vermeidung solcher Reize führt und somit das Verhalten modifiziert“ (SANN, 1998).

2.1.1 Schmerzeinteilung

Man kann Schmerz je nach Lokalisation in somatischen (oberflächlichen) oder viszeralem Schmerz einteilen. In Abhängigkeit von der Dauer wird zwischen akutem und chronischem Schmerz unterschieden. Als chronischen Schmerz bezeichnet man lang anhaltende oder intermittierende Schmerzen. Schmerz wird als chronisch angesehen, wenn er länger als drei Monate besteht. Für manche Autoren ist der Schmerz schon chronisch, wenn er länger als einen Monat über die übliche Zeit für einen Heilungsprozess andauert. Zu diesem Thema gibt es viele unterschiedliche Ansichten und keine verbindliche Übereinkunft. Für die Tiermedizin ist kein Zeitraum festgelegt (SCHAIBLE & SCHMIDT, 2000; HENKE & ERHARDT, 2001; v. ENGELHARDT & BREVES, 1998).

2.1.2 Schmerzentstehung und Weiterleitung

Der erste Schritt bei der Perzeption noxischer Signale ist die Aktivierung von Nozizeptoren (Nozisektoren), die spezifisch auf noxische Reize reagieren. Bei Nozizeptoren handelt es sich um freie Nervenendigungen, die vor allem in der Haut (90%), aber auch in anderen Geweben (Pleura, Peritoneum, Periost, Muskeln, Sehnen, Bändern, Gelenkkapseln) anzutreffen sind. Sie reagieren auf mechanische, chemische und thermische Reize und gehören zu den langsam leitenden afferenten Nerven der

Gruppe III (A δ -) und IV (C- Fasern) (SCHAIBLE & SCHMIDT, 2000; MEßLINGER, 1997; HENKE & ERHARDT, 2004).

Nozizeptoren der Haut: Man unterscheidet in der Haut zwischen den hochschwelligen Mechanonozizeptoren (high-threshold mechanonociceptors, HMTs), die vorwiegend aus A δ - Fasern gebildet werden und den mechano- und hitzesensiblen A δ - Fasern (A mechano-heat nociceptors, AMHs) bzw. C-Afferenzen (C- mechano-heat nociceptors, CMHs). Eine Stimulation der A δ - Fasern der Haut ruft eine scharfe Schmerzempfindung hervor, die Stimulation der C- Fasern hingegen eine dumpfe (SCHAIBLE & SCHMIDT, 2000; MEßLINGER, 1997; HENKE & ERHARDT, 2004).

Nozizeptoren des tiefen Gewebes und der Viszera: A δ - und C- Afferenzen der tiefen Gewebe (Muskeln, Gelenke) werden vorwiegend nach ihrer Mechanosensibilität klassifiziert. Die hochschwelligen Afferenzen sind nur durch noxisch mechanische Stimuli erregbar. Der überwiegende Teil der viszeralen Nozizeptoren wird bereits durch die normale Peristaltik erregt und folgt somit mehr einem Intensitätskonzept. Nur ein sehr kleiner Teil der viszeralen Afferenzen reagiert mechanisch hochschwellig.

Eine besondere Klasse der Nozizeptoren stellen die mechanisch insensiblen oder „schlafenden“ Nozizeptoren dar. Sie werden durch keine mechanischen Stimuli erregt, sondern erst bei andauernden noxischen Ereignissen, wie z.B. einer Entzündung mechanoaktiv (SCHAIBLE & SCHMIDT, 2000; MEßLINGER, 1997; HENKE & ERHARDT, 2004).

Freie Nervenendigungen: Die sog. „freien Nervenendigungen“, die als morphologisches Korrelat der Nozizeptoren angesehen werden, bestehen meist aus Bündeln unmyelinisierter Nervenfasern, welche bäumchenartig verzweigt sind. Mutmaßlich rezeptive Stellen finden sich entlang des jeweiligen „Endbäumchens“. In einem Teil der Nozizeptoren wurden „sensorische“ Neuropeptide wie Substanz P und CGRP nachgewiesen, welche bei Erregung der Nervenfasern freigesetzt werden und zu einer neurogenen Entzündung mit präkapillärer Vasodilatation und postkapillärer Plasmaextravasation führen (SCHAIBLE & SCHMIDT, 2000; MEßLINGER, 1997; HENKE & ERHARDT, 2004).

Neben den von außen auf den Organismus einwirkenden Noxen können auch körpereigene Substanzen, sog. Entzündungsmediatoren, chemische Schmerzreize auslösen. Solche endogenen algogenen Substanzen sind z.B. die Transmitter Serotonin, Acetylcholin, Histamin, sowie H⁺- und K⁺- Ionen. Bei einer entzündlichen oder traumatischen Gewebeschädigung kann es zudem zur Bildung von Prostaglandinen (PG), Leukotrienen und Kininen (z.B. Bradykinin) kommen. Das wichtigste PG ist PGE₂

(Prostaglandin- E-Gruppe). Nach einer Gewebeschädigung werden aus Zellmembranen Phospholipide freigesetzt, die durch das Enzym Phospholipase A zur Arachidonsäure werden. Daraus wird unter Einfluss der Cyclooxygenase (COX) PGE₂ gebildet.

PGE₂ und Bradykinin sensibilisieren die Nozizeptoren und erhöhen deren Ansprechbarkeit auf körpereigene schmerzauslösende Reize aber auch auf Reize von außen (SANN, 1998; OTTO, 1998; SCHAIBLE & SCHMIDT, 2000; MEßLINGER, 1997; ILLES & ALGAIER, 2001).

In die weitere Schmerzverarbeitung sind zahlreiche Strukturen des ZNS eingebunden. Ein eigentliches Schmerzzentrum gibt es nicht (SANN, 1998; OTTO, 1998; SCHAIBLE & SCHMIDT, 2000; MEßLINGER, 1997; ILLES & ALGAIER, 2001).

2.1.3 Chronische Schmerzen

Beim chronischen Schmerz unterscheidet man zwei Kategorien.

Die **Nozizeptorschmerzen**, die nach Gewebetraumen entstehen. Hier sind die peripheren und zentralen neuronalen Strukturen der Nozizeption intakt (z.B. Arthroseschmerzen, chronische unspezifische Rückenschmerzen).

Bei **neuropathischen Schmerzen** hingegen ist das periphere und/oder das zentrale schmerzleitende System selbst geschädigt (FREYNHAGEN & BARON, 2006; SCHAIBLE & SCHMIDT, 2000).

Neuropathische Schmerzen kommen primär bei Erkrankungen des Nervensystems vor. Die International Association for the Study of Pain, IASP, definiert den neuropathischen Schmerz als einen „Schmerz, der durch eine Läsion oder Dysfunktion des Nervensystems ausgelöst oder bedingt ist“ (SOMMER, 2003).

Das schmerzleitende bzw. - modulierende System dient beim physiologischen und nozizeptiven Schmerz dazu, vor einer möglichen Gewebeverletzung und/oder -schädigung zu warnen. Der neuropathische Schmerz wird zu einer eigenständigen Erkrankung, wenn die Läsionen im schmerzleitenden System über die akute Schädigung hinaus (Verletzung, Entzündung) persistieren (SOMMER, 2003).

Der Begriff **Mixed Pain** dient zur Beschreibung einer Mischung aus unterschiedlichen Schmerzkomponenten (neuropathischer und Nozizeptorschmerz). Es liegt sowohl eine chronische Nozizeptorschmerzkomponente, als auch eine neuropathische Schmerzkomponente vor, z.B. bedingt durch eine sekundäre Nervenschädigung. Abschließend ist noch nicht geklärt, ob es sich beim Mixed - Pain - Syndrom eventuell um eine eigenständige Pathophysiologie handelt oder lediglich um ein Nebeneinander unterschiedlicher Mechanismen (FREYNHAGEN & BARON, 2006; BARON, 2000).

2.2 Einteilung neuropathischer Schmerzsyndrome

Neuropathische Schmerzen auf dem Boden einer Läsion des peripheren Nervensystems sind am häufigsten. Die Nervenschädigungen können u.a. mechanisch, entzündlich, metabolisch oder toxisch bedingt sein. Diagnostisch werden Erkrankungen, bei denen nur ein peripherer Nerv oder eine Nervenwurzel geschädigt ist, von Erkrankungen mit einem generalisierten Befall, bei dem mehrere Nerven gleichzeitig geschädigt sind (Polyneuropathien), unterschieden (Tab. 1).

Bei zentralen Neuropathien entsteht chronischer Schmerz nach einer Läsion oder Dysfunktion des zentralen Nervensystems. Die Ursache der Schmerzen ist ein primärer Prozess im ZNS. Schmerzen, die sekundär nach einer ZNS Erkrankung entstehen, werden nicht zu den zentralen Schmerzen gezählt. Zentrale Schmerzen entstehen durch Läsionen im Rückenmark, Hirnstamm, Thalamus, in den subkortikalen Bereichen und im Kortex (SOMMER, 2003; FREYNHAGEN & BARON, 2006).

2.2.1 Charakteristika neuropathischer Schmerzen

Das Auftreten einer Allodynie (Schmerzempfindung auf normalerweise nicht schmerzhaft Reize) und/oder Hyperalgesie (Intensive Schmerzreaktion auf einen leicht schmerzhaften Reiz) ist charakteristisch für den neuropathischen Schmerz. Typisch für die neuropathische Genese der Schmerzen ist das gleichzeitige Bestehen von Reiz- und Ausfallssymptomen im betroffenen Areal (Tab. 2) (SOMMER, 2003). Die nozizeptiven und nicht - nozizeptiven Neurone können sich in der Folge einer Verletzung biochemisch, physiologisch und morphologisch verändern. Diese Veränderungen können mit der Zeit irreversibel werden und der Schmerz besteht trotz Gewebeheilung fort (BARON, 2000).

2.2.2 Pathophysiologie des neuropathischen Schmerzes

Schmerzen entstehen bei einem intakten Schmerzleitsystem, wenn nozizeptive Fasern (C- Fasern und A δ - Fasern) über Stimulation ihrer entsprechenden Rezeptoren durch einen adäquaten Reiz erregt werden und eine fortleitende elektrische Aktivität produzieren. Abb. 1 Schema 1 zeigt die normale Reizweiterleitung. Unmyelinisierte C- Fasern enden im Hinterhorn, der Reiz auf sekundäre nozizeptive Neurone umgeschaltet. A β - Fasern projizieren ohne Umschaltung und enden ebenfalls an afferenten Hinterhornneuronen.

2.2.2.1 Periphere Sensibilisierung

In geschädigten afferenten nozizeptiven C- oder A δ - Fasern können ektope Nervenimpulse entstehen, wenn ohne Stimulation dieser nozizeptiven Fasern eine fortleitende elektrische Aktivität von ihnen ausgeht. Diese ektope Nervenimpulse werden als Ursache für die beim neuropathischen Schmerz typischen Schmerzattacken, wie dem brennenden Spontanschmerz und evozierten Schmerzen (Schmerzen, die durch einen Stimulus ausgelöst werden und während der Applikation des Stimulus vorhanden sind.), diskutiert (Abb. 1 Schema 2.). Sie können in der Peripherie, am Ort der Läsion oder weit entfernt in den Somata der Spinalganglien ihren Ursprung nehmen. Eine Expression von Na-Kanälen nach einer Läsion liegt der ektope Erregung zugrunde (SOMMER, 2003; FREYNHAGEN & BARON, 2006). Zur Depolarisation der Axonmembran kommt es, wenn die Natriumkanäle sich öffnen und positiv geladene Natriumionen einströmen. Aus dem negativen Ruhepotential entsteht ein positives Aktionspotential, das sich durch einen spontanen Verschluss der Natriumkanäle und einem auswärts gerichteten Kaliumstrom umkehrt. Eine vermehrte Erregbarkeit stellt sich dann ein, wenn die Inaktivierung (spontaner Verschluss) der Natriumkanäle beeinträchtigt ist oder eine ungenügende Aktivierung der Kaliumkanäle besteht. Durch neurotrophe Faktoren werden nach einer Nervenläsion vermehrt Natriumkanäle in die Axonmembran eingebaut (ENGLAND et al., 1996; SOMMER, 2003).

Beim neuropathischen Schmerz kommt es zur peripheren chronischen Sensibilisierung der Nozizeptoren. Diese bilden ein Ruhepotential aus, haben eine erniedrigte Schwelle gegenüber noxischen Reizen und reagieren auf überschwellige Reize mit einer stärkeren Antwort als unter normalen Bedingungen. Dadurch kommt es zur Ausbildung einer Allodynie und/oder Hyperalgesie. Zusätzlich wird die Nozizeptor-Sensibilisierung durch eine de novo Expression verschiedener Rezeptiver Strukturen auf der Membran weiter gefördert (BARON, 2000; SCHAIBLE & SCHMIDT, 2000).

Die Läsion peripherer Nerven kann zu einer erhöhten Sensibilisierung gegenüber noradrenergen Substanzen führen. Dadurch kommt es zu einer pathologischen Interaktion zwischen sympathischen und afferenten Neuronen am Ort der Nervenläsion (Abb. 1 Schema 2.).

Insbesondere noradrenerge α_2 A- Rezeptoren werden von geschädigten nozizeptiven Neuronen exprimiert, so dass aus sympathischen Fasern freigesetztes Noradrenalin die Afferenzen nachhaltig aktivieren kann (Abb. 1 Schema 2).

Eine mechanische Nervenläsion induziert zudem die Anpassung sympathischer postganglionärer Fasern im Spinalganglion mit der Folge, dass eine funktionelle

Kopplung zwischen sympathischer Aktivität und afferenten Somata entstehen kann. Damit ist die Basis für den sogenannten sympathisch unterhaltenden Schmerz gebildet und die periphere Sensibilisierung durch die pathologische Interaktion zwischen Sympathikus und dem afferenten System noch verstärkt (Abb.1 Schema 2) (FREYNHAGEN & BARON, 2006; WOOLF & SALTER, 2000; BARON, 2000; SCHAIBLE & SCHMIDT, 2000).

Die Nervenfasern produzieren Neuropeptide und andere Mediatoren, die nach einer elektrischen, mechanischen oder chemischen Reizung freigesetzt werden können. Die dadurch bedingte Vasodilatation, Permeabilitätserhöhung, Degranulation von Mastzellen und Anregung der Immunzellen führen zu einer neurogenen Entzündung und somit zur Sensibilisierung von Nozizeptoren im Innervationsgebiet.

Die meisten peripheren Neuropathien sind gekennzeichnet durch partielle Nervenläsionen. Degenerierte und intakte Fasern bestehen nebeneinander. Allerdings führt die Freisetzung von TNF- α (Tumornekrosefaktor) und NGF (Nervenwachstumsfaktor) aus den zerfallenden Markscheiden zu einer Expression weiterer Rezeptoren auf den intakten Nervenfasern. Diese Rezeptoren und Kanalproteine kommen normalerweise nicht auf Neuronen vor. Es wird vermutet, dass TNF- α so an der Entstehung des Schmerzes, aber auch an der thermischen und mechanischen Hyperalgesie beteiligt ist. In primären Afferenzen wird die ektopische Aktivität durch TNF- α noch verstärkt (FREYNHAGEN & BARON, 2006; WOOLF & SALTER, 2000; BARON, 2000; SCHAIBLE & SCHMIDT, 2000).

2.2.2.2 Zentrale Sensibilisierung

Im zentralen Nervensystem kommt es durch die periphere Sensibilisierung der C-Fasern und der dadurch bedingten andauernden Aktivität zu neuroplastischen Veränderungen. Die zentralen nozizeptiven Neurone antworten verstärkt auf die C-Faser Aktivität (wind up). Außerdem können sie durch niederschwellige Mechanorezeptoren und eventuell Kaltrezeptoren (A β - und A δ - Fasern) erregt werden (Abb. 1 Schema 2.). Somit kommt es zur Ausbildung verschiedener Formen der Allodynie (BARON, 2000).

Erregende Aminosäuren und Tachykinine (Glutamat, Substanz P), die aus den zentralen Endigungen der C- Fasern und aus Interneuronen freigesetzt werden, wirken auf glutamaterge (N-Methyl-D-Aspartat) NMDA- Rezeptoren und auf Neurokininrezeptoren der Hinterneurone, womit sie so zur zentralen Sensibilisierung beitragen (WOOLF & THOMPSON, 1991).

Dies sind die wichtigsten Pathomechanismen der zentralen Sensibilisierung, die zunächst reversibel ist. Der Prozess verselbstständigt sich, wenn er auch ohne die nozizeptiven Impulse aus der Peripherie fortbesteht.

A β - Berührungsfasern beginnen bei einer andauernden Aktivität der peripheren nozizeptiven C- Fasern Substanz P zu produzieren. Ab dann reicht die Aktivität der A β - Fasern aus, um die zentrale Sensibilisierung zu unterhalten. Dadurch wird die zentrale Sensibilisierung mit jedem Berührungszreiz erhalten und es kann zur Chronifizierung kommen. Der eigentliche Auslöser, also die Aktivität der C-Fasern, ist unnötig geworden (Abb. 1 Schema 3.) (FREYNHAGEN & BARON, 2006; BARON, 2000).

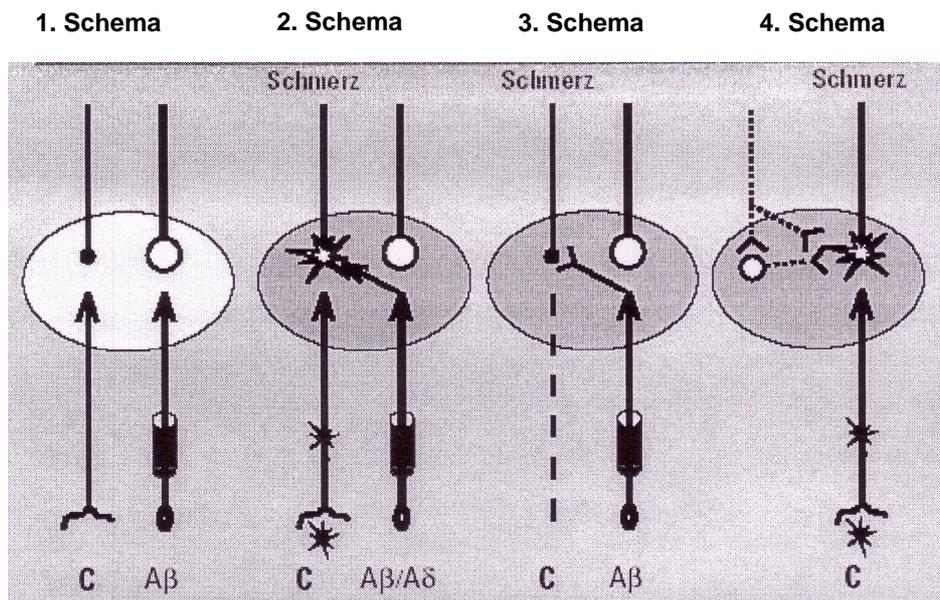
2.2.2.3 Degeneration hemmender Neurosysteme

Eine chronische nozizeptive Aktivität kann zu einer Degeneration bzw. zu einem Funktionsverlust inhibitorischer Systeme, die das nozizeptive System im Rückenmark kontrollieren, führen. Durch eine Degeneration der C-Fasern nach einer schweren Läsion, können synaptische Strukturen im Hinterhorn anatomisch reorganisiert werden. A β - Fasern bilden neue Verbindungen mit zentralen nozizeptiven Neuronen. Dadurch wird jede Berührung als Schmerz empfunden (Abb. 1 Schema 3.). Diese Verbindungen scheinen irreversibel, der Schmerz wird chronisch. Je mehr C-Fasern untergehen, desto deutlicher fällt die Reorganisation aus und umso heftiger werden die Schmerzsymptome (BARON, 2000).

Absteigende Bahnen aus dem Hirnstamm hemmen über Noradrenalin und Serotonin die nozizeptive Aktivität der Interneurone im Rückenmark. Daneben wirken GABAerge Interneurone ebenfalls hemmend auf das Hinterhorn. So wird im physiologischen Fall verhindert, dass es zu einer nozizeptiven Überaktivität des nozizeptiven Systems im Rückenmark kommt (Abb. 1, Schema 4) (FREYNHAGEN & BARON, 2006).

2.2.2.4 Zentrale Reorganisation

Die Chronifizierungsprozesse der Peripherie und im Rückenmark können vermutlich ebenfalls in höheren zerebralen Strukturen, wie dem Thalamus oder dem somatosensorischen Kortex ablaufen (FREYNHAGEN & BARON, 2006). Untersuchungen an Patienten mit Phantomschmerzen zeigten, dass die Chronifizierung eine Konsequenz der plastischen Veränderungen im primären somatosensorischen Kortex sind (FLOR et al., 1995).



Das Oval stellt das Rückenmark dar.

1. Schema: Normale Verhältnisse. Zentrale Projektionen unmyelinisierter C- Afferenzen enden im Hinterhorn und werden hier auf sekundäre nozizeptive Neurone umgeschaltet. A β - Berührungsaferenzen projizieren beim Menschen ohne Umschaltung in die Hinterstaränge (nicht eingezeichnet) und enden ebenfalls an afferenten Hinterhornneuronen.

2. Schema: Periphere Sensibilisierung und zentrale Sensibilisierung, sympathische afferente Interaktion. Partiiell geschädigte primär afferente C- Nozizeptoren können ektople Nervenimpulse generieren oder chronisch sensibilisiert werden (Stern an den C- Fasern). Diese pathologische Ruheaktivität in afferenten C-Nozizeptoren führt zu einer zentralen Sensibilisierung der sekundären afferenten Hinterhornneurone (Stern, zentral) und so zu einer Umwandlung der funktionell wirksamen synaptischen Strukturen im Hinterhorn. Dadurch können Impulse aus niederschweligen A β - und A δ - Berührungsaferenzen jetzt zentrale nozizeptive Neurone aktivieren. Weiterhin können sympathische postganglionäre Fasern afferente Neurone über einen adrenergen Mechanismus (Noradrenalin, NA und α - Rezeptoren) erregen und so die periphere Aktivität und die zentrale Sensibilisierung unterhalten.

3. Schema: Synaptische Reorganisation im zentralen Nervensystem infolge Degeneration primär afferenter C- Fasern. Periphere Nervenläsionen können unter besonderen Umständen auch einen erheblichen Untergang an C- Faser- Neuronen verursachen. Dementsprechend sind die synaptischen Kontakte an zentralen nozizeptiven Neuronen des Hinterhorns reduziert. Zentrale Endigungen noch intakter dicker myelinisierter Fasern können daraufhin auswachsen und neue synaptische Kontakte mit den nunmehr „freien“ zentralen nozizeptiven Neuronen ausbilden. Dadurch können ebenfalls Impulse aus niederschweligen A β - Berührungsaferenzen zentrale nozizeptive Neurone aktivieren.

4. Schema: Degeneration hemmender Neuronensysteme. Absteigende Bahnen aus dem Hirnstamm (z.B. aus dem periaquäduktalen Grau) hemmen mit den Transmittern Noradrenalin und Serotonin die Aktivität in nozizeptiven Hinterhornneuronen. GABAerge Interneurone üben eine Tonische Inhibition im Hinterhorn aus. Chronische nozizeptive Aktivität kann einen Funktionsverlust und sogar eine Degeneration dieser inhibitorischen Systeme bewirken, was zu einer unbeeinträchtigten Transmission nozizeptiver Impulse führt.

Abb. 1: Schema zur Entstehung neuropathischer Schmerzen (BARON, 2000).

2.2.3 Häufigkeit des Auftretens neuropathischer Schmerzen

Eine genaue Zahl der jährlich neu an neuropathischen Schmerzen erkrankenden Personen ist nur schwer zu ermitteln. Dafür dürfte ein wesentlicher Grund die Heterogenität dieser Erkrankung sein. In Europa leiden schätzungsweise zwischen 4 bis 6% der Bevölkerung unter neuropathischen Schmerzen, in der gesamten „entwickelten Welt“ ist davon auszugehen, dass zwischen 2 bis 3% der Bevölkerung an neuropathische Schmerzen erkrankt sind (MC DERMOTT, 2006). Die Läsionen oder Funktionsstörungen die dem neuropathischen Schmerz zugrunde liegen, können auf jeder Ebene des schmerzverarbeitenden Systems liegen (Tab. 1).

2.3 Diagnostik neuropathischer Schmerzen

Die Ursache neuropathischer Schmerzen kann vielfältig sein.

Tab. 1: Einteilung neuropathischer Schmerzsyndrome nach Läsionsort (Beispiele) (SOMMER, 2003).

peripher	<ul style="list-style-type: none"> - Mononeuropathien, Engpass syndrome - Polyneuropathien - Plexusläsionen - CPRS I und II
Hirnnerven	<ul style="list-style-type: none"> - Neuralgien - Neuropathien
radikulär	<ul style="list-style-type: none"> - Wurzelkompressionssyndrome - Radikulitis, Ganglionitis - Postherpetische Neuralgie
spinal	<ul style="list-style-type: none"> - Trauma - Syringomyelie
zerebral	<ul style="list-style-type: none"> - Ischämie - Tumor - Multiple Sklerose - Phantomschmerz

Die Mechanismen, über die es zur Ausbildung neuropathischer Schmerzen kommt, hängen nicht immer mit der Ätiologie der Erkrankung zusammen. Auch können mehrere Mechanismen nebeneinander bestehen. Somit bedingt die Theorie der multifaktoriellen Entstehungsmodi neuropathischer Schmerzen auch eine speziell auf den Patienten und seine Symptome abgestimmte Therapie (Abb. 3) (BARON, 2000).

Wenn es auch kein einheitliches Bild des neuropathischen Schmerzes gibt, so können bestimmte typische Beschwerdekongstellationen immer wieder beobachtet werden (Tab. 2) (SOMMER, 2003).

Die Symptome lassen aber nur in begrenztem Maße Rückschlüsse auf ihren pathophysiologischen Mechanismus zu (BARON, 2000).

Um eine ätiologisch orientierte Therapie neben der Schmerzbehandlung einleiten zu können, ist eine umfassende diagnostische Abklärung des neuropathischen Schmerzes beim Menschen unumgänglich (SOMMER, 2003).

Tab. 2: Charakteristika von neuropathischem Schmerz (SOMMER, 2003).

