

## Table des matières

<b>Remerciements</b> .....	<b>3</b>
<b>Liste des abréviations</b> .....	<b>7</b>
<b>Résumé</b> .....	<b>9</b>
<b>Abstract</b> .....	<b>11</b>
<b>Introduction</b> .....	<b>12</b>
<b>Justification des études cliniques</b> .....	<b>12</b>
<b>Objectifs des études cliniques</b> .....	<b>13</b>
<b>Justification des études expérimentales</b> .....	<b>14</b>
<b>Objectifs des études expérimentales</b> .....	<b>15</b>
<b>La douleur en chirurgie</b> .....	<b>16</b>
<b>Voies de la nociception</b> .....	<b>16</b>
<b>Systèmes de contrôle impliqués dans la douleur</b> .....	<b>18</b>
<b>Physiopathologie de la douleur post-chirurgicale</b> .....	<b>21</b>
Sensibilisation périphérique .....	22
Sensibilisation centrale .....	23
Activation gliale .....	25
<b>Monitoring peropératoire de la nociception</b> .....	<b>28</b>
L'Analgesia Nociception index .....	28
<b>Le système Opioïde</b> .....	<b>30</b>
<b>Les différents opioïdes</b> .....	<b>30</b>
Les opioïdes endogènes .....	30
Les opiacés ou opioïdes exogènes .....	30
<b>Les récepteurs aux opioïdes</b> .....	<b>32</b>
Structure des récepteurs.....	32
Distribution anatomique et fonctions des récepteurs aux opioïdes.....	33
Signalisation par les récepteurs aux opioïdes .....	34
<b>Désensibilisation, phosphorylation, tolérance</b> .....	<b>36</b>
<b>Notion d'agonisme biaisé</b> .....	<b>38</b>
<b>Mécanismes impliqués dans la tolérance</b> .....	<b>40</b>
<b>Hyperalgésie induite par les opioïdes (HIO)</b> .....	<b>41</b>
Mécanismes de l'HIO .....	42
Traitement de l'HIO .....	43
<b>Projet de recherche</b> .....	<b>45</b>
<b>Projet Clinique</b> .....	<b>45</b>
<b>Projet expérimental</b> .....	<b>45</b>
<b>Etudes de validation de l'ANI</b> .....	<b>46</b>

<i>Etudes cliniques</i> .....	<b>48</b>
Protocole ANIFACT .....	<b>48</b>
<i>Analgesia Nociception Index en chirurgie bariatrique : une analyse à posteriori et en double aveugle</i> .....	<b>50</b>
Objectif : .....	<b>50</b>
Matériel et méthodes : .....	<b>50</b>
Résultats : .....	<b>50</b>
Discussion : .....	<b>52</b>
<i>Analyse de l'impact sur l'ANI des stimuli nociceptifs en chirurgie cardiaque sous anesthésie standardisée par propofol et rémifentanil</i> .....	<b>53</b>
Objectif : .....	<b>53</b>
Matériel et Méthodes : .....	<b>53</b>
Résultats : .....	<b>54</b>
Discussion : .....	<b>55</b>
<i>La pupillométrie et l'Analgesia Nociception Index prédisent la cible de rémifentanil pour l'intubation mais pas le Surgical Pleth Index (SPI)</i> .....	<b>57</b>
Objectif : .....	<b>57</b>
Matériel et Méthodes : .....	<b>57</b>
Résultats : .....	<b>58</b>
Discussion : .....	<b>60</b>
<i>A Targeted Remifentanil Administration Protocol based on the Analgesia Nociception Index during Vascular Surgery</i> .....	<b>61</b>
Objectif : .....	<b>61</b>
Matériel et Méthodes : .....	<b>61</b>
Résultats : .....	<b>62</b>
Discussion : .....	<b>63</b>
<i>La Lidocaïne intraveineuse réduit les besoins peropératoires en rémifentanil : une évaluation basée sur l'Analgesia Nociception Index</i> .....	<b>64</b>
Objectif : .....	<b>64</b>
Matériel et Méthodes : .....	<b>64</b>
Résultats : .....	<b>65</b>
Discussion : .....	<b>65</b>
<i>L'anesthésie sans morphiniques guidée par l'analgesia nociception index (ANI) diminue la douleur postopératoire et la consommation de morphine après chirurgie vasculaire</i> .....	<b>66</b>
Objectif : .....	<b>66</b>
Matériel et Méthodes : .....	<b>66</b>
Discussion : .....	<b>67</b>

