

TOLERANCIA AGUDA E HIPERALGESIA INDUCIDA POR REMIFENTANILO DURANTE LA ANESTESIA CON SEVOFLUORANO EN EL PERRO



*MÁSTER EN MEDICINA, SANIDAD Y MEJORA
ANIMAL*

RUIZ LÓPEZ, PATRICIA DE LA PAZ

TUTORA: GRANADOS MACHUCA, MARÍA DEL MAR

CURSO 2013-2014

17 JULIO 2014

Doña **MARÍA DEL MAR GRANADOS MACHUCA**, Profesora del Departamento de Medicina y Cirugía Animal de la Facultad de Veterinaria de la Universidad de Córdoba,

INFORMA:

Que el Trabajo Fin de Máster titulado: **“TOLERANCIA AGUDA E HIPERALGESIA INDUCIDA POR REMIFENTANILO DURANTE LA ANESTESIA CON SEVOFLUORANO EN EL PERRO”**, del que es autora la Licenciada en Veterinaria Doña Patricia de la Paz Ruiz López, ha sido realizado bajo mi dirección y asesoramiento en el Departamento de Medicina y Cirugía Animal de la Facultad de Veterinaria de la Universidad de Córdoba, y reúne las condiciones necesarias para ser presentado ante el Tribunal correspondiente.

Y para que así conste y surta los efectos oportunos, firmo el presente informe en Córdoba, a siete de Julio de 2014.

Fdo.: María del Mar Granados Machuca.

ÍNDICE

I.	INTRODUCCIÓN.....	Pág.4
	a. Fisiología del dolor.....	Pág.4
	i. Transmisión nociceptiva.....	Pág.7
	ii. Modulación nociceptiva.....	Pág.8
	b. Fisiopatología de la sensibilización central y periférica.....	Pág.9
	c. Opioides: tolerancia aguda a opioides (TAO) e hiperalgesia inducida por opioides (HIO).....	Pág.11
II.	OBJETIVOS.....	Pág.14
III.	MATERIAL Y MÉTODOS.....	Pág.15
IV.	RESULTADOS.....	Pág.19
	a. Determinación de la CAM.....	Pág.19
	b. Determinación del estímulo mecánico.....	Pág.21
	c. Parámetros cardio-respiratorios.....	Pág.22
	d. Tiempos de determinación de CAMpostfarm e infusión continua remifentanilo.....	Pág.23
V.	DISCUSIÓN.....	Pág.24
VI.	CONCLUSIONES.....	Pág.31
VII.	RESUMEN.....	Pág.32
VIII.	SUMMARY.....	Pág.33
IX.	BIBLIOGRAFÍA.....	Pág.34

INTRODUCCIÓN

La anestesiología busca el empleo de sustancias que proporcionen una anestesia segura para el paciente y adecuada según el procedimiento que vayamos a realizar. Pero además, se busca la analgesia necesaria para cada tratamiento.

Ha sido ampliamente demostrado que el dolor aumenta las complicaciones intraoperatorias y postoperatorias, ya que es un fenómeno estresante que desencadena la liberación de catecolaminas dando lugar al predominio del sistema autónomo simpático con repercusiones cardiovasculares, respiratorias y gastrointestinales entre otras; además de producir anorexia, depresión, hiperglucemia, aumento del tiempo de cicatrización, del riesgo de infección, del riesgo de coagulopatía intravascular diseminada, así como de posibles autotraumatismos.

Los fármacos para tratamiento del dolor que actualmente se utilizan en Veterinaria son: anestésicos locales, opioides, antiinflamatorios no esteroideos, $\alpha 2$ -agonistas y ketamina entre otros. Los opioides actúan sobre el Sistema Nervioso Central y Periférico bloqueando el estímulo doloroso en todas las fases del dolor.

FISIOLOGÍA DEL DOLOR

Para poder evaluar la calidad analgésica se debe conocer en primer lugar la **fisiología del dolor**. La definición de dolor abarca una experiencia tanto sensorial como emocional desagradable asociado con daño tisular real o potencial (Boyd et al., 1994).

Según la definición de la International Association for the Study of Pain (IASP) se requiere de un sujeto consciente capaz de expresar el dolor y sus derivados.

La nocicepción implica un mecanismo de cuatro etapas: el estímulo nociceptivo de la periferia activa la neurona aferente primaria que lo transduce (TRANSDUCCIÓN) a señales eléctricas que se transmiten (TRANSMISIÓN) al asta dorsal de la médula espinal (ADME). Aquí, se modulan (MODULACIÓN) para dirigirse por la neurona de segundo orden mediante proyección al tálamo. Desde este punto, la neurona de tercer orden transmite la información hacia la corteza cerebral para su procesamiento final (PERCEPCIÓN), momento en el cual el individuo se hace consciente (Lamont et al.,

2000). Los mecanismos moleculares, celulares y sistémicos que conducen al proceso de la información relacionada con el dolor, su amplificación o su depresión son llamados nociceptivos, pronociceptivos y antinociceptivos, respectivamente (Boyd et al., 1994). El dolor es una de las posibles manifestaciones de la nocicepción, aunque no observable en ciertas ocasiones como en situaciones bajo sedación o anestesia. El estímulo nociceptivo es aquel capaz de desencadenar el proceso de nocicepción, independientemente de su naturaleza (térmica, química o mecánica).

Según su duración el dolor se clasifica en **dolor agudo** y **dolor crónico** (Basbaum et al., 2005). Si atendemos a su fisiología diferenciamos entre **dolor nociceptivo**, originado por la estimulación de nociceptores (receptores cutáneos o subcutáneos especializados en la detección de estímulos dañinos/nocivos) o **dolor neuropático**, cuando es causado por una lesión o enfermedad en el sistema nervioso somatosensorial (Boyd et al., 1994).

La **analgesia** sería la ausencia de dolor frente a una estimulación que normalmente produce dolor. Si dicha ausencia no es completa se trata de hipoalgesia (Boyd et al., 1994), aunque se use comúnmente analgesia abarcando ambos conceptos.

Opuestamente encontraríamos **hiperalgesia**, cuya definición es el aumento de la sensibilidad al dolor en respuesta a un estímulo nociceptivo producida por una disminución en el umbral (Sandkuhler 2009). Si la hiperalgesia se produce en el punto de la lesión es primaria; si es en el área adyacente al sitio de la lesión, secundaria; si existe tanto dentro del área de la lesión tisular como en una zona de la piel alejada del órgano o músculo que está afectado, se denomina referida (Sandkuhler 2009). Otra variante es la **alodinia**, un tipo de hiperalgesia en la cual existe dolor ocasionado por estímulos que no producirían dolor en un individuo normal (Boyd et al., 1994; Sandkuhler 2009).

La **tolerancia** a un fármaco es definida como la pérdida o disminución del efecto terapéutico de dicho fármaco tras su exposición única o repetida, lo que conlleva la necesidad de aumentar la dosis para mantener el mismo efecto (Bekhit 2010). De forma práctica clasificamos la tolerancia como **tolerancia aguda** que se desarrolla en el transcurso de horas, como por ejemplo durante la infusión continua de remifentanilo;

tolerancia retardada, la que se produce tras varios días de tratamiento, caso del dolor postoperatorio; y **tolerancia crónica**, que ocurriría a las semanas o meses de iniciar un tratamiento, como en pacientes con dolor crónico por cáncer.

Existe también la **tolerancia cruzada**, fenómeno por el cual, la administración de un fármaco modifica el efecto de otro administrado a continuación, condicionándose el desarrollo de tolerancia del segundo fármaco. Normalmente ocurre en fármacos con mecanismos de acción comunes, caso de los opioides. La tolerancia cruzada puede ocurrir a corto plazo (aguda), aumento de las necesidades de morfina tras administración de remifentanilo intraoperatorio (Cooper et al., 1997); o a largo plazo, en tratamientos analgésicos crónicos por cáncer cuando se desarrollan estrategias de rotación de opioides (Mercadante et al., 2009).

Hay que diferenciar tolerancia farmacocinética de tolerancia farmacodinámica. La **tolerancia farmacocinética** implica diferencias en distribución o metabolismo del fármaco que produciría menores concentraciones plasmáticas o en el receptor (Bekhit 2010), dicha tolerancia no se ha observado en opioides (Ouellet et al., 1997). La **tolerancia farmacodinámica** refleja cambios en cómo el sistema es afectado por el opioide, cambios en densidad de receptores o desensibilización de los mismos, traduciéndose en desensibilización de las vías antinociceptivas (Bekhit 2010).

Para diferenciar **tolerancia e hiperalgesia** debemos tener en cuenta que en el caso de la tolerancia se necesita más cantidad de fármaco para producir la misma analgesia, pero no se produce más dolor ante un estímulo; mientras que la hiperalgesia produce una respuesta nociceptiva mayor ante el mismo estímulo doloroso. En el caso de la tolerancia se produce una desensibilización de las vías antinociceptivas, además de una sensibilización de vías pronociceptivas. Recientemente se aboga por un uso diferenciado de ambos fenómenos (Richebe et al., 2012).