Symptom	Definition/ Vorkommen
Brennende Dauerschmerzen	Typischerweise Ruheschmerz
Parästhesien	Veränderte Empfindungsqualität, spontan oder evoziert, z.B. Kribbelparästhesien
Dysästhesien	Unangenehm veränderte Empfindungsqualität, spontan oder evoziert
Steifheitsgefühl, Ringgefühl	„zu enger Schuh“, „Reif um den Oberarm“
Elektrisierende Schmerzen	Intermittierend, einschließend
Allodynie	Schmerzempfindung auf nicht schmerzhaften Stimulus (Berührungsalldynie (mechanischer Stimulus); Kältealldynie (thermischer Stimulus))
Hyperalgesie	Vermehrte Schmerzempfindung auf leicht schmerzhaften Stimulus (mechanische Hyperalgesie; Hitzehyperalgesie)
Hyperpathie	Verspätete Wahrnehmung, Summation, Schmerzempfindung geht über die Dauer des Stimulus hinaus

Schmerzanalyse: Durch eingehende neurologische Untersuchungen werden nach der Anamnese Ausfallserscheinungen (Defizite) im sensiblen, motorischen und autonomen System erfasst.

Ebenfalls erfasst man eine mögliche neurologische Plussympptomatik (z.B. Allodynie, Hyperalgesie).

Zur weiteren Quantifizierung der Schmerzstärke sowie zur Kontrolle des Therapieverlaufs haben sich zwei Messskalen bewährt. Zum einen die visuelle Analogskala (VAS), bestehend aus einer 10 cm langen, horizontalen Linie mit den zwei Endpunkten „kein Schmerz“ ↔ „maximal vorstellbarer Schmerz“. Zum anderen eine numerische Ratingskala (NRS) bei der 11 mögliche Werte zwischen 0 = kein Schmerz bis 10 = maximaler Schmerz, vom Patienten angekreuzt werden können. Schmerztagebücher sind sinnvoll, um chronische Schmerzerkrankung und Therapieerfolge untersuchen zu können (FREYNHAGEN & BARON, 2006).

2.4 Therapie neuropathischer Schmerzen

Die Therapiemaßnahmen bei neuropathischen Schmerzen richten sich nach der Schmerzintensität und der Symptomkonstellation. Die vielen unterschiedlichen Erscheinungsformen neuropathischer Schmerzen haben jeweils differenzierte therapeutische Strategien zur Folge. Insgesamt stützt sich die medikamentöse „Basistherapie“ neuropathischer Schmerzen auf 4 Substanzgruppen mit unterschiedlichen Wirkmechanismen (Abb. 2). Die einzelnen Präparate müssen für jeden Patienten individuell ausgesucht und die Dosierung genau titriert werden (FREYNHAGEN & BARON, 2006; SOMMER, 2003).

Die 4 Substanzgruppen der neuropathischen Schmerztherapie können einzeln oder in Kombination untereinander (Pfeile in der Abb. 2) eingesetzt werden. Es handelt sich dabei um:

- Antikonvulsiva mit Wirkung auf neuronale Kalziumkanäle
- Antikonvulsiva mit Wirkung auf neuronale Natriumkanäle (membranstabilisierende Wirkung).
- Langwirksame (retardierte) Opiode
- Antidepressiva

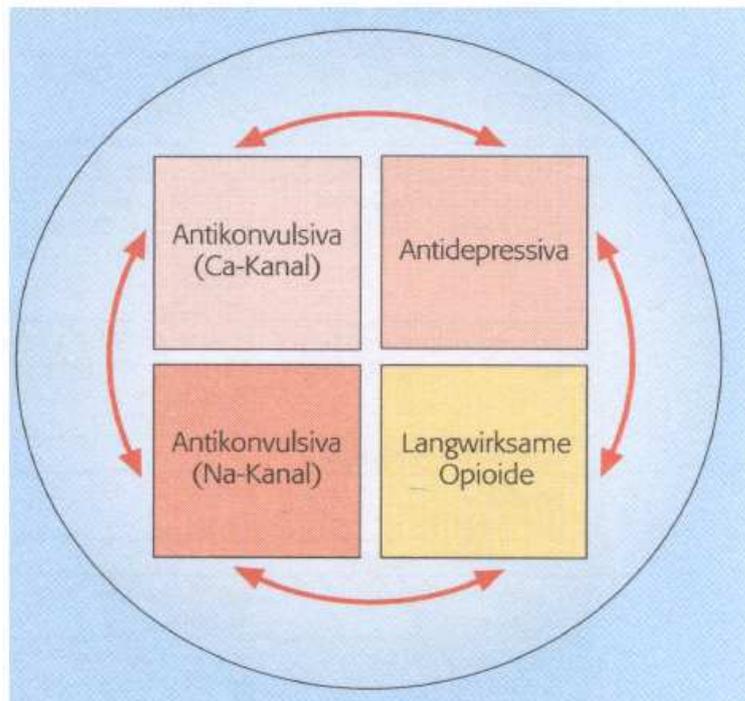
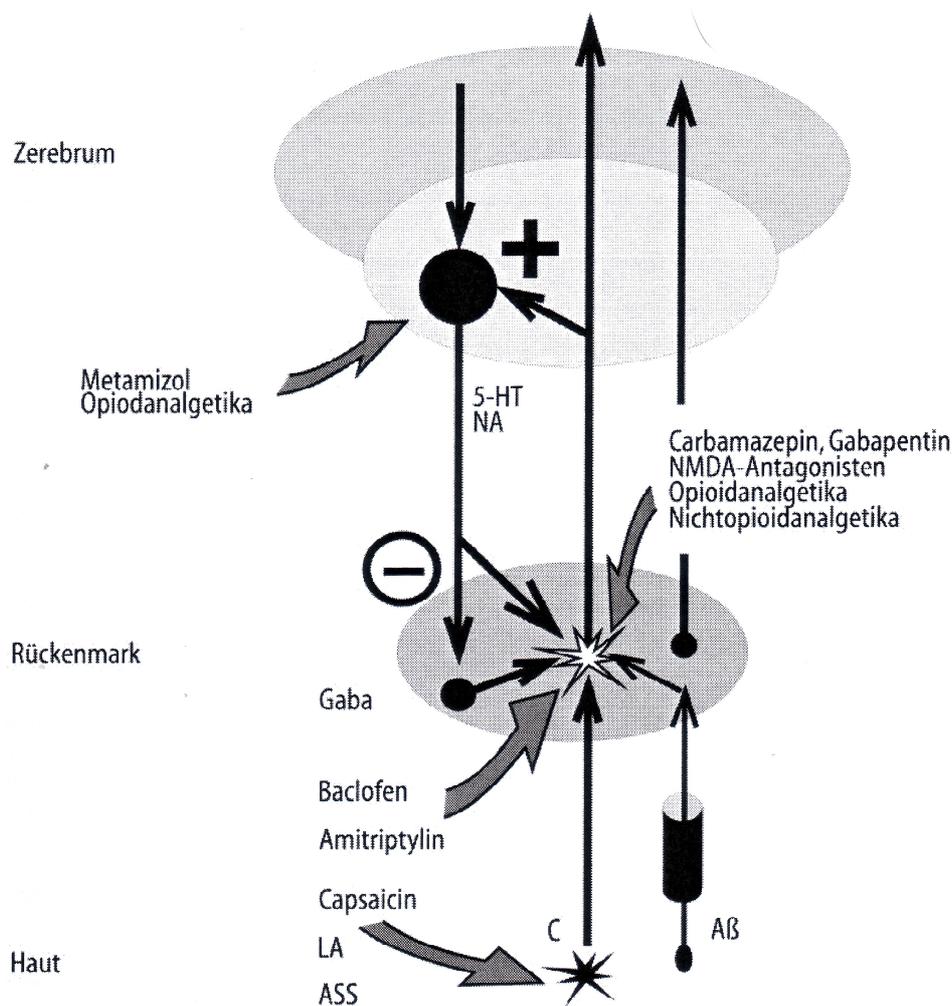


Abb. 2: Medikamentöse Basistherapie (in Mono- oder Kombinationstherapie) (FREYNHAGEN & BARON, 2006).



Das untere Oval stellt das Rückenmark dar, die oberen Ovale symbolisieren den Hirnstamm und das Großhirn. Zentrale Projektionen unmyelinisierter C- Afferenzen enden im Hinterhorn und werden hier auf sekundäre nozizeptive Neurone umgeschaltet. A-β- Berührungsaferenzen projizieren beim Menschen ohne Umschaltung in die Hinterstränge (nicht eingezeichnet) und enden ebenfalls an afferenten Hinterneuronen. Sekundäre Hinterneurone projizieren zum Hirnstamm, Thalamus und Cortex. Deszendierende hemmende Bahnen mit den Überträgersubstanzen Serotonin (5-HT) und Noradrenalin (NA) projizieren zum Rückenmark. Hemmende GABAerge Interneurone wirken ebenfalls auf die nozizeptiven Hinterhornneurone. Die theoretischen Ansatzpunkte der verschiedenen Pharmaka sind durch Pfeile gekennzeichnet.

Abb. 3: Angriffspunkte der medikamentösen Schmerztherapie (BARON, 2000).

2.4.1 Antikonvulsiva mit Wirkung auf Kalziumkanäle

Theoretisch ist die Verwendung von Antikonvulsiva bei neuropathischen Schmerzen gut begründet. Antikonvulsiva vom Kalziumkanaltyp modulieren spannungsabhängige Kalziumkanäle. Es kommt zu einem verminderten Kalzium - Influx in die Zelle und damit zu einer reduzierten Erregbarkeit der Neurone. Dieser membranstabilisierende Effekt beeinflusst hauptsächlich die sensibilisierten Neurone im zentralen Nervensystem (TREMONT- LUKATS et al., 2000). Vor allem bei einschießenden, neuralgiformen Schmerzen (z.B. Trigeminusneuralgie) hat sich die Behandlung mit Antikonvulsiva bewährt. Aber auch alle anderen Formen neuropathischer Schmerzen können erfolgreich mit dieser Substanzklasse behandelt werden (TÖLLE et al., 2007; FREYNHAGEN et al., 2005). Zu den Antikonvulsiva vom Kalziumkanaltyp gehören Gabapentin und Pregabalin (Abb. 3) (FREYNHAGEN & BARON, 2006).

2.4.2 Antikonvulsiva mit Wirkung auf Natriumkanäle

Die meisten Antikonvulsiva dieses Typs haben einen kombinierten Wirkmechanismus. Sie besitzen einen membranstabilisierenden Effekt und die Fähigkeit, ektope Impulse aus sensibilisierten Arealen zu unterbinden. Dabei behindern sie aber nicht die normale Aktivität der Neurone. Ihr Wirkungsmechanismus umfasst die Blockade spannungsabhängiger Natriumkanäle, was zu einer Stabilisierung übererregter Nervenmembranen, einer Hemmung hochfrequenter neuronaler Aktivität und einer Verminderung der Ausbreitung von postsynaptischen Impulsen führt. Darüber hinaus kommt es zu einer Verstärkung der GABA-Wirkung und Hemmung der Glutamat abhängigen Erregung. Zu den Antikonvulsiva vom Natriumkanaltyp und zur Behandlung von neuropathischen Schmerzen zugelassenen Pharmaka zählen u.a. Carbamazepin, Oxcarbazepin und Lamotrigin (Abb. 3) (PETROFF et al., 2000; TREMONT- LUKATS et al., 2000; FREYNHAGEN & BARON, 2006).

2.4.3 Langwirksame Opioide

Neuropathische Schmerzen sind entgegen früherer Annahmen teilweise opioidsensibel und sprechen in ca. 50% der Fälle auf eine Therapie mit Opioiden an (FREYNHAGEN & BARON, 2006). Eine Kombinationstherapie mit Morphin und Gabapentin ist der Monotherapie mit einer der beiden Substanzen bei Patienten mit diabetischer Neuropathie oder posthepatischer Neuralgie überlegen (GILRON et al., 2005).

In der Therapie eingesetzte und zur Behandlung neuropathischer Schmerzen zugelassene Opioide sind u.a. Tramadol und Tilidin / Naloxon (sog. mittelpotente

Opioide), Morphin, Oxycodon, Fentanyl, Buprenorphin und L-Methadon (sog. hochpotente Opiode) (Abb. 3) (FREYNHAGEN & BARON, 2006; SOMMER, 2003).

2.4.4 Lokale Behandlungen

Als begleitende Therapie vor allem bei gut lokalisierten neuropathischen Schmerzen kann eine topisch dermale Applikation von Pharmaka in Erwägung gezogen werden. Durch die geringe systemische Resorption entstehen so kaum zentral nervöse Nebenwirkungen. Beispiele sind Substanzen wie Capsaicin und Lokalanästhetika wie Lidocain und Prilocain (Abb. 3) (NOLANO et al., 1999; FREYNHAGEN & BARON, 2006; SOMMER, 2003).

2.4.5 Antidepressiva

Das in dieser Studie auf seine analgetische Wirkung hin zu untersuchende Antidepressivum Mirtazapin ist in der Humanmedizin als Remergil® (Firma Organon, Oberschleißheim) zugelassen. Im Folgenden soll zunächst der Wirkungsmechanismus von Antidepressiva und vor allem vom Mirtazapin erläutert werden.

Antidepressiva sind die wichtigsten Mittel zur Behandlung affektiver Störungen. Sie heben die pathologisch gesenkte Grundstimmung und können in geringem Maße auch depressive Wahngedanken beseitigen (GÖTHERT, 2001). Daneben werden Antidepressiva immer häufiger zur Behandlung chronischer Schmerzzustände eingesetzt. Von 1960 bis ca. 1980 waren dies vor allem die tricyclischen Antidepressiva, seit 1980 werden aufgrund geringerer Nebenwirkungen immer häufiger selektive Serotonin- Wiederaufnahmehemmer (SSRI), Noradrenalin- Wiederaufnahmehemmer (NaRI) wie z.B. Reboxetin, Serotonin und Noradrenalin- Wiederaufnahmehemmer (SaNRI), wie z.B. Venlafaxin, und Noradrenalin und spezifisch serotonerge Antidepressiva (NaSSA), wie z.B. Mirtazapin eingesetzt (Abb. 3) (MATTIA et al., 2002). In den letzten zehn Jahren fokussierte man sich bei der Erprobung und Erforschung neuer Antidepressiva vor allem auf ihre Rezeptorspezifität.

Antidepressiva zeigen eine Vielzahl pharmakologischer Mechanismen auf. So kann die Serotonin und/oder Noradrenalin Wiederaufnahme blockiert werden. Eine direkte oder indirekte Wirkung auf Opioidrezeptoren wird beschrieben. Cholinerge-, Histamin-, 5-HT- und NMDA- Rezeptoren werden von Antidepressiva blockiert, ebenso einzelne Ionenkanäle. Zum Wirkmechanismus der Antidepressiva zählt weiter die Hemmung der Adenosinaufnahme.

All dies kann mehr oder weniger an der analgetischen Wirkung der Antidepressiva beteiligt sein sowohl zentral als auch peripher (SAWYNOK et al., 2001).

Zurzeit sind in Deutschland zwei Arzneimittel zur Behandlung von angstbedingten Verhaltensstörungen beim Tier zugelassen. Es handelt sich um Selegilin (Selgian V.M.), das in der Humanmedizin zur Behandlung von Morbus Parkinson eingesetzt wird und um das Clomipramin (Clomicalm V.M.), das einzige klassische Antidepressivum, das für den Hund zugelassen ist. Die beiden Substanzen werden bei trennungsassoziierten Verhaltensproblemen in Verbindung mit einer Verhaltenstherapie eingesetzt. Zur Behandlung chronischer Schmerzen beim Tier werden bis heute keine Antidepressiva verwendet (LÖSCHER, 2006).

2.4.5.1 Tricyclische Antidepressiva

Tricyclische Antidepressiva (TCA) sind die am häufigsten eingesetzten und meist untersuchten Antidepressiva zur Behandlung chronischer Schmerzen. Unselektive TCAs blockieren die Wiederaufnahme von Serotonin oder Noradrenalin im Rückenmark, im Gehirn und an peripheren Nerven, wo sie schmerzhemmende Transmitter sind. Es bildet sich ein antinozizeptiver Effekt aus. Weiter kommt es zu einer Erhöhung dieser Stoffe im ZNS und zu einer Verstärkung der deszendierenden körpereigenen Schmerzhemmung. Spannungsabhängige Natriumkanäle werden durch TCAs blockiert, wodurch ihr lokalanaesthetischer Effekt entsteht. Daneben werden je nach Substanz cholinerge, adrenerge, histaminerge, serotonerge und NMDA- Rezeptoren blockiert. Zudem wirken TCAs sympatholytisch (FREYNHAGEN & BARON, 2006). Selektiv wirkende Antidepressiva die nur ein Neurotransmittersystem beeinflussen, wirken weniger effektiv bei der Schmerzbehandlung, als dual agierende Antidepressiva (Abb. 3) (FREYNHAGEN et al., 2006).

Bei den tricyclischen Antidepressiva herrschen die peripheren vegetativen Nebenwirkungen vor. Im Vordergrund stehen anticholinerge Effekte infolge der Blockade von Muscarinrezeptoren, wie Mundtrockenheit, Akkommodationsstörungen, Mydriasis mit Gefahr eines Glaukomvorfalls, Obstipation, Miktionsbeschwerden mit Gefahr einer Harnsperre, Tachykardie. Die Blockade peripherer α_1 - Adrenozeptoren ist für das Auftreten einer orthostatischen Hypotension mit reflektorischer Tachykardie verantwortlich. Bei länger andauernder Behandlung nehmen diese Nebenwirkungen allerdings ab. Zentrale Nebenwirkungen tricyclischer Antidepressiva sind Sedierung und Schläfrigkeit, Appetitsteigerung und Gewichtszunahme (WATSON, 2000; FREYNHAGEN & BARON, 2006).

2.4.5.2 Selektive Serotonin-Wiederaufnahmehemmer (SSRI)

Bisher sind SSRI zur Therapie diabetischer Polyneuropathien eingesetzt worden jedoch mit wenig Erfolg. Auch zur Prophylaxe von Migräne und Spannungskopfschmerzen zeigten SSRIs keine Wirkung (MOJA et al., 2005).

2.4.5.3 Kombinierte Serotonin- und Noradrenalin-Wiederaufnahmehemmer (SSNRI)

Ein dual wirkendes Antidepressivum scheint schon im Hinblick auf den Mechanismus des körpereigenen „Schmerzhemmsystems“ besser zur neuropathischen Schmerztherapie geeignet zu sein. Außerdem treten bei den meisten SSNRIs durch das Fehlen zusätzlicher Rezeptorblockaden weniger Nebenwirkungen auf als bei den TCAs. Derzeit ist nur Duloxetin zur Behandlung neuropathischer Schmerzen (schmerzhafter diabetischer Polyneuropathien) zugelassen. In einer Studie an 457 Patienten mit schmerzhafter diabetischer Polyneuropathie wurde der antinozizeptive Effekt durch Duloxetin bestätigt (GOLDSTEIN et al., 2005). Der Wirkstoff zeichnet sich zudem durch seine gute Verträglichkeit aus. In den USA warnte der Hersteller aber im Oktober 2005 vor der Hepatotoxizität von Duloxetin.

Venlafaxin ist das erste in Deutschland zugelassene SSNRI (1996). In niedrigeren Dosierungen ist lediglich die Serotonin- Wiederaufnahmehemmung relevant. Erst in höheren Dosierungen wird auch die Wiederaufnahme von Noradrenalin gehemmt. Aktuelle Ergebnisse doppelblinder, randomisierter, placebokontrollierter Studien zeigen eine moderate Wirkung des Venlafaxins bei Patienten mit unterschiedlichen neuropathischen Schmerzsyndromen (SINDRUP et al., 2003; ROWBOTHAM et al., 2004; REUBEN et al., 2004).

Es gibt verschiedene Einteilungen der Antidepressiva, aber grundsätzlich lassen sie sich alle nach ihrer chemischen Struktur und ihrem Wirkungsmechanismus differenzieren. So lässt sich nach DE BOER et al., (1995), REINBOLD (1998), GÖTHERT et al., (2001) und KELLER (2004) die in Tab. 3 dargestellte Einteilung vornehmen.

Tab. 3: Einteilung der Antidepressiva mit Beispielen und Wirkmechanismus (modifiziert nach GÖTHERT, 2001 und KELLER, 2004).

<u>Gruppe</u>	<u>Substanz</u>	<u>Wirkmechanismus</u>
Tricyclische Antidepressiva		
Bsp.	Amitriptylin Clomipramin Imipramin Nortriptylin	<ul style="list-style-type: none"> x hemmen die neuronale Wiederaufnahme der Neurotransmitter Serotonin und Noradrenalin x sind stimmungsaufhellend, aktivierend und mildern Angst und Unruhe
Nicht-tricyclische Antidepressiva		
Selektive Serotonin-Rückaufnahme-Inhibitoren (SSRI)		
Bsp.	Citalopram Sertalin Fluoxetin Paroxetin	<ul style="list-style-type: none"> x hemmen spezifisch die Serotonin-Wiederaufnahme x wirken stimmungsaufhellend und antriebssteigernd
Selektiver Noradrenalin-Rückaufnahme-Inhibitor (SNRI)		
Bsp.	Reboxetin Viloxazin	<ul style="list-style-type: none"> x verhindern gezielt die Wiederaufnahme von Noradrenalin x antriebssteigernd, führt zur besseren Bewältigung des Alltages
Selektiver Serotonin-Noradrenalin-Rückaufnahme-Inhibitor (SSNRI)		
Bsp.	Venlafloxin	<ul style="list-style-type: none"> x hemmt gezielt die Wiederaufnahme von Serotonin und Noradrenalin x wirkt stimmungsaufhellend
Monoaminoxidase-Inhibitoren (MAO-Hemmer)		
Bsp.	Moclobemid Tranylcypromin	<ul style="list-style-type: none"> x hemmen das Enzym Monoaminoxidase, dadurch werden Neurotransmitter schlechter/ langsamer abgebaut x antriebssteigernd und stimmungsaufhellend
Noradrenerges und spezifisch Serotonerges Antidepressivum (NaSSA)		
Bsp.	Mirtazapin	<ul style="list-style-type: none"> x blockiert α_2-Adrenozeptoren => Steigerung der noradrenergen Transmission x aktiviert 5-HT 1-, blockiert 5-HT 2- und 5-HT 3- Rezeptoren x stimmungsaufhellend, angstlösend, schlaffördernd

2.4.5.4 Mirtazapin

Mirtazapin ist seit 1996 als Antidepressivum in Deutschland zugelassen. Es ist das weltweit erste noradrenerge und spezifisch serotonerge Antidepressivum und nimmt daher bei der Einteilung eine Sonderstellung ein (Tab. 3) (LAUX et al., 2001; ORGANON, 2003).

Pharmakodynamik und Pharmakokinetik: Mirtazapin in Reinform ist ein weißliches Pulver, das in Menthol, Chloroform und isotoner Kochsalzlösung löslich ist. Wenn Mirtazapin gelöst ist reagiert es basisch und lipophil. Der chemische Name lautet 1,2,3,4,10,14 b-hexahydro-2-methylpyrazinol(2,1-a)pyrido(2,3-c)benzazepin mit folgender Strukturformel (Abb. 4):

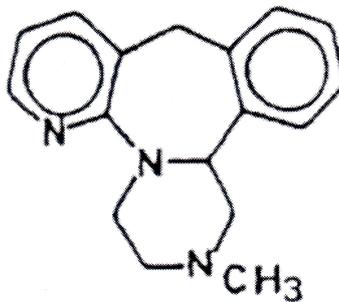


Abb. 4: Strukturformel Mirtazapin (DE BOER et al., 1988).

Der Wirkstoff ist unter dem Handelsnamen Remergil® (Organon, Oberschleißheim) zugelassen und in verschiedenen Darreichungsformen erhältlich (DODD et al., 2000; ORGANON, 2003).

Mirtazapin liegt als Razemat, einem 50:50 Gemisch beider Enantiomere, vor (Abb. 5). Es greift an zwei Stellen in die Neurotransmission ein (MC GARTH et al., 1998; DODD et al., 2000; ORGANON, 2003).

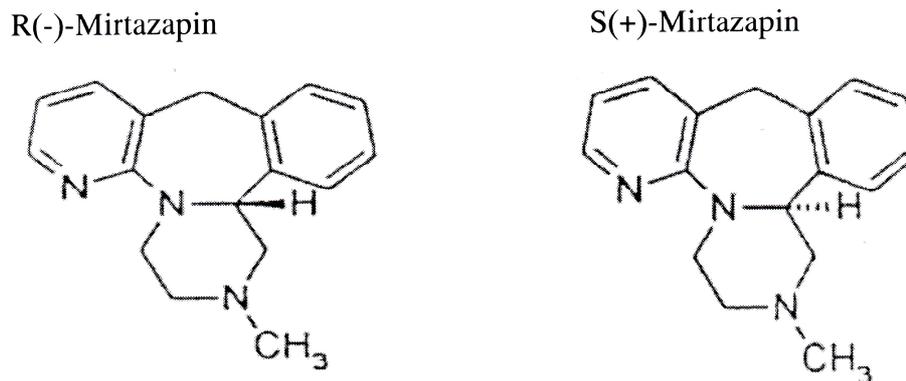


Abb. 5: Strukturformel der Enantiomere (ORGANON, 2003).

Mirtazapin ist ein dual wirkendes noradrenerges und spezifisch serotonerges Antidepressivum (NaSSA). Im Gegensatz zu anderen dual wirkenden Antidepressiva wirkt Mirtazapin sowohl als prä- wie auch postsynaptischer α_2 - Rezeptorantagonist.

Die Blockade der zentralen präsynaptischen α_2 -Rezeptoren führt zu einer erhöhten Noradrenalinausschüttung. Der Plasmaspiegel an Noradrenalin erhöht sich, wodurch es vermehrt auf postsynaptische α_1 - Rezeptoren wirken kann. Dies wiederum führt zu einer gesteigerten Serotoninfreisetzung. Gleichzeitig wirkt Noradrenalin hemmend auf α_2 - Heterorezeptoren, die sich an serotonergen Nervenendigungen befinden, somit wird die Serotoninfreisetzung erneut gesteigert (Tab. 4).

5-HT₂ und 5-HT₃- Rezeptoren werden direkt durch Mirtazapin blockiert. Serotonin kann damit nur noch über 5-HT₁- Rezeptoren wirken (Tab. 4).

Der antinozizeptive Effekt des Mirtazapins wird vermutlich über den erhöhten Noradrenalin- und Serotoninspiegel, der aus einem indirekten und direkten Noradrenalineffekt resultiert, sowie über 5-HT_{2a}- Rezeptoren und Opioid- Rezeptoren vermittelt (FREYNHAGEN et al., 2006; SCHREIBER et al., 2002a/b; SZEGEDI et al., 2005; TIMMER et al., 2000; ANTTILA et al., 2001).