<b>Protocole REMIBOUCLE .....</b>	<b>69</b>
<b>Objectifs :.....</b>	<b>69</b>
Critères d'inclusion : .....	70
Critères de non-inclusion : .....	70
Matériel et Méthodes : .....	70
<b>Etudes expérimentales .....</b>	<b>72</b>
<b>Chez la souris .....</b>	<b>72</b>
<b>Comparaison des courbes dose-réponse sur la nociception thermique .....</b>	<b>73</b>
Matériel et méthodes : .....	73
Résultats de la comparaison des courbes doses-réponse sur la nociception thermique .....	74
<b>Comparaison de l'effet d'une dose équipotente de rémifentanil et de sufentanil sur l'expression et la phosphorylation des récepteurs NMDA dans la PAG.....</b>	<b>78</b>
<b>In vitro .....</b>	<b>79</b>
<b>Effets d'une exposition courte sur l'activation des ERK1/2.....</b>	<b>79</b>
<b>Méthodes.....</b>	<b>79</b>
Culture cellulaire .....	79
Lignées cellulaires et transfection .....	79
Etude de la voie ERK1/2 par immuno-empreinte.....	80
Western Blot.....	80
Trafic membranaire du MOR : .....	82
Résultats : .....	82
<b>Effets d'une exposition longue sur l'activation des ERK1/2.....</b>	<b>88</b>
<b>Etude du trafic des MOR lors d'une exposition longue .....</b>	<b>90</b>
<b>Discussion des études cliniques.....</b>	<b>92</b>
<b>Discussion des études expérimentales.....</b>	<b>95</b>
<b>Etudes in vivo.....</b>	<b>96</b>
<b>Etudes in vitro.....</b>	<b>97</b>
<b>Conclusion et perspectives .....</b>	<b>100</b>
<b>Bibliographie.....</b>	<b>102</b>
<b>ANNEXES .....</b>	<b>121</b>
<b>Publication .....</b>	<b>121</b>
<b>Le moniteur de l'Analgesia Nociception Index .....</b>	<b>125</b>

## Liste des abréviations

ACTH : *Adrenocorticotrophic hormone*  
AIVOC : *Anesthésie intraveineuse à objectif de concentration*  
AMPA :  *$\alpha$ -amino-3-hydroxy-5-méthylisozol-4-propionate*  
AMPc : *Adénosine Monophosphate cyclique*  
ANI : *Analgesia Nociception Index*  
ANOVA : *Analysis of variance*  
ASA : *American society of anesthesiology*  
ATP : *Adénosine triphosphate*  
AUC : *Area under the curve*  
BAM22 : *Bovine adrenal medulla peptide 22*  
BDNF : *Brain-derived neurotrophic factor*  
BIS : *index bispectral*  
BSA : *Bovine serum albumine*  
CCA : *cortex cingulaire antérieur*  
CCK : *cholecystokinine*  
CGRP : *Calcitonin-gene related peptide*  
CHU : *Centre hospitalo universitaire*  
CIDN *contrôle inhibiteur diffus nociceptif*  
COX : *cyclo-oxygénase*  
CPM : *conditioned pain modulation*  
CREB : *cAMP response-element binding protein*  
DAMGO : *([D-Ala<sup>2</sup>,Me-Phe<sup>4</sup>,Gly-ol<sup>5</sup>]enképhaline*  
DAPI : *4',6-diamidino-2-phénylindole*  
DCPC : *douleur chronique post-chirurgicale*  
DMEM *Dulbecco's modified Eagle medium*  
DOR : *récepteurs de type delta*  
DPBS : *Dulbecco phosphate buffered saline*  
ECG : *Electrocardiogramme*  
EDTA : *Éthylènediaminetétraacétique*  
EEG : *Electroencéphalogramme*  
EGF : *Epidermic growth factor*  
EMP *Effet maximal possible*  
ERK : *extra-cellular signal-regulated kinase*  
FC : *fréquence cardiaque*  
GABA : *Gamma amino butyric acid*  
GFP : *Green fluorescent protein*  
GRD : *ganglions de la racine dorsale*  
GRK *G protein coupled receptors kinase*  
HEK : *Human embryonic kidney*  
HIO : *l'hyperalgésie induite par les opioïdes*  
HRP *horseradish peroxydase, Horse radish protein*  
IL : *Interleukine*  
IMC : *Indice de Masse corporelle*  
IOT *Intubation oro-trachéale*  
KCC2 : *co-transporteur potassium-chlore*  
Kir : *canaux potassiques à rectification entrante*