TRANSMISIÓN NOCICEPTIVA

Los nociceptores o fibras aferentes primarias son receptores sensoriales capaces de detectar los estímulos térmicos, mecánicos o químicos de un estímulo nocivo, traducirlo y codificarlo (Basbaum et al., 2009; Sandkuhler 2009). Los cuerpos celulares de los nociceptores se localizan en el ADME. Tienen un axón periférico y otro central que son bioquímicamente equivalentes. Se clasifican según su estructura como fibras A δ de mediano calibre, mielinizadas que median el dolor rápido y bien localizado y las fibras C de pequeño calibre, sin mielina que transmiten el dolor lento y pobremente localizado. Según se expresen distintos canales se confiere sensibilidad al calor (receptor de potencial transitorio V1 o TRPV1), frío (receptor de potencial transitorio M8 o TRPM8), medio ácido (canales iónicos sensibles a la acidez o ASIC) o irritantes químicos (receptor de potencial transitorio A o TRPA). Habría un tercer tipo de fibras nerviosas aferentes, las fibras A β que transmiten el tacto.

La señal nociceptiva transducida por el terminal de la fibra aferente primaria genera un potencial de acción que se propagará por la activación de los canales iónicos de sodio, potasio y calcio hasta hacer sinapsis en el ADME (Basbaum et al., 2009) a distintas profundidades (láminas) según el tipo de nociceptor.

Las fibras A δ llegan a las láminas I y V, las C a las I y II (más superficiales). En este punto realizan la sinapsis con las neuronas de segundo orden para dirigirse a centros superiores. En circunstancias normales en estas sinapsis se producen potenciales postsinápticos de corta duración mediados por transmisores excitatorios como el glutamato que actúan sobre receptores N-metil-D-aspartato (NMDA) y otros (AMPA/kainato) y por péptidos como la sustancia P que actúa sobre receptores de neuroquinina 1 (NK-1) entre otros. Siendo aquí donde se producen los principales fenómenos de modulación de la información nociceptiva gracias a las interneuronas localizadas en el ADME.

Desde las láminas I y V de la médula espinal (M.E.) se transmiten los estímulos dolorosos hasta las estructuras corticales a través de las vías ascendentes o neuronas de segundo orden, destacando las del tracto espinotalámico y espinoreticulotalámico llegando al tálamo directamente o pasando por el bulbo raquídeo (tronco encefálico) respectivamente. En la corteza cerebral se activan distintas estructuras asociadas a las propiedades discriminativas sensoriales y a los aspectos emocionales del dolor.

MODULACIÓN NOCICEPTIVA

Existe un sistema de control del dolor que produce la inhibición de la percepción dolorosa, siendo dicha modulación bidireccional; es decir, la sensación dolorosa puede ser suprimida o exacerbada. La modulación nociceptiva se produce por tres mecanismos fundamentales: inhibición segmental, sistema opioide endógeno y sistema inhibitorio descendente.

Inhibición segmental: en el ADME se localizan una serie de interneuronas que modulan la transmisión de la información; pueden ser excitatorias, mediadas por glutamato; inhibitorias, mediadas por ácido γ -aminobutírico (GABA); o fibras descendentes supraespinales (excitatorias e inhibitorias).

En circunstancias normales las interneuronas inhibitorias disminuyen o incluso bloquean la transmisión de la información interviniendo en la sinapsis entre las fibras nerviosas aferentes y las células del ADME (teoría del control de puerta). Las fibras A δ y C también realizan sinapsis con estas interneuronas inhibitorias inhibiendo su acción. Mientras que las fibras A β , asociadas a mecanorreceptores de bajo umbral, activan dichas neuronas inhibitorias inhibiendo la transmisión sináptica (Patel 2010).

Sistema opioide endógeno: constituido por encefalinas, dinorfinas y endorfinas. Todas ellas se unen a los receptores de la periferia, la M.E. y el cerebro participando en la modulación de la nocicepción mediante la inhibición local de neurotransmisores excitatorios, como por ejemplo glutamato y sustancia P (Patel 2010).

Sistema nervioso inhibitorio descendente: las fibras nerviosas descendentes parten desde áreas del tronco encefálico (sustancia gris periacueductal y médula rostral ventromedial) hacia la M.E. Estas vías pueden ser activadas por un suceso estresante (dolor, miedo) produciendo efectos analgésicos, conocida como analgesia inducida por estrés, modulando la actividad neuronal y controlando el ascenso de la información nociceptiva al cerebro. Los principales neurotransmisores son serotonina y noradrenalina (Patel 2010). Paradójicamente la activación de estas vías suprime el neurotransmisor GABA producida por las interneuronas inhibitorias, conduciendo a una desensibilización local y a un potencial aumento en la percepción del dolor.

FISIOPATOLOGÍA DE LA SENSIBILIZACIÓN CENTRAL Y PERIFÉRICA

Cuando el estímulo nociceptivo es permanente y se asocia a inflamación o daño nervioso, se producen cambios dinámicos en el sistema nervioso central y periférico que dan lugar a fenómenos de hiperalgesia; denominándose **dolor patológico**. En su forma aguda es un mecanismo de protección, evitando futuros daños y facilitando su reparación. Si el estímulo doloroso continua se producen cambios fisiopatológicos a largo plazo que reducen la intensidad del estímulo requerida para producir dolor. El proceso de sensibilización es producido por un aumento en la respuesta de las neuronas nociceptivas a la entrada normal de estímulos nociceptivos, y/o en respuesta a estímulos nociceptivos normalmente bajo el umbral de respuesta (Boyd et al., 1994).

Sensibilización periférica: se producen cambios en las propiedades de los nervios periféricos, por daño de las propias fibras o en su conducción. La lesión tisular va acompañada de inflamación por la acumulación de factores endógenos liberados por nociceptores y por células no neurales. Esta sopa inflamatoria incluye neurotransmisores, péptidos (sustancia P), eicosanoides y sustancias relacionadas (prostaglandinas), neurotropinas, citoquinas, etc. Entre ellas, el factor de crecimiento neuronal (NGF) activa las fibras C produciendo hipersensibilidad mecánica y al calor. Por otro lado, las interleuquinas (IL)1 β y 6, y el factor de necrosis tumoral (TNF- α) potencian la respuesta inflamatoria estimulando la producción de sustancias proalgésicas. Todas estas moléculas activan canales tipo TRPV1, TRPA1 y ASIC en los nociceptores (Basbaum et al., 2009).

Sensibilización central: se trata de un aumento en la respuesta de las neuronas nociceptoras del SNC ante estímulos nociceptivos aferentes normales, supraumbrales o por debajo de su umbral (Boyd et al., 1994), lo que da lugar a un aumento en el procesamiento de los mensajes nociceptivos, estableciéndose un estado de hiperexcitabilidad en el SNC (Basbaum et al., 2009).

En la *inducción y mantenimiento de la sensibilización central* juega un papel muy importante el ADME, donde se producen una serie de mecanismos (Sandkuhler 2009):

- **Potenciación a largo plazo de la potencia sináptica (LTP):** es una intensificación duradera de la señal nociceptiva en la sinapsis entre las fibras C aferentes y las neuronas de la superficie del ADME producidas por cambios

presinápticos y postsinápticos. Un daño tisular severo y constante produce una mayor liberación a nivel central de sustancias excitatorias (glutamato, sustancia P). La suma espacial y temporal de estos potenciales excitatorios originan sensibilización central. Hay múltiples mecanismos implicados en la LTP: síntesis y liberación de neurotransmisores, cambios de densidad, distribución y activación de los receptores de estos neurotransmisores entre otros (Sandkuhler et al., 2012). Se expresa preferencialmente en la sinapsis de las fibras aferentes primarias nociceptivas con las proyecciones neuronales de la lámina I que expresan receptores NK-1 (Nichols et al., 1999; Ikeda et al., 2003).

- **Plasticidad intrínseca neuronal:** cambios en la excitabilidad de la membrana de las neuronas de la M.E. que producen una alteración en su patrón normal de descarga de los potenciales de acción. Están involucrados los canales de sodio y potasio dependientes de voltaje (Sandkuhler 2009).

- **Cambios en el control inhibitorio:** muchos mecanismos se encuentran implicados, siendo el más evidente el aumento de calcio (Ikeda et al., 2003; Kim et al., 2008) y la sensibilización central mediada por glutamato y receptores NMDA (Basbaum et al. 2009). El glutamato se libera en las terminaciones centrales de los nociceptores generando una corriente excitatoria postsináptica en la neurona de segundo orden a través de receptores glutaminérgicos tipo AMPA y kainato. Este mecanismo es silente en circunstancias normales, activándose al producirse una lesión. La suma de estas corrientes postsinápticas puede disparar un potencial de acción y aumentar la fuerza de las conexiones sinápticas entre los nociceptores y las neuronas del ADME; exacerbándose así la respuesta al estímulo nocivo (hiperalgesia), así como la respuesta a un estímulo no nocivo por facilitación heterosináptica con las fibras A β (alodinia).

- **Modulación descendente:** se estimula la facilitación descendente y se reduce la inhibición descendente (Sandkuhler 2009).

Recientemente se ha visto que las células gliales, especialmente glia y astrocitos, están implicados en el desencadenamiento y perpetuación de la sensibilización central.

La microglía en presencia de lesión nerviosa, se acumula en la terminación de los nervios periféricos dañados del ADME y alrededor de los cuerpos celulares de las motoneuronas dañadas en el asta ventral. Su activación produce la liberación de citoquinas (TNF- α , IL- β e IL-6), aumentando la sensibilización central neuronal y la hiperalgesia. Los astrocitos, con una activación más tardía y duradera, están implicados en el mantenimiento de dicha sensibilización (Basbaum et al., 2009). Ambos tipos celulares se activan también en el tronco del encéfalo estimulando la facilitación descendente.