Eine Studie von NITANDA et al., (2005) zeigt, dass 5-HT_{2a} - Rezeptoren an der Entstehung einer Hyperalgesie der Hintergliedmaße nach einer CCI (chronic constriction injury nach BENNETT und XIE, 1988) des N. ischiadicus beteiligt sind. Durch 5-HT_{2a} - Rezeptorantagonisten lässt sich die Schmerzreaktion an der so manipulierten Hintergliedmaße deutlich herabsetzen. Auf die „normale“ Hinterpfote hat der Antagonist keinen Einfluss. Daneben beschreibt SCHREIBER et al., (2002a, b) eine antinozizeptive Wirkung des Mirtazapins, vermittelt durch κ_1 und κ_3 - Opioid- Rezeptoren.

Die Blockade zentraler und peripherer Rezeptoren prägt das Bild der Nebenwirkungen. Die häufigsten Nebenwirkungen des Mirtazapins sind Sedierung und Schläfrigkeit, aufgrund einer H₁- Rezeptor Blockade. Seltener dagegen kommt es zu orthostatischen Störungen oder Blutbildveränderungen. Bisher wurden auch nur in seltenen Ausnahmen kardiovaskuläre Effekte beobachtet (GÖTHERT et al., 2001; SAWYNOK et al., 2001; FREYNHAGEN et al., 2006). Zu Histamin- Rezeptoren besteht eine dosisabhängige Affinität. Nach sieben bis zehn Behandlungstagen mit Mirtazapin stellt sich ein Gewöhnungseffekt ein. Vor allem Somnolenz wird über H₁- Rezeptoren vermittelt und tritt bei niedrigeren Dosierungen auf. Deshalb wird Mirtazapin bevorzugt abends zum Schlafanstoß eingesetzt. Ist Mirtazapin höher dosiert nimmt diese Nebenwirkung ab. Die am häufigsten durch Mirtazapin hervorgerufenen Nebenwirkungen sind Mundtrockenheit, Somnolenz, Hyperphagie und Gewichtszunahme (Tab. 4) (ANTTILA, 2001).

Tab. 4: Übersicht zu den pharmakologischen Wirkungsmechanismen des Mirtazapins (ORGANON, 2003).

Rezeptor	Mirtazapin Wirkung am Rezeptor	Konsequenz für die Neurotransmission	Klinische Wirkung
α_2 - Autorezeptor	Blockade	noradrenerge Transmission erhöht	antidepressive Wirkung
α_1 - Adrenorezeptor	sehr schwache Blockade	Auswirkung gering	Nebenwirkung (orthostatische Hypotonie, Reflextachykardie, Schwindel) selten
α_2 - Heterorezeptor	Blockade	serotonerge 5-HT _{1A} Transmission erhöht	Antidepressive Wirkung
5-HT _{1A} - Rezeptor	keine	keine	Keine
5-HT _{2A} - Rezeptor	Blockade	5- HT ₂ - Transmission vermindert	keine 5- HT ₂ bedingte Nebenwirkungen (Schlaflosigkeit, Angst, vermutlich Schmerzreduktion)
5-HT ₃ - Rezeptor	Blockade	5- HT ₃ - Transmission vermindert	keine 5- HT ₃ bedingten Nebenwirkung (Übelkeit, Erbrechen, Durchfall)
Muscarin- Rezeptor	sehr schwache Blockade	gering	Anticholinerge Nebenwirkung selten
H ₁ - Histamin- Rezeptor	Blockade	Verminderte histaminerge Transmission	Schläfrigkeit, Benommenheit, Gewichtszunahme

Die vorhandenen klinischen Studien machen deutlich, dass Mirtazapin bei der Behandlung chronischer Schmerzen erfolgreich sein kann (FREYNHAGEN et al., 2006; ANSARI, 2000; BOMHOLT et al., 2005). Zur anti- oder pronozizeptiven Wirkung der R(-)- und S(+)- Enantiomere des Mirtazapins existieren aber nur sehr wenige experimentelle Daten (FREYNHAGEN et al., 2006; SCHREIBER et al., 2002a/b). Es besteht Grund zur Annahme, dass R(-)- Mirtazapin und S(+)- Mirtazapin in ihrer Pharmakokinetik und Pharmakodynamik differieren (FREYNHAGEN et al., 2006; DE BOER et al., 1995). Neurochemische Untersuchungen zeigen, dass R(-)- und S(+)- Mirtazapin an dieselben Rezeptoren binden. S(+)- Mirtazapin scheint aber der potentere Rezeptorantagonist zu sein. Ebenfalls zeigen die Enantiomere Unterschiede bei der Verstoffwechslung über das Cytochrom P450 System. Nach oraler Gabe des Razemats ist der Plasmaspiegel des R(-)- Mirtazapins höher als der des S(+)- Mirtazapins, welches eine höhere Eliminationsrate hat (ORGANON, 2003; DODD et al., 2000).

Zu wissenschaftlichen Zwecken wird im Tierversuch Ratten oder Mäusen die Substanz Mirtazapin meist intraperitoneal oder intrathekal verabreicht. Eine orale oder intravenöse Verabreichung wird vor allem in der Humanmedizin vorgenommen (ORGANON, 2003; SCHREIBER et al., 2002 a/b).

Nach oraler Gabe ist in der Ratte oder der Maus der maximale Plasmaspiegel nach ca. zwei Stunden erreicht (DODD et al., 2000). Die Bioverfügbarkeit liegt bei 50% (KELDER et al., 1997). Ein Steady State stellt sich nach ca. vier Tagen ein. Die Plasmaproteinbindung ist unspezifisch, reversibel und beträgt 85% (ORGANON, 2003). Untersuchungen durch DODD et al. (2000) ergaben, dass bei einem maximal erreichten Plasmaspiegel der Wirkstoff zu einem Drittel aus S(+)- und zu zwei Dritteln aus R(-)- Mirtazapin besteht. Somit ist das Razemat in vivo nicht mehr ein 50:50, sondern ein 33:66 Gemisch beider Enantiomere.

Die Ursache dafür ist im Abbauweg der Substanz zu suchen. Mirtazapin wird vor allem über die Leber metabolisiert und hat eine Halbwertszeit von 20 bis 40 Stunden. Der Hauptabbauweg ist die Demethylierung, Oxidation und Konjugation durch verschiedene Leberenzyme (ORGANON, 2003). Dabei entstehen zwei Hauptmetabolite, das N-Demethylmirtazapin und das 8-Hydroxymirtazapin. In geringer Weise scheint auch Demethylmirtazapin pharmakologisch wirksam zu sein (DODD et al., 2000).

S(+)- Mirtazapin wird überwiegend durch CYP2D6 abgebaut, R(-)- Mirtazapin hingegen durch CYP3A4 in der Leber verstoffwechselt. Der Abbau durch zwei unterschiedliche Enzyme wird für die ungleiche Plasmakonzentration der beiden Enantiomere verantwortlich gemacht (DODD et al., 2000). Über Urin und Faeces wird der Wirkstoff

nach einigen Tagen komplett ausgeschieden, nur 4% des verabreichten Mirtazapins werden unverändert ausgeschieden (ORGANON, 2003; KELDER et al., 1997).

In einer Studie von FREYNHAGEN et al. (2006) hat man die antinozizeptiven Eigenschaften des Razemats und der beiden Enantiomere an Ratten, an einem Akutschmerzmodell (Hitzereiz), untersucht. Das Razemat, R(-)- Mirtazapin und S(+)-Mirtazapin zeigten deutliche Unterschiede in der Modulation akuter thermaler Nozizeption. Als Razemat wirkte Mirtazapin dosisabhängig pro- und antinozizeptiv. S(+)-Mirtazapin wirkte ausschließlich pronozizeptiv, R(-)- Mirtazapin dagegen in allen untersuchten Dosierungen antinozizeptiv.

In einer offenen klinischen Studie von FREYNHAGEN et al. (2006) hat man Mirtazapin bei 594 Patienten mit chronischen Schmerzen und einer diagnostizierten Depression eingesetzt und untersucht. Die chronische Schmerzsymptomatik musste seit mindestens drei Monaten bestehen. Jeder Patient bekam über 6 Wochen eine individuell auf ihn titrierte Dosierung des Mirtazapins. Am Ende der Untersuchungen ergab sich eine statistisch signifikante Schmerzlinderung unter Mirtazapin. Auch bei den Patienten mit neuropathischen Schmerzen stellte sich nach 6 Wochen eine deutliche Besserung ein. Mirtazapin scheint, so die Schlussfolgerung der Autoren aufgrund seines ebenfalls dualen Wirkmechanismus aber einer deutlich besseren Verträglichkeit den tricyclischen Antidepressiva bei neuropathischen Schmerzen überlegen zu sein.

Eine weitere offene Studie von THEOBALD et al. (2002) ergab eine signifikante Verbesserung der Schmerzsituation unter Mirtazapingabe bei 20 Patienten die unter Tumorschmerzen litten. Eine ausreichende Studiengrundlage für Mirtazapin auf der Basis randomisierter placebokontrollierter Studien fehlt, um endgültig beurteilen zu können, ob das Antidepressivum bei neuropathischen Schmerzen sicher und ausreichend gut analgetisch wirkt.

Die guten klinischen Erfahrungen mit Mirtazapin als Razemat bei der Behandlung neuropathischer Schmerzen soll auch auf experimenteller Ebene weiter untersucht werden. Die zahlreichen tierexperimentellen Studien mit dem Razemat ergaben analgetische Effekte sowohl in chronischen als auch in akuten Schmerzversuchen (BOMHOLT et al., 2005; FREYNHAGEN et al., 2006; SCHREIBER et al., 2002a/b). Dabei wirkte das Razemat dosisabhängig pro- und antinozizeptiv im Hot Plate Test der akuten Schmerzuntersuchungen bei der Ratte (BOMHOLT et al., 2005; FREYNHAGEN et al., 2006) wie auch der Maus (SCHREIBER et al., 2002 a/b). BOMHOLT et al. (2005) untersuchten auch die analgetische Wirkung des Razemats im CCI- Modell (BENNETT & XIE, 1988) bei der Ratte. Auch hier ergab sich ein analgetischer Effekt bei der

thermalen Hyperalgesie. Die mechanische Allodynie wurde durch die Razematgabe nicht beeinflusst. In der Studie zum Akutschmerz von FREYNHAGEN et al. (2006) wurden auch die analgetischen Eigenschaften der Mirtazapin Enantiomere getestet. Überraschenderweise wirkte R(-)- Mirtazapin dosisunabhängig analgetisch beim akuten Schmerz, S(+)- Mirtazapin sogar pronozizeptiv. Das Razemat war nur in niedrigen Dosen analgetisch wirksam.

Im Hinblick darauf, dass Antidepressiva immer wichtiger für die Schmerztherapie werden, ist es nötig, die Eigenschaften der verwendeten Substrate genauestens zu untersuchen, um die Substanz mit der effektivsten analgetischen Eigenschaft und den geringsten Nebenwirkungen zur Therapie einsetzen zu können. Die Enantiomere einer chemischen Substanz sind in ihrer atomaren Zusammensetzung identisch, jedoch räumlich spiegelbildlich zueinander aufgebaut (Abb. 5). Da die Rezeptoren für Arzneimittel im Körper sehr spezifisch deren räumliche Ausrichtung erfassen, ist es häufig der Fall, dass eines der beiden Enantiomere für die (erwünschte) Hauptwirkung des Arzneimittels verantwortlich ist, während das andere Enantiomer überwiegend unerwünschte Arzneimittelwirkungen vermittelt. Da die Mirtazapin Enantiomere im Gegensatz zum Razemat ein anderes analgetisches Potential zu haben scheinen, ist es wichtig dies in experimentellen chronischen Schmerzstudien zu überprüfen.

In der vorliegenden Untersuchung soll festgestellt werden, ob eines oder beide Enantiomere eine stärkere Schmerzhemmung aufweisen als das im Handel befindliche Razemat. Möglicherweise kann eines der Enantiomere das Razemat ersetzen und zur effektiveren Gestaltung der neuropathischen Schmerztherapie beitragen.

Somit war diese Untersuchung vom Aufbau angelehnt an die akute Schmerzstudie von FREYNHAGEN et al., (2006), um einen direkten Vergleich zwischen den Substanzen ziehen zu können. Die CCI als experimentelle Simulation für den neuropathischen Schmerz ist die am häufigsten genutzte und etablierteste Methode. Die Ergebnisse lassen sich mit anderen Studien leicht vergleichen.

2.5 Experimentelle Methoden zur Untersuchung neuropathischer Schmerzen

Chung- Modell: KIM und CHUNG (1992) beschreiben als erste eine „segmental spinal nerv ligation“ (SNL) bei der Ratte, um neuropathische Schmerzen beim Tier erzeugen und untersuchen zu können. Seitdem wird diese Methode weltweit eingesetzt, um Schmerzmechanismen oder die Wirkung möglicher analgetischer Substanzen zu untersuchen. Bei dieser Methode wird der Spinalnerv L5 und wenn nötig auch L6 mit 6-0er Seide so ligiert, dass die axonale Impulsübertragung der Nervenfasern unterbrochen

wird. Um sicher zu gehen, dass alle Nervenfasern blockiert sind, kann man den Spinalnerv L5 distal der Ligatur noch zusätzlich durchtrennen. Erfolgreich operierte Tiere zeigen keine motorischen Ausfallerscheinungen an der Hintergliedmaße. Die Ratte zeigt nach der OP in der Regel verschiedene Symptome neuropathischer Schmerzen, wie z.B. eine Hyperalgesie, mechanische und Kälte Allodynie sowie einen Dauerschmerz an der operierten Hinterpfote. Diese Symptome sind zwischen dem 7. und 15. Tag am deutlichsten ausgeprägt.

SIN- Modell: Entzündliche Neuropathien entstehen oft nach einem Trauma. MILLIGAN et al., (2004) haben ein Tiermodell entwickelt, das es ermöglicht entzündliche Nervenveränderungen und damit eine Allodynie zu provozieren. Das "sciatic inflammatory neuropathy" (SIN) Modell wurde erarbeitet, um immunologische, neuropathische und spinale Mechanismen der Allodynie in der Umgebung des N. ischiadicus untersuchen zu können. Ein spezieller Katheter, der den Ratten eingesetzt wird, ermöglicht es, Immunaktivatoren oder andere Substanzen einzeln oder in Kombination direkt in die unmittelbare Umgebung des Nervus applizieren zu können. Somit kann getrennt voneinander untersucht werden, welche Substanzen welche Rolle bei einer entzündlich bedingten Neuropathie spielen. Dabei ist das Tier die ganze Zeit bei Bewusstsein, muss nicht ruhig gestellt werden und kann sich weiterhin frei bewegen.

BENNETT- oder CCI- Modell: Hyperalgesie und Allodynie sind wichtige Symptome peripherer Neuropathien. BENNETT und XIE (1988) ist es als ersten gelungen, diese Symptomatik auch experimentell am Tier hervor zu rufen. Mit der von ihnen entwickelten Methode ist es möglich, eine chronische schmerzhafte periphere Mononeuropathie bei der Ratte zu erzeugen. Nach dem Eingriff sind Hyperalgesie, Allodynie und Spontanschmerzen bei den Tieren zu beobachten. Den Ratten werden um den Nervus ischiadicus einer Hintergliedmaße vier lose Ligaturen gelegt. Jede Ligatur hat ca. 1mm Abstand zur nächsten und es wird 3/0er Catgut oder Seide dazu verwendet. Unter und zwischen den Ligaturen ist die Blutversorgung komprimiert. An diesen Stellen kommt es zur Demyelinisierung (Chronic Constriction Injury = CCI). Ein bis drei Wochen nach dem Eingriff zeigt sich proximal der Ligaturen eine deutliche Schwellung des Nervs. Unter der distalen Ligatur entsteht eine weniger deutliche Schwellung. Als Konsequenz dieser Oedematisierung stranguliert sich der Nerv selber. Zwei bis vier Monate nach der Manipulation am Nerv erscheint dieser deutlich dünner an der ligierten Stelle. Die Catgut- Ligaturen haben sich in dieser Zeit aufgelöst und auch die beschriebenen Schwellungen sind nicht mehr zu erkennen.

3. Material und Methoden

3.1 Zielvorstellung

Zur Behandlung neuropathischer Schmerzen werden derzeit neben Opioiden und Antikonvulsiva verschiedene Antidepressiva eingesetzt. Mirtazapin scheint sich besonders für die Behandlung von Neuropathien zu eignen, dies insbesondere aufgrund seines einzigartigen Wirkungsmechanismus (FREYNHAGEN & BARON, 2006; BOMHOLT et al., 2005).

Ziel der vorliegenden Untersuchung ist es, an männlichen Wistar-Ratten die Wirkung des Antidepressivums Mirtazapin und besonders die seiner Enantiomere auf chronische, durch thermische und mechanische Reize induzierte neuropathische Schmerzen, zu untersuchen.

Jede Substanz mit chiralem Zentrum liegt in der Regel chemisch als links- und rechts- drehendes Enantiomer vor. Das bedeutet, dass sich die atomare Zusammensetzung der Substanz spiegelbildlich zueinander verhält. Somit ist es möglich, dass das eine Enantiomer an den Rezeptoren im Organismus bevorzugt gebunden wird und es dadurch für die Wirkung der Substanz im Körper mehr oder weniger entscheidend ist. Ein äquimolares Gemisch von zwei Enantiomeren wird als Razemat bezeichnet. Für Mirtazapin ist nicht bekannt, ob das Razemat oder eines der Enantiomere eine spezifische Rezeptorbindung besitzt und dadurch einer Substanz eine stärkere analgetische Wirkung zugeschrieben werden kann oder evt. weniger Nebenwirkungen auslöst. Beide Enantiomere sind weltweit nicht erhältlich und bisher kaum untersucht.

SCHREIBER et al., (2002 a, b) bestätigten in ihren Akutschmerzuntersuchungen an Mäusen eine analgetische Wirkung von Mirtazapin in einem Dosisbereich von 1 mg/kg (20% Analgesie) bis 7,5 mg/kg (70% Analgesie). Ein starker dosisabhängiger Effekt wurde dabei deutlich, der auch ein verstärktes Schmerzverhalten ab einer Dosierung von 10 mg/kg erkennen ließ. Damit besitzt Mirtazapin eine biphasische Dosis- Wirkungskurve, die auch in Folgestudien bestätigt werden konnte (SCHREIBER et al., 2002 a, b; FREYNHAGEN et al., 2006). Durch den Einsatz von Opioid- Antagonisten konnte die vermutete Wirkung von Mirtazapin auf Opioid-

Rezeptoren bestätigt werden. Mirtazapin wirkt an δ - und κ - Opioid- Rezeptoren und etwas schwächer auch an μ - Rezeptoren (SCHREIBER et al., 2002b).

In den Untersuchungen von SCHREIBER et al., (2002a, b) wurde aber nur die analgetische Wirkung des Razemats getestet.

In einer Studie von BOMHOLT et al., (2005) ist bei Ratten nach einer Chronic Constriction Injury (BENNETT & XIE, 1988) zum ersten Mal der antinozizeptive Effekt von Mirtazapin beim neuropathischen Schmerz untersucht worden. Beim Hot Plate Test zeigten die Tiere nach dem Eingriff eine deutlich ausgeprägte thermale Hyperalgesie. Nach der Gabe von Mirtazapin war diese signifikant abgeschwächt. Die Ausprägung der mechanischen Allodynie wurde durch Mirtazapin nicht beeinflusst, allerdings wurde die mechanische Hyperalgesie abgeschwächt. Dies war aber erst ab einer Dosierung von 30mg/kg (i.p.) zu beobachten.

In einer ersten Studie zur Untersuchung der antinozizeptiven Eigenschaften der Enantiomere im Akutschmerz bei Ratten zeigte R(-)- Mirtazapin antinozizeptive Effekte, S(+)- Mirtazapin hingegen wirkte pronozizeptiv. Das Razemat zeigte sowohl pro- als auch antinozizeptive Wirkung (FREYNHAGEN et al., 2006).

In der vorliegenden Arbeit soll untersucht werden, ob die im Tiermodell bei Akutschmerz nachgewiesenen Effekte der Mirtazapin-Enantiomere bei chronischen neuropathischen Schmerzen in gleicher Weise, ähnlich oder in möglicherweise ganz anderer Form nachweisbar sind.

Gemäß des § 8 des deutschen Tierschutzgesetzes (TierSchG i.d.F. vom 25.05.1998, Bundesministerium für Verbraucherschutz, Ernährung und Landwirtschaft) wurde das Tierversuchsvorhaben mit der Projektnummer G46/04 gemäß ordentlichem Antrag vom 23.01.2004 durch die Bezirksregierung von Nordrhein- Westfalen genehmigt.

3.2 Versuchstiere

Für den beschriebenen Tierversuch wurden 85 männliche Wistar- Ratten (Stammbezeichnung: HanTac:WH, Hannover Galas) mit einem Körpergewicht von 350- 400g eingesetzt.

Die Tiere wurden in der Tierversuchsanstalt (TVA) der Universität Düsseldorf gezüchtet und verblieben während der Versuchsdauer auch in den dortigen Tierställen, wodurch eine Quarantäne und Adaptionzeit entfiel. In der TVA waren

eine ständige tierärztliche Kontrolle und standardisierte Haltungsbedingungen garantiert.

3.3 Haltung und Fütterung

Die Tiere waren im SPF Tierraum der TVA der Universität Düsseldorf untergebracht. Die Versuche wurden im SPF Labor neben dem Tierraum durchgeführt. Dort herrschte ein geregeltes Klima mit einer Raumtemperatur von 21 bis 24°C sowie einer relativen Luftfeuchtigkeit von 50 - 60%. Die Beleuchtung wurde im 12 Stunden Takt zwischen Hell und Dunkel geregelt. In den Sommermonaten ist die Dunkelphase von 19- 7 Uhr, in den Wintermonaten von 18- 6 Uhr. Die Lichtintensität liegt bei maximal 320 Lux.

In der ersten Phase der Versuche wurden die Tiere zu viert in Makrolon®- Käfigen Typ IV gehalten. Während der zweiten Versuchsphase saßen die Ratten dann einzeln in Makrolon®- Käfigen Typ III.

Die Käfige enthielten eine Einstreu aus entstaubtem Weichholzgranulat (Fa. Rettenmaier & Sohn GmbH u. CoKG, Rosenberg), welches zweimal pro Woche gewechselt wurde. Als Futter stand den Tieren ad libitum Alleinfutterpellets für Ratten und Mäuse (Ssniff R/M- Haltung, 10mm, Fa. Ssniff Spezialdiäten GmbH, Soest) zur Verfügung. Zudem erhielten die Ratten ad libitum entkeimtes, mit HCL angesäuertes Wasser mit einem pH- Wert von 2,6- 3,0.

3.4 Pharmaka und Dosierung

In dieser Studie wurde das Razemat Mirtazapin (chemischer Name: 1,2,3,4,10,14b-Hexahydro-2-methyl-pyrazino[2,1-a] pyrido [2,3-c] [2] benzazepin), eingetragen als Remergil® der Firma Organon GmbH, Oberschleißheim, untersucht sowie seine Enantiomere, das S(+)- Mirtazapin (Forschungscode: Org 50081) und das R(-)- Mirtazapin (Forschungscode: Org 4419).

Die Dosierung war abgeleitet aus vorherigen wissenschaftlichen Veröffentlichungen (SCHREIBER et al., 2002a, 2002b; FREYNHAGEN et al., 2006) und durch die dort vorgenommenen Dosisfindungsversuche verifiziert.

Die zu untersuchenden Wirkstoffe wurden in isotonischer Kochsalzlösung (Isotone Natriumchloridlösung 0,9% Braun, Fa. Braun Melsungen AG, Melsungen) gelöst und so den Versuchstieren intrathekal injiziert. Die reine isotone Kochsalzlösung wurde

den Kontrolltieren während der Versuche verabreicht, die keinen der drei Wirkstoffe erhielten.

3.5 Allgemeiner Versuchsplan

Im Folgenden soll die Wirkung des Antidepressivums Mirtazapin (Remergil®, Fa. Organon, Oberschleißheim) und seiner Enantiomere auf neuropathische Schmerzen untersucht werden.

Zu Beginn der Untersuchungen werden die Tiere in den Versuchsapparaturen, Dynamic Plantar Test und Dynamic Plantar Aesthesiometer (Fa. Ugo Basile, Comerio- Varese, Italien) beprobt, um die Schmerzschwellen der einzelnen Ratte vor der Manipulation am N. sciadicus und vor der Medikamentenapplikation zu ermitteln.

Dabei werden die Tiere am ersten Tag für ca. 30 min in jede Apparatur gesetzt, um sich an die neuen Gegebenheiten gewöhnen zu können. Am nächsten Tag haben alle Tiere nochmals eine Eingewöhnungsphase von ca. 20 min, bevor die ersten Schmerzschwellen ermittelt werden.

Die Tests finden immer im gleichen SPF Labor neben dem SPF Tierraum unter gleichen Bedingungen statt, so dass die Tiere keinen unnötigen Stress erfahren. Vor allen Experimenten werden die Ratten gewogen und auf ihr klinisches Allgemeinbefinden hin untersucht, so dass nur gesunde Tiere an der Studie teilnehmen.

3.5.1 Versuchsablauf

Die einzelnen Versuchstage laufen immer nach dem gleichen Schema ab. Jedes Tier wurde zufällig einer Medikamenten- oder der Kontrollgruppe zugeordnet. Die vier unterschiedlichen Dosierungen des Razemats, sowie des R(-)- Enantiomers und des S(+)- Enantiomers wurden an jeweils 6 Tieren untersucht. 13 weitere Tiere bildeten die Kontrollgruppe.

Zu Beginn der Untersuchungen wurden die Ratten nach einer Eingewöhnungsphase im Dynamic Plantar Tester einem thermischen Reiz und im Dynamic Plantar Aesthesiometer einem mechanischen Reiz ausgesetzt. Dabei wurde jede Hinterpfote vier mal beprobt. Aus den gesammelten Werten (PWT) wurde der Mittelwert errechnet und als Ausgangswert (Basalwert) verwendet. Da jedes Tier vor der Substanzapplikation und der CCI getestet wurde, erhielt man den physiologischen

Schwellenwert, bei dem das einzelne Tier den thermalen bzw. mechanischen Reiz als deutlich unangenehm oder schmerzhaft empfand und die Pfote der Reizsetzung entzog. Die Messung der Wirkung der einzelnen Testsubstanzen erfolgte mit Hilfe der „Pfortenrückzuglatenzzeit“ (PWT, Angaben in Sekunden).