KOR : *récepteurs de type kappa*  
MAP Kinases : *mitogen-activated protein kinases*  
mGluR : *récepteurs au glutamate*  
MOR : *récepteurs de type mu*  
NGC : *noyau gigantocellulaire*  
NGF : *nerve growth factor*  
NMDA : *N-méthyl-D-aspartate*  
NO : *monoxyde-d'azote*  
NOP : *récepteur à la nociceptine*  
NPY : *Neuropeptide Y*  
NRM : *noyaux du raphé médian*  
PAG : *substance grise périacqueducule*  
PAM : *pression artérielle moyenne*  
PAS : *Pression artérielle systolique*  
PCA : *Patient control analgesia*  
PDYN : *prodynorphine*  
PENK : *proenképhaline*  
PGE<sub>2</sub> : *Prostaglandine E2*  
PI3K : *Phospho-inositide-3-kinase*  
PKA : *Protéine kinase A*  
PKC : *Protéine kinase C*  
PLC : *phospholipase C*  
PNOC : *proorphanine FQ*  
POMC : *proopiomélanocortine*  
RCPG : *récepteurs couplés aux protéines G*  
RDP : *réflexe de dilatation pupillaire*  
RGS : *regulators of G protein signaling*  
ROC : *Receiver Operating Characteristics*  
RVM : *région rostroventromédiale du bulbe*  
SDS : *Sodium Dodécyl Sulfate*  
SPI : *Surgical Pleth Index*  
SRD : *subnucleus reticularis dorsalis*  
SVF : *sérum de veau fœtal*  
TBS : *Tris-buffered saline*  
TLR : *toll-like receptors*  
TNF $\alpha$  : *Tumor necrosis factor  $\alpha$*   
VPL : *noyau ventro-postéro-latéral du thalamus*

## Résumé

L'utilisation des opioïdes est à l'origine de phénomènes de tolérance et d'hyperalgésie induite (HIO) aussi bien chez l'animal qu'en utilisation clinique. Ces phénomènes surviennent avec tous les opioïdes de manière dose-dépendante. Les mécanismes qui les sous-tendent sont complexes et imparfaitement connus. Le rémifentanil et le sufentanil sont les opioïdes les plus utilisés en France en anesthésie-réanimation. Leur utilisation s'accompagne d'une HIO qui majore la douleur postopératoire et peut être responsable de la persistance de la douleur à long terme. La perception des stimuli nociceptifs chez un patient sous anesthésie générale n'est pas aisée et repose encore sur des signes cliniques indirects d'activation du système sympathique. Ces signes peu sensibles et peu spécifiques conduisent à sous doser ou sur-doser les patients en opioïdes. Récemment, un nouvel outil de monitoring de la nociception est apparu, l'analgesia nociception index (ANI). L'ANI reflète le tonus parasympathique et de ce fait permettrait aux anesthésistes de mieux adapter le dosage des opioïdes.

Dans cette thèse, nous avons d'abord évalué la sensibilité et la spécificité de l'ANI à détecter les stimuli nociceptifs, puis montré qu'elles étaient supérieures à celles des signes cliniques, et supérieures à d'autres indices de monitoring proposés. Ensuite nous avons validé la capacité de l'ANI à guider l'analgesie peropératoire du rémifentanil dans différentes situations.

Sur le plan expérimental, nous avons exploré, après une exposition courte ou prolongée à différentes doses de rémifentanil et de sufentanil, les mécanismes associés à l'hyperalgésie thermique in vivo, chez la souris, et ex vivo, sur la voie des MAP kinases ERK1/2 et sur le trafic membranaire des récepteurs opioïdes de type  $\mu$  (MOR) dans différentes cultures cellulaires. Chez la souris, nous avons mis en évidence une hyperalgésie précoce au saut sur plaque chaude, après exposition aux doses les plus élevées de rémifentanil, mais pas avec le sufentanil. De plus, nous n'avons pas observé d'HIO sur le léchage des pattes.

Sur les cultures cellulaires, le rémifentanil comme le sufentanil activent la voie des MAPK ERK1/2 lors d'une exposition courte, avec apparition d'une désensibilisation lorsque l'exposition se prolonge. Le rémifentanil comme le sufentanil induisent une internalisation précoce et progressive des récepteurs MOR.

### Mots clés :

Hyperalgésie induite par les opioïdes, tolérance, opioïdes, remifentanil, sufentanil, internalisation, désensibilisation, MAP kinases ERK, récepteur  $\mu$

Opioid induced hyperalgesia : interest of parasympathetic tone monitoring in humans and study of molecular mechanisms of desensitization and tolerance in vitro and in mice

## Abstract

The use of opioids is associated with tolerance and induced hyperalgesia (OIH). Tolerance and OIH occur with all opioids and have been demonstrated both, in animals and in humans and are likely to be dose-dependent. The underlying mechanisms are complex and partially known. Remifentanil and sufentanil are the most used opioids in France in anesthesia and intensive care. Their use is associated with OIH that increases postoperative pain and may be responsible for persistent pain. In anesthetized patients, nociceptive stimuli are still detected according to clinical signs of sympathetic activation. These signs lack sensitivity and specificity and lead to underdosing or overdosing opioids. Recently, the analgesia nociception index (ANI), has been proposed as surrogate marker of nociception. The ANI reflects the parasympathetic tone and thus may allow anesthetists to better adapt the opioid dosage.