OPIOIDES: TOLERANCIA AGUDA A OPIOIDES (TAO) E HIPERALGESIA INDUCIDA POR OPIOIDES (HIO)

En procedimientos quirúrgicos los fármacos anestésicos actualmente más utilizados son los anestésicos inhalatorios (Palmer et al., 2010), siendo los opioides los analgésicos usados preferentemente en los procedimientos dolorosos (Palmer et al., 2010). Actualmente está muy extendido el uso intraoperatorio de remifentanilo y fentanilo en infusión continua debido a su limitado metabolismo y, por tanto, corta duración (Palmer et al., 2010). El remifentanilo sufre una rápida eliminación por esterasas plasmáticas, teniendo una recuperación más rápida que el fentanilo, aunque produce mayor afectación cardiovascular (bradicardia, hipotensión) (Komatsu et al., 2007). Los opioides actúan al unirse al receptor μ inhibiendo por hiperpolarización la proteína G, evitando las interacciones de canales iónicos. A pesar de ser excelentes analgésicos se han descrito fenómenos de tolerancia e hiperalgesia que se manifiestan como aumento del dolor y necesidades de analgésicos durante el período postoperatorio (Guignard et al., 2000; Komatsu et al., 2007).

La hiperalgesia inducida por opioides (HIO) supone un desafío clínico además de la respuesta paradójica que supone el aumento de la percepción de dolor, en lugar de su reducción. Los mecanismos que desencadenan esta respuesta son similares a los que subyacen en el desarrollo de tolerancia (Dietis et al., 2009). Se ha demostrado como el

remifentanilo, al igual que otros opioides, actúa sobre una subpoblación de neuronas espinales que producen un aumento de **receptores NMDA** dando lugar al desarrollo de hiperalgesia y tolerancia (Zhao et Joo, 2008).

La modulación de las vías descendentes del tronco cerebral también está implicada en el desarrollo de HIO, ya que se produce un cambio en el equilibrio entre el control inhibitorio descendente hacia sistemas pronociceptivos, estando implicados los **receptores de serotonina 5-HT₃ y 5-HT₂** (Bannister et al., 2009). Se ha propuesto, que éstas vías pueden ser evitadas por la activación de los receptores δ , además de los μ , empleando la unión de fármacos bivalentes, como oximorfina(agonista μ)-naltrindol(agonista δ) (Dietis et al., 2009). Previamente, ya se había investigado la posibilidad de que la **colecistoquinina** (péptido pronociceptivo), podría facilitar tales vías descendentes, con lo que un antagonista podría ser útil para evitar la HIO (Xie et al., 2005).

Se ha demostrado que las células del ADME que expresan el **receptor NK-1** involucradas en HIO y TAO pueden ser abolidas mediante inyección intratecal de SP-saporina, reduciéndose ambos fenómenos (Vera et al., 2007), pudiendo interactuar con los receptores NMDA.

Los fenómenos de HIO y tolerancia también se han descrito por la activación de receptores periféricos como el **TRPV1**. Estudiándose su funcionamiento con ratones normales y knock-out para dicho receptor; así como tratando a los que si presentaban el receptor, tras el desarrollo de HIO, con un antagonista TRPV1 (Vardanyan et al., 2009). En ratones tratados con morfina crónicamente se ha informado del aumento de citoquinas tras la realización de una incisión en piel, que no ocurría si no se trataban previamente con opioides; por lo que este aumento de citoquinas podría influir en el desarrollo de HIO, que si se controlase podría favorecer la disminución del dolor (Liang et al., 2008). No obstante, no solo se produce un aumento de factores de la inflamación periféricamente, sino que a nivel de las células de la microglia se produce un aumento de NO, TNF- α e interleukinas, que contribuye a la tolerancia a opioides (Merighi et al., 2013). En ratas a las que se indujo dolor neuropático se observó el desarrollo de tolerancia a opioides sistémicos y locales (He et al., 2013).

Centrándonos en el remifentanilo, se han descrito en ratas fenómenos de tolerancia a este fármaco mediante la disminución de la reducción de la Concentración Alveolar Mínima (CAM) de sevoflurano (Gómez de Segura et al., 2009). En ratones no parece producirse el desarrollo de hiperalgesia o tolerancia mediante la administración prolongada de remifentanilo (Ishii et al., 2013).

Aunque con todos los opioides se induce hipersensibilidad dosis dependiente, la exposición a opioides de corta duración parece producir mayores puntuaciones de dolor en el periodo postoperatorio, aumentando las necesidades de morfina e hipersensibilidad al dolor (Guignard et al., 2000; Angst et al., 2003; Koppert and Schmelz, 2007). Una dosis alta de remifentanilo en infusión continua intraoperatoria parece inducir más rápida y frecuente hiperalgesia postoperatoria que la administración de opioides de larga duración (Joly et al., 2005; Koppert and Schmelz, 2007). Concordando con la observación clínica de mayor dolor y necesidad de morfina en el postoperatorio tras la administración de remifentanilo (Guignard et al., 2000,2002).

En los tres estudios publicados hasta el momento sobre el desarrollo de TAO en perros, la valoración se ha realizado bajo anestesia, utilizando la evaluación de las necesidades de anestésico inhalatorio (valoración de la CAM) como parámetro indicativo de TAO. Un incremento de estas necesidades se considera indicativo de desarrollo de TAO. Reilly et al. (2013), administraron fentanilo en infusión continua en perros anestesiados con sevoflurano. Emplearon tres dosis distintas de fentanilo, produciéndose una reducción de la CAM del sevoflurano, sin que pudieran observar la aparición de fenómenos de tolerancia. Anteriormente habían determinado la reducción de CAM de isoflurano con remifentanilo en perros, empleando distintas dosis determinaron que la reducción producida era constante durante 6h de anestesia (Monteiro et al., 2010). No obstante Hall et al. (1987) halló una reducción del 60% de la CAM de enflurano al emplear sufentanilo, que disminuía con el tiempo.

La hipótesis que se plantea es que el remifentanilo es capaz de reducir la CAM de sevoflurano, pero la aparición de TAO producirá una disminución de dicha reducción. Adicionalmente, la administración continua de remifentanilo en el perro podría inducir hiperalgesia, dando lugar a una reducción del umbral nociceptivo manifestado en una mayor respuesta ante un estímulo mecánico no doloroso.

OBJETIVOS

1. Evaluar la disminución en la reducción en la CAM de sevoflurano producida por una infusión continua de remifentanilo.
2. Evaluar la presencia de tolerancia aguda a remifentanilo, manifestada en un incremento en el tiempo de la CAM de sevoflurano.
3. Evaluar la presencia de hiperalgesia inducida por remifentanilo, manifestada como una reducción del umbral nociceptivo, mediante la aplicación de estímulos mecánicos y/o incremento de la CAM de sevoflurano una semana posterior a la administración de remifentanilo.

MATERIAL Y MÉTODOS

Todos los procedimientos realizados fueron aprobados por el Comité de ética de la Universidad de Córdoba y cumplen los requerimientos y normativas de bienestar de la legislación vigente (Directiva 2010/63/UE del Parlamento Europeo y del Consejo de 22 de septiembre de 2010 relativa a la protección de los animales utilizados para fines científicos).

En este estudio experimental se emplearon 9 perros de raza Beagle (5 hembras y 4 machos, de 13 ± 1.5 kg y 5-6 años de edad) por grupo de estudio, alojados en igualdad de condiciones, vigilándose su buen estado físico, así como un estado de ausencia de causas nociceptivas (no existiendo ninguna patología/lesión dolorosa que pudiera alterar los resultados).

Se realizó un estímulo mecánico (RS) mediante aplicación de fuerza en forma de presión con un dinamómetro (PCE-FB50®, PCE Ibérica) de manera estandarizada, siendo aplicado siempre por las dos mismas personas, en el mismo lugar tranquilo y en ausencia de estímulos que pudieran distraer al animal. Una persona aplicaba el dinamómetro mientras la otra sujetaba la extremidad contralateral para evitar cambios de apoyos que enmascarasen la respuesta y la cual se encargaba de determinar cuándo se producía una respuesta positiva: el animal se queja, huye, etc. Este dispositivo consta de un sensor de fuerza unido a un vástago metálico, aplicándose la fuerza en un determinado punto óseo, en este caso entre el epicóndilo lateral del húmero y el olecranon. En cada determinación se realizaron tres mediciones, obteniendo el valor medio (Benito de la Víbora et al., 2008).

El estímulo mecánico se determinó antes de la primera anestesia (RSb), a los 3 días (RS3) y a los 7 días (RS7), midiéndose en Newtons la fuerza ejercida. Considerándose una reducción del umbral nociceptivo, que pudiera ser debido a hiperalgesia, si se produce una disminución de la cantidad de Newtons ejercidos a los 3 y/o 7 días con respecto al valor basal.

El estudio se dividió en dos fases, ya que los 9 animales participaban tanto en el grupo control como en el grupo del remifentanilo. De forma aleatoria se seleccionaron los animales que en una fase recibieron remifentanilo o salino y al contrario.

En orden de evitar influencias del ritmo circadiano en la CAM, el estudio se inició cada día a las 8am.

Tras determinar la RSb, se rasuró la arteria metatarsiana y se aplicó crema anestésica EMLA para evitar el estímulo doloroso de la arteroclisis. También se rasuró la vena cefálica derecha.