In der anschließenden OP wurde der N. ischiadicus mit 3/0 Catgut locker ligiert. Dabei legte man vier Ligaturen mit je einem Knoten um den Nerv. Dadurch kam es am Nerv zur Ausbildung eines Oedems sowie zu einer Degeneration von A δ -Fasern und in geringerem Maße auch von C-Fasern (sog. Chronic Constriction Injury - CCI, BENNETT & XIE, 1988). Des Weiteren wurde den Tieren ein intrathekaler Katheter gelegt, der bis zum lumbalen Abschnitt der Wirbelsäule reichte. Darüber wurde dann das Medikament appliziert, da nur so eine gleichmäßige Verteilung bei jeder Ratte garantiert war. Maximal wurden entweder 10 μ l der Testsubstanz oder 10 μ l NaCl (bei den Kontrolltieren) injiziert, da der intrathekale Raum der Tiere nicht mehr Flüssigkeit ohne Beeinträchtigung aufnehmen konnte. Ausschlaggebend bei der Wahl der Applikationsart waren die genauere Applikation der Testsubstanz, die damit verbundene gute Aufnahme und der rasche Wirkungseintritt (MALKMUS & YAKSH, 2004).

Am 10. Tag nach der OP wurde zum einen die Entwicklung einer Allodynie (normalerweise nicht schmerzhaft Reize werden schmerzhaft empfunden) im Dynamic Plantar Aesthesiometer sowie die Entstehung einer thermalen Hyperalgesie (gesteigerte Schmerzempfindlichkeit auf leicht schmerzhaft Reize) im Dynamic Plantar Tester kontrolliert. Wiederum wurde jede Hinterpfote vier mal einem thermalen oder mechanischen Reiz ausgesetzt und so die mittlere PWT ermittelt. Zwischen jeder Reizsetzung an einer Pfote lagen mindestens 10 Sekunden, um sicher zu sein, dass die vorherige Reizsetzung das neue Ergebnis nicht beeinflusste. Im weiteren Versuch wurden alle Tiere eingeschlossen, die sowohl eine Allodynie als auch eine thermale Hyperalgesie entwickelt hatten.

Dann wurde das Razemat oder die Enantiomere in einer Dosierung von 1mg/kg, 0,1 mg/kg, 0,01 mg/kg und 0,001 mg/kg verabreicht. Nach 120 min, 240 min, 24 Std. und 48 Std. wird die PWT bei thermaler Reizsetzung ermittelt und am gleichen Tag nach 180 min, 300 min, 25 Std. und 49 Std. wird die mechanische Testung vorgenommen und die dortige PWT bestimmt. Der Kontrollgruppe applizierte man 10 μ l isotonische Kochsalzlösung in den intrathekalen Raum und testete die Tiere im gleichen Rhythmus wie die Tiere der Substanzgruppen.

Die „Pfortenrückzuglatenzzeit“ ermittelten beide Geräte auf die Millisekunde bzw. auf das Milligramm genau. Dabei wurde die mittlere PWT mit dem basalen Ausgangswert verglichen, um die Entwicklung einer Allodynie und Hyperalgesie beurteilen zu können. Diese Reaktionen ließen sich dann deutlich in der Dosis-Wirkungskurve ablesen. In der ersten Studie zum Akutschmerz (FREYNHAGEN et al., 2006) zeigte sich dabei, dass Mirtazapin 120 min und 240 min nach i.t. Applikation die stärkste Wirkung hervorrief. Zur Kontrolle wurde auch 24 und 48 Std. nach der Applikation im Dynamic Plantar Test die thermale Hyperalgesie untersucht und 25 und 49 Std. nach Applikation im Dynamic Plantar Aesthesiometer die Allodynie weiterhin überprüft, um eventuelle Späteffekte erkennen zu können.

Zwischen den einzelnen Testtagen befanden sich die Tiere wieder im Tierraum. Im Anschluss an alle Messungen wurden die Ratten dann laut Tierschutzgesetz mit einer Überdosis Pentobarbital euthanasiert und einer Sektion unterzogen, um die Lage des intrathekalen Katheters und die Veränderungen am Ischias- Nerv zu kontrollieren.

3.5.2 Ansetzen der Testsubstanz

Das Razemat und die beiden Enantiomere in Reinform lagen als Pulver vor. Von den drei Grundsubstanzen wurde jeweils eine Lösung mit einer Konzentration von 3,5 – 4 mg (KGW der Ratten 350- 400g; Dosierung 1mg/kg) Wirkstoff auf 1 ml isotone Kochsalzlösung angesetzt. Entnahm man hier 10 µl, erhielt man die Dosierung 0,1 mg/kg und konnte dies den Ratten injizieren. Verdünnte man diese Ausgangssubstanz 1:9 und entnahm aus dieser Lösung 10 µl erhielt man die Substanz in der Dosierung 0,01 mg/kg.

Vor dem Ansetzen der Lösungen wurden die Ratten gewogen und dementsprechend viel Wirkstoff in NaCl gelöst.

Die Proben wurden zur besseren Haltbarkeit tiefgefroren. Die Chemiker der Firma Organon hatten schriftlich bestätigt, dass das Razemat und die beiden Enantiomere bei -18 C° mindestens 4 Wochen haltbar sind.

Die Proben wurden verblindet, indem jedes Eppendorfgefäß einen fortlaufenden Buchstaben des Alphabets erhielt. Den Ratten wurde dann in beliebiger Reihenfolge eines der Eppendorfgefäße zugeteilt, ohne dass der Untersucher die Dosierung kannte. Erst bei der Auswertung entschlüsselte man den Buchstabencode.

3.6 Messapparaturen

3.6.1 Plantar Test 7370

Mit Hilfe des Plantar Test der Fa. Ugo Basile, Italien, war es möglich, die antinozizeptive Wirkung der zu untersuchenden Substanz standardisiert zu testen. Die Tiere wurden hierbei einem Hitzereiz ausgesetzt (thermale Hyperalgesie-Messung), dem sie sich jederzeit entziehen konnten (HARGREAVES et al., 1988). Vorteilhaft waren die unkomplizierte Durchführung, sowie die gute Reproduzierbarkeit. Mit dem Plantar Test können so genannte „nozizeptive Verhaltensbeobachtungen“ am wachen, nahezu ungestressten Tier gemacht werden (GABRIEL et al., 2004).

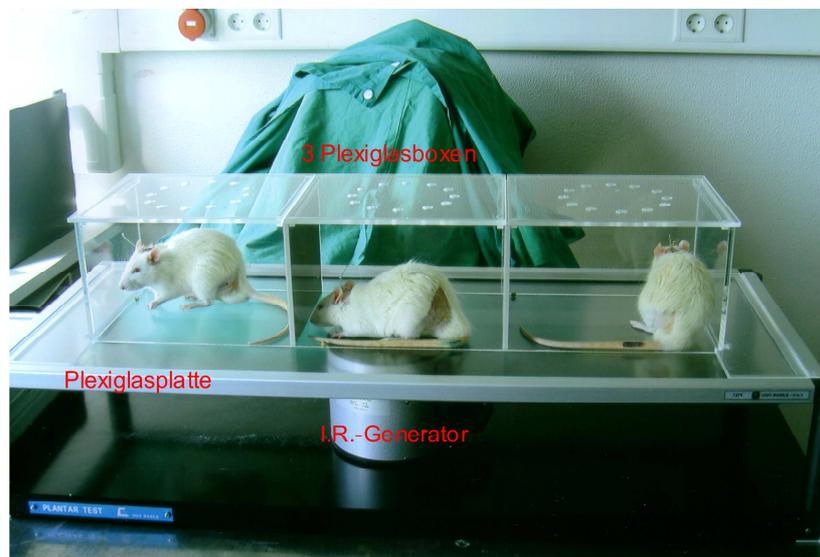


Bild 1: Übersicht Dynamic Plantar Test.

Aufbau, Funktionsweise und Einstellung:

Der Dynamic Plantar Test ist zusammengesetzt aus einer erhöht montierten, transparenten Plexiglasplatte, auf der drei nebeneinander gereiht, ebenfalls transparente Plexiglasboxen gestellt werden (siehe Bild 1). Sie haben die Maße von 24(L) X 15(H) X 19(B) cm (Fa. Ugo Basile, Italien). Somit wird es den Tieren ermöglicht sich natürlich bewegen zu können.



Bild 2: Darstellung I.R. Generator mit Fadenkreuz zur genauen Fokussierung des Hitzestrahls.

Unter der erhöhten Plexiglasplatte wird ein mobiler Infrarotgenerator (I.R.) frei bewegt und so punktgenau unter den Ballen der zu beprobenden Pfote platziert. In der Mitte des I.R. Generators ist ein Fadenkreuz eingezeichnet, welches die genaue Platzierung erleichtert (Bild 2). Dort befindet sich auch der Austrittspunkt für den feinen fokussierten Hitzestrahls, der vom I.R. Generator erzeugt wird. Die Intensität des Infrarotlichts kann manuell eingestellt werden.

Wenn das Versuchstier ruhig in der Plexiglasbox sitzt, bewegt der Untersucher den I.R. Generator unter die zu beprobende Pfote. Der I.R. Generator besteht aus einer zylindrischen Aluminiumhülle, in der eine Halogenleuchte unterhalb eines I.R. Filters angebracht ist. Dieser absorbiert das sichtbare Licht. Die verbleibenden Infrarotwellen verlassen gebündelt den Generator über ein spezielles Austrittsfenster, welches in das oben beschriebene Fadenkreuz eingelassen ist.

Die Infrarotintensität liegt bei den Untersuchungen bei 50 Watt/Sekunde. Nach Betätigung des Startknopfes an der Seite des I.R. Generators wird über diesen die Energie freigesetzt. In diesem Augenblick beginnt der Strom, der vorher nur schwach in den Halogenfilamenten fließt, mit der eingestellten Intensität stärker zu fließen. Dies geschieht innerhalb von 0,3 Sekunden. An der Hinterpfote der Ratte wird dann eine Temperatur von 45-50 °C innerhalb von Millisekunden erreicht. Wenn das Tier seine Pfote wegzieht, wird die sich im Generator befindliche Lichtschranke

unterbrochen. Dies wird durch einen Sensor registriert und die Reaktionszeit automatisch aufgezeichnet.

Der Sensor und die Lichtschranke erlauben eine bis auf Millisekunden genaue Bestimmung der Latenzzeit bis zum Zurückziehen der Pfote (Pfortenrückzuglatenzzeit, paw withdrawal threshold, PWT) (MALCANGIO et al., 1997; GABRIEL et al., 2004). Das Bild 3 zeigt die Messeinheit mit angegebener PWT in Sekunden.

Zur Vermeidung von Verbrennungen oder sonstigen Gewebeschädigungen wird der Test bei einer PWT von über 20 sek. automatisch abgebrochen.



Bild 3: Controller mit der PWT Anzeige in Sekunden.

3.6.2 Dynamic Plantar Aesthesiometer 37400

Es handelte sich um eine automatisierte Apparatur, die eine leichte mechanische Stimulation an der Pfote von Ratten ermöglichte (Allodynie-Messung). Hierbei wurden die Tiere ungestresst und vom Experimentator unbeeinflusst getestet. Somit bot diese Apparatur eine gute Reproduzierbarkeit und ist ebenfalls unkompliziert durchzuführen.

Aufbau, Funktionsweise und Einstellung:

Das Gerät besteht aus einem erhöht befestigten Gitterdrahtboden auf dem die durchsichtigen Plexiglasboxen aufgesetzt werden. Diese werden mit einer

Plexiglasplatte verschlossen. Die Tiere haben ausreichend Platz sich frei zu bewegen (Bild 5).

Der Touch Stimulator besteht aus einer zylindrischen Aluminiumhülle, in der sich ein elektrodynamischer Motor befindet. Dieser hebt nach außen hin das 0,5 mm dicke Stahl Filament an. Die Krafteinstellung erfolgt an der Elektronischen Einheit, die sich neben den Boxen befindet. Hier kann unter anderem eingestellt werden, in welchem Zeitabschnitt die Kraftaufwendung des Filaments gesteigert werden soll. In diesem Experiment wird mit Hilfe des Dynamic Plantar Aesthesiometers der mechanische Druck an der Pfote der Ratte stufenweise innerhalb von 10 sek. von 0 auf 50 g angehoben.



Bild 4: Testbox des Dynamic Plantar Aesthesiometers mit Spiegel zur genauen Platzierung des Filaments unter der zu testenden Hinterpfote.

Mit Hilfe des Spiegels, der um die Filamentöffnung herum befestigt ist, kann man dieses genau unter der zu testenden Pfote platzieren (Bild 4). Drückt man den Startkopf, steigert sich langsam der Druck an der Pfote. An der Elektronischen Einheit werden die Sekunden mitgezählt und die sich erhöhende Kraft angezeigt. Zieht die Ratte ihre Pfote fort, stoppt umgehend die Zeit und die Kraftaufwendung. Die Latenzzeit und die benötigte Kraftaufwendung bis zum Wegziehen der Pfote

können nun abgelesen werden. Die Elektronische Einheit und der Touch Stimulator sind über Anschlüsse miteinander verbunden. Auch hier wird das Filament nach vorgegebener Zeit wieder von der Pfote automatisch entfernt, damit keine Verletzungen entstehen.

Bis zu zwei Tieren gleichzeitig können im Dynamic Plantar Aesthesiometer getestet werden.



Bild 5: Aufbau Dynamic Plantar Aesthesiometer.

3.7 Intrathekale Katheterisierung und Chronic Constriction Injury-Operation

In einer Operation wurde den Tieren zum einen ein intrathekaler Katheter gelegt und zum anderen der N. ischiadicus ligiert, entsprechend dem sog. BENNETT- oder CCI-Modell (BENNETT & XIE, 1988). Der Katheter war notwendig, um die zu testende Substanz applizieren zu können. Vor der Operation wurden die Tiere in den OP-Vorbereitungsraum verbracht, gewogen und einer allgemeinen Untersuchung unterzogen.

Die Tiere wurden mit Pentobarbital (Narcoren®), 60 mg/kg KGW i.p. anaesthetisiert. Nacheinander erloschen die Flucht-, Stell- und Lidreflexe. Das Operationsfeld wurde gründlich rasiert und desinfiziert (Dibromol® Tinktur farblos, Fa. Trommsdorf, Trommsdorf). Danach wurde der Kopf der Tiere im sog. Stereotakter mit Spreizeinrichtung so eingespannt, dass dieser frei beweglich zwischen zwei Stäben hing (MALKMUS & YAKSH, 2004). Um Kopfverletzungen vorzubeugen, legte man Mullkompressen zwischen Schädelknochen und „Spanner“ (Bild 6).

Auf einer Linie vom Os occipitale zum Axis reichend wurden die Haut und die sehnige Verbindung der Kopfmuskeln durchtrennt. Die Membrana atlantooccipitalis wurde freigelegt und mit einem Skalpell vorsichtig über dem gleichnamigen Foramen durchtrennt und über eine Länge von ca. 6 mm eröffnet. Aus der Öffnung floss dann der Liquor cerebrospinalis aus dem intrathekalen Raum ab, solange bis ein Druckausgleich stattgefunden hatte. Der Kopf des Tieres wurde nun so inkliniert, bis das Foramen und der intrathekale Raum deutlich darstellbar waren. Ein 13 cm langer und 0,28 mm (ID), bzw. 0,61 mm (AD) im Durchmesser großer steriler Polyethylenkatheter (A. Hartenstein GmbH, Würzburg/ Versbach) wurde nun vorsichtig in den intrathekalen Raum bis zum lumbalen Teil der Wirbelsäule nach kaudal vorgeschoben, wobei mindestens acht Zentimeter des Katheters intrathekal lagen. Der Katheter wurde dann mit Hautkleber (Stabiloplast Kunststoff 448, Renfert GmbH, Hilzingen) stabilisiert und die Inzision in der Membran verschlossen. Mit dem dazugehörigen Akzelerator (Stabiloplast Akzelerator No.448-0002, Renfert GmbH, Hilzingen) härtete man den Kleber aus (Bild 6). Anschließend wurden die Muskulatur und die Haut vernäht. Um den Katheter zu verschließen, wurde dieser mit einem Feuerzeug leicht angeschmolzen und mit Hilfe einer Klemme so zusammengepresst, dass kein Liquor entweichen konnte.

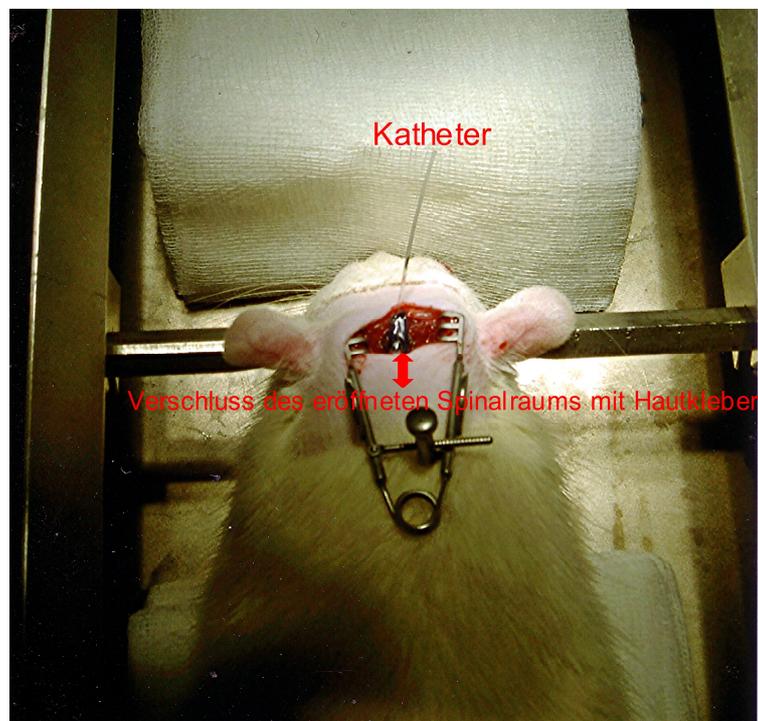


Bild 6: Erfolgte intrathekale Katheterisierung vor der Hautnaht. Der Kopf der Ratte ist im Stereotakter eingespannt.

Im zweiten Teil der Operation wurde der N. ischiadicus ligiert. Dazu desinfizierte und rasierte man das Operationsfeld (Dibromol® Tinktur farblos, Fa. Trommsdorf, Trommsdorf). Die Haut wurde auf einer Linie zwischen Hüfthöcker und Kniegelenk mit einem scharfen Skalpell durchtrennt. Die Mm. biceps femoris und adductor magnus wurden stumpf durchtrennt und der N. ischiadicus darunter freigelegt. Die den Nerv umschließenden Membranen und das Fettgewebe entfernte man vorsichtig mit einer Pinzette. Auf den proximalen Abschnitt der Aufteilung des Nerven in den N. tibialis und N. fibularis, wurden vier gleichmäßig untereinander liegende Ligaturen mit je einem Knoten gelegt. Der Abstand zwischen den Ligaturen war ca. 1-2 mm groß (Bild 7). Dafür wurde 3-0 Catgut verwendet. Die Ligaturen zog man so locker an, dass sie den Nerv in der Weise reizten, dass es zu einer Oedematisierung kam und dieser sich somit selber strangulierte. Anschließend wurden Muskulatur und Haut vernäht.

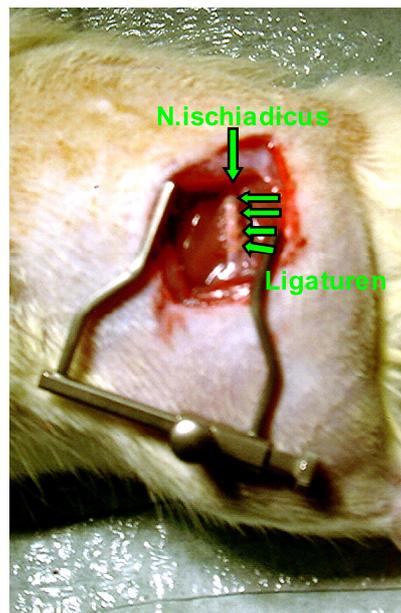


Bild 7: Präparierter N. ischiadicus mit 4 Ligaturen.

Die Ratten wurden während der OP und der Aufwachphase mit einer Wärmematte oder Rotlicht vor dem Auskühlen geschützt. Sobald sich die Tiere wieder gezielt bewegen konnten, wurden sie in ihre Käfige und in den Tierraum zurück verbracht. Tiere, die nach der Operation motorische Ausfallerscheinungen zeigten, wurden aus dem Versuch ausgeschlossen und mit einer Überdosis Pentobarbital euthanasiert. In den zehn Tagen bis zur Mirtazapinapplikation und den weiteren Untersuchungen wurden die Tiere hinsichtlich Verhaltensänderungen, die durch (neuropathische) Schmerzen bedingt waren beobachtet. Dabei fiel auf, dass die Hautnaht am

operierten Hinterbein oft beleckt wurde. Die Kopfnahrt am intrathekalen Katheter dagegen wurde nicht so häufig gesäubert. Die Zehen und Pfote des manipulierten Beines wurden intensiv beleckt und gesäubert, vor allem nach einer Berührung des operierten Hinterbeins oder nachdem man die Tiere in einen anderen Käfig setzte. Innerhalb der zehn Tage ließ die Fellpflege der Tiere sichtlich nach. Sie erschienen struppig und glanzlos. Die meisten Ratten hatten sog. „Brillenaugen“, die durch nicht weggeputztes Hamatoporphyrinpigment aus der Harder- Drüse entstanden. Die Gewichtszunahme der Tiere nach der OP stagnierte. Diese beobachteten Verhaltensänderungen konnten einer Schmerzentwicklung zugeschrieben werden (HENKE & ERHARDT, 2004). Außerdem waren es zusammen mit der beobachteten Ausprägung einer Hyperalgesie und Allodynie Leitsymptome neuropathischer Schmerzen (BENNETT & XIE, 1988; BOMHOLDT et al., 2004; FREYNHAGEN & BARON, 2006; SOMMER, 2003).

3.8 Sektion

Nach den Untersuchungen und der Euthanasie der Tiere wurden an ihnen Kontrollsektionen durchgeführt.

Dabei stellte man die Lage des intrathekalen Katheters dar. Dieser sollte mindestens acht Zentimeter im Wirbelkanal liegen und keine Gefäße oder andere Strukturen verletzt haben. War der Katheter im Wirbelkanal dargestellt, applizierte man durch ihn Methylenblau. Dadurch konnte man den Verlauf und den Ausgang sowie das umgebende Gewebe genauer beurteilen (Bild 8).

Danach wurden die Ligaturen am N. ischiadicus dargestellt und kontrolliert, ob proximal eine Schwellung des Nervengewebes zu erkennen und wie weit die Resorption des Nahtmaterials (Catgut 3/0) fortgeschritten war.

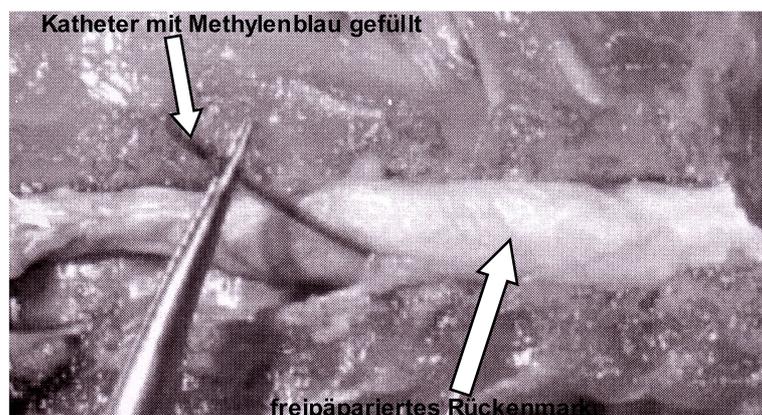


Bild 8: Darstellung des Katheterverlaufs im Rückenmark (Vogt, 2005).

3.9 Statistische Auswertung

Ausgehend von der gemessenen Pfotenrückzugslatenzzeit, PWT, wurde der arithmetische Mittelwert mit der dazugehörigen Standardabweichung (SD) berechnet. Der Vergleich zwischen den verschiedenen Gruppen erfolgte mittels einfaktorieller Varianzanalyse und anschließender LSD post Hoc Analyse sowie Korrektur nach Bonferroni (SPSS Version 12.01, Chicago, Illinois, USA). $P < 0,05$ wurde als statistisch signifikant angenommen, $P < 0,001$ als statistisch hochsignifikant. Signifikante Unterschiede wurden mit *, hochsignifikante Unterschiede mit ** gekennzeichnet.

4. Ergebnisse

4.1 Ergebnisse zur Untersuchung der thermalen Hyperalgesie

In Abb. 6- 8 ist der Verlauf der Schmerzschwellen (gemessen an der PWT) zu allen Testzeitpunkten und allen Dosierungen der jeweiligen Substanz (Razemat/ R(-)-Mirtazapin/ S(+)- Mirtazapin) dargestellt. Die Tiere werden den einzelnen Substanz- und Dosierungsgruppen zufällig zugeordnet. Von jeder Gruppe, bestehend aus 6 Tieren, wird ein Mittelwert gebildet. Die Kontrollgruppe (Kontrolle) setzt sich aus 13 Tieren zusammen.

Während der gesamten Untersuchung wird die Tiergruppe, die das Razemat appliziert bekommt Razematgruppe (Razemat) genannt. Die Gruppe, die das R(-)-Mirtazapin bekommt ist mit R- Enantiomer gekennzeichnet und die das S(+)-Mirtazapin erhält heißt S- Enantiomer. Die Bezeichnungen finden sich in den Legenden zu den Abb.6- 19 wieder.

Die mögliche antinozizeptive Wirkung der einzelnen Testsubstanzen erfolgt im Dynamic Plantar Test mit Hilfe der „Pfotenrückzuglatenzzeit“ (PWT) gemessen in Sekunden (sek.).