In this thesis, we first evaluated the sensitivity and specificity of ANI to detect nociceptive stimuli, and showed that it better detects them than do clinical signs or than other currently available monitoring tools. Subsequently, we validated the ability of the ANI to adequately guide the intraoperative dosing of remifentanil in different clinical setting.

After acute and sustained exposure to different doses of remifentanil and sufentanil we investigated, *in vivo*, the mechanisms associated with thermal hyperalgesia in mice, and *ex vivo*, the effect on the MAP kinase ERK1/2 pathway and the  $\mu$ -type opioid receptor (MOR) membrane trafficking in human neuroblastoma cells and embryonic kidney cell cultures.

In mice, high-dose remifentanil induced early hyperalgesia assessed by the jumping latency in a hot-plate test, but not the sufentanil. We did not observe OIH for the hind paw licking test. On cell cultures, after short exposure, both remifentanil and sufentanil produced activation of the MAP kinase ERK1/2 pathway, and rapid desensitization and internalization of the MOR.

### **Keywords :**

Opioid Induced Hyperalgesia, tolerance, opioids, remifentanil, sufentanil, desensitization, internalization, mu-opioid receptor, MAP kinase ERK1/2



# Introduction

## Justification des études cliniques

Connus depuis l'antiquité, les opioïdes ont été introduits en anesthésie depuis plus d'un demi-siècle en association avec les hypnotiques et les curares dans le but de procurer une anesthésie plus stable sur le plan hémodynamique et un relâchement musculaire indispensable à certaines chirurgies (Stanley 2014). Cette triple association porte le nom d'anesthésie équilibrée et constitue le mode d'anesthésie le plus courant actuellement. Depuis les années 1970, les opioïdes utilisés en anesthésie sont le fentanyl et ses dérivés : l'alfentanil, le sufentanil et le rémifentanyl (Vardanyan and Hruby 2014). Ces deux derniers sont les plus utilisés actuellement en France aussi bien en chirurgie qu'en réanimation (Constantin et al. 2010; Girard et al. 2004; Constantin et al. 2012; Hanouz et al. 2012; Gayraud et al. 2013)

Le choix d'un opioïde repose essentiellement sur ses propriétés pharmacocinétiques. Après l'arrêt de sa perfusion, le rémifentanyl est éliminé en quelques minutes par des estérases non-spécifiques même après une longue durée de perfusion (Egan 1998). Son utilisation est privilégiée dans les chirurgies de longue durée et dans les stratégies de sevrage rapide en réanimation (Constantin et al. 2010; Bhavsar et al. 2016). Le sufentanil plus liposoluble et de métabolisme hépatique, a une demi-vie contextuelle plus longue et mettra plusieurs heures voire plusieurs jours à s'éliminer après une perfusion prolongée. Son utilisation est privilégiée dans les chirurgies de courte durée et en réanimation lorsqu'une sédation prolongée est souhaitable (Hall and Hardy 2009; Fechner et al. 2013; M Gruenewald et al. 2014).

Bien que relativement bien tolérés sur le plan hémodynamique les opioïdes possèdent de nombreux effets secondaires comme les nausées et vomissements, le prurit, la sédation, la dépression respiratoire, le ralentissement du transit et la rétention d'urine (McDonald and Lambert 2013; Daeninck and Bruera 1999; Ballantyne and Mao 2003; Jamison and Mao 2015). Ces effets compromettent la qualité de la récupération postopératoire et retardent la sortie des patients. Récemment, de nombreuses études cliniques ont mis en évidence des phénomènes de tolérance aiguë et d'hyperalgésie induite par l'utilisation d'opioïdes en anesthésie, responsables d'une exacerbation de la douleur et d'une consommation accrue de morphine en postopératoire (Yi and Pryzbylowski 2015; Angst and Clark 2006; Hayhurst and Durieux 2016; Henkel 2000). De plus, certaines études ont suggéré un lien entre l'hyperalgésie post-opératoire et la persistance de douleurs plusieurs mois après la chirurgie (Stubhaug et al. 1997; Salengros et al.