Los animales se mantuvieron bajo anestesia general con sevoflurano. Se eligió este gas anestésico por favorecer unas inducciones más suaves y ser un gas de mejor olor y menos irritativo para las vías aéreas que el isoflurano. La inducción se realizó mediante mascarilla con O₂ al 100% 4l/min y sevoflurano al 5%. Tras la intubación orotraqueal, se administró sevoflurano para mantener una CAM de referencia (2.4%) (Kazama et Ikeda, 1988), manteniendo una FiO₂ del 50% y un flujo de 1l/min. Se realizó la venoclisis y se administró fluidoterapia con suero salino a 3ml/kg/h. Se cateterizó la arteria metatarsiana para determinar la presión arterial invasiva. Se realizó el sondaje urinario para evitar posibles estímulos procedentes de la dilatación de la vejiga.

Se monitorizaron los siguientes parámetros cardiovasculares y respiratorios: CO₂ espirado (EtCO₂), porcentaje de sevoflurano espirado (EtSevo), porcentaje de saturación de oxígeno (SpO₂), electrocardiografía (ECG), presión arterial invasiva (PA) y temperatura (T^a) (Monitor Multiparamétrico DatexOhmeda®, GE Healthcare®, Finlandia). La temperatura se mantuvo entre 37°C y 38°C con la ayuda de una manta de aire caliente.

Para mantener normocapnia, los animales se ventilaron con ventilación por presión positiva intermitente (VPPI), con un volumen tidal de 10-12ml/kg, frecuencia respiratoria de 15-20 rpm, relación inspiración-espriación 1:2, presión vías aéreas máxima de 20mmHg.

Antes de determinar cada CAM se tomó una muestra de sangre arterial para determinar pH, PaO₂, PaCO₂ (GasometerCiba-Corning, Modelo 850 Chiron Diagnostic).

Para la determinación de la CAM se realizó un estímulo eléctrico mediante la aplicación de dos estímulos simples seguidos de dos estímulos continuos de 5segundos de duración, separados entre ellos 5segundos, a 50V, 50Hz; para lo que se colocaron

dos agujas de 25G subcutáneas separadas 5cm. entre sí en la zona lateral del cúbito y a 5cm. del olecranon (Grass S-48) (Valverde et al., 2003). Se consideró una respuesta positiva el movimiento de las extremidades, cola, cuerpo o cabeza, y fue negativa cuando el animal no mostró movimiento. Se consideró negativo la vocalización, jadeo o cambios cardiorrespiratorios. Tras una respuesta positiva se incrementó EtSevo 0.2%, y se disminuyó en la misma proporción si la respuesta fue negativa. El valor de CAM final fue el intermedio entre dos valores negativos y dos positivos. La valoración de la respuesta se realizó siempre por la misma persona, disminuyendo así la variabilidad debida a subjetividad, ya que no era posible una valoración ciega porque la CAM fue notablemente más baja al aplicar el remifentanilo.

Tras quince minutos de estabilización, se determinó la primera CAM (CAMb1). Posteriormente se inició la administración en infusión continua (CRI) de remifentanilo (3µg/kg/min) o suero salino (mismo volumen). Veinte minutos tras el inicio de la CRI se determinó la CAMpostfarm1. Posteriormente no se aplicó ningún estímulo en treinta minutos, y tras este periodo se volvió a determinar la CAMpostfarm2. Tras la última determinación, se detuvo la administración de sevofluorano manteniendo la administración de O₂ al 100%. Se realizó la extubación endotraqueal cuando recuperaron los reflejos laríngeos y deglutor.

Una semana después de la primera anestesia se realizó una segunda anestesia, de la misma forma, con la finalidad de determinar la CAMb2.

Transcurrió un mes para realizar la segunda fase, en que los animales recibieron el tratamiento opuesto.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se utilizó el programa estadístico SPSS versión 15.0.

Se evaluó la normalidad de los datos obtenidos mediante la aplicación del test de Kolmogorof Smirnof.

1. Comparación de CAMs y de la respuesta a estímulo mecánico (RS):
 - a. Comparación de las CAMs: CAMb1, CAMpostfarm1, CAMpostfarm2 y CAMb2 en cada grupo y entre grupos (salino y remifentanilo).
 - b. Comparación de la respuesta a estímulo mecánico: RSb, RS3 y RS7 en cada grupo y entre grupos (salino y remifentanilo).

En los datos que se consideraron normales, aportándose como media \pm desviación estándar; se realizó un ANOVA de dos vías siendo los dos factores considerados tiempo y grupo. En el caso de encontrarse diferencias significativas, se aplicó una prueba t para muestras relacionadas.

2. Comparación de parámetros cardiorrespiratorios y ácido-base.

Se compararon los parámetros FC, FR, PAI, T^a, pH, PaCO₂, PaO₂ entre los períodos de determinación de cada CAM dentro de cada grupo. En los datos que se consideraron normales, aportándose como media \pm desviación estándar; se realizó un ANOVA de una vía seguido de un post-hoc de Bonferroni.

3. Comparación de los tiempos de determinación de las CAMs entre grupos y dentro de cada grupo. Estos datos se consideraron no paramétricos, por lo que se aportan como mediana (rango). Se realizó un test de Friedman.

Se consideraron diferencias estadísticas cuando el valor $p \geq 0.05$.

RESULTADOS

Determinación de la CAM:

Los puntos que se evalúan son CAMb1, CAMpostfarm1, CAMpostfarm2, CAMb2 tanto en el grupo remifentanilo como en el grupo salino.

ESTADÍSTICOS DESCRIPTIVOS PARA LA CAM. GRUPO REMIFENTANILO.

N=9	Media	Desviación Típica
CAMb1	2,78	0,38
CAMpostfarm1	1,55*	0,24
CAMpostfarm2	1,71	0,43
CAMb2	2,89	0,38

* Diferencia significativa entre CAMb1 y CAMpostfarm1.

ESTADÍSTICOS DESCRIPTIVOS PARA LA CAM. GRUPO SALINO.

N=9	Media	Desviación Típica
CAMb1	2,78	0,38
CAMpostfarm1	2,90	0,27
CAMpostfarm2	3,03	0,26
CAMb2	2,86	0,36

Para determinar la reducción de la CAM de sevoflurano producida por la infusión continua de remifentanilo, se compararon los valores de CAMb1 vs

CAMpostfarm1, determinándose una reducción significativa del 43.7% en el grupo remifentanilo. No se encontraron diferencias significativas en el grupo salino.

Para determinar la presencia o ausencia de tolerancia aguda inducida por la administración de remifentanilo, se compararon los valores de CAMpostfarm1 vs CAMpostfarm2 en cada grupo. No se encontraron diferencias significativas en ninguno de los dos grupos, remifentanilo (p 0.389) o salino (p 0.104), por lo que no se evidenciaron indicios de tolerancia aguda con la infusión de remifentanilo.

Para determinar la presencia o ausencia de hiperalgesia inducida por la administración de remifentanilo, se compararon los valores de CAMb1 vs CAMb2 en cada grupo. No se encontraron diferencias significativas en ninguno de los dos grupos, remifentanilo (p 0.572) o salino (p 0.535), por lo que no se evidenciaron indicios de hiperalgesia con la infusión de remifentanilo.

Determinación del estímulo mecánico:

También para evaluar el fenómeno de hiperalgesia inducida por remifentanilo, se valoró la respuesta a estímulos mecánicos nociceptivos, comparándose la respuesta basal (RSb) vs a los tres días posteriores (RS3) vs a los 7 días posteriores (RS7) en cada uno de los grupos.

ESTADÍSTICOS DESCRIPTIVOS RS. GRUPO REMIFENTANILO.

N=9	Media	Desviación Típica
RSb	24,9	7,7
RS3	23,8	5,3
RS7	23,1	3,7

ESTADÍSTICOS DESCRIPTIVOS RS. GRUPO SALINO.

N=9	Media	Desviación Típica
RSb	23,0	4,0
RS3	22,6	4,0
RS7	26,3	5,6

No se encontraron diferencias significativas entre los tres puntos medidos en ninguno de los dos grupos estudiados ni entre grupos. No se pudo demostrar la presencia de hiperalgesia a los 3 o 7 días en este estudio.

Parámetros cardio-respiratorios:

En orden de poder asegurar que no han existido otros factores que hayan influenciado la determinación de las distintas CAM en cada grupo, se han registrado los valores de FC, PAM, T^a, pH, PaCO₂, PaO₂, manteniendo así las mismas condiciones para todo el estudio. Para ello, en cada grupo se ha realizado una ANOVA de una vía comparando el valor medio de cada parámetro en cada uno de las cuatro fases (cada fase corresponde a la determinación de una CAM). No se encontraron diferencias estadísticamente significativas en ninguno de estos parámetros entre las diferentes fases de determinación de CAM, ni en el grupo salino ni en el grupo remifentanilo.

REMIFENTANILO	BASAL1	POSTFARM1	POSTFARM2	BASAL2
FC	107±14	78±16*	75±10*	103±15
PAM	78±15	73±11	74±8	80±13
FR	19±3	19±5	20±6	21±8
T ^a	37.68±0.46	37.44±0.48	37.52±0.72	37.60±0.52
pH	7.31±0.48	7.26±0.04	7.29±0.06	7.30±0.04
PaCO ₂	43±3	51±6	48±11	40±7
PaO ₂	276±22	247±44	245±37	248±51

*Diferencia significativa respecto a basal1 y basal2.