„Prä CCI“ stellt den gemessenen physiologischen Schwellenwert vor der Manipulation am N. ischiadicus dar. Die Werte zu diesem Zeitpunkt variieren zum Teil deutlich, denn jedes Tier empfindet eine individuelle Schmerzgrenze. So ergeben sich unterschiedliche Mittelwerte für die einzelnen Gruppen, die dann als Ausgangswert in den Abbildungen dargestellt sind. Gleiches gilt für die Streuung der Werte zum Zeitpunkt „prä Applikation“ (prä Appl). Dieser Messpunkt fasst die Schmerzschwellen der sich entwickelnden thermalen Hyperalgesie 10 Tage nach der CCI zusammen. Die Messpunkte 120 min, 240 min, 24 Std. und 48 Std. geben die Mittelwerte zu den jeweiligen Zeitpunkten nach Substanzapplikation wieder.

In Abb. 6 werden die gemessenen Schwellenwerte der einzelnen Dosierungen für das Razemat aufgezeigt. So lässt sich eine analgetische Wirkung, die man aus einem Anstieg der Schmerzschwelle über den Wert zum Zeitpunkt „prä Appl“ herleiten kann, vergleichend darstellen. Außerdem ist ein direkter Vergleich mit der Entwicklung der Schmerzschwelle der Kontrollgruppe möglich. Auffallend in dieser Grafik ist der deutliche Anstieg der Schmerzschwelle nach 120 min und 240 min für die Razematdosierung 0,1 mg/kg. Ebenfalls signifikant ist der Anstieg der Schmerzschwelle für die Dosierung 0,01 mg/kg. Diese liegt deutlich über dem Niveau

der Ausgangswerte zum Zeitpunkt „prä Appl“ bei allen untersuchten Messzeitpunkten.

Abb. 7 stellt den Vergleich der PWT zur thermalen Hyperalgesie für R(-)- Mirtazapin dar. Zum Messzeitpunkt „prä CCI“ differieren die ermittelten Schmerzschwellen der einzelnen Gruppen ebenfalls aus den oben erwähnten Gründen. Anders als in Abb. 6 ist nach dem Messzeitpunkt „prä Appl“ kein deutlicher Anstieg der Schmerzschwellen für R(-)- Mirtazapin zu erkennen, lediglich für die Dosierung 0,1 mg/kg nach 120 min.

In Abb. 8 sind die Schmerzschwellen für S(+)- Mirtazapin aufgeführt. Es zeigt sich kein Unterschied in der Schmerzempfindung vor der S(+)- Mirtazapin Applikation („prä Appl“) und zum Zeitpunkt der einzelnen Messungen.

In allen drei Abbildungen (Abb. 6- 8) liegt die mittlere PWT der Kontrollgruppe während der Untersuchungen nach der Medikamentapplikation auf dem gleichen Niveau, wie zum Zeitpunkt „prä Appl“. Ein Placeboeffekt oder eine Gewöhnung der Tiere an die Messapparaturen und Reizsetzungen und eine damit verbundene Veränderung der Schmerzempfindung kann somit ausgeschlossen werden.

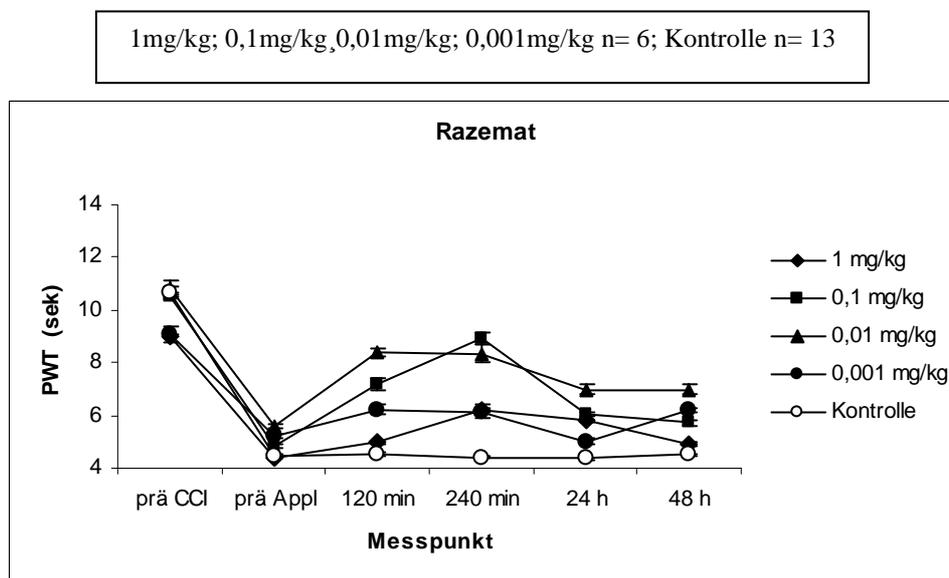


Abb. 6: Grafischer Vergleich der PWT zu allen Testzeitpunkten der verwendeten Dosierungen des Razemats mit Bezug zur Kontrollgruppe im Dynamic Plantar Test.

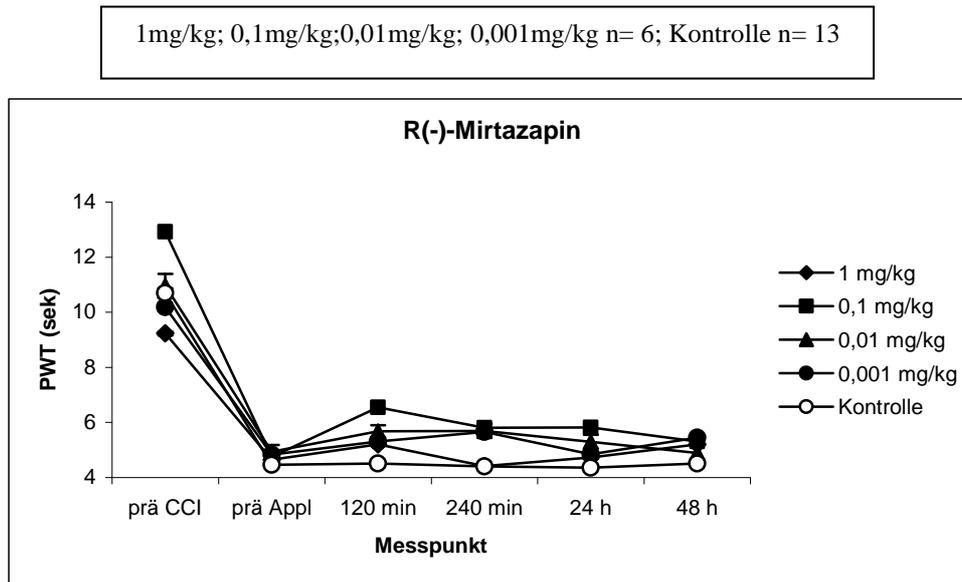


Abb. 7: Grafischer Vergleich der PWT (thermale Hyperalgesie) aller R(-)-Mirtazapin Dosierungen zu jedem Testzeitpunkt mit Bezug zur Kontrollgruppe.

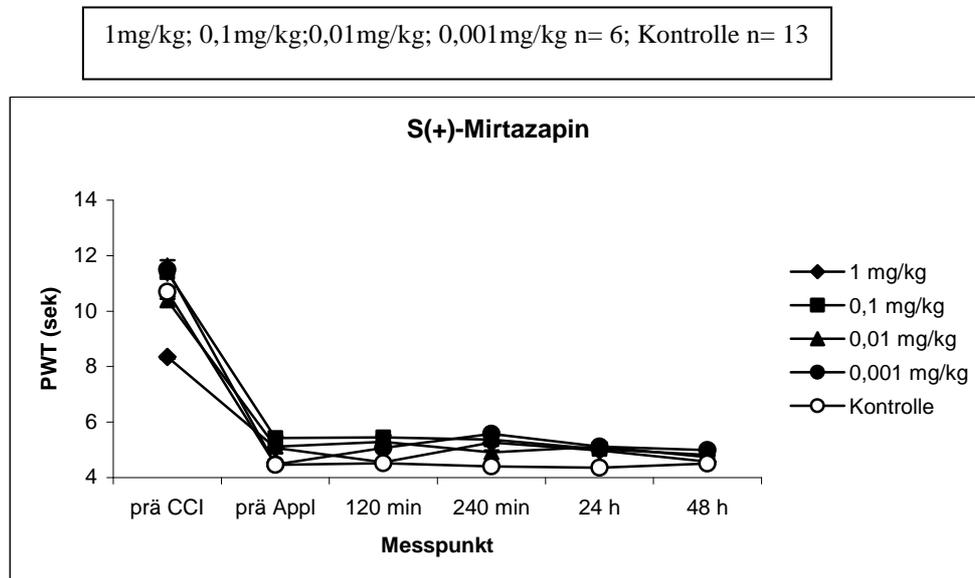


Abb. 8: Grafischer Vergleich der PWT aller S(+)- Mirtazapin Dosierungen zu jedem Messzeitpunkt im Dynamic Plantar Test mit Bezug zur Kontrollgruppe.

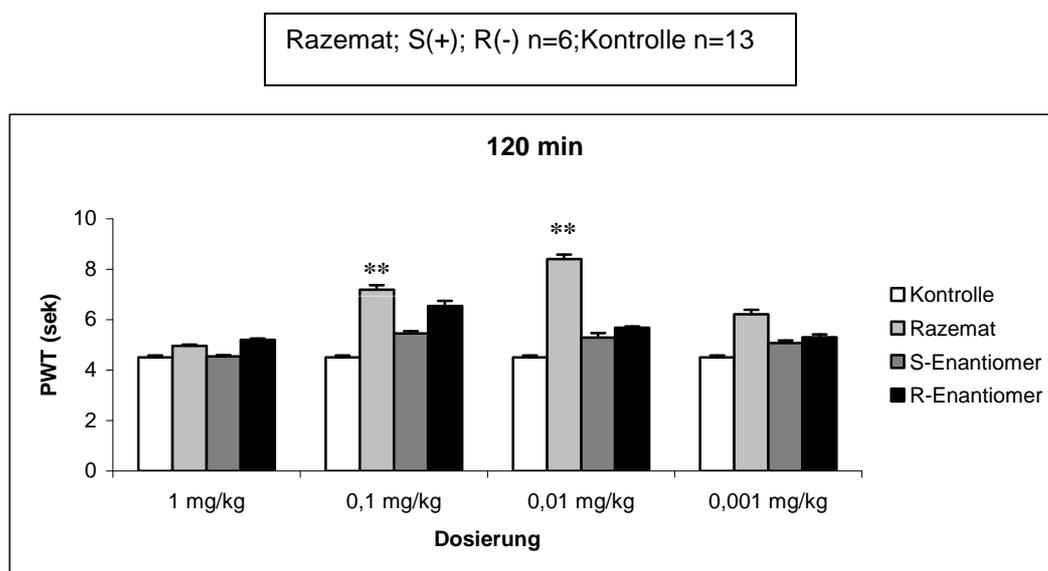
4.1.1 PWT zu den einzelnen Messzeitpunkten

120 Minuten nach der Mirtazapin-Gabe zeigen sich bereits Veränderungen der Schmerzschwelle bei den einzelnen Tieren. Die mittlere PWT der Razematgruppe (Dosierung 0,1 mg/kg) liegt zu diesem Zeitpunkt bei 7,19 sek. und ist somit im Vergleich zum Messpunkt „prä Appl“ (4,83 sek.) hoch signifikant ($P < 0,001$) verändert.

Ebenfalls hoch signifikant ($P < 0,001$) verändert ist die Schmerzschwelle in der Razematgruppe mit der Dosierung 0,01 mg/kg. Die mittlere PWT ist 8,4 sek. nach 120 min, zum Zeitpunkt „prä Appl“ ergibt sich eine mittlere PWT von 5,55 sek. .

Die Razematgruppen, an denen die Dosierungen 1 mg/kg und 0,001 mg/kg untersucht werden, zeigen keine deutlichen Veränderungen der Schmerzschwelle. Auch die Gruppen, die jeweils ein Enantiomer in den verschiedenen Dosierungen appliziert bekommen, weisen nur geringe Abweichungen der mittleren PWT nach 120 min auf.

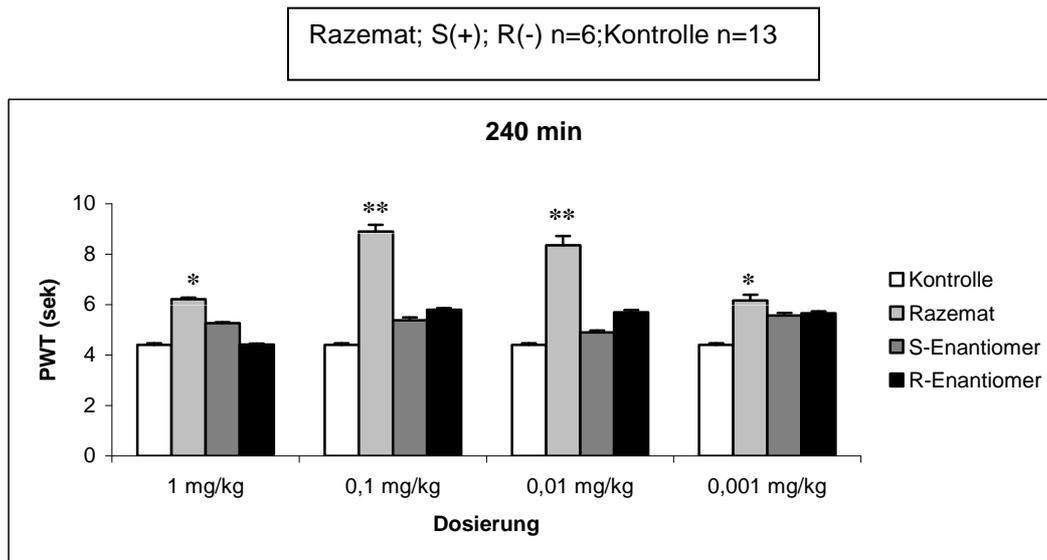
Die Ergebnisse der einzelnen Substanzgruppen zum Messzeitpunkt 120 min sind in Abb. 9 dargestellt. Auf der X-Achse ist die PWT in Sekunden angegeben, auf der Y-Achse sind die untersuchten Dosierungen vergleichend aufgeführt. Die Ergebnisse der einzelnen Substanzgruppen sind mit Balken dargestellt und die signifikanten Veränderungen mit ** gekennzeichnet.



** $P < 0,001$, * $P < 0,05$ im Vergleich zur Kontrollgruppe (einfaktorielle ANOVA mit Post Hoc LSD Test und Bonferroni Korrektur).

Abb. 9: Grafische Darstellung der PWT im Dynamic Plantar Test aller Dosierungen.

240 min nach Mirtazapinapplikation zeigen sich in der Razematgruppe auch bei den Dosierungen 1 mg/kg und 0,001 mg/kg signifikante ($P < 0,05$) Veränderungen der mittleren PWT, in Abb. 10 mit * gekennzeichnet. Die hoch signifikanten ($P < 0,001$) Veränderungen der Schmerzschwelle bleiben in der Razematgruppe für die Dosierungen 0,1 mg/kg und 0,01 mg/kg weiterhin bestehen (Abb. 10).



** $P < 0,001$, * $P < 0,05$ im Vergleich zur Kontrollgruppe (einfaktorielle ANOVA mit Post Hoc LSD Test und Bonferroni Korrektur).

Abb. 10: Grafische Darstellung der PWT (thermale Hyperalgesie) mit signifikantem ($P < 0,05$) und hoch signifikantem ($P < 0,001$) Unterschied des Razemats bei allen getesteten Dosierungen 240 min nach Applikation.

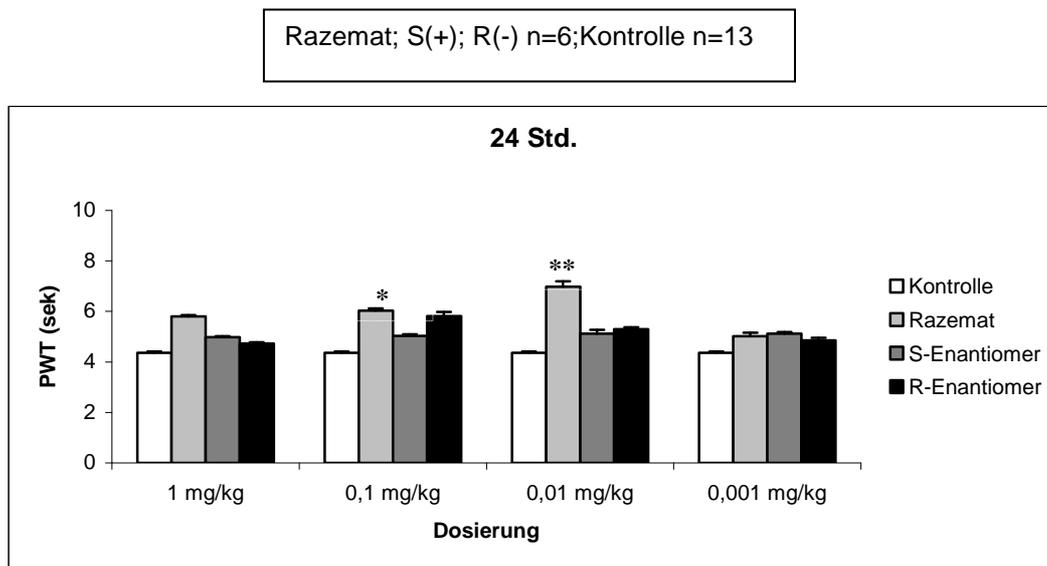
24 Std. nach Mirtazapingabe ist der signifikante ($P < 0,05$) Anstieg der mittleren PWT in der Razematgruppe mit den Dosierungen 1 mg/kg und 0,001 mg/kg nicht mehr vorhanden. Die Razematgruppe zur Untersuchung der Testdosis 0,1 mg/kg zeigt nach 24 Std. noch einen signifikanten ($P < 0,05$) Anstieg der mittleren PWT, die Gruppe zur Razemattestung 0,01 mg/kg sogar einen hoch signifikanten ($P < 0,001$) Anstieg.

Dies bedeutet, dass eine deutliche analgetische Wirkung für die Razematgruppe Dosierung 0,01 mg/kg über 24 Std. festgestellt werden kann (Abb. 11). Wie in Abb. 12 deutlich wird, setzt sich diese Tendenz auch über 48 Std. fort.

Die Tiere der Razematgruppe Dosierung 0,1 mg/kg zeigen hingegen nach 48 Std. keine weitere Absenkung der Schmerzschwelle (Abb. 12). Die mittlere PWT ist im Vergleich zum Messpunkt „prä Appl“ (Abb. 6) nicht deutlich verändert.

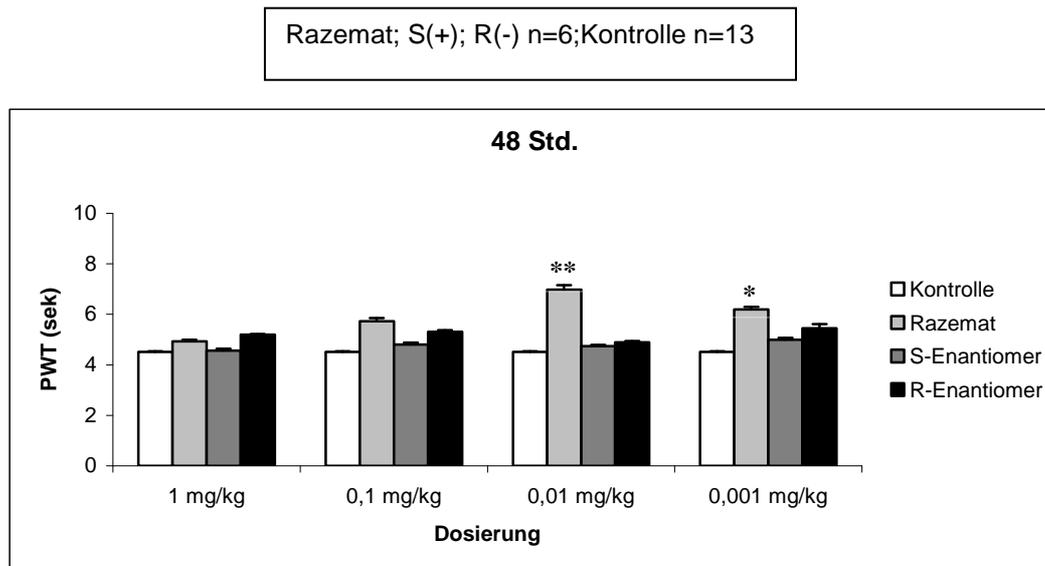
In Abb. 12 erkennt man zudem einen signifikanten ($P < 0,05$) Anstieg der mittleren PWT für die Razematgruppe Dosierung 0,001 mg/kg.

Deutlich wird in den Abb. 9- 12, dass die Tiergruppen, die R(-)- oder S(+)- Mirtazapin appliziert bekommen, keine deutlichen Veränderungen der mittleren PWT über den gesamten Untersuchungszeitraum aufweisen.



** $P < 0,001$, * $P < 0,05$ im Vergleich zur Kontrollgruppe (einfaktorielle ANOVA mit Post Hoc LSD Test und Bonferroni Korrektur).

Abb. 11: Grafische Darstellung der PWT (thermale Hyperalgesie) 24 Std. nach Applikation aller Substanzgruppen und untersuchten Dosierungen mit signifikantem ($P < 0,05$) und hoch signifikantem ($P < 0,001$) Unterschied des Razemats.



** $P < 0,001$, * $P < 0,05$ im Vergleich zur Kontrollgruppe (einfaktorielle ANOVA mit Post Hoc LSD Test und Bonferroni Korrektur).

Abb. 12: Grafische Darstellung der PWT (thermale Hyperalgesie) aller Dosierungen und Substanzgruppen mit signifikantem ($P < 0,05$) und hoch signifikantem ($P < 0,001$) Unterschied des Razemats bei der untersuchten Dosierung von 0,01mg/kg und 0,001mg/kg 48 Std. nach Applikation.

4.1.2 Tabellarische Aufführung der mittleren PWT aller Untersuchungen zur thermalen Hyperalgesie

Die PWT wird im Dynamic Plantar Test in Sekunden (sek.) ermittelt. Die Werte für die einzelnen Substanzgruppen Razemat, S-Enantiomer und R-Enantiomer, sowie für die Kontrollgruppe werden hier tabellarisch aufgeführt. Den Abb. 6-12 liegen diese Werte zugrunde. Die Tabellen sind nach den untersuchten Testdosierungen gegliedert, wodurch sich die mittlere PWT für die Wirkung der applizierten Substanz in den Gruppen für die jeweilige Dosierung gut vergleichen lässt.

Tab. 5: Mittlere PWT in Sekunden für die Dosierung 0,1 mg/kg aller getesteten Substanzen im Vergleich mit dem dazugehörigen Standardfehler (SEM).

	Razemat	S-Enantiomer	R- Enantiomer	Kontrolle
prä Appl.	4,83	5,42	4,75	4,46
<i>SEM</i>	<i>0,05</i>	<i>0,08</i>	<i>0,08</i>	<i>0,07</i>
120 min.	7,19	5,44	6,54	4,52
<i>SEM</i>	<i>0,18</i>	<i>0,09</i>	<i>0,19</i>	<i>0,07</i>
240 min.	8,90	5,37	5,80	4,43
<i>SEM</i>	<i>0,26</i>	<i>0,12</i>	<i>0,06</i>	<i>0,06</i>
24 Std.	6,02	5,02	5,82	4,41
<i>SEM</i>	<i>0,12</i>	<i>0,06</i>	<i>0,16</i>	<i>0,05</i>
48 Std.	5,73	4,81	5,31	4,47
<i>SEM</i>	<i>0,12</i>	<i>0,07</i>	<i>0,07</i>	<i>0,03</i>

Tab. 6: Mittlere PWT in Sekunden für die Dosierung 0,01 mg/kg aller getesteten Substanzen im Vergleich mit dem dazugehörigen Standardfehler (SEM).

	Razemat	S+Enantiomer	R-Enantiomer	Kontrolle
prä Appl.	5,56	5,12	4,94	4,46
<i>SEM</i>	<i>0,08</i>	<i>0,03</i>	<i>0,06</i>	<i>0,07</i>
120 min.	8,41	5,29	5,68	4,52
<i>SEM</i>	<i>0,17</i>	<i>0,18</i>	<i>0,06</i>	<i>0,07</i>
240 min.	8,35	4,90	5,69	4,43
<i>SEM</i>	<i>0,37</i>	<i>0,08</i>	<i>0,09</i>	<i>0,06</i>
24 Std.	6,98	5,12	5,31	4,41
<i>SEM</i>	<i>0,2</i>	<i>0,15</i>	<i>0,07</i>	<i>0,05</i>
48 Std.	6,98	4,74	4,89	4,48
<i>SEM</i>	<i>0,18</i>	<i>0,05</i>	<i>0,06</i>	<i>0,03</i>

Tab. 7: Mittlere PWT in Sekunden für die Dosierung 0,001 mg/kg aller getesteten Substanzen im Vergleich mit dem dazugehörigen Standardfehler (SEM).

	Razemat	S+Enantiomer	R-Enantiomer	Kontrolle
prä Appl.	5,21	4,46	4,84	4,46
<i>SEM</i>	<i>0,09</i>	<i>0,05</i>	<i>0,04</i>	<i>0,07</i>
120 min.	6,22	5,07	5,31	4,52
<i>SEM</i>	<i>0,17</i>	<i>0,11</i>	<i>0,11</i>	<i>0,07</i>
240 min.	6,16	5,57	5,66	4,43
<i>SEM</i>	<i>0,24</i>	<i>0,10</i>	<i>0,07</i>	<i>0,06</i>
24 Std.	5,02	5,12	4,84	4,40
<i>SEM</i>	<i>0,14</i>	<i>0,06</i>	<i>0,11</i>	<i>0,05</i>
48 Std.	6,19	4,99	5,45	4,47
<i>SEM</i>	<i>0,10</i>	<i>0,07</i>	<i>0,17</i>	<i>0,03</i>

Tab. 8: Mittlere PWT in Sekunden für die Dosierung 1 mg/kg aller getesteten Substanzen im Vergleich mit dem dazugehörigen Standardfehler (SEM).