2010). La majorité des effets secondaires étant dose-dépendante, une diminution des doses utilisées en peropératoire serait une première stratégie pour tenter de réduire les effets secondaires des opioïdes (Angst 2015; C. Lee, Lee, and Kim 2013; Song et al. 2011). Le dosage peropératoire des opioïdes reste aujourd'hui très imprécis car basé sur des modèles pharmacocinétiques et/ou sur des signes cliniques d'activation du système sympathique éminemment variables d'un sujet à l'autre et non spécifiques de la stimulation nociceptive sous anesthésie générale. A l'heure actuelle, il n'existe pas de consensus sur les doses d'opioïdes à utiliser en anesthésie et selon les habitudes des médecins en charge des interventions, les patients peuvent recevoir des doses variant d'un facteur 1 à 10 pour une même chirurgie, ceci étant favorisé par un index thérapeutique large pour ces médicaments (Lagneau, Olivieri, and Marty 2013; La Colla, Albertin, and La Colla 2009; Piacevoli, Minto, and Schnider 2011; Castro et al. 2003).

Pour aider les anesthésistes à apprécier d'une manière plus objective l'intensité de la stimulation nociceptive peropératoire, plusieurs systèmes de monitoring ont été récemment développés. Ils exploitent tous l'impact d'une stimulation nociceptive sur le système nerveux autonome (Georges Daccache 2017). Parmi ces systèmes, l'Analgesia Nociception Index (ANI) développé en 2009 par une équipe de recherche de l'université de Lille, mesure la variabilité de la fréquence cardiaque. L'analyse spectrale de cette variabilité fournit un index sans unité, l'ANI qui varie de 0 à 100 et qui reflète l'intensité du tonus parasympathique. Lors d'une stimulation nociceptive, le tonus parasympathique est inhibé et la valeur de l'ANI diminue. Ceci permettrait, une utilisation peropératoire plus rationnelle des opioïdes et possiblement, une diminution des doses totales et par là de la douleur et de l'hyperalgésie postopératoires (G. Daccache, Jeanne, and Fletcher 2017).

## Objectifs des études cliniques

L'objectif de la partie clinique de ce travail était :

- a) de valider l'ANI comme indice reflétant la balance analgésie-nociception peropératoire
- b) de développer un algorithme d'utilisation du rémifentanil basé sur l'ANI
- c) de mesurer l'impact d'une utilisation du rémifentanil basée sur l'ANI sur la douleur et l'hyperalgésie postopératoires.

## Justification des études expérimentales

Lors de l'utilisation prolongée d'un opioïde, des phénomènes de tolérance apparaissent rapidement, conduisant à l'augmentation de la dose afin d'obtenir le même niveau d'analgésie. Plus récemment, des phénomènes d'hyperalgésie ont été mis en évidence dans des modèles animaux d'abord puis chez l'homme ensuite, et qui se traduisent par un abaissement du seuil nociceptif consécutif à l'utilisation des opioïdes. Ces phénomènes, ne semblent pas liés et leurs mécanismes sont étudiés depuis plusieurs décennies à la fois sur des modèles cellulaires et chez l'animal pour la tolérance et sur des modèles animaux pour l'hyperalgésie (Arout et al. 2015; Vanderah et al. 2001; Hayhurst and Durieux 2016). Tolérance et hyperalgésie ont été observés avec tous les opioïdes, quoiqu'avec des intensités et des mécanismes différents qui semblent propres à chaque agoniste (Lyons et al. 2015; Kissin, Bright, and Bradley 2000; Tremblay 2005; Le Roy et al. 2013; X. Li, Angst, and Clark 2001).

L'effet analgésique des opioïdes est essentiellement lié à l'activation des récepteurs de type mu ou MOR (Kieffer and Gavériaux-Ruff 2002). Les récepteurs aux opioïdes font partie de la famille des récepteurs à sept domaines transmembranaires, couplés à des protéines G inhibitrices principalement. Après fixation de l'agoniste sur le récepteur, la signalisation intracellulaire active plusieurs voies effectrices à l'origine de l'effet analgésique mais également des effets secondaires. La signalisation se termine par la désensibilisation du récepteur, voire son internalisation dans des vésicules d'endocytose avec possibilité de recyclage à la surface ou de dégradation. L'activation du récepteur MOR inhibe l'adénylate cyclase et la formation d'AMPc, inhibe les canaux calciques membranaires de type P/Q, N et L, active les canaux potassiques à rectification entrante Kir 3 et active la voie des MAP Kinases (mitogen-activated protein kinases) en particulier les kinases ERK1 et ERK2 (extra-cellular signal-regulated kinase) (Al-Hasani and Bruchas 2011; McDonald and Lambert 2013; John T Williams et al. 2013). L'effet sur les canaux ioniques contribue à l'effet analgésique des opioïdes en diminuant la libération des neurotransmetteurs de la douleur et en hyperpolarisant la membrane cytoplasmique. L'activation des MAPK ERK1/2 régule de nombreuses cibles impliquées dans des phénomènes aussi différents que la croissance et la différenciation neuronale, mais aussi la plasticité neuronale impliquée dans les phénomènes de sevrage, de tolérance, et d'addiction (Raman, Chen, and Cobb 2007). Même si tous les opioïdes activent les MOR selon un modèle général classique, il est aujourd'hui bien établi que l'activation des différentes voies de signalisation mais aussi leur désensibilisation est agoniste-dépendante.