SALINO	BASAL1	POSTFARM1	POSTFARM2	BASAL2
FC	107±14	105±13	111±18	105±14
PAM	78±15	82±15	78±16	78±12
FR	19±3	18±3	19±6	20±3
T ^a	37.68±0.46	37.69±0.74	37.85±0.83	37.56±0.75
pH	7.31±0.05	7.33±0.03	7.35±0.04	7.33±0.05
PaCO ₂	43±3	40±0.3	39±4	44±4
PaO ₂	276±22	253±14	256±27	237±25

Tiempos determinación de CAMpostfarm e infusión continua
remifentanilo:

Por último se ha valorado el tiempo que se tardó en determinar cada una de las CAMs en el grupo salino y en el grupo remifentanilo.

TIEMPO TOTAL SALINO POSTFARM1	58 (40-90)
TIEMPO TOTAL SALINO POSTFARM2	73 (37-110)
TIEMPO TOTAL REMIFENTANILO POSTFARM1	61 (40-85)
TIEMPO TOTAL REMIFENTANILO POSTFARM2	64 (45-90)
TIEMPO TOTAL BASAL1	71 (50-90)
TIEMPO TOTAL BASAL2	79 (55-105)

No hubo diferencias significativas entre el tiempo de determinación de la MACpostfarm1 y MACpostfarm2 ni en el grupo remifentanilo ni en el grupo salino. Siendo el tiempo total de administración de remifentanilo de 177 minutos (160-190).

DISCUSIÓN

En el presente estudio se han utilizado estímulos nociceptivos mecánico y eléctrico para determinar la aparición de tolerancia aguda o hiperalgesia inducida por la administración de remifentanilo en infusión continua durante 3 horas.

El estímulo nociceptivo eléctrico se ha aplicado bajo anestesia general con sevoflurano, determinándose la CAM de sevoflurano como referente del umbral nociceptivo. Se considera que un incremento en la CAM de sevoflurano, y por tanto, un incremento en las necesidades de este anestésico inhalatorio, supone una reducción del umbral nociceptivo. La determinación de la CAM se ha realizado según la definición de Eger y Merkel en 1963, siendo la media aritmética de las concentraciones del gas anestésico espirado que previene y permite el movimiento ante estímulos de máxima intensidad, lo que correspondería a una CAM de inmovilidad. Existiendo la CAMbar correspondiente a la CAM del Sistema Nervioso Autónomo, que representa aquella concentración anestésica que inhibe una respuesta autonómica frente a un estímulo quirúrgico. Según el fármaco empleado, por ejemplo, con el uso de sufentanilo (agonista opioide) hay diferencias en el patrón de reducción de ambas CAM, lo que puede ser causado por cambios hemodinámicos que alteran la respuesta autónoma sin modificar la nocicepción, por lo que no siempre puede resultar fiable la CAMbar a este propósito (Docquier et al., 2003), motivo por el cual hemos usado la CAM de inmovilidad.

La principal limitación de la CAM es que al realizarse bajo anestesia el resultado obtenido no es solo debido a la potencia analgésica del fármaco empleado, sino que existen interacciones con el gas halogenado empleado (Docquier et al., 2003). No obstante, los resultados son muy útiles para la práctica anestésica diaria, informando de los requerimientos inhalatorios que producirían los fármacos empleados durante la anestesia; ya que aunque exista dicha interacción durante la experiencia, también existirá en situaciones clínicas reales.

Otros factores que influyen en la determinación de la CAM son: edad, temperatura (Eger et al., 1965), dióxido de carbono, ritmo circadiano, metodología para la determinación de la CAM, hipercapnia, hipoxemia, acidemia o alcalemia (Quasha et al., 1980). Para limitar los factores que influyen en la determinación de la CAM, se

utilizaron perros beagles adultos (4-5 años), todos los experimentos empezaron a las 8a.m., la temperatura fue mantenida mediante manta de aire caliente (37°C-38°C) y se mantuvo al animal con ventilación mecánica en normocapnia (35-45mmHg.) Además se han analizado los distintos parámetros cardiovasculares así como la saturación de gases sanguíneos, no encontrándose diferencias significativas entre los grupos. La diferencia significativa que encontramos entre la FC media durante la determinación de la CAMpostfarm1 y 2 y la CAMb1 y 2 en el grupo del remifentanilo se debe a la aplicación del mismo, factor que no es posible evitar, ya que como opioide produce una depresión cardiovascular que vemos reflejada en esta diferencia de FC.

La reducción en la CAM con la infusión continua de remifentanilo fue del 43.7%, mientras que en un estudio anterior con una dosis similar, la reducción de isoflurano fue del 59±10% (Monteiro et al., 2010). Se conoce la existencia de complejas interacciones entre los fármacos analgésicos y los anestésicos inhalatorios (Docquier et al., 2003), que podrían haber modificado las reducciones encontradas. Además se tratan de diferentes gases anestésicos. Por otro lado, en el citado estudio se utilizaron solo 6 perros mestizos, y dado que la CAM presenta una importante variación individual puede haber influido en la diferente reducción del anestésico encontrada. Por otra parte, el tiempo del estudio es de 6 horas, el doble del tiempo de anestesia que en nuestro estudio, lo que también tiene influencia y puede justificar una menor reducción de la CAM de sevoflurano.

En otro estudio anterior en el que usaban fentanilo, en lugar de remifentanilo, la reducción de CAM de sevoflurano encontrada con infusiones de 3, 6 y 12µg/kg/hora fue del 22, 53 y 57% respectivamente (Reilly et al., 2013). Para este estudio mantuvieron anestesiados 6 perros mestizos durante 8h; los animales empleados, así como el tiempo y el diferente opioide empleado, aunque de potencia similar al remifentanilo, explicaría las diferencias encontradas entre su estudio y el nuestro.

Varios artículos sugieren que el remifentanilo podría inducir TAO y/o HIO (Vinik and Kissin, 1998; Gómez de Segura et al., 2009; Aguado et al., 2011). Muchos autores han documentado que una infusión continua de remifentanilo puede inducir TAO dosis dependiente dentro de las primeras horas de administración en modelos animales (Aguado et al., 2011). Un estudio en humanos sanos sugirió el desarrollo rápido de TAO por una infusión de remifentanilo de 0.1µg/kg/min, que alcanzaba su

efecto máximo a los 60-90 minutos, reduciéndose posteriormente a pesar de mantener dicha infusión, alcanzando un cuarto de su valor máximo a las 3h de infusión. Los estímulos utilizados fueron mecánicos y térmicos (Vinik and Kissin, 1998). Esto estaría en contraposición a los hallazgos de este estudio, donde tras la administración continua de remifentanilo 0.3µg/kg/min durante una media de 3h no se han observado indicios de tolerancia, entendiéndose como incrementos de la CAM de sevoflurano, lo que puede deberse a la diferencia interespecífica, ya que los estudios anteriormente realizados con remifentanilo no empleaban perros, siendo la mayoría de ellos ratas o humanos y/o a los distintos estímulos empleados.

En perros, se encontró TAO tras la administración de sufentanilo a distintas dosis a 25 perros mestizos, durante 4 horas, tras una reducción inicial del 60% de la CAM de enflurano (Hall et al., 1987). Por el contrario, en nuestro estudio durante la administración de remifentanilo no se ha observado el desarrollo de TAO, ya sea debido al diferente opioide empleado, al distinto número y raza de animales y/o al tiempo administrado.

El momento de la determinación es un factor a tener en cuenta, ya que se ha descrito que el periodo postoperatorio inmediato no es el óptimo momento para determinar la HIO (Martinez and Fletcher, 2012), ya que se necesita tiempo, para que se produzcan los cambios de neuroplasticidad necesarios para que se produzca la hiperalgesia. Por lo que se realizaron las determinaciones del estímulo mecánico a los 3 y 7 días postratamiento, así como la determinación de la CAMb2 a la semana, no hallándose diferencias significativas ni respecto al estímulo mecánico realizado el primer día, ni respecto a la CAMb1, no encontrándose indicios de hiperalgesia.

En estudios clínicos observaron como una dosis mayor de infusión intraoperatoria de remifentanilo se asoció a un incremento de las necesidades de opioides en el postoperatorio, así como a mayor dolor (Cooper et al., 1997; Guignard et al., 2000; Joly et al., 2005). Una posible explicación sería el desarrollo de tolerancia aguda por el uso de opioides o una posible HIO en los pacientes expuestos a dosis altas de opioides intraoperatorias (Angst and Clark, 2006). Ambos pueden ser inducidos por la exposición aguda a grandes cantidades de opioides (Guignard et al., 2000). Para este punto, podría haber sido conveniente realizar grupos con distintas dosis de remifentanilo, aunque en un estudio anterior en el que se evaluó la disminución de la

CAM por infusión de remifentanilo a dosis de 0.15, 0.30, 0.60 y 0.90 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ no se encontraron diferencias significativas a lo largo de 6h de infusión, no hallándose tampoco cambios en la CAM postinfusión respecto a la CAM basal (Monteiro et al., 2010). Además en dicho estudio, observaron que por encima de 0.3 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ la reducción de la CAM era menor, consiguiendo solo pequeñas reducciones cuando era triplicada, lo que hace pensar en un efecto techo por encima de esta dosis; motivo por el cual, además de ser comúnmente empleado en la práctica clínica, se escogió esta dosis para nuestro estudio.