	Razemat	S+Enantiomer	R-Enantiomer	Kontrolle
prä Appl.	4,41	5,07	4,65	4,46
<i>SEM</i>	<i>0,05</i>	<i>0,04</i>	<i>0,04</i>	<i>0,07</i>
120 min.	4,92	4,55	5,21	4,52
<i>SEM</i>	<i>0,05</i>	<i>0,05</i>	<i>0,06</i>	<i>0,07</i>
240 min.	6,22	5,26	4,42	4,43
<i>SEM</i>	<i>0,06</i>	<i>0,04</i>	<i>0,04</i>	<i>0,06</i>
24 Std.	5,80	4,98	4,72	4,41
<i>SEM</i>	<i>0,05</i>	<i>0,03</i>	<i>0,05</i>	<i>0,05</i>
48 Std.	4,92	4,57	5,21	4,48
<i>SEM</i>	<i>0,06</i>	<i>0,06</i>	<i>0,02</i>	<i>0,03</i>

4.2 Ergebnisse zur Untersuchung der mechanischen Allodynie

Die Abb. 13-15 stellen die gemessenen Mittelwerte der Schmerzschwellen aus den Untersuchungen der einzelnen Substanzen für jede Dosierung vergleichend dar. Die Bestimmung der Schmerzschwelle und damit die Überprüfung der Wirkung der einzelnen Testsubstanzen erfolgt mit Hilfe der Pfotenrückzuglatenzzeit (PWT) im Dynamic Plantar Aesthesiometer gemessen in Gramm (g).

Die Messungen werden an den gleichen Tiergruppen am selben Messtag durchgeführt, wie die Untersuchungen zur thermalen Hyperalgesie. Zum besseren Vergleich haben die Abbildungen den gleichen Aufbau wie Abb. 6- 8.

„Prä CCI“ ist der Zeitpunkt zur Schmerzschwellenbestimmung vor der CCI, „prä Appl“ (vor der Applikation) gibt die Ergebnisse 10 Tage nach der OP und vor der Substanzapplikation wieder.

Die unterschiedlichen Ausgangsschwellen für die einzelnen Gruppen zu den Messpunkten „prä CCI“ und „prä Appl“ resultieren aus der individuellen Schmerzgrenze einer jeden Ratte. Sechs Tiere werden in einer Testgruppe zusammengefasst und ihre mittlere PWT bildet den Ausgangswert.

Die Schmerzschwellenbestimmung zur Allodynieuntersuchung erfolgt 180 min, 300 min, 25 Std. und 49 Std. nach der Substanzapplikation. Diese Messpunkte sind auf der Y- Achse dargestellt.

Für das Razemat kann in den Dosierungen 1 mg/kg, 0,1 mg/kg und 0,01mg/kg ein tendenzieller Anstieg der Schmerzschwelle zum Messzeitpunkt 180 min und 300 min beobachtet werden (Abb. 13).

Abb. 14 zeigt für R(-)- Mirtazapin keinen relevanten Anstieg der Schmerzschwelle nach der intrathekalen Gabe zu allen Messzeitpunkten und für alle Dosierungen. Gleiches gilt für S(+)- Mirtazapin dargestellt in Abb. 15.

1mg/kg; 0,1mg/kg;0,01mg/kg; 0,001mg/kg n= 6; Kontrolle n= 13

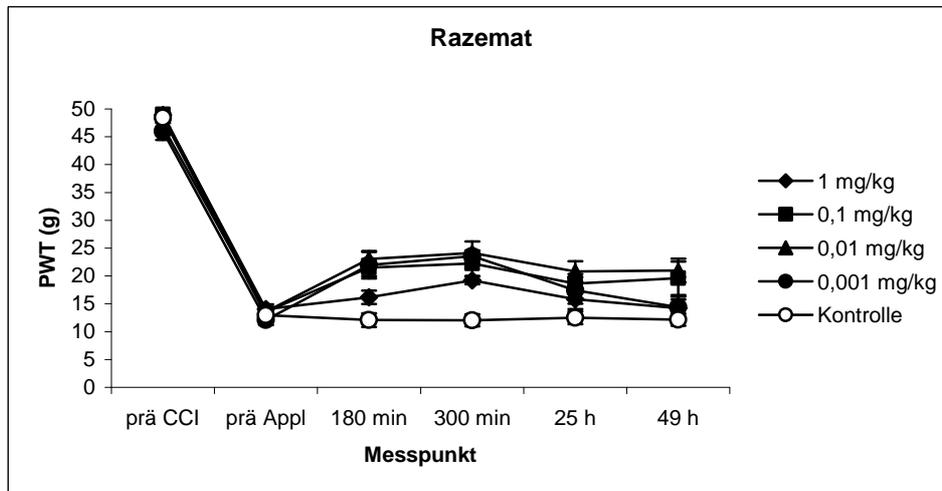


Abb. 13: Grafische Darstellung der PWT im Dynamic Plantar Aesthesiometer aller untersuchten Dosierungen des Mirtazapin Razemats zu jedem Testzeitpunkt mit Bezug zur Kontrollgruppe.

1mg/kg, 0,1mg/kg, 0,01mg/kg, 0,001mg/kg n= 6; Kontrolle n= 13

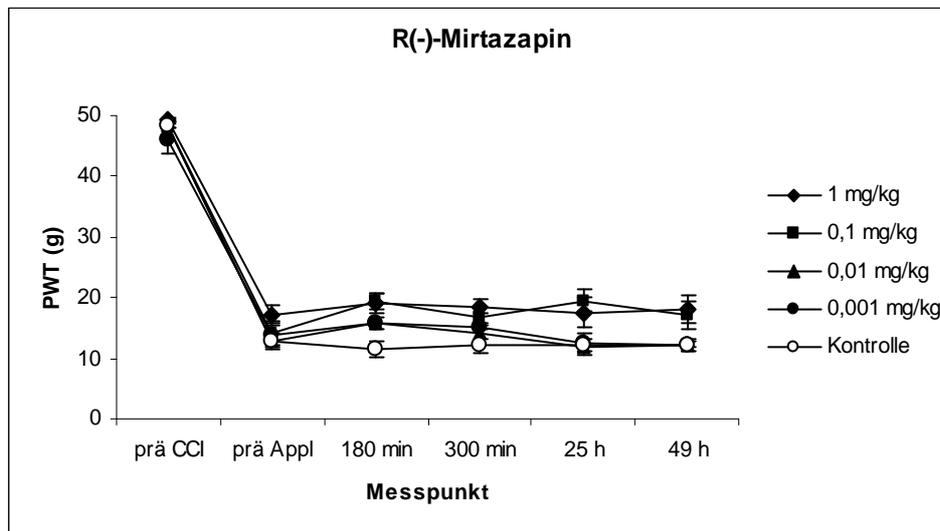


Abb. 14: Grafische Darstellung der PWT aller R(-)-Mirtazapin Dosierungen zu jedem Testzeitpunkt mit Bezug zur Kontrollgruppe im Dynamic Plantar Aesthesiometer.

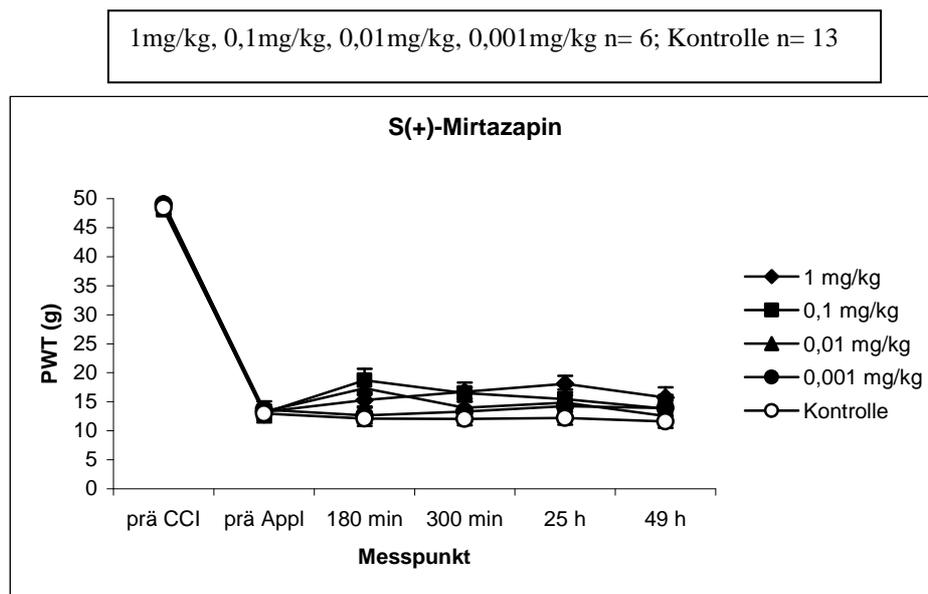


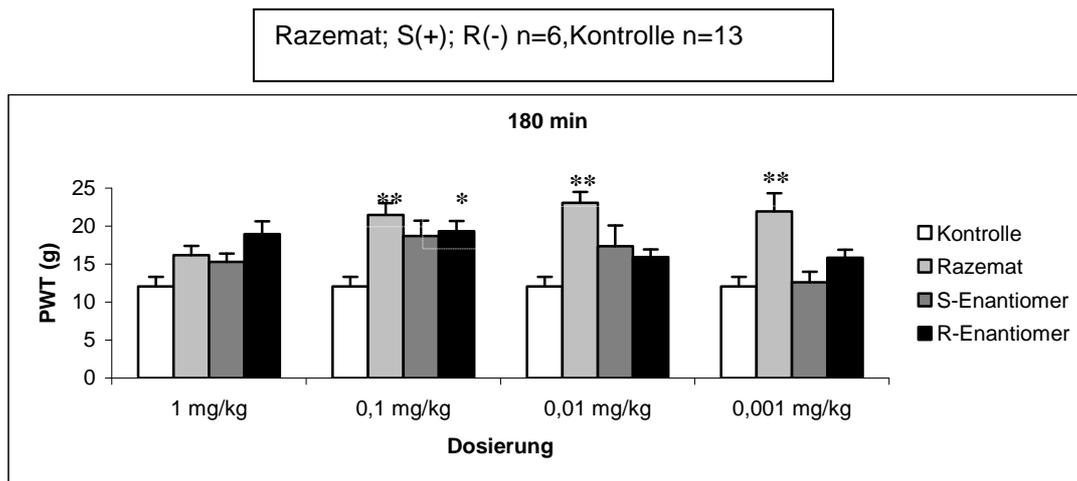
Abb. 15: Grafische Darstellung der PWT aller getesteten Dosierungen des S(+) Mirtazapins zu jedem Zeitpunkt im Dynamic Plantar Aesthesiometer mit Vergleich zur Kontrollgruppe.

4.2.1 PWT zu den einzelnen Messzeitpunkten

Die Ergebnisse der Untersuchungen zur antinozizeptiven Wirkung des Mirtazapins während der mechanischen Allodynie sind nach den einzelnen Messzeitpunkten gegliedert in Abb. 16- 19 dargestellt.

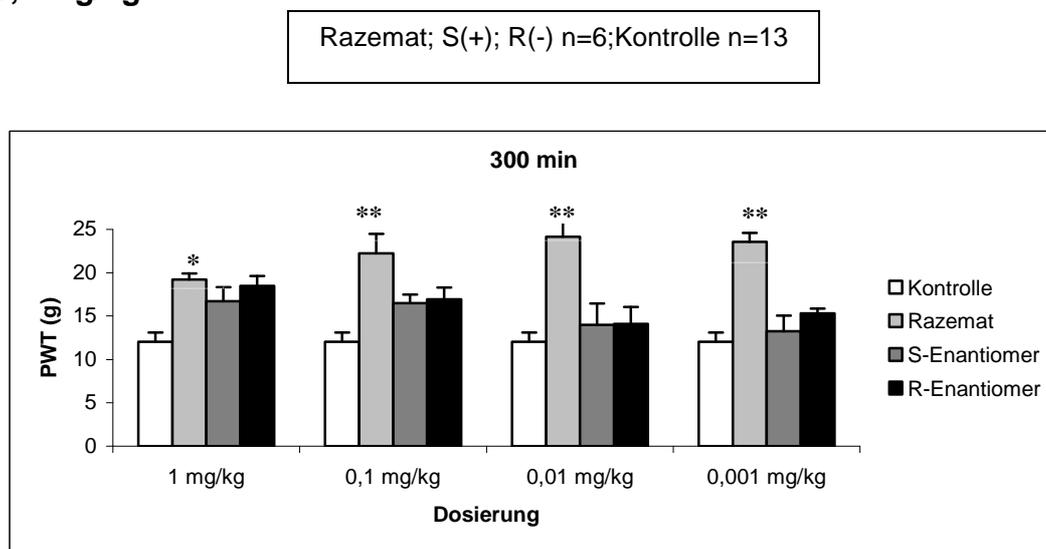
Die X- Achse zeigt die mittlere PWT gemessen in Gramm (g), die Y- Achse enthält die untersuchten Dosierungen.

In der Razematgruppe mit der Testdosierung 0,1 mg/kg, 0,01 mg/kg und 0,001 mg/kg zeigt sich 180 Minuten nach Mirtazapingabe ein hoch signifikanter ($P < 0,001$) Anstieg der mittleren PWT (Abb. 16). Einzig in der Gruppe R- Enantiomer mit der Dosierung 0,1 mg/kg kann zusätzlich ein signifikanter ($P < 0,05$) Anstieg der mittleren PWT beobachtet werden (Abb. 16).



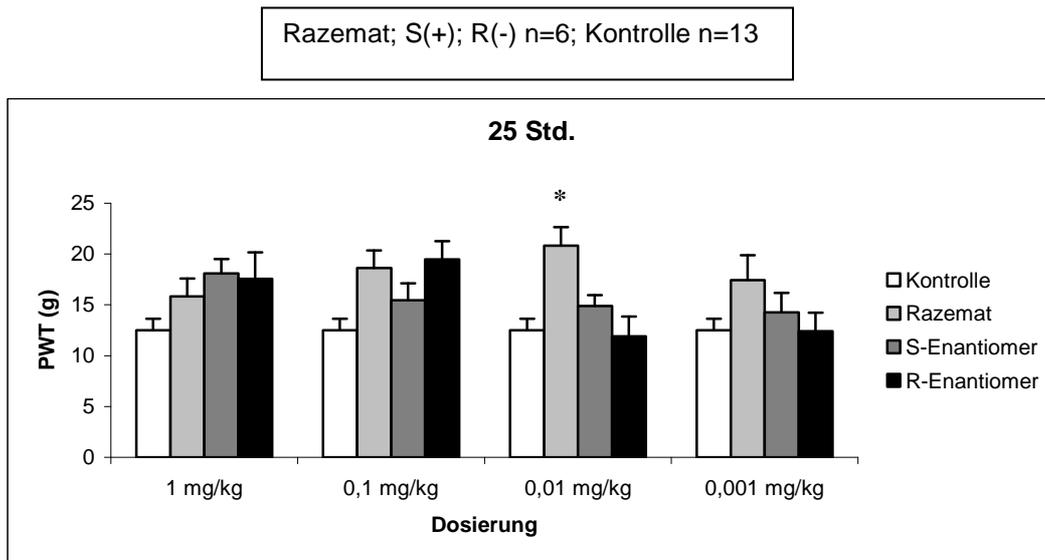
** $P < 0,001$, * $P < 0,05$ im Vergleich zur Kontrollgruppe (einfaktorielle ANOVA mit Post Hoc LSD Test und Bonferroni Korrektur).

Abb.16: Grafische Darstellung der PWT nach 180 min im Dynamic Plantar Aesthesiometer mit hoch signifikantem ($P < 0,001$) Unterschied des Mirtazapin Razemats bei einer Dosierung von 0,1 mg/kg, 0,01 mg/kg und 0,001 mg/kg und signifikantem Unterschied ($P < 0,05$) des R(-)-Enantiomers mit einer Dosierung von 0,1 mg/kg.



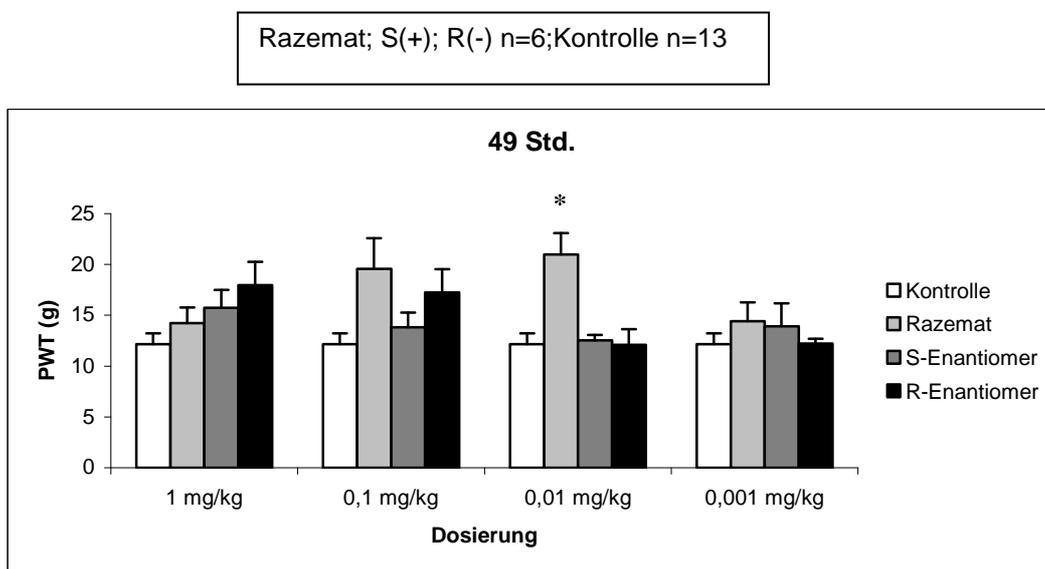
** $P < 0,001$, * $P < 0,05$ im Vergleich zur Kontrollgruppe (einfaktorielle ANOVA mit Post Hoc LSD Test und Bonferroni Korrektur).

Abb. 17: Grafische Darstellung der PWT nach 300 min im Dynamic Plantar Aesthesiometer aller untersuchten Substanzgruppen und Dosierungen 300 min nach Applikation mit signifikantem und hoch signifikantem Effekt des Razemats.



** P < 0,001, * P < 0,05 im Vergleich zur Kontrollgruppe (einfaktorielle ANOVA mit Post Hoc LSD Test und Bonferroni Korrektur).

Abb. 18: Grafische Darstellung der PWT aller Substanzgruppen und Dosierungen 25Std. nach Applikation mit signifikantem (P <0,05) Unterschied des Razemats (Dosierung 0,01mg/kg) im Dynamic Plantar Aesthesiometer.



** P < 0,001, * P < 0,05 im Vergleich zur Kontrollgruppe (einfaktorielle ANOVA mit Post Hoc LSD Test und Bonferroni Korrektur).

Abb. 19: Grafische Darstellung der PWT aller Dosierungen und Substanzgruppen im Dynamic Plantar Aesthesiometer nach 49 Std. nach Applikation mit signifikantem (P <0,05) Unterschied des Razemats (Dosierung 0,01mg/kg).

4.2.2 Tabellarische Aufführung der PWT aller Untersuchungen zur mechanischen Allodynie

Im folgenden sind die die mittleren PWTs aus den Untersuchungen im Dynamic Plantar Aesthesiometer tabellarisch aufgeführt. Die Tabellen sind nach der jeweiligen Testdosierung gegliedert und ein Vergleich der Substanzgruppen untereinander ist möglich. Die Werte bilden die Grundlage für die Abb. 12-19.

Tab. 9: Mittlere PWT in Gramm für die Dosierung 0,1 mg/kg aller getesteten Substanzen im Vergleich mit dem dazugehörigen Standardfehler (SEM).

	Razemat	S+Enantiomer	R-Enantiomer	Kontrolle
prä Appl.	13,56	13,08	14,02	15,19
<i>SEM</i>	<i>0,91</i>	<i>0,49</i>	<i>1,89</i>	<i>1,17</i>
180 min.	21,48	18,69	19,31	14,62
<i>SEM</i>	<i>1,55</i>	<i>1,99</i>	<i>1,35</i>	<i>1,23</i>
300 min.	22,25	16,48	16,93	14,89
<i>SEM</i>	<i>2,22</i>	<i>0,99</i>	<i>1,34</i>	<i>1,10</i>
25 Std.	18,63	15,46	19,46	15,06
<i>SEM</i>	<i>1,71</i>	<i>1,67</i>	<i>1,81</i>	<i>1,13</i>
49 Std.	19,58	13,83	17,23	14,71
<i>SEM</i>	<i>3,01</i>	<i>1,42</i>	<i>2,32</i>	<i>1,08</i>

Tab. 10: Mittlere PWT in Gramm für die Dosierung 0,01 mg/kg aller getesteten Substanzen im Vergleich mit dem dazugehörigen Standardfehler (SEM).

	Razemat	S+Enantiomer	R-Enantiomer	Kontrolle
prä Appl.	13,58	13,31	12,93	15,19
<i>SEM</i>	1,30	2,25	0,76	1,17
180 min.	23,06	17,35	15,92	14,63
<i>SEM</i>	1,42	2,71	1,02	1,23
300 min.	24,17	13,98	14,08	14,89
<i>SEM</i>	2,02	2,46	1,97	1,10
25 Std.	20,81	14,87	11,89	15,06
<i>SEM</i>	1,84	1,07	1,95	1,13
49 Std.	20,98	12,54	12,11	14,71
<i>SEM</i>	2,11	0,51	1,53	1,08

Tab. 11: Mittlere PWT in Gramm für die Dosierung 0,001 mg/kg aller getesteten Substanzen im Vergleich mit dem dazugehörigen Standardfehler (SEM).

	Razemat	S+Enantiomer	R-Enantiomer	Kontrolle
prä Appl.	12,08	13,67	13,75	15,19
<i>SEM</i>	0,92	0,82	2,39	1,17
180 min.	21,93	12,63	15,81	14,63
<i>SEM</i>	2,37	1,33	1,06	1,23
300 min.	23,58	13,29	15,29	14,89
<i>SEM</i>	1,03	1,75	0,56	1,10
25 Std.	17,44	14,27	12,42	15,06
<i>SEM</i>	2,42	1,92	1,79	1,13
49 Std.	14,42	13,92	12,21	14,71
<i>SEM</i>	1,85	2,24	0,48	1,08

Tab.12: Mittlere PWT in Gramm für die Dosierung 1 mg/kg aller getesteten Substanzen im Vergleich mit dem dazugehörigen Standardfehler (SEM).

	Razemat	S+Enantiomer	R-Enantiomer	Kontrolle
prä Appl.	14,04	13,25	17,08	15,19
<i>SEM</i>	<i>0,82</i>	<i>1,83</i>	<i>1,59</i>	<i>1,17</i>
180 min.	16,17	15,27	18,96	14,63
<i>SEM</i>	<i>1,21</i>	<i>1,11</i>	<i>1,67</i>	<i>1,23</i>
300 min.	19,21	16,71	18,46	14,89
<i>SEM</i>	<i>0,68</i>	<i>1,62</i>	<i>1,14</i>	<i>1,10</i>
25 Std.	15,83	18,08	17,56	15,06
<i>SEM</i>	<i>1,79</i>	<i>1,42</i>	<i>2,59</i>	<i>1,13</i>
49 Std.	14,23	15,75	17,96	14,71
<i>SEM</i>	<i>1,55</i>	<i>1,73</i>	<i>2,31</i>	<i>1,08</i>

5. Diskussion

Klinische Studien am Menschen zeigen, dass Mirtazapin als Razemat erfolgreich bei der Behandlung chronischer Schmerzen eingesetzt werden kann (FREYNHAGEN et al., 2006; FREYNHAGEN & BARON, 2006; THEOBALD et al., 2002). Tierexperimentelle Untersuchungen (an Mäusen und Ratten) untermauern ebenfalls die analgetische Wirkung des Razemats bei akuten und chronischen Schmerzen (SCHREIBER et al., 2002a/b; FREYNHAGEN et al., 2006; BOMHOLT et al., 2005). In der vorliegenden Studie sollten nun die analgetische Eigenschaften der Enantiomere bei neuropathischen Schmerzen der Ratte untersucht werden. Dabei konnte die analgetische Wirkung des Razemats sowohl bei thermaler Hyperalgesie als auch bei der mechanischen Allodynie bestätigt werden. Die beiden Enantiomere hingegen wiesen keinen signifikanten analgetischen Effekt in den Untersuchungen auf.

5.1 Diskussion der Methodik

Da es sich um weiterführende Untersuchungen zu der bereits getesteten analgetischen Wirkung von Mirtazapin und seiner Enantiomere am akuten Schmerzmodell handelte (FREYNHAGEN et al., 2006), waren der Versuchsaufbau und die Wahl der Versuchstiere in diesen Untersuchungen identisch. Nur so war ein Vergleich der Ergebnisse zu gewährleisten.

5.1.1 Versuchstiere

Die Versuchsergebnisse tierexperimenteller Studien lassen sich stets umso präziser interpretieren, je homogener die Tiere in den verschiedenen Gruppen sind. Viele Untersuchungen zu Mirtazapin und anderen Antidepressiva wurden an der Ratte vorgenommen (DE BOER et al., 1988, 1995; MC GRATH et al., 1998; BOMHOLT et al., 2005; FREYNHAGEN et al., 2006). Zum besseren Vergleich der Ergebnisse aus den Untersuchungen von FREYNHAGEN et al., (2006), wurden auch hier männliche Wistar Ratten (Stammbezeichnung: HanTac:WH, Hannover Galas) mit einem Gewicht von 350 - 400g als Versuchstiere ausgewählt. Im Gegensatz zu weiblichen Tieren unterliegen männliche Tiere nicht dem Östrogenzyklus, der unter experimentellen Bedingungen eine nicht einzuschätzende Variable sein kann. Auch der Stamm der Ratten ist ein wichtiger Faktor. Nicht selten zeigen genetisch unterschiedliche Tiere auch ein unterschiedliches neuropathisches Schmerzverhalten

(CHUNG et al., 2004). Tiere mit einem Gewicht ab 350g waren leichter zu operieren, da man den N. ischiadicus und den intrathekalen Raum besser darstellen konnte. Zudem waren die Strukturen groß genug, um bei den Manipulationen eventuelle Verletzungen des Nervengewebes zu verhindern. Diese hätten die Untersuchungsergebnisse wiederum beeinflussen können (MILLIGAN et al., 2004). Haltung und Fütterung, sowie die Bedingungen, unter denen die Messungen erfolgten, waren ebenfalls identisch zum akuten Schmerzmodell.

