



Udtalelse fra Udvalget for Forsøgsdyr og Alternativer om smertedækning af neonatale mus og rotter

Baggrund

Rådet for Dyreforsøg ønsker rådgivning, vedrørende smertedækning af neonatale *mus og rotter* i forsøg. Spørgsmålet er blevet aktuelt grundet en ny ansøgning, hvori der indgår invasive procedurer på neonatale dyr og forskeren angiver, at smertebehandling ikke er påkrævet.

Beskrivelse af den aktuelle sag

NEONATAL HJERTESKADE: For alle tre modeller, apex resektion (AR), cryoskade (CI), myokardie infarkt (MI), bedøves dyrene (1 dag gamle) ved hypotermi. Efter at de neonatale dyr har ligget på is i 4 minutter lægges et snit i huden mellem 4 og 5. ribben. Hjertet blotlægges og derefter foretages enten: 1) AR hvor max 15% af ventriklen fjernes, 2) CI ved at sætte en nedkølet metalprobe på hjertet. og 3) MI ved ligering af en del af venstre ventrikel idet koronararterien, grundet dens lille størrelse, ikke selvstændigt kan underbindes. Kun ved AR vil der fremkomme en blødning. Denne stoppes med en steril vatpind. Dette blodkoagel vil forsegle apex, og hjertet kræver ikke yderligere lukning med sutur. Der injiceres evt. celler eller andre faktorer i venstre ventrikel. Efter hjerteskaade eller sham operation fjernes ungen fra isen, og brysthulen lukkes. Under opvågning opvarmes ungen i et bur med strøelse og varmelampe, i et miljø på ca 37°C, hvorefter den sættes tilbage til moderen. De opererede unger kan ikke skelnes fra sham-opererede dyr, hvilket forskerne tolker som, at de maksimalt lider let overlast ved indgrebet: For neonatale dyr vil der ikke blive smertedækket. ”Vi ser ingen forskel (vægt/adfærdsmæssigt på dyr med eller uden skade). Desuden vil de neonatale dyr være langt mere følsomme for medikamenter og ofte dø af medicinering, men det værste er den ekstra håndtering, som medfører, at moderdyret efterfølgende ikke tager sig af dem eller (som oftest) spiser dem”. Det oplyses desuden, at dyrene overlever op til seks måneder efter indgreb.

Udvalgets procedure i forbindelse med afgivelse af svar

Udvalget har udpeget udvalgsmedlem Birgitte Kousholt som koordinator på besvarelsen, og udvalget har desuden konsulteret professor emeritus ved Newcastle University Paul Flecknell.

Udvalget har ikke mandat til gå ind i konkrete sager og rådgive om, hvorvidt og med hvilke betingelser Rådet for Dyreforsøg skal tillade et givet forsøg, da en sådan vurdering også baserer sig på andre elementer end de rent faglige. En sådan vurdering i henhold til Lov om Dyreforsøg ligger hos Rådet for Dyreforsøg, der er kompetent myndighed i Danmark i henhold til EU Direktiv 2010/63/EU om beskyttelse af dyr, der anvendes til videnskabelige formål.



Udvalget lægger derfor til grund, at der ønskes svar på spørgsmålet om, hvorvidt der findes faglig evidens for, at nyfødte mus og rotter bedøvet ved hypotermi ved et kirurgisk indgreb i brysthulen oplever smerte, der ud fra en almindelig veterinær betragtning nødvendiggør smertebehandling under og efter indgrebet.

Udvalgets overvejselser

Hele spørgsmålet om smerte, smertebehandling og anæstesi af neonatale gnavere er problematisk, eftersom studier fra Fitzgerald et al. og Anand antyder, at (som citeret af Mahmoud et al.) centrale forbindelser til thalamus og cortex ikke er til stede ved fødsel, men dannes gradvist op til dag 7 [1-3]. Hvis der ikke er central forbindelse, kan der ikke være nogen smerteopfattelse, hvis vi accepterer, at smerteperception (frem for nociception) opfattes centralt. Adskillige regenereringsforskere henviser til en publikation, der hævder, at "på grund af fraværet af centraliserede smertereflekser i den tidlige postnatale alder, kræves ingen smertestillende medicin til P1 - P7 neonatale mus" [1]. Imidlertid konkluderer undersøgelser, der undersøger smerteopfattelse, at brugen af buprenorphin lokalt på p3-unger dæmper termisk følsomhed, hvorimod lidocain ikke gør det [4]. I et andet studie reducerer acetaminophen (paracetamol) signifikant udviklingen af kronisk smerteperception i ungrøtter efter disse har undergået proceduremæssige indgreb i alderen P0-P7 [5]. Knaepen et al. finder at gentagne hudlæsiionsindgreb i neonatale dyr medvirker til både akutte og kroniske påvirkninger af nociception og spinal plasticitet, hvorimod perifer innervation af nociceptive afferente er upåvirket [6].