La mayoría de los artículos documentan que infusiones continuas de remifentanilo $\geq 0.1\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ inducen TAO e HIO (Vinik and Kissin, 1998; Glass et al., 1999; Guignard et al., 2000; Angst et al., 2003,2009; Koppert et al., 2003a; Joly et al., 2005), que como hemos visto en nuestro caso no se ha visto justificada ya que no hemos encontrado indicios de ninguno de los dos fenómenos, probablemente por diferencias interespecíficas. En el perro, se observó tolerancia aguda cuando se administraron dosis bajas de sufentanilo (0.005-0.405 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$), pero no al incrementarlas (1.215 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$) (Hall et al., 1987), lo que refleja una importante influencia de la cantidad de opiáceo administrada en la aparición de estos fenómenos. Esto justificaría la necesidad de valorar los fenómenos de HIO y TAO cuando se administran dosis inferiores de remifentanilo en el perro.

La infusión continua de remifentanilo de 0.1 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ puede lograr una concentración estable en plasma entre 2.7 y 2.9ng/ml durante dicha infusión (Angst et al., 2003). Una objeción a nuestro estudio sería el no haber podido realizar determinaciones plasmáticas de remifentanilo en plasma a lo largo del mismo; pero teniendo en cuenta la farmacocinética de este opioide con rápidos y predecibles efectos (Glass et al., 1999), teniendo en el perro una vida media de entre 3 y 6 minutos sufriendo metabolización por esterasas plasmáticas sin intervención del hígado (Hoke et al., 1997), se puede decir que su aplicación intravenosa puede asegurar la homogeneidad de concentración plasmática de este fármaco entre los distintos animales.

La HIO puede desarrollarse por diferentes tipos de dolor, producidos mediante estímulo eléctrico, dolor por presión fría y dolor evocado por presión. Estimulación eléctrica transdérmica usada para inducir hiperalgesia mecánica en un experimento de

lesión de piel produjo hiperalgesia en pacientes sanos, tras lo que una exposición a 30-90 minutos de infusión continua de remifentanilo aumentó significativamente la hiperalgesia mecánica preexistente con relación directa a la duración de la infusión (Angst et al., 2003; Koppert et al., 2003a,b). La posibilidad de daño acumulativo en el tejido que se manifieste como TAO o HIO debe ser cuidadosamente excluida (Petrenko et al., 2012). En nuestro estudio, los estímulos realizados fueron iguales tanto en el grupo control como en el que se administró la infusión continua de remifentanilo. Se empleó el estímulo eléctrico para la determinación de la CAM (Valverde et al. 2003), evitándose así la variabilidad por la intensidad aplicada en el clampaje de la cola y se aplicó un estímulo mecánico con un dinamómetro para generar un estímulo no doloroso. El dinamómetro permite determinar de forma objetiva la fuerza empleada, además se realizaron 3 medidas para disminuir el error que pudiera existir (Benito de la Víbora et al., 2008).

El uso del sevoflurano para determinar la existencia de TAO es controvertido, ya que se ha descrito que tanto el propofol como el sevoflurano producen una inhibición de los receptores NMDA neutralizando la estimulación de éstos por el remifentanilo (Fodale et al., 2006), sin embargo, otros autores (Solt et al., 2006) han documentado que el sevoflurano tiene un mínimo efecto inhibitorio sobre los receptores NMDA, los cuales están considerados involucrados en el desarrollo de hiperalgesia (Tompkins and Campbell, 2011). Se considera que concentraciones relativamente bajas de sevoflurano (1.0%) podrían revertir la HIO, pero si se emplean dosis altas de opioides, concentraciones de 1-1.5% de sevoflurano no serían suficientes (Solt et al., 2006; Richebe et al., 2009). Según estos datos, en nuestro estudio, las dosis empleadas de sevoflurano no pudieron enmascarar la posible TAO o HIO producida por la administración de remifentanilo.

A pesar de los recientes estudios sobre el desarrollo de TAO e HIO debido a la administración de remifentanilo, actualmente los resultados son controvertidos. Una revisión reciente (Kim et al., 2014) sobre el uso intraoperatorio de remifentanilo concluyó que de un total de 90 artículos, en la mayoría de los cuales se habían hallado evidencias de HIO y TAO en humana y otras especies animales diferentes al perro, no eran suficientes para justificar un menor uso del remifentanilo o explicar la modulación

de dichos fenómenos por el uso de otros fármacos (propofol, ketamina, etc.) siendo necesario valorar si es posible revertir la hiperalgesia y la tolerancia farmacodinámicamente.

Mientras muchos autores sugieren que pueden inducirlos (Schraag et al., 1999; Hansen et al., 2005); otros han documentado que 3h de infusión de remifentanilo superior a 4ng/ml no se asocia al desarrollo de TAO significativa en un estudio de casos y controles, doble ciego, en humanos (Angst et al., 2009); Cortinez et al. (2001) sugiere que una anestesia basada en remifentanilo 0.23 ± 0.10 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$, con una media de duración de 116minutos no induce TAO cuando se compara con una anestesia basada en sevoflurano en pacientes sometidos a cirugía ginecológica. Aunque en un estudio con $0.4\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ observaron mayor dolor mediante escala visual en las primeras dos horas postoperatorias, no hallando diferencias significativas posteriormente (Hansen et al., 2005).

Las diferencias encontradas en los estudios podrían achacarse a la duración de los mismos, pero en el caso del remifentanilo parece que la duración no altera sus efectos pronociceptivos, mientras que la dosis si (Carbonero et al., 2009). En los estudios para TAO normalmente se realiza una infusión continua de 2-3h, mientras que la HIO se detecta 1h postinfusión (Guignard et al., 2000, 2002; Gómez de Segura et al., 2009; Benito et al., 2010; Aguado et al., 2011; Ishida et al., 2012; Ishii et al., 2013). En recientes estudios con animales se ha demostrado que la infusión continua de remifentanilo intravenosa induce hiperalgesia transitoria asociada con la duración de la infusión (Ishida et al., 2012). Mientras que 30minutos no inducen HIO, 120minutos si la inducen a pesar de la dosis; sin embargo no dura más de 60minutos. Otro estudio documenta que la hiperalgesia inducida por remifentanilo comienza 2h tras la cirugía y alcanza su máximo 24-48h tras la cirugía (Gu et al., 2009).

La aparición de hiperalgesia y el aumento del dolor en el período postoperatorio es lo que actualmente se considera el mayor mecanismo para el desarrollo de dolor crónico (Woolf and Salter, 2000; Wilder-Smith and Arendt-Nielsen, 2006), de ahí la importancia en determinar su existencia.

En animales, se ha descrito en ratas, la tolerancia a remifentanilo mediante la disminución de la reducción de CAM de sevoflurano (Gómez de Segura et al., 2009) así como su reversión mediante la administración de diferentes fármacos (Aguado et al.,

2011, 2012). En ratones no parece haberse hallado evidencia del desarrollo de hiperalgesia o tolerancia mediante la administración prolongada de remifentanilo (Ishii et al., 2013).

Queda un amplio margen de estudio en perros, donde el fentanilo en infusión continua no parece producir tolerancia aguda durante la anestesia con sevoflurano (Reilly et al., 2013). Igualmente, tampoco se evidenciaron cambios sobre la reducción de la CAM de isoflurano tras la administración de remifentanilo (Monteiro et al., 2010). Mientras que en el estudio de Hall et al. (1987) con sufentanilo si parecía desarrollarse a bajas dosis.

Como se puede observar existe una vasta bibliografía sobre tolerancia e hiperalgesia inducidas por opioides en la que se encuentran datos que argumentan tanto a favor como en contra de su desarrollo, buscando en los casos donde se ha determinado su presencia métodos farmacológicos para su corrección. No obstante, no se puede olvidar la variabilidad especie-específica por lo que es de suma importancia valorar la especie con la que se está trabajando en cada momento, así como el fármaco opioide usado, el tiempo de administración, la dosis empleada, el tipo de estímulo utilizado y el método de determinación de los fenómenos de HIO y TAO.

En nuestro estudio, no se evidenció la aparición de TAO o HIO en perros anestesiados con sevoflurano tras la administración de remifentanilo a dosis de 0.3mcg/kg/min durante 3horas, valorándose estos fenómenos mediante cambios en la CAM frente a la administración de estímulos eléctricos (valoración de TAO e HIO), así como cambios en el umbral nociceptivo en respuesta a estímulos mecánicos (HIO).

CONCLUSIONES

1. La administración de remifentanilo en infusión continua a dosis de 0.3mcg/kg/min durante la anestesia general con sevoflurano en el perro, redujo las necesidades del gas anestésico en un 43.7%.
2. La administración de remifentanilo en infusión continua a dosis de 0.3mcg/kg/min durante 3horas en el perro no produjo cambios en la MAC de sevoflurano. Por lo tanto, en este estudio, a las dosis y tiempos estudiados, se ha demostrado la ausencia de tolerancia aguda inducida por remifentanilo.
3. La administración de remifentanilo en infusión continua a dosis de 0.3mcg/kg/min durante 3horas en el perro no produjo cambios en el umbral nociceptivo frente a estímulos mecánicos a los 3 ni a los 7 días posteriores. Tampoco produjo cambios en los requerimientos de sevoflurano durante la aplicación de un estímulo eléctrico a los 7 días. Por lo tanto, en este estudio, a las dosis y tiempos estudiados, se ha demostrado la ausencia de hiperalgesia inducida por remifentanilo.

RESUMEN

Se ha relacionado el remifentanilo con la hiperalgesia inducida por opioides (HIO) y tolerancia en ratas, lo cual produce una disminución en la reducción de sevofluorano. Esta disminución en la CAM de sevofluorano sugiere tolerancia aguda a opioides (TAO). El objetivo de este estudio es determinar si se puede desarrollar tolerancia aguda a opioides que limite la reducción de concentración alveolar mínima (CAM) de sevofluorano. La respuesta a estímulos nociceptivos mecánicos es evaluada y relacionada a HIO.