5.1.2 Messsysteme und Parameter

Zur genauen Messung der thermalen Hyperalgesie wurde nach Vorgabe aus der Akutschmerzstudie (FREYNHAGEN et al., 2006) der Plantar Test 7370 (Fa. Ugo Basile, Italien, 2002) eingesetzt. Das Messen der Pfotenrückzuglatenzzeit (paw withdrawal latency, PWT) gilt seit HARGREAVES et al., (1988) als etabliertes wissenschaftliches Messverfahren zur Bestimmung der Schmerzschwelle. Während der gesamten Untersuchung konnten sich die Tiere ungestresst und unbeeinflusst vom Untersucher in einer Plexiglasbox bewegen (Bild 1, 2). Wenn die Ratten durch den ausgelösten Hitzereiz einen Schmerz an der Pfote verspüren, können sie diese jederzeit wegziehen. Der hier eingesetzte Dynamic Plantar Test 7370 garantiert eine genaue Messung der PWT im Bereich von zehntel Sekunden (Fa. UGO BASILE, 2002). So können unter standardisierten Bedingungen gut reproduzierbare Daten gesammelt werden. (HARGRAVES et al., 1988; MALCANGIO et al., 1997; HUDSON et al., 2002; GABRIEL et al., 2004; BOMHOLT et al., 2005). Es handelt sich bei den Untersuchungen um nozizeptive Verhaltensbeobachtungen (GABRIEL et al., 2004), wodurch die Objektivierbarkeit zur Diskussion steht. Um das Auftreten von Messfehlern auf ein Minimum zu reduzieren, wurde jede Hinterpfote vier mal beprobt und alle Untersuchungen durch dieselbe Person durchgeführt. Nur so war es möglich die Art des „Pfotenwegziehens“ für jedes Tier individuell zu studieren und so auch kritisch, ein Wegziehen aus Unlust von einem Wegziehen bedingt durch Schmerzen zu unterscheiden. Zudem wurden in jeder Versuchsphase immer beide Hinterpfoten beprobt, um evt. eine Verlagerung der Allodynie auf das gesunde Hinterbein nachvollziehen zu können. Vor der CCI musste die PWT an beiden Hinterpfoten nahezu identisch sein, um mit größter Sicherheit die richtigen Messpunkte untersucht zu haben. Es ist wichtig, die Pfote immer wieder mit dem Hitzestrahle an der gleichen Stelle zu reizen. Sonst kommt es zu sehr unterschiedlichen Ergebnissen. Die Pfote

ist nicht an jeder Stelle gleich empfindsam. Für diese Untersuchung ist der Ballen am Ansatz der 3. und 4. Zehe als Messpunkt vorgesehen. Untersuchungen ergaben, dass nach einer Neuropathie Induktion die mechanische und thermische Sensitivität dort am besten ausgeprägt ist (CHUNG et al., 2004; ALLEN & YAKSH, 2004). Die Reizsetzung, immer wieder an gleicher Stelle der Pfote, kann leicht zu einer Gewebeschädigung durch den Hitzestrahler führen und somit zu falschen Messergebnissen, da die Wirkung der zu untersuchenden Substanz durch die Schädigung beeinflusst werden kann. Zur Sicherheit konnte man am Dynamic Plantar Test eine cut- off- time von 30 Sekunden einstellen. Danach schaltete sich der Lichtstrahl automatisch ab. Außerdem wartete man nach jeder Messung mindestens 20 Sekunden bis zur neuen Reizsetzung. Dadurch wurden die Variablen, die die Messung beeinflussen konnten, auf ein Minimum reduziert. Aus Gründen des Tierschutzes ist es ebenfalls von Nöten darauf zu achten, dass den Ratten keine unnötigen Verletzungen durch einen zu langen Hitzereiz zugefügt werden. (ALLEN & YAKSH, 2004). Die Messzeitpunkte zur Bestimmung der thermalen Hyperalgesie von 120 min, 240 min, 24 Std. und 48 Std. wurden aus der Akutschmerzstudie (FREYNHAGEN et al., 2006) übernommen.

Zur Bestimmung der mechanischen Allodynie wurde das Dynamic Plantar Aesthesiometer 37400 (Fa Ugo Basile, Italien, 2002) verwendet. Dieser Test bot die Möglichkeit, unter standardisierten Bedingungen gut reproduzierbare Daten zu erhalten. Ebenfalls diente hier die Messung der PWT (in Gramm) zur Bestimmung der Schmerzschwelle der Tiere. Dieser Test stellte eine Weiterentwicklung der von Frey Haar Testung zur mechanischen Hypersensitivität dar. Die Tiere konnten sich frei und ungestresst in einer Plexiglasbox mit Gitterboden bewegen. Dem gesetzten mechanischen Reiz konnten sie jederzeit entfliehen und die bis dahin vergangene Latenzzeit und der Druck mit dem gereizt wurde, wurde Milligramm genau registriert (Fa. UGO BASILE, 2002). Auch bei der mechanischen Reizsetzung war es von äußerster Wichtigkeit, die gleiche Stelle, direkt hinter der 3. und 4. Zehe, zu beproben. Für die Reizsetzung beim Dynamic Plantar Aesthesiometer galt es die gleichen kritischen Punkte zur Diskussion zu berücksichtigen wie sie oben schon für den Dynamic Plantar Test beschrieben wurden.

5.1.3 Applikationsart und Dosierungen von Mirtazapin

Zum besseren Vergleich der beiden Untersuchungen von Mirtazapin und seiner Enantiomere wurden die verwendeten Dosierungen aus der Akutschmerzstudie (FREYNHAGEN et al., 2006) abgeleitet. Bei 1 mg/kg, 0,1 mg/kg, 0,01 mg/kg und 0,001 mg/kg konnten deutliche Effekte beobachtet werden und stellen somit auch hier den zu untersuchenden Dosisbereich dar. Mirtazapin hat eine lange Halbwertszeit und eine hohe Bioverfügbarkeit (ORGANON 2003; KELDER et al., 1997). Somit wurde den Tieren die Substanz nur einmal verabreicht und dann in den genannten Intervallen die Messungen vorgenommen. Zusätzliche Messergebnisse wurden nach 48 Std. im Dynamic Plantar Test und nach 49 Std. im Dynamic Aesthesiometer ermittelt, um noch genauer die Dauer eines antinozizeptiven Effekts von Mirtazapin nachvollziehen zu können. In der Akutschmerzstudie fanden die letzten Messungen zur Bestimmung der thermalen Hyperalgesie nach 24 Std. statt. Die intrathekale Applikationsart über einen Dauerkatheter wurde aus den Untersuchungen von FREYNHAGEN et al., (2006) übernommen. So konnte sichergestellt werden, dass die applizierte Substanz immer an den gleichen Resorptionsort gelangte, dem Liquor cerebrospinalis. Von dort aus wurde das Mirtazapin schnell aufgenommen und gleichmäßig im Körper verteilt. Den Tieren konnte die Substanz über den Katheter deutlich stressfreier appliziert werden als durch eine intraperitoneale (i.p.) Applikation. Zudem hat sich gezeigt, dass es nach einer i. p.- Applikation zu einer verzögerten systemischen Anflutung und somit zu schwankenden Untersuchungsergebnissen kommen kann, denn auch bei sachgerechter Applikation kann es vorkommen, dass die Substanz unbemerkt in den Darm oder in die Blase des Tieres injiziert wird (FREYNHAGEN et al., 2006; HENKE & ERHARDT et al., 2004). Mit der intrathekalen Katheterisierung hat man die Möglichkeit, physiologische Mechanismen, Medikamenten Screening, Untersuchungen zu Wirkmechanismen einzelner Substanzen und vieles mehr wiederholbar sicher zu untersuchen. Es gibt verschiedene Möglichkeiten, einen Katheter im Rückenmark zu platzieren, z.B. im lumbalen Abschnitt zwischen L5 und L6 (STORKSON et al., 1996). Die hier verwendete intrathekale Katheterisierung ist die am leichtesten durchzuführende Methodik mit der geringsten Ausfallquote (MALKMUS & YAKSH, 2004). Nur etwa zwei Prozent der operierten Tiere zeigten nach der Katheterisierung motorische Ausfallerscheinungen. Den natürlichen Bewegungsablauf der Tiere beeinflusst der Katheter in keiner Weise.

Während der Untersuchungen nach der Mirtazapinapplikation konnten bei keinem Tier Nebenwirkungen wie Myoklonien, Hyperaktivität oder hyperalgetische Reaktionen auf den thermalen Reiz beobachtet werden. Alle Tiere, einschließlich der Kontrolltiere, lagen überwiegend ruhig in ihren Käfigen oder schliefen zum Teil. Da die Ratte nachtaktiv ist, könnte diese Beobachtung aber auch darin begründet liegen, dass die Tiere ihren normalen zirkadianen Rhythmus durchliefen. Bei weiteren Untersuchungen sollte man die Tiere zusätzlich während der Dunkelphase untersuchen. So ließe sich abklären, in wieweit Mirtazapin die zirkadiane Rhythmik beeinflusst, denn es blockiert u.a. den H_1 -Rezeptor, was zu Sedation und Schläfrigkeit führen kann. Mirtazapin verursacht jedoch eine wesentlich geringere Sedation in diesem Experiment, als man nach seinem pharmakologischen Profil erwarten könnte (ORGANON 2003; DE BOER et al., 1988).

5.2 Diskussion der Ergebnisse

Die Ergebnisse der Untersuchungen zur thermalen Hyperalgesie konnten nur zum Teil die Ergebnisse der Akutschmerzstudie bestätigen. Es zeigten sich deutliche Unterschiede in der analgetischen Wirkung von Mirtazapin. Das Razemat wirkte in den Dosierungen von 0,1mg/kg und 0,01mg/kg bei der Untersuchung zur thermalen Hyperalgesie deutlich antinozizeptiv (Abb. 6, 9, 10, 11) und dies sogar bei der Dosierung von 0,01mg/kg über 48 Std. (Abb.12). Die beiden Enantiomere alleine hingegen wiesen keinen deutlichen schmerzreduzierenden Effekt in den Untersuchungen auf (Abb. 7 – 12).

Untersuchungen von HADDJERI et al., (1997) zeigten, dass erst 48 Std. nach einer Mirtazapinbehandlung die gesteigerte Freisetzung von Noradrenalin aus den zentralen Neuronen zum Normalwert zurückkehrte. Das Gleiche galt für die Serotonin freisetzenden Neurone im dorsalen Raphekern. Da Noradrenalin und Serotonin analgetisch wirksame Transmitter an Nervenfasern sind, ließe sich so der langandauernde analgetische Effekt des Razemats erklären.

Vom Hirnstamm ausgehend vermitteln absteigende Fasern zum Rückenmarkshinterhorn die deszendierende Hemmung. Deszendierende Fasern und segmentale Interneurone bilden ein endogenes antinozizeptives System. An diesen Fasern wirken u.a. endogene Opioide. Da Mirtazapin seine antinozizeptive Wirkung mitunter über Opioidrezeptoren vermittelt, wäre an dieser Stelle eine mögliche

Beeinflussung der Schmerzweiterleitung durch Mirtazapin denkbar (SCHREIBER et al., 2002 a/b; SCHMIDT & SCHAIBLE, 2006).

Die Ausgangsneurone der Bahnen der deszendierenden Hemmung liegen im periaquäduktalen Grau (PAG) des Hirnstamms, in dem viele endorphinerge Neurone zu finden sind und in dem anliegenden serotonergen dorsalen Raphekern. PAG-Stimulation kann beim Versuchstier bekanntermaßen eine totale Analgesie erzeugen (SCHAIBLE & SCHMIDT et al., 2005). Vom PAG und Nucleus raphe dorsalis projizieren Fasern zum Nucleus raphe magnus (NRM) und von hier steigen Fasern im dorsolateralen Funiculus zum Rückenmark ab, wo sie über Interneurone Rückenmarkszellen tonisch hemmen. Ein weiterer Ursprungskern der deszendierenden Schmerzhemmung ist der noradrenerge Locus coeruleus, der ebenfalls deszendierende Projektionen ins Rückenmark hinabschickt. PAG und Locus coeruleus erhalten ihrerseits Zuflüsse von weiten Bereichen des Gehirns und es bestehen komplexe Interaktionen kortikaler, limbischer und hypothalamischer Netzwerke mit dem antinozizeptiven deszendierenden System (PIERAU, 1998; KLINKE et al., 2005; SCHMIDT & SCHAIBLE, 2006; SCHAIBLE & SCHMIDT, 2005). Die schmerzhemmenden Bahnen werden von noradrenergen und serotonergen Neuronen gebildet. An diesen Synapsen kann Mirtazapin die Schmerzweiterleitung über den gesteigerten Noradrenalin- und Serotoninspiegel im synaptischen Spalt beeinflussen. Die Neurone im Rückenmark scheinen bei neuropathischen Schmerzen verstärkt unter dem Einfluss absteigender Fasern zu stehen und es wird zunehmend deutlicher, dass funktionelle Kreisverbindungen zwischen Rückenmark und Hirnstamm das nozizeptive Geschehen stark beeinflussen (BARON, 2006; VENEGAS & SCHAIBLE, 2004).

Es wird diskutiert, dass ein Verlust der noradrenergen und serotonergen Neuronen, die die deszendierende Hemmung unterstützen, zur zentralen Sensibilisierung und Chronifizierung des Schmerzes beitragen. Daraus ergibt sich wiederum ein Angriffspunkt zur neuropathischen Schmerzbehandlung für serotonerge und noradrenerge Wiederaufnahmehemmer, wie z.B. das Mirtazapin (BARON, 2006).

5-HT_{1A}- Rezeptoren werden durch Mirtazapin nicht blockiert. Das vermehrt freigesetzte Serotonin bindet, da 5-HT_{2A}- und 5-HT₃- Rezeptoren von Mirtazapin blockiert werden, unter anderem an 5-HT_{1A}- Rezeptoren. Der hemmende Einfluss auf 5-HT_{2A}- und 5-HT₃- Rezeptoren und der aktivierende auf 5-HT_{1A}- Rezeptoren führt zu inhibitorischen Effekten (NITANDA et al., 2005). So könnte Mirtazapin die

dezendierende Hemmung über die sich ausbildenden Schleifen zwischen Rückenmark und Hirnstamm beeinflussen und analgetisch wirken.

Im Tiermodell hat sich gezeigt, dass nach einer peripheren Nervenläsion und sich entwickelnder mechanischer Allodynie die deszendierenden Nervenbahnen tonisch aktiviert werden. Dadurch wird die Schmerzweiterleitung verstärkt. Geschieht das auf der Ebene des PAG und Nucleus cuneiformis, so wird die zentrale Sensibilisierung und Schmerzchronifizierung durch diese Mechanismen gefördert. Eine Schmerztherapie, die die deszendierende Hemmung unterstützt, ist für die zukünftige Behandlung chronischer Schmerzen von Bedeutung (BARON, 2006).

Im Dosisbereich von 1mg/kg und 0,001mg/kg ließen sich nur nach 240 min analgetische Effekte des Razemats erkennen (Abb. 6, 10). Hier scheint somit ein therapeutisches Fenster für das Mirtazapin- Razemat zu bestehen, indem die bestmögliche analgetische Wirkung im mittleren Dosisbereich zu erlangen ist. Ähnliches wurde bereits von SCHREIBER et al., (2002 a/b) und FREYNHAGEN et al., (2006) bestätigt.

Auch bei den Untersuchungen zur mechanischen Allodynie wirkte das Razemat in allen getesteten Dosierungen nach 300 min. deutlich antinozizeptiv (Abb. 13, 17). Dies steht im Gegensatz zu den Ergebnissen von BOMHOLT et al., (2005), in denen das Mirtazapin- Razemat nur im Hot Plate Test und nicht bei der mechanischen Allodynie antinozizeptiv wirksam war. Da die Untersuchungen zur mechanischen Allodynie in der oben genannten Studie jedoch mit kalibrierten von Frey Filamenten durchgeführt wurden und hier mit dem Dynamic Plantar Aesthesiometer, ist es fraglich, ob die Ergebnisse überhaupt miteinander verglichen werden dürfen. Überraschenderweise reduzierte sich bei den Untersuchungen mit Mirtazapin aber die mechanische Hyperalgesie, getestet durch die Stimulation der manipulierten Hinterpfote mit Pinprick (BOMHOLT et al., 2005).

Aufgrund einer peripheren Sensibilisierung können sympathische postganglionäre Fasern afferente Neurone über einen adrenergen Mechanismus (Noradrenalin und α -Rezeptoren) erregen und so die periphere Aktivität als auch die zentrale Sensibilisierung unterhalten. Als Ergebnis kann sich eine thermale Hyperalgesie und Allodynie ausbilden. Mirtazapin scheint genau an dieser Stelle des Prozesses einzugreifen. Durch die Blockade der postsynaptischen α_1 - Rezeptoren kann Noradrenalin diese nicht mehr aktivieren. Es lässt sich spekulieren, dass die

periphere Aktivität und die zentrale Sensibilisierung somit nicht mehr unterhalten werden können. Durch Mirtazapin werden ebenfalls α_2 - Adrenozeptoren blockiert, an denen normalerweise Noradrenalin bindet. Diese Rezeptoren findet man in großer Zahl auf geschädigten nozizeptiven Neuronen. Aus sympathischen Fasern freigesetztes Noradrenalin könnte diese geschädigten Fasern weiter aktivieren. Auch hier blockiert Mirtazapin vermutlich die Schmerzweiterleitung und verhindert so die Ausprägung einer thermalen Hyperalgesie oder Allodynie.

Mirtazapin (Dosierung 3-30mg/kg) wurde in der Studie von BOMHOLT et al (2005) intraperitoneal verabreicht, wodurch es sich im Gegensatz zur intrathekalen Applikation auf anderem Wege im Körper verteilt, denn es existieren bei den unterschiedlichen Applikationsarten auch unterschiedliche systemische Anflutungssituationen. In der Studie von FREYNHAGEN et al., (2006) zeigte sich, dass die Ergebnisse nach intraperitonealer Applikation doch so stark differierten, dass aufgrund dieser Daten keine statistisch eindeutige Aussage zur analgetischen Wirkung gemacht werden konnte. Bei der intraperitonealen Applikation kann es trotz sachgerechter Durchführung passieren, dass die applizierte Substanz versehentlich in den Darm oder die Blase abgegeben wird. Nach solch einer Applikation ist nicht mit einem aussagekräftigen Untersuchungsergebnis zu rechnen und werden diese Werte bei der Versuchsauswertung mit einbezogen kann das Ergebnis verfälscht werden.

Die Metabolisierungsvorgänge in der Leber können nach einer intraperitonealen Applikation größeren Einfluss auf das Wirkungsmuster von Mirtazapin haben als nach intrathekaler Gabe. Die Verstoffwechslung des Razemats durch zwei unterschiedliche Enzyme wird unter anderem für die unterschiedlichen Plasmakonzentrationen der Enantiomere verantwortlich gemacht (DODD et al., 2000). Bestätigt wird diese Theorie durch Untersuchungen von PAUS et al., (2004) und BAUMANN et al., (2006). R(-)- Mirtazapin erreicht höhere Plasmakonzentrationen als S(+)- Mirtazapin. BAUMANN et al., (2006) haben die Konzentration der beiden Enantiomere im cerebrospinalen Liquor beim Menschen untersucht. Dabei erreichte nur R(-)- Mirtazapin messbare Konzentrationen. Dies kann auf unterschiedliche Durchtrittsraten für die Enantiomere bei der Passage der Blut – Hirn - Schranke hindeuten. Studien, um diese Hypothese zu bestätigen, fehlen aber bisher. Unterschiedliche Metabolisierungsvorgänge und Transportmechanismen

für die beiden Enantiomere können deren Wirkungsweise stark beeinflussen. Untersuchungen von MC GRATH et al. (1998) zeigen, dass keines der Enantiomere die Serotoninfreisetzung so steigern kann, wie das Razemat. Um beim neuropathischen Schmerz hemmend wirken zu können, ist dies aber von entscheidender Bedeutung. Ob es mitunter an der unterschiedlichen Verstoffwechslung und der daraus resultierenden Plasmakonzentration liegt, muss weiter untersucht werden.

Mirtazapin wird in dieser Studie direkt in den intrathekalen Raum, also über den Liquor direkt an die Nervenfasern appliziert. Genau dort finden die zentralen Sensibilisierungsprozesse statt, die zur Entstehung neuropathischer Schmerzen führen. Obwohl Untersuchungen von BOMHOLT et al. (2005) zeigen, dass die antinozizeptive Aktivität des Mirtazapins vor allem über supraspinale Prozesse vermittelt wird, bleibt es offen, zu welchem Teil spinale Prozesse zur analgetischen Wirkung beitragen. Bei der intrathekalen Applikation, wie in dieser Studie, kann nicht ausgeschlossen werden, dass das Mirtazapin sich möglicherweise nicht von spinalen in supraspinale Zentren umverteilt hatte.

In der hier durchgeführten Studie wirkte das Razemat auch bei der mechanischen Allodynie gemessen im Plantar Aesthesiometer bei einer Dosierung von 0,01mg/kg über 49 Std. antinozizeptiv (Abb.19). Auch das ließe sich wieder mit der verlängerten Wirkung von Noradrenalin und Serotonin, wie oben beschrieben, erklären (HADDJERI et al., 1997).

Eine biphasische Dosis- Wirkungskurve, wie sie von SCHREIBER et al., (2002a/b) nach intraperitonealer Applikation des Mirtazapins beschrieben wurde und auch in den Akutschmerzuntersuchungen (FREYNHAGEN et al., 2006) beobachtet werden konnte, war hier nicht nachweisbar. Die Untersuchungen von SCHREIBER et al., (2002 a/b) wurde an Mäusen durchgeführt. Den Tieren wurde das Mirtazapin intraperitoneal verabreicht. Damit gelten dieselben kritischen Anmerkungen, wie sie zu den Untersuchungen von BOMHOLT et al. (2005) bereits ausgeführt wurden.

In dieser Studie sind nur die Dosierungen übernommen worden, bei denen nach den Ergebnissen aus der Akutschmerzstudie antinozizeptive Effekte zu erwarten waren. Um eine Dosis- Wirkungskurve darstellen zu können, war die Bandbreite der getesteten Dosierungen möglicherweise zu eng. Anders als bei der Pilotstudie am Akutschmerzmodell (FREYNHAGEN et al., 2006) zeigten die Ergebnisse der

vorliegenden Untersuchungen zum R(-)- Mirtazapin am neuropathischen Tier weder bei Testungen der thermalen Hyperalgesie noch bei der mechanischen Allodynie analgetische Wirksamkeit (Abb. 7,9– 12, 14,16– 19). R(-)- Mirtazapin blockiert vor allem α_2 -Adrenozeptoren auf serotonergen Nervenendigungen, damit steigt die Serotoninfreisetzung. Es blockiert nicht die α_2 -Autozeptoren, die aber von Bedeutung für die Erhöhung der noradrenergen Transmission sind. Das heißt, dass diese Rezeptoren weiterhin die Noradrenalin ausschüttung selber kontrollieren können. Damit kann man mutmaßen, dass die Serotoninfreisetzung durch R(-)- Mirtazapin geringer ist, als im Vergleich zum Razemat. Weniger Serotonin könnte damit eine geringere analgetische Wirkung, vermittelt über 5-HT_{1A}- Rezeptoren, bedeuten. Wichtig wäre in diesem Zusammenhang zu klären, wie stark die Blockade des 5-HT_{2A}- Rezeptors durch R(-)- Mirtazapin ist. Diesem Rezeptor wird bei der Reduzierung neuropathischer Schmerzen große Bedeutung zugesprochen (NITANDA et al., 2005). Für FREYNHAGEN et al. (2006) scheint die Blockade des α_2 - Autorezeptors aber nicht der entscheidende Faktor für die antinozizeptive Aktivität von Mirtazapin zu sein.

S(+)- Mirtazapin zeigte ebenfalls keine signifikante analgetische Eigenschaft in den hier vorgenommenen Untersuchungen (Abb. 8 – 12, 16 -19). Da es im Gegensatz zu R(-)- Mirtazapin aber potenter den α_2 - Autorezeptor blockiert, die Noradrenalin freisetzung somit fördert und den größeren Effekt auf die Serotonin Neurotransmission hat, hätte man hier eigentlich analgetische Effekte erwarten können. MC GRATH et al. (1998) zeigten jedoch, dass keines der Enantiomere alleine die serotonerge Neurotransmission besser steigern kann, als das Razemat. Genau dieser Effekt scheint aber wichtig für die antinozizeptive Wirkung zu sein. Im Gegensatz zu den Ergebnissen der Akutschmerzstudie (FREYNHAGEN et al., 2006) wurde darüber hinaus in der vorliegenden Untersuchung auch keine pronozizeptive Wirkung nachgewiesen.

Die Untersuchungsmethoden und Substanzen waren identisch mit denen der akuten Schmerztestungen. Die Ergebnisse fielen jedoch überraschend anders aus. Dies könnte unter anderem in den unterschiedlichen Pathomechanismen von akuten und neuropathischen Schmerzen begründet liegen. Bei der Ausbildung neuropathischer Schmerzen kommt es im zentralen Nervensystem infolge einer potentiellen Degeneration primärer afferenter C- Fasern möglicherweise zu synaptischen

Reorganisationsphänomenen. Es kann zu einem erheblichen Untergang von C-Faser Neuronen kommen. Die synaptischen Kontakte an zentralen nozizeptiven Neuronen des Hinterhorns sind somit reduziert. Genau dort aber greift im normalen Zustand die deszendierende Hemmung aus dem Hirnstamm an. Mirtazapin wirkt auf diese hemmenden Bahnen zum einen über Opioid- Rezeptoren direkt am Hirnstamm und zum anderen über eine gesteigerte Noradrenalin- und Serotoninfreisetzung im Rückenmark auf die beim neuropathischen Schmerz aktivierte Schmerzweiterleitung durch A β - Fasern. Die Wiederaufnahme der Transmitter wird im Rückenmark blockiert, wodurch Mirtazapin schmerzmodulierend wirkt (BARON, 2006).