Cette spécificité fonctionnelle est dénommée aussi agonisme biaisé (Bobeck et al. 2016; Georgina L Thompson et al. 2015; Kenakin 2011). Les profils d'activation et de désensibilisation du rémifentanil et du sufentanil en particulier sur la voie des MAPK ERK1/2, et l'internalisation des récepteurs MOR pourraient être différents avec des conséquences différentes sur la tolérance et/ou l'hyperalgésie (Bobeck et al. 2016). A notre connaissance, peu d'études sont disponibles concernant la désensibilisation des voies de signalisation par le rémifentanil et aucune étude n'est retrouvée concernant le sufentanil.

Chez l'animal, en particulier chez les rongeurs (rat, souris) le phénomène de tolérance est bien décrit et implique des mécanismes complexes, parmi lesquels les modifications de l'expression et de la sensibilité du récepteur NMDA (N-méthyl-D-aspartate) semblent jouer un rôle primordial (Drdla et al. 2009; Celérier et al. 2006; Rivat et al. 2002). Une modulation de ces récepteurs a été décrite dans une région éminemment impliquée dans le contrôle de la douleur; la substance grise périacqueducale (PAG) (Posa et al. 2016). De même que pour l'activation des voies de signalisation et l'internalisation, la modulation des récepteurs NMDA dans la PAG est agoniste-dépendant (Bobeck et al. 2014). Le sufentanil et le rémifentanil pourraient exercer des modulations différentes. A notre connaissance, peu d'études ont comparé les effets d'une exposition courte ou prolongée au rémifentanil et au sufentanil sur la tolérance induite chez la souris par ces deux agonistes.

### Objectifs des études expérimentales

L'objectif de notre étude in vivo, était de comparer les effets de doses équianalgésiques de rémifentanil et de sufentanil sur l'hyperalgésie thermique chez la souris Swiss mâle et de comparer l'expression et la phosphorylation des récepteurs NMDA dans la substance grise périacqueducale (PAG) après exposition à ces deux agonistes.

L'objectif de notre étude in vitro était de comparer, sur des cellules de neuroblastome humain en culture, d'une part, l'activation et la désensibilisation de la voie des MAPK ERK1/2, après une exposition courte et prolongée au rémifentanil et au sufentanil et d'autre part, le trafic intracellulaire induit par ces deux agonistes après différents temps d'exposition.

## La douleur en chirurgie

### Voies de la nociception

Les voies nociceptives sont composées schématiquement d'une chaîne de 3 neurones. Le premier neurone périphérique ou nocicepteur, est une fibre C amyélinique (80%), ou A $\delta$  faiblement myélinisée (20%), dont le corps cellulaire se situe dans le ganglion de la racine dorsale du nerf périphérique. Ces fibres envoient un prolongement axonique vers les tissus et un autre vers la corne dorsale de la moelle sur plusieurs segments où s'effectuera le premier relai synaptique. En périphérie, l'axone est ramifié en terminaisons libres dites polymodales car elles possèdent des récepteurs membranaires répondant à différents types de stimuli, thermiques chimiques ou mécaniques, au niveau desquelles se fait la transduction du signal en potentiel d'action. Le potentiel d'action est propagé par des canaux sodiques (NaV) jusqu'à la terminaison présynaptique située dans les couches superficielles (I à VI de Rexed) de la corne dorsale de la moelle, tandis que la repolarisation dépend de canaux potassiques (Kv et K2P). L'arrivée du potentiel d'action déclenche l'entrée de calcium par des canaux calciques voltage-dépendant (P/Q, N, T et L) et la libération des neuromédiateurs nociceptifs, principalement le glutamate, mais aussi la substance P, le CGRP (Calcitonin-gene related peptide) et le BDNF (Brain-derived neurotrophic factor). L'information nociceptive est ainsi transmise directement ou par le biais d'interneurones à un deuxième neurone qui croise la ligne médiane et remonte vers les structures supraspinales controlatérales où il effectuera un deuxième relai synaptique. Ces neurones secondaires sont de deux types : les neurones spécifiquement nociceptifs qui ne répondent qu'à des stimuli provenant de fibres C ou A $\delta$  et les neurones dits à convergence qui répondent aussi bien à des stimuli non nociceptifs provenant de fibres tactiles (A $\alpha$ , A $\beta$ ) qu'à des stimuli nociceptifs provenant de fibres C ou A $\delta$  de la peau, des muscles et des viscères (Hudspith 2016). C'est cette convergence viscéro-somatique qui explique le phénomène de douleur projetée ou référée.