Med hensyn til hypotermi, er der udvalget bekendt ingen undersøgelser af CNS-aktivitet ved svær hypotermi (dvs. 0-4 grader), men der er undersøgelser, som viser, at nerveledningen svigter ved disse lave temperaturer. Hvis nerveledningen svigter, vil det ikke kun gælde perifer, men også central ledning. Så ved disse temperaturer ville nociceptive afferenter ikke nå hjernen, og der ville ikke være nogen bevidsthed, da CNS ikke ville reagere. Litteraturen på området er dog begrænset, og der findes hovedsageligt studier af moderat hypotermi (dvs. nogle få grader).

Som alternativ til hypotermi kan isofluran bruges sikkert og effektivt, men denne procedure er teknisk meget vanskeligere. Hos hypotermiske gnavere er hjertet nærmest stoppet, og der er ingen åndedrætsbevægelser. På Newcastle Universitet har man arbejdet med hypotermi i rotter. Disse studier viste, at genopvarmning var forbundet med c-fos-opregulering (som er impliceret i udvikling af smertetilstande) i både sensorisk og motorisk cortex (studierne er ikke publicerede). Der har på Newcastle Universitet været anvendt injicerbare bedøvelsesmidler til nyfødte rotter, hvor det stærkt smertedæpende Fentanyl/Fluanison/Midazolam har vist sig anvendeligt til nyfødte rotter uden dog at kunne forhindre lejlighedsvis spontane bevægelser under indgrebet.



Udvalgets sammenfattende svar

Kun hvis nociceptive veje aktiveres, kan disse nyfødte opleve smerte, hvilket giver graden af hjernens udvikling ved fødslen for nuværende, virker usandsynligt. Der er dog flere studier, som indikerer, at en manglende smertedækning påvirker ungernes stimulirespons senere i livet. Det kan ikke siges med sikkerhed, hvorledes det påvirker velfærden. Det kan ikke afvises, at nociceptive stimuli kan ændre nociceptive tærskler senere i livet. Tidligere arbejder på området i nyfødte rotter peger i retning af, at det er praktisk muligt at udføre neonatal smertebehandling på rotter, hvorimod erfaringerne hermed i nyfødte mus er begrænsede.

Referencer:

1. Mahmoud, A.I., et al., *Surgical models for cardiac regeneration in neonatal mice*. Nat Protoc, 2014. **9**(2): p. 305-11.
2. Fitzgerald, M. and S. Beggs, *The neurobiology of pain: developmental aspects*. Neuroscientist, 2001. **7**(3): p. 246-57.
3. Anand, K.J. and P.R. Hickey, *Pain and its effects in the human neonate and fetus*. N Engl J Med, 1987. **317**(21): p. 1321-9.
4. Katz, E.M., et al., *Buprenorphine, but not lidocaine, effectively attenuates post-operative thermal hypersensitivity in an incisional model in neonatal rats (Rattus norvegicus)*. Scandinavian Journal of Laboratory Animal Science, 2021. **47**(1): p. 11.
5. van den Hoogen, N.J., et al., *Neonatal paracetamol treatment reduces long-term nociceptive behaviour after neonatal procedural pain in rats*. Eur J Pain, 2016. **20**(8): p. 1309-18.
6. Knaepen, L., et al., *Neonatal repetitive needle pricking: plasticity of the spinal nociceptive circuit and extended postoperative pain in later life*. Dev Neurobiol, 2013. **73**(1): p. 85-97.

Udvalget for Forsøgsdyr og Alternativer, d. 9. juni 2022

Axel Kornerup Hansen

/Louise Stab Bryndum