Se evalúan mediante estímulos nociceptivos mecánicos (NMT) perros beagles, tras lo que se realiza anestesia con sevofluorano y 50% O₂, se monitorizan y ventilan mecánicamente. Se determina la CAM de sevofluorano (CAMb1), tras lo que se administra remifentanilo (N=9) o salino (N=9) intravenoso. Veinte minutos después se determina de nuevo la CAM de sevofluorano (CAMpostfarm1) y treinta minutos después de la CAMpostfarm1 se determina la CAMpostfarm2. Una semana después, se determina la CAMb2. El NMT se determina a los 3 y 7 días de la primera anestesia para evaluar la HIO. Se considera TAO un aumento estadísticamente significativo de la CAMpostfarm2 respecto a la CAMpostfarm1 de sevofluorano. Hiperalgesia es considerada si hay una disminución del NMT a los días 3 y 7 y/o un aumento en la CAMb2 respecto a la CAMb1.

La infusión continua de remifentanilo reduce la CAMpostfarm1 a $1.54 \pm 0.23\%$ (43.7%). No se encuentran diferencias significativas entre la CAMpostfarm2 respecto a la CAMpostfarm1 ni en el grupo de salino (p 0.104) ni en el de remifentanilo (p 0.389). Tampoco se hallan entre la CAMb1 y CAMb2 (p 0.818) o entre RSb, RS3 y RS7 en ambos grupos.

El remifentanilo induce tolerancia aguda en ratas; pero, en perros, la eficacia en reducir la CAM de sevofluorano no disminuye, sugiriendo que no se induce TAO. Ni produciéndose hiperalgesia en una semana.

Palabras clave:

Tolerancia, hiperalgesia, remifentanilo, opioide, perro.

SUMMARY

Remifentanil has been related to the development of opioid-induced hyperalgesia (OIH) and tolerance in rats, which, in turn, may produce a decrease in the sevoflurane-sparing effect. The decrease of the remifentanil efficacy in reducing the sevoflurane MAC in rats suggested acute opioid tolerance. The aim of this study was to determine if acute opioid tolerance could develop and limit the remifentanil-induced reduction in the sevoflurane minimum alveolar concentration (MAC). The response to mechanical nociceptive stimulus was evaluated and related to OIH.

Beagle dogs were evaluated for nociceptive mechanical thresholds (NMT), then were anaesthetized with sevoflurane in 50% O₂ and were monitored and mechanically ventilated. The sevoflurane MAC was determined (MAC_{b1}). Remifentanil (N=9) or saline (N=9) were administered IV and twenty minutes after, sevoflurane MAC was determined (MAC_{postfarm1}) and again 30 minutes (MAC_{postfarm2}) after MAC_{postfarm1} determination. One week after, sevoflurane MAC (MAC_{b2}) was determined. The NMT was also determined at 3 and 7 days after the first anesthesia to evaluate OIH. Acute opioid tolerance was considered to be a statistically significant increase in sevoflurane MAC_{postfarm2} respect to MAC_{postfarm1}. Hyperalgesia was considered to be a decrease in NMT at 3 and 7 days and/or an increase in MAC_{b2} respect to MAC_{b1}.

The remifentanil CRI reduced the sevoflurane MAC_{postfarm1} to 1.54 ± 0.23 (43.7%). The MAC_{postfarm2} was not different with respect to MAC_{postfarm1} either in saline (p 0.104) or remifentanil (p 0.389) groups. No significant differences were found between MAC_{b1} and MAC_{b2} (p 0.818) or between baseline, 3 and 7 days for NMT in S or R groups.

Remifentanil induced acute tolerance in rats; but remifentanil efficacy in reducing the sevoflurane MAC did not diminished within a short term, suggesting that remifentanil did not induced acute tolerance in dogs. Remifentanil did not develop hyperalgesia one week after administration.

Key words:

Tolerance, hyperalgesia, remifentanil, opioid, dog.

BIBLIOGRAFÍA

1. Aguado D, Abreu M, Benito J, García-Fernández J and Gómez de Segura IA (2011). Ketamine and remifentanil interactions on the sevoflurane minimum alveolar concentration and acute opioid tolerance in the rat. *Anesth Analg*, 113: 505-512.
2. Aguado D, Abreu M, Benito J, García-Fernández J and Gómez de Segura IA (2012). The effects of gabapentin on acute opioid tolerance to remifentanil under sevoflurane anesthesia in rats. *Anesth Analg*, 115: 40-45.
3. Angst MS and Clark JD (2006). Opioid-induced hyperalgesia: a qualitative systematic review. *Anesthesiology*, 104: 570-587.
4. Angst MS, Koppert W, Pahl I, Clark DJ and Schmelz M (2003). Short-term infusion of the mu-opioid agonist remifentanil in humans causes hyperalgesia during withdrawal. *Pain*, 106: 49-57.
5. Angst MS, Chu LF, Tingle MS, Schafer SL, Clark JD and Drover DR (2009). No evidence for the development of acute tolerance to analgesic, respiratory depressant and sedative opioid effects in humans. *Pain*, 142: 17-26.
6. Bannister K, Bee LA and Dickenson AH (2009). Preclinical and early clinical investigations related to monoaminergic pain modulation. *Neurotherapeutics*, 6: 703-712.
7. Basbaum AI, Bautista DM, Scherrer G and Julius D (2009). Cellular and molecular mechanisms of pain. *Cell*, 139: 267-284.
8. Benito de la Vibora J, Lascelles BDX, García-Fernández P, Freire M and de Segura IA (2008). Efficacy of tolfenamic acid and meloxicam in the control of postoperative pain following ovariohysterectomy in the cat. *Vet Anesth Analg*, 36: 501-510.
9. Benito J, Aguado D, Abreu MB, García-fernández J and Gómez de Segura IA (2010). Remifentanil and cyclooxygenase inhibitors interactions in the minimum alveolar concentration of sevoflurane in the rat. *Br J Anaesth*, 105: 810-817.
10. Boyd DM, Butler M et al. Part III: Pain terms, a current list with definitions and notes on usage. Classification of chronic pain. H. Merskey and N. Bogduk. Seattle, IASP Press; 1994:209-214.

11. Cooper DW, Lindsay SL, Ryall DM, Kokri MS, Eldabe SS and Lear GA (1997). Does intrathecal fentanyl produce acute cross-tolerance to i.v. morphine? *Br J Anaesth*, 78: 311-313.
12. Cortinez LI, Brandes V, Munoz HR, Guerrero ME and Mur M (2001). No clinical evidence of acute opioid tolerance after remifentanil-based anesthesia. *Br J Anaesth*, 87: 866-869.
13. Dietis N, Guerrini R, Calo G, Salvador S, Rowbotham DJ and Lambert DG (2009). Simultaneous targeting of multiple opioids receptors: a strategy to improve side-effect profile. *Br J Anaesth*, 103: 38-49.
14. Docquier MA, Lavand'homme P, Ledermann C, Collet V and De Kock M (2003). Can determining the minimum alveolar anesthetic concentration of volatile anesthetic be used as an objective tool to assess antinociception in animals? *Anesth Analg*, 97: 1033-1039.
15. Egel EI II, Saidman LJ and Brandstater B (1965). Minimum alveolar anesthetic concentration: a standard of anesthetic potency. *Anesthesiology*, 26: 756-763.
16. Fodale V, Pratico C, Tescione M, Tanania S, Lucanto T and Santamaria LB (2006). Evidence of acute tolerance to remifentanil in intensive care but not anesthesia. *J Clin Anaesth*, 18: 293-296.
17. Glass Ps, Gan TJ and Howell S (1999). A review of pharmacokinetics and pharmacodynamics of remifentanil. *Anesth Analg*, 89: S7-S14.
18. Gómez de Segura IA, Benito de la Víbora J and Aguado D (2009). Opioid tolerance blunts the reduction in the sevoflurane minimum alveolar concentration produced by remifentanil in the rat. *Anesthesiology*, 110: 1133-1138.
19. Gu X, Wu X, Liu Y, Cui S and Ma Z (2009). Tyrosine phosphorylation of the N-Methyl-D-Aspartate receptor 2B subunit in spinal cord contributes to remifentanil-induced postoperative hyperalgesia: the preventive effect of ketamine. *Mol Pain*, 5: 76.
20. Guignard B, Bossard AE, Coste C, Sessler DI, Lebrault C, Alfonsi P, Fletcher D and Chauvin M (2000). Acute opioid tolerance-intraoperative remifentanil increases postoperative pain and morphine requirement. *Anesthesiology*, 2: 409-417.
21. Guignard B, Coste C, Costes H, Sessler DI, Lebrault C, Morris W, Simonnet G and Chauvin M (2002). Supplementing desflurane-remifentanil anesthesia with