5.3 Schlussfolgerung

Die in der Einleitung formulierten Fragen können wie folgt beantwortet werden:

1. Das Razemat wirkte vor allem in den mittleren Dosierungen von 0,1 und 0,01 mg/kg deutlich analgetisch sowohl bei den Untersuchungen zur thermalen Hyperalgesie als auch bei denen zur mechanischen Allodynie (Abb. 6, 9, 10, 13, 16, 17). Auch war ein lang anhaltender Effekt des Razemats zu erkennen. So wirkte es dosisabhängig noch nach 24 bis 48 Std. signifikant antinozizeptiv bei den Untersuchungen zur thermalen Hyperalgesie (Abb. 11; 12). Dieser verlängerte analgetische Effekt ließ sich für die mechanische Allodynie über 25 Std. und 49 Std. nur in der Dosierung 0,01 mg/kg nachweisen (Abb. 18; 19). Das Razemat war in seiner analgetischen Wirkung den Enantiomeren jeweils überlegen. In der Akutschmerzstudie (FREYNHAGEN et al., 2006) wirkte das R(-)- Mirtazapin deutlich stärker analgetisch als das Razemat. Ob dies mit unterschiedlichen Pathomechanismen, die akuten und neuropathischen Schmerzen zugrunde liegen, zu erklären ist, muss noch unbeantwortet bleiben. Der Einsatz des Mirtazapin Razemats in der neuropathischen Schmerztherapie basiert nur auf wenigen Anwendungsbeobachtungen (FREYNHAGEN et al., 2006). Tierexperimentelle Neuropathie Studien zum Mirtazapin- Razemat und seiner Enantiomere fehlen ganz. Das Ergebnis dieser Studie kann zur Weiterentwicklung der Therapiemöglichkeiten beim neuropathischen Schmerz beitragen und auch einmal eine mögliche Behandlungsoption in der Tiermedizin bieten.
2. Weder R(-)- Mirtazapin, noch S(+)- Mirtazapin zeigten in den Untersuchungen eine analgetische Wirkung bei neuropathischen Schmerzen. Die PWT nach

Gabe der Enantiomere war, im Vergleich zum Razemat, bei allen Dosierungen nicht signifikant verlängert (Abb. 9– 12, 14- 19). Diese erste tierexperimentelle Studie zeigt, dass sich der Einsatz der Mirtazapin Enantiomere zur Therapie neuropathischer Schmerzen nicht rechtfertigt.

3. Die analgetische Wirkung von R(-)- Mirtazapin im Akutschmerzmodell von FREYNHAGEN et al., (2006) ließ sich in diesem chronischen neuropathischen Schmerzmodell nicht reproduzieren (Abb. 7, 14). Die Hoffnung, R(-)- Mirtazapin in der zukünftigen Schmerztherapie einsetzen zu können bleibt unbegründet nach diesem Versuch.
4. Im chronischen neuropathischen Schmerzmodell ebenfalls nicht reproduzieren ließ sich die im Akutschmerzmodell nachgewiesene pronozizeptive Wirkung von S(+)- Mirtazapin (Abb. 8, 15).

6. Zusammenfassung

Das Ziel der vorliegenden Arbeit war es, die antinozizeptive Wirkung von Mirtazapin als Razemat und der R(-)- und S(+)- Enantiomere beim neuropathischen Schmerz an der Ratte zu untersuchen. Zur Erzeugung neuropathischer Schmerzen wurde das etablierte Modell der Chronic Constriction Injury nach BENNETT und XIE (1988) bei 85 Ratten angewendet. Nach einer Beobachtungszeit von 10 Tagen dokumentierte man die Entwicklung chronischer Schmerzzustände anhand eines Vergleichs der Schwellenwerte (PWT) vor der Manipulation am N. ischiadicus und 10 Tage nach der OP durch die Untersuchung einer sich entwickelnden thermalen Hyperalgesie und mechanischen Allodynie. Das Razemat, R(-)- und S(+)- Mirtazapin wurde in den Dosierungen 1 mg/kg, 0,1 mg/kg, 0,01 mg/kg und 0,001 mg/kg intrathekal bei jeweils 6 Ratten injiziert. 13 Tiere bildeten die Kontrollgruppe und bekamen isotone Kochsalzlösung anstelle der Testsubstanz appliziert. Im Anschluss beprobte man die Tiere im Dynamic Plantar Aesthesiometer und im Dynamic Plantar Test, um die Entwicklung der mechanischen Allodynie und der thermalen Hyperalgesie sowie die mögliche analgetische Wirkung der Testsubstanzen untersuchen zu können.

Das Razemat ist in seiner analgetischen Wirkung bei der thermalen Hyperalgesie und der mechanischen Allodynie den beiden Enantiomeren überlegen. Dies steht im Gegensatz zu den Ergebnissen aus Untersuchungen am Akutschmerzmodell, bei denen das R(-)- Mirtazapin analgetisch wirksamer war als das Razemat. Der antinozizeptive Effekt des Razemats stellte sich am stärksten vor allem im mittleren Dosisbereich (0,1 mg/kg und 0,01 mg/kg) dar. Hier war er bei der thermalen Hyperalgesieprüfung sogar über 48 Std. deutlich nachweisbar. Die Dosierungen von 1 mg/kg und 0,001 mg/kg lassen einen analgetischen Effekt bei den Untersuchungen zur thermalen Hyperalgesie nur nach 240 min nach Razematapplikation erkennen. Die antinozizeptive Wirkung des Razemats bei der mechanischen Allodynie stellt sich bei allen getesteten Dosierungen nach 300 min ein.

Die Ergebnisse zeigen, dass Mirtazapin- Razemat wirksam bei der Behandlung neuropathischen Schmerzen ist. In verschiedenen klinischen Studien erwies es sich als ein sicheres und gut verträgliches Medikament. Auch im Tierversuch konnten keine signifikanten Nebenwirkungen beobachtet werden. Die Erwartungen an R(-)- Mirtazapin nach der sehr positiven Akutschmerzstudie müssen in Hinblick auf die Therapie neuropathischer Schmerzen kritisch hinterfragt werden. Die Enantiomere alleine wirkten im gewählten Tiermodell nicht analgetisch. Die Therapie

neuropathischer Schmerzen ist durch duale Antidepressiva bereichert worden. Vor allem Mirtazapin bietet eine vielversprechende, risikoarme, gut verträgliche und wirkungsvolle Option, neuropathische Schmerzen zu lindern, vielleicht auch beseitigen zu können. Um dies abschließend klären zu können, sind weitere Untersuchungen zur genauen Wirkungsweise des Mirtazapins beim neuropathischen Schmerz zu empfehlen. Diese erste tierexperimentelle Studie zur Untersuchung von Mirtazapin Razemat und seiner Enantiomere bei neuropathischem Schmerz generiert deutliche Hinweise darauf, dass nicht die Enantiomere aber das Razemat in der Lage ist, neuropathische Schmerzzustände bei guter Verträglichkeit potent zu reduzieren.

7. Summary

Carina Driehsen:

“The antinociceptive effect of mirtazapine and its enantiomers tested in a neuropathic pain model by rats”

The aim of the study was to evaluate the analgesic properties of Mirtazapine and its R(-)- and S(+)- Enantiomers in neuropathic pain in rats.

In order to provoke neuropathic pain, I used the established model of the Chronic Constriction Injury according to BENNETT and XIE (1988) in 85 rats. After an observation period of ten days the development of chronic pain was documented, comparing the previously measured paw withdrawal latency (PWT) before the manipulation of the N. ischiadicus, and ten days post operation, with the examination of developed thermal nociception and mechanical Allodynia. Racemic Mirtazapine, R(-)- and S(+)- Mirtazapine were intrathecally injected in six rats, each in dosages of 1 mg/kg, 0,1mg/kg, 0,01mg/kg to 0,001 mg/kg. Thirteen rats were in the control-group and all were injected intrathecally with isotone NaCl. The PWT of both hind paws was tested by four independent measurements. The Dynamic Plantar Test was used to document thermal nociception, and the Dynamic Plantar Aesthesiometer was used to evaluate mechanical Allodynia, as well as to test for the possible antinociceptive effects of (+/-) Mirtazapine and its Enantiomers.

The results showed that (+/-) Mirtazapine was antinociceptive in thermal and mechanical nociceptive testings while R(-)- and S(+)- Mirtazapine showed no antinociceptive effects. These results contrasted those of the examination of acute thermal nociception, in which, Racemic Mirtazapine exerted both pro- and antinociceptive activity, depending on dosage, and S(+)- Mirtazapine was exclusively pronociceptive at all doses tested. R(-)- Mirtazapine only elicited antinociceptive effects at the wide dose range tested.

In this chronic pain study, the analgesic effect of (+/-) Mirtazapine proved to be the strongest at the dosages of 0,1 mg/kg and 0,01 mg/kg. The effect was documented over the course of 48 hours in the thermal nociception test. At the dose of 1 mg/kg and 0,001mg/kg, an analgesic effect in thermal nociception testing was measured only 240 minutes after intrathecal injection. The analgesic effect of Racemic

mirtazapine in mechanical Allodynia testings could be observed in all tested doses after 300 minutes.

Our results show that Racemic Mirtazapine is a possible prospective treatment for neuropathic pain in humans. In several clinical examinations, Mirtazapine was presented as a medicament with a favourable safety profile and good compatability. Furthermore, no significant side effects were documented in laboratory studies. This study reveals that the promising outlook of R(-)- Mirtazapine according to the Acute Thermal Nociception study must be revised for the treatment of neuropathic pain. The Enantiomere itself had no effect on thermal and mechanical nociception in this examination. The treatment of neuropathic pain is enriched through the development of dual acting anti-depressants. (+/-) Mirtazapine is a novel anti-depressant drug that is more tolerable, safer when taken in overdose and has fewer side effects than other leading pain treatments, and it may provide a positive analgesic alternative for neuropathic pain treatment.

8. Literaturverzeichnis

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

Assesment of acute thermal nociception in laboratory animals

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

ANSARI A. (2000)

The efficacy of newer antidepressants in the treatment of chronic pain: a review of
current literature.

Harv. Rev. Psychiatry, 7, 257- 277

ANTTILA S.A., LEINONEN E.V. (2001)

A review of the pharmacological and clinical profile of mirtazapine.

CNS Drug Rev, 249-264

BARON R. (2006)

Mechanisms of Disease: neuropathic pain- a clinical perspective

Nature Clinical Practice Neurology 2, 95-106

BARON R. (2000)

Neuropathische Schmerzen. Der lange Weg vom Mechanismus zur mechanismen-
orientierten Therapie.

Anaesthesist 49, 373-386

BAUMANN P., JONZIER-PEREY M., PAUS E., NIKISCH G. (2006)

Mirtazapine enantiomeres in blood and cerebrospinal fluid

Neuropsychobiology 54, 179-181

BENDTSEN L., JENSEN R. (2004)

Mirtazapin is effective in the prophylactic treatment of chronic tension- type headache.

Neurology, 25; 62(10); 1706- 1711

BENNETT G.J. und XIE Y.K. (1988)

A peripheral mononeuropathy in rat that produces disorders of pain sensation like those seen in man.

Pain 33, 87- 107

BOMHOLT S.F., MIKKELSEN J.D., BLACKBURN- MURO G. (2005)

Antinociceptive effects of the antidepressants amitriptyline, duloxetine, mirtazapine and citalopram in animal models of acute, persistent and neuropathic pain.

Neuropharmacology 48, Issue 2, Feb. 2005, 252- 263

CHUNG J.M., KIM H.K., CHUNG K. (2004)

Segmental spinal nerve ligation model of neuropathic pain.

In: Luo D.Z.(Hrsg.): Pain Research- Methods and Protocols, Humana Press Inc., New Jersey, 35- 45

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

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

Neuropharmacology 27, 399-408

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

The α -2- selective adrenoceptor antagonist ORG 3770 (Mirtazapin, Remeron®) enhances noradrenergic and serotonergic transmission.

Hum. Psychopharmacol. 10, 107-118

DEMLING J.H. (2001)

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

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

Chiral determination of mirtazapine in human blood plasma by high- performance liquid chromatography.

J. Chromatogr. B. 748, 439-443

ENGELHARDT v.W., BREVES G. (1998)

Physiologie der Haustiere.

Enke Verlag, Stuttgart

ENGLAND J.D., HAPPEL L.T., KLINE D.G., GAMBONI F., THOURON Z.P., LIU Z.P. (1996)

Sodium channel accumulation in humans with painful neuromas.

Neurology, 47, 272- 276

ENGLAND J.D., HAPPEL L.T., KLINE D.G., GAMBONI F., THOURON Z.P., LIU Z.P. (1996)

Sodium channel accumulation in humans with painful neuromas

Neurology 47, 272- 276

FLOR H., ELBERT T., KNECHT S., WINBRUCH C., PANTEV C., BIRBAUMER N., et al., (1995)

Phantomlimb pain as a perceptual correlate of cortical reorganization following arm amputation.

Nature 375, 482- 484

FREYNHAGEN R., BARON R. (2006)

Kompendium Neuropathischer Schmerz. 2. Auflage

Aesopus Verlag e.K., Linkenheim- Hochstetten

FREYNHAGEN R., MUTH- SELBACH U., LIPFERT P., STEVENS M.F. ZACHAROVSKI K., TÖLLE T.R., GIESEN H.-J. (2006)

The effect of mirtazapine in patients with chronic pain and concomitant depression

Current Medical Research and Opinion, 22, No.2, 257-264

FREYNHAGEN R., STROJEK K., GRIESING T. (2005a)

Efficacy of pregabalin in neuropathic pain evaluated in a 12-week, randomised, double-blind, multicentre, placebo-controlled trial of flexible- and fixed-dose regimens.

Pain Jun; 115(3): 254- 63

FREYNHAGEN R., VOGT J., LIPFERT P., MUTH- SELBACH U. (2006)

Mirtazapine and its enantiomers differentially modulate acute thermal nociception in rats.

Brain Research Bull, Mar 31, 69(2), 168-173

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

Regulation der spinalen Expression von Nozizeptin unter neuropathischen Schmerzen.

Anaesthesist 53, 621-628

GILRON I., BAILEY J.M., TU D. (2005)

Morphine, gabapentin, or their combination for neuropathic pain

N Engl J Med 31; 352(13): 1324-1334

GOLDSTEIN D.J., LU Y., DETKE M.J. et al., (2005)

Duloxetine vs. Placebo in patients with painful diabetic neuropathy.

Pain 116 (1-2), 109- 118

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

Pharmakotherapie psychischer Erkrankungen

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

HADDJERI N., BLIER P., DE MONTIGNY C. (1997)

Effects of long-term treatment with the α_2 - adrenoceptor antagonist mirtazapine on 5-HT neurotransmission

Naunyn- Schmiedeberg's Arch Pharmacol 355, 20-29

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

A new and selective method for measuring thermal nociception in cutaneous hyperalgesia.

Pain, 32, 77-88

HENKE J., ERHARDT W. (2001)

Schmerzmanagement bei Klein- und Heimtieren

Enke Verlag, Stuttgart

HENKE J., ERHARDT W. (2004)

Analgesie

In: Erhardt W., Henke J., Haberstroh J. (Hrsg.): Anaesthesie und Analgesie beim

Klein- und Heimtier, Schattauer GmbH, Stuttgart

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

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

Neurosci 22, 2660- 2668

ILLES P., ALGAIER C. (2001)

Schmerztherapie.

In: Forth W., Henschler D., Rummel W., Forstermann U., Starke K. (Hrsg.): Allgemeine

und spezielle Pharmakologie und Toxikologie, Urban und Fischer Verlag München, 241-256

INTERNATIONAL ASSOCIATION FOR THE STUDY OF PAIN (1978)

Report of subcommittee on taxonomy.

Pain 6, 249- 252

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

A comparison of the physicochemical and biological properties of mirtazapine and mianserin.

J. Pharm. Pharmacol., 49, 403- 411

KELLER CH. (2004)

Therapeutischer Einsatz von Antidepressiva bei Depressionen.

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

KIM S., CHUNG J.M. (1992)

An experimental model for peripheral neuropathy produced by segmental spinal nerve ligation in the rat.

Pain 50, 355-363

KIRKTON C., MC INTYRE I. M. (2006)

Therapeutic and toxic concentrations of mirtazapine

J. Anal. Toxicol., 30, (9), 687- 691

KLINKE R., PAPE H-CH., SILBERNAGEL S. (2005)

Physiologie

Thieme Verlag

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

Driving performance under antidepressants

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

LE BARS D., GOZARIU M., CADDEN S.W. (2001)

Animal models of nociception

Pharmacol. Rev. 53; 597- 652

LÖSCHER W. (2006)

Pharmaka mit Wirkung auf das Zentralnervensystem.

In: Löscher W., Ungemach F.R., Kroker R. (Hrsg), 7. Auflage, Blackwell Verlag GmbH, Berlin Wien

MALCANGIO M., GARRETT N.E., CRUWYS S., TOMLINSON D.R. (1997)

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

The Journal of Neuroscience 17, 8459-8467

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

Intrathecal catheterization and drug delivery in the rat.

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

MATTIA C., PAOLETTI F., COLUZZI F., BOANELLI A. (2002)

New antidepressants in the treatment of neuropathic pain. A review.

Minerva Anaesthesiol., 68 (3), 105-114

MC DERMOTT A.M., TOELLE T.R., ROWBOTHAM D.J., SCHAEFER C.P., DUKES
E.M. (2006)

The burden of neuropathic pain: results from a cross-sectional survey

Eur J Pain, 10(2), 127-135

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

Neurochemical effects of the enantiomers of mirtazapine in normal rats.

European Journal of Pharmacology, 356, 121-126

MEßLINGER K. (1997)

Was ist ein Nozizeptor?

Der Anaesthesist, 46, 142-153

MILLIGAN E.D., MAIER S.F., WATKINS L.R. (2004)

Sciatic inflammatory neuropathy in the rat.

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

67- 89

MOJA P, CUSI C. et al., (2005)

Selective serotonin re- uptake inhibitors (SSRIs) for preventing migraine and tension-
type headaches.

Cochrane Database Syst Rev. Jul 20, (3): CD002919

NITANDA A., YASUNAMI N., TOKUMO K., FUJII H., HIRAI T., NISHIO H. (2005)
Contribution of the peripheral 5-HT_{2A} receptor to mechanical hyperalgesia in rat
model of neuropathic pain.

Neurochemistry International, 47, 394- 400

NOLANO M., SIMONE D.A., WENDELSCHAFFER-CRABB G., JOHNSON T., HAZEN
E., KENNEDY W.R. (1999)

Topical capsaicin in humans: parallel loss of epidermal nerve fibers and pain sensa-
tion.

Pain, 81, 135-145

ORGANON (2003)

Chemie, Pharmakologie und klinische Wirksamkeit.

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

OTTO K. (1998)

Analgesie der Versuchstiere.

Tierschutzbeauftragte 2, 148-152

PAUS E., JONZIER-PEREY M., COCHARD N., EAP C.B., BAUMANN P. (2004)

Chirality in the new generation of antidepressants. Stereoselective analysis of the
enantiomeres of Mirtazapine, N- Demethylmirtazapine, and 8- Hydroxymirtazapine by
LC-MS

Ther Drug Monit 26, 366-374

PETROFF O.A., HYDER F., ROTHMAN D.L., MATTSON R.H. (2000)

Effects of gabapentin on brain GABA, homocarnosine, and pyrrolidinone in epilepsy
patients.

Epilepsia, 40, 675-680

PIERAU F-K. (1998)

Grundlagen der Sinnesphysiologie

In: Engelhardt v.W., Breves G.(Hrsg.): Physiologie der Haustiere, Enke Verlag, Stuttgart

REINBOLD H. (1998)

Differenzierter Umgang mit Antidepressiva.

Psych. Gen. Verlag

REUBEN S.S., MAKARI-JUDSON G., LURIE S.D. (2004)

Evaluation of efficacy of the perioperative administration of venlafaxine XR in the prevention of postmastectomy pain syndrome.

J. Pain. Symptom Manage, 27 (2), 133-139

ROWBOTHAM M.C., GOLI V., KUNZ N.R. (2004)

Venlafaxine extended release in the treatment of painful diabetic neuropathy: a double-blind, placebo-controlled study.

Pain, 110 (3), 697- 706

SAARTO T., WIFFEN P. (2005)

Antidepressants for neuropathic pain, Cochrane Database Syst Rev 20; (3): CD005454

SANN H. (1998)

Nozizeption und Schmerz.

In: Engelhardt v.W., Breves G.(Hrsg.): Physiologie der Haustiere, Enke Verlag, Stuttgart

SAWYNOK J., ESSER M.J., REID A.R. (2001)

Antidepressants as analgesics: an overview of central and peripheral mechanisms of action.

J. Psychiatry. Neurosci., 26 (1), 21-29

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

Nozizeption und Schmerz.

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

SCHAIBLE H.-G. (2007)

Pathophysiologie des Schmerzes.

Orthopäde, 36, 8-16

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

Pathophysiologie von Nozizeption und Schmerz.

In: Fölsch U.R., Kochsiek K., Schmidt R.F. (Hrsg): Pathophysiologie, Springer-Verlag, Berlin Heidelberg

SCHAIBLE H.-G., SCHMIDT R.F. (2005)

Nozizeption und Schmerz

In: SCHMIDT R.F., LANG F., THEWS G. (Hrsg): Physiologie des Menschen mit Pathophysiologie, Springer Verlag, Berlin, Heidelberg

SCHMIDT R. F., SCHAIBLE H.-G. (2006)

Neuro- und Sinnesphysiologie, 5. Auflage

Springer Verlag, Berlin, Heidelberg

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

Venlafaxine and Mirtazapine.

Journal of Molecular Neuroscience 18, 143-149

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

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

Brain Research Bulletin 58, 601- 605

SINDRUP S.H., BACH F.W., MADSEN C., GRAM L.F., JENSEN T.S. (2003)

Venlafaxine versus imipramine in painful polyneuropathy. A randomized, controlled trial

Neurology 60, 1284- 1289

SOMMER C. (2003)

Therapie neuropathischer Schmerzsyndrome

Uni- Med Verlag AG, Bremen

STORKSON R.V., KJORSVIK A., TJOLSEN A., HOLE K. (1996)

Lumbar catheterization of the spinal subarachnoid space in the rat

J. Neurosci. Methods 65, 167- 172

SZEGEDI A., SCHWERTFEGER N. (2005)

Mirtazapine: a review of its clinical efficacy and tolerability.

Expert Opin. Pharmacother., 6, 631- 641

THEOBALD D.E., KIRSH K.L., HOLTSCRAW E. et al., (2002)

An open- label, crossover trial of mirtazapine (15 and 30mg) in cancer patients with pain and other distressing symptoms.

J. Pain Symptom Manage, 23, 442- 447

TIMMER C.J., SITSEN J.M., DELBRESSINE L.P. (2000)

Clinical pharmacokinetics of mirtazapine.

Clin Pharmacokinet, 38, 461- 474

TÖLLE T., FREYNHAGEN R., VERSAVEL M., TROSTMANN U., YOUNG J.P. Jr. (2007)

Randomized, double-blind, placebo-controlled study evaluating twice daily dosing of pregabalin for relief of neuropathic pain associated with diabetic peripheral neuropathy.

Eur J Pain, Jul 13, ahead of print

TREMONT- LUKATS I.W., MEGEFF C., BACKONJA M.M. (2000)

Anticonvulsants for neuropathic pain syndroms: mechanisms of action and place in therapy.

Drugs, 60, 1029- 1052

UGO BASILE (2002)

Dynamic Plantar Test 7370; General, Installation, Reproducibility of the test.

Instruction Manual, 2. Aufl.

UGO BASILE (2002)

Dynamic Plantar Aesthesiometer No. 37400 General, Installation, Operation, Calibration

Instruction Manual, 2. Aufl., 1- 17, 22

VANEGAS H., SCHAIBLE H.-G. (2004)

Descending control of persistent pain: inhibitory or facilitatory?

Brain Res Rev 46, 295-309

VIVANCOS G.G., VERRI W.A., CUNHA T.M., SCHIVO I.R.S., PARADA C.A.,
CUNHA F.Q., FERREIRA S.H. (2004)

An electronic pressure- meter nociception paw test for rats.

Braz J Med Biol Res, 37(3), 391- 399

WATSON C.P. (2000)

The treatment of neuropathic pain: antidepressants and opioids.

Clin. J. Pain, 10 (2 Suppl), 49- 55

WOOLF C.J., SLATER M.W. (2000)

Neuronal plasticity: increasing the gain in pain.

Science, 288, 1765- 1769

WOOLF C.J., THOMPSON S.W. (1991)

The induction and maintenance of central sensitization is dependent on N- methyl- D-
aspartic acid receptor activation; implications for the treatment of post- injury pain
hypersensitivity states.

Pain, 44, 293- 299

Danksagung

Diese Arbeit ist in der Klinik für Anaesthesiologie des Universitätsklinikums Düsseldorf entstanden. Hierfür möchte ich mich ganz herzlich bei **PD Dr. R. Freyhagen** bedanken, der mir zu jeder Zeit mit Rat und Tat zur Seite stand und mir neue Einblicke in die Medizin mit Überlassung dieses Themas ermöglicht hat.

Bei Frau **PD Dr. J. Henke** möchte ich mich ganz besonders für die unkomplizierte Betreuung bedanken. Sie hat mich weit über ihre eigentlichen Aufgaben hinaus unterstützt und mir Anreize gegeben Ideen weiter zu erarbeiten.

Herrn **Prof. Dr. M. Stangassinger** danke ich sehr, dass er sich als Gutachter zur Verfügung gestellt hat und mit viel Geduld und Zeit diese Arbeit korrigierte. Danke für Ihre ständige Hilfsbereitschaft.

Die anfänglichen Schwierigkeiten in der Vorbereitung der Versuche und Ausarbeitung der Ergebnisse habe ich mit Unterstützung von **Dr. H. Hermanns** und Frau **Dr. U. Muth-Selbach** meistern können.

Mit dem Studium der Tiermedizin konnte ich mir einen Traum erfüllen für den ich meinen Eltern **Bärbel und Hans-Leo Driehsen** zutiefst dankbar bin. Mit ihrer Motivation und Unterstützung haben sie mich unermüdlich auf diesem Weg begleitet.

Ein besonderer Dank gilt **Karin Heitzer**. Sie hat es mir ermöglicht selbst zu den ungünstigsten Zeiten diese Arbeit anfertigen zu können. Vielen Dank für die geduldige Einführung ins Berufsleben, die stetige Unterstützung mich weiter entwickeln zu können und dein immer offenes Ohr für alle Freuden, Sorgen und Nöte.

Für die Begleitung, nicht nur auf dem langen Weg zur Fertigstellung dieser Arbeit, sondern auch zu besonderen Zeiten im Leben möchte ich **Kerstin** sehr danken.

Vielen Dank an **Kirsten und Steffi**, die so manchen Kummer mit mir geteilt haben und mir immer helfend zur Seite standen.

Mütti und Anneliese danke ich sehr dafür, dass sie mir so oft die Arbeit erleichtert haben und mich geduldig auf meinem bisherigen Weg begleitet haben.

Meinen **Kollegen** in der Tierklinik Staudacher danke ich für so viele Anregungen und Engagement vor allem bei der Fertigstellung der Arbeit.

Zum Schluss möchte ich mich bei all den lieben Menschen um mich herum bedanken, die mir mit viel Elan und Geduld bei dieser Arbeit geholfen haben.