Les neurones secondaires constituent les voies ascendantes et forment plusieurs faisceaux à destinations différentes. Figure 1.

**Les faisceaux spinothalamiques**, situés dans le quadrant antérolatéral de la moelle, sont composés de deux contingents. L'un (encore appelé néospinothalamique) se termine dans le noyau ventro-postéro-latéral du thalamus (VPL) et se projette sur le cortex somesthésique primaire et secondaire ; il est responsable de la composante sensori-discriminative. L'autre se

termine dans les noyaux centraux intra-laminaires du thalamus et se projette de façon diffuse vers le cortex cingulaire antérieur CCA, l'insula et le cortex frontal pré-moteur, impliqués dans les réactions motrices et émotionnelles liées à la douleur.

**Les faisceaux spinoréticulaires** plus médians sont formés de neurones qui se terminent dans les noyaux giganto-cellulaire, réticulaire latéral et le SRD (*subnucleus reticularis dorsalis*). Le SRD reçoit des informations nociceptives somatiques et viscérales et se projette vers le thalamus médian et de là vers les cortex, cingulaire antérieur (CCA), insulaire et frontal. Le SRD envoie aussi un faisceau descendant qui joue un rôle dans le contrôle de la douleur.

**Les faisceaux spinomésencéphaliques** se terminent dans la substance grise périacqueducale (PAG) et le noyau parabrachial du mésencéphale. Leurs cibles sont le noyau de l'amygdale et l'hypothalamus et jouent un rôle important dans les processus végétatifs, émotionnels et endocriniens de la douleur (Georges Daccache and Beaulieu 2014).

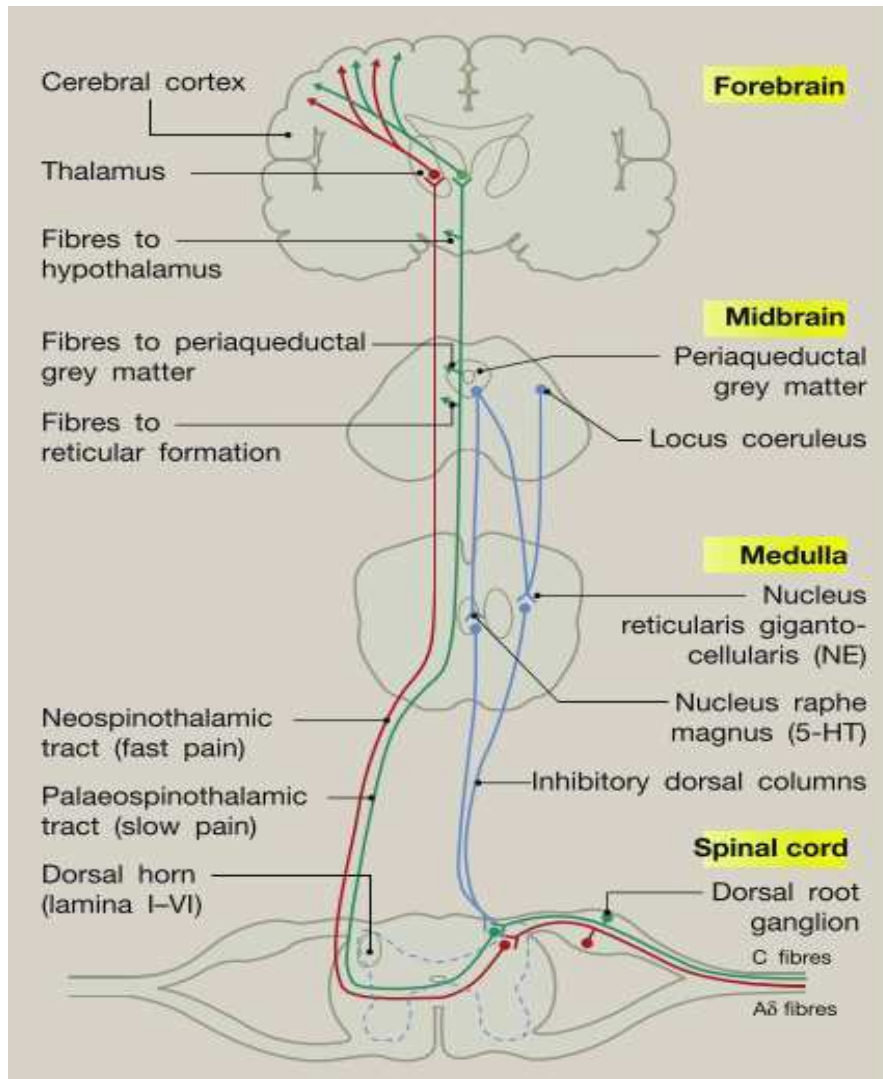


Figure 1 : Les voies nociceptives ascendantes rapides (rouge) et lentes (vert). Voies inhibitrices descendantes (bleu). 5-HT, 5-hydroxytryptamine; NE, norépinéphrine. Adapté de Hudspith et al. 2016