- small-dose ketamine reduces perioperative opioid analgesic requirements. *Anesth Analg*, 95: 103-108.
22. Hall RI, Murphy MR and Hug CC (1987). The enflurane sparing effect of sufentanil in dogs. *Anesthesiology*, 67: 518-525.
 23. Hansen EG, Duedahl TH, Romsing J, Hilsted KL and Dahl JB (2005). Intraoperative remifentanil might influence pain levels in the immediate postoperative period after major abdominal surgery. *Acta Anaesthesiol Scand*, 49: 1464-1470.
 24. He S, Yang F, Pérez FM, Xu Q, Shechter R, Cheong Y, Carteret AF, Dong X, Seitzer SM, Raja SN and Guan Y (2013). Tolerance develops to the antiallodynic effects of the peripherally acting opioid loperamide hydrochloride in nerve-injured rats. *Pain*, 154: 2477-2486.
 25. Hoke JF, Cunningham F, James MK, Muir KT and Hoffman WE (1997). Comparative pharmacokinetics and pharmacodynamics of remifentanil, its principle metabolite (GR90291) and alfentanil in dogs. *J Pharmacol Exp Ther*, 281: 226-232.
 26. Ikeda H, Heinke B, Ruscheweyh R and Sandkuhler J (2003). Synaptic plasticity in spinal lamina I projection neurons that mediate hyperalgesia. *Science*, 299: 1237-1240.
 27. Ishida R, Nikai T, Hashimoto T, Tsumori T and Saito Y (2012) Intravenous infusion of remifentanil induces transient withdrawal hyperalgesia depending on administration in rats. *Anesth Analg*, 114: 224-229.
 28. Ishii H, Petrenko AB, Kohno T and Baba H (2013). No evidence for the development of acute analgesic tolerance during and hyperalgesia after prolonged remifentanil administration in mice. *Mol Pain*, 9:11.
 29. Joly V, Richebe P, Guignard B, Fletcher D, Maurett P, Sessler DI and Chauvin M (2005). Remifentanil-induced postoperative hyperalgesia and its prevention with small dose ketamine. *Anesthesiology*, 103: 147-155.
 30. Kazama T and Ikeda K (1988). Comparison of MAC and the rate of rise of alveolar concentration of sevoflurane with halothane and isoflurane in the dog. *Anesthesiology*, 68: 435-438.
 31. Kim DK, Kwak J, Kim SJ and Kim J (2008). Long-lasting enhancement in the intrinsic excitability of deep dorsal horn neurons. *Pain*, 139: 181-189.

32. Kim SH, Stoicea N, Soghomonyan S and Bergese SD (2014). Intraoperative use of remifentanil and opioid induced hyperalgesia/acute opioid tolerance: systematic review. *Frontiers in Pharmacology*, 5.
33. Komatsu R, Turan A.M, Orhan-Sungur M, McGuire J, Radke OC and Apfel CC (2007). Remifentanil for general anaesthesia: a systematic review. *Anaesthesia*, 12: 1266-1280.
34. Koppert W and Schmelz M (2007). The impact of opioid-induced hyperalgesia for postoperative pain. *Best Pract Res Clin Anaesthesiol*, 21: 65-83.
35. Koppert W, Angst M, Alsheimer M, Sittl R, Albrecht S, Schuttler J and Martin S (2003a). Naloxone provokes similar pain facilitation as observed after short-term infusion of remifentanil in humans. *Pain*, 106: 91-99.
36. Koppert W, Sittl R, Scheuber K, Alsheimer M, Schmelz M and Schuttler J (2003b). Differential modulation of remifentanil-induced analgesia and postinfusion hyperalgesia by S-ketamine and clonidine in humans. *Anesthesiology*, 99: 152-159.
37. Lamont LA, Tranquilli WJ and Grimm KA (2000). Physiology of pain. *Veterinary Clinics of North America-Small Animal Practice*, 30:703.
38. Liang D, Shi X, Qiao Y, Angst MS, Yeomans DC and Clark D (2008). Chronic morphine administration enhances nociceptive sensitivity and local cytokine production after incision. *Mol Pain*, 4:7.
39. Martinez V and Fletcher D (2012). Prevention of opioid-induced hyperalgesia in surgical patients: does it really matter? *Br J Anaesth*, 109: 302-304.
40. Mercadante S, Villari P, Ferrera P, Arcuri E and David F (2009). Opioid switching and burst ketamine to improve the opioid response in patients with movement-related pain due to bone metastases. *Clin J Pain*, 25: 648-649.
41. Merigui S, Gessi S, Varani K, Fazzi D and Stefanelli A (2013). Morphine mediates a proinflammatory phenotype via μ -opioid receptor-PKC ϵ -Akt-ERK1/2 signaling pathway in activated microglial cells. *Biochem Pharmacol*, 86: 487-496.
42. Merkel G and Eger EI II (1963). A comparative study of halothane and halopropane anesthesia including method for determining equipotency. *Anesthesiology*, 24: 346-357.

43. Monteiro ER, Teixeira-Neto FJ, Campagnol D, Alvaides RK, Garofalo NA and Matsubara LM (2010). Effects of remifentanil on the minimum alveolar concentration of isoflurane in dogs. *Am J Vet Res*, 71: 150-156.
44. Nichols ML, Allen BJ, Rogers SD, Ghilardi JR, Honore P, Luger NM, Finke MP, Li J, Lappi DA, Simone DA and Mantyh PW (1999). Transmission of chronic nociception by spinal neurons expressing the substance P receptor. *Science*, 286: 1558-1561.
45. Ouellet DMC and Pollack GM (1997). Pharmacodynamics and tolerance development during multiple intravenous bolus morphine administration in rats. *J Pharmacol Exp Ther*, 281: 713-720.
46. Palmer GM, Pirakalathanan P and Skinner AV (2010). A multi-centre multi-national survey of anaesthetists regarding the range of anaesthetic and surgical practices for pediatric scoliosis surgery. *Anaesth Intensive Care*, 6: 1077-1084.
47. Patel NB. Physiology of pain. Guide to pain management in low-resource settings. A Kopf and NB Patel. Seattle, IASP; 2010.
48. Petrenko AB, Ishii H, Kohno T and Baba H (2012). When similar is not alike: decreased sensory thresholds after intravenous infusion of remifentanil may not be remifentanil-induced analgesia. *Anesth Analg*, 115: 977-977.
49. Quasha AL, Eger EI II and Tinker JH (1980). Determination and applications of MAC. *Anesthesiology*, 53: 315-334.
50. Reilly S, Seddighi R, Egger CM, Rohrbach BW, Doherty TM, Qus W and Johnson JR (2013). The effect of fentanyl on the end-tidal sevoflurane concentration needed to prevent motor movement in dogs. *Vet Anaesth Analg*, 40: 290-296.
51. Richebe P, Cahana A and Rivat C (2012). Tolerance and opioid-induced hyperalgesia. Is a divorce imminent? *Pain*, 153: 1547-1548.
52. Richebe P, Rivalan B, Rivat C, Laulin JP, Janvier G, Maurette P and Simonnet G (2009). Effects of sevoflurane on carrageenan- and fentanyl-induced pain hypersensitivity in Sprague-Dawley rats. *Can J Anaesth*, 56: 126-135.
53. Sandkuhler J (2009). Models and mechanisms of hyperalgesia and allodynia. *Physiol rev*, 89: 707-758.
54. Sandkuhler J and Gruber-Schoffnegger D (2012). Hyperalgesia by synaptic long-term potentiation (LTP): an update. *Curr Opin Pharmacol*, 12: 18-27.

55. Schraag S, Checketts MR and Kenny GN (1999). Lack of rapid development of opioid tolerance during alfentanil and remifentanil infusions for postoperative pain. *Anesth Analg*, 89: 753-757.
56. Solt K, Eger EI II and Raines DE (2006). Differential modulation of human N-methyl-D-aspartate receptors by structurally diverse general anesthetics. *Anesth Analg*, 102: 1407-1411.
57. Tompkins DA and Campbell CM (2011). Opioid-induced hyperalgesia: clinically relevant or extraneous research phenomenon? *Curr Pain Headache Rep*, 15: 129-136.
58. Valverde A, Morey TE, Hernández J and Davies W (2003). Validation of several types of noxious stimuli for use in determining the minimum alveolar concentration for inhalation anesthetics in dogs and rabbits. *Am J Vet Res*, 64: 957-962.
59. Vardanyan A, Wang R, Vanderah TW, Ossipov MH, Lai J, Porreca F and King T (2009). TRPV1 receptor in expression of opioid-induced hyperalgesia. *J Pain*, 3: 243-252.
60. Vera-Portocarrero LP, Zhang ET, King T, Ossipov MH, Vanderah TW, Lai J and Porreca F (2007). Spinal NK-1 receptor expressing neurons mediate opioid-induced hyperalgesia and antinociceptive tolerance via activation of descending pathways. *Pain*, 1-2: 35-45.
61. Vinik HR and Kissin I (1998). Rapid development of tolerance to analgesia during remifentanil infusions in humans. *Anesth Analg*, 86: 1307-1311.
62. Wilder-Smith OH and Arendt-Nielsen L (2006). Postoperative hyperalgesia: its clinical importance and relevance. *Anesthesiology*, 104: 601-607.
63. Woolf CJ and Salter MW (2000). Neuronal plasticity: increasing the gain in pain. *Science*, 288: 1765-1769.
64. Xie JY, Herman DV, Stiller CV, Gardell LR, Ossipov MH, Lai J, Porreca F and Vanderah TW (2005). Cholecystokinin in the rostral ventromedial medulla mediates opioid-induced hyperalgesia and antinociceptive tolerance. *J Neurosci*, 25: 409-416.
65. Zhao M and Joo DT (2008). Enhancement of spinal N-methyl-D-aspartate receptor function by remifentanil action at delta-opioid receptors as a mechanism for acute opioid-induced hyperalgesia or tolerance. *Anesthesiology*, 2: 308-317.