## Systèmes de contrôle impliqués dans la douleur

La transmission de l'information douloureuse n'est pas uniforme mais soumise à divers contrôles facilitateurs et inhibiteurs qui modulent son intégration par le système nerveux central (Villanueva and Bourgeais 2009). Figure 2

**Le contrôle inhibiteur segmentaire médullaire** proposé en 1965 par Melzack et Wall montre que les fibres tactiles de gros diamètre (Aβ) bloquent au niveau médullaire les neurones nociceptifs, directement ou par le biais d'interneurones inhibiteurs. Cette théorie explique la réaction spontanée qui consiste à frotter la région où apparaît une douleur pour en diminuer l'intensité. Elle est aussi à la base des stimulations analgésiques proposées en clinique comme

la neurostimulation électrique transcutanée ou médullaire. Les couches superficielles de la moelle sont riches en récepteurs opioïdes qui bloquent la libération de la substance P. Cette découverte est à la base des techniques d'administration périmédullaire des opioïdes.

**Contrôles supraspinaux.** Plusieurs formations bulbo-pontiques et mésencéphaliques exercent un contrôle descendant sur la corne dorsale de la moelle, par des neurones qui empruntent le funiculus postéro-latéral et agissent directement ou par le biais d'interneurones sur la transmission de l'influx nociceptif. Ce contrôle est bidirectionnel, il peut être facilitateur (pronociceptif) ou inhibiteur (antinociceptif) (R. Bodnar and Heinricher 2013).

Deux régions sont particulièrement importantes dans le contrôle de la nociception : la PAG mésencéphalique et la région rostroventromédiale du bulbe (RVM) qui englobe les noyaux du raphé médian (NRM) et le noyau gigantocellulaire (NGC). La PAG module l'activité de la région RVM principalement par des projections gabaergiques, laquelle à son tour module la nociception par des voies descendantes sérotoninergiques. Ces régions reçoivent des afférences des faisceaux ascendants mais également des structures cérébrales sus-jacentes en particulier, l'amygdale, l'hypothalamus, le cortex cingulaire antérieur. Elles communiquent aussi avec les noyaux noradrénergiques voisins (A5, A7 et A6 ou Locus cœruleus) qui prennent part à la modulation de la nociception via des projections descendantes noradrénergiques vers la moelle. La PAG et la RVM contiennent des peptides opioïdes endogènes et des récepteurs de type mu (MOR), delta (DOR) et kappa (KOR). La micro-injection d'opioïdes dans l'une ou l'autre de ces régions ou leur stimulation électrique produit une analgésie profonde. Cependant, la répétition des injections ou de la stimulation produit une tolérance. C'est la découverte de différentes populations de neurones dans la RVM qui a permis de mieux comprendre la modulation bidirectionnelle de la douleur. En effet, la RVM contient des neurones dits « ON » qui déchargent juste avant la perception douloureuse et des neurones dits « OFF » qui s'arrêtent de décharger juste avant la perception douloureuse. D'autres neurones dits « Neutres » ne sont pas impliqués dans la nociception mais dans la régulation d'autres fonctions comme l'homéostasie et la reproduction. Le recrutement des neurones « ON » par la cholecystokinine (CCK), la neurotensine ou la prostanglandine E2 renforce la douleur. A l'inverse le recrutement des neurones « OFF » supprime la douleur. Les opioïdes recrutent fortement les neurones « OFF » en levant l'inhibition tonique exercée sur eux par des neurones gabaergiques. Cette levée d'inhibition est nécessaire et suffisante pour expliquer l'effet analgésique des opioïdes, même si une diminution de l'activité des neurones « ON » y contribue également. Les neurones « OFF » sont recrutés physiologiquement dans différentes situations regroupées sous le terme



d'analgésie environnementale, qui favorisent la diminution de la douleur comme lors du stress, de l'accouplement, de la délivrance, de l'alimentation et de la miction. Les neurones « ON » sont recrutés par l'anxiété, les états inflammatoires et les lésions neurologiques (Lau and Vaughan 2014; Heinricher et al. 2009; Millan 2002)

Une autre région du bulbe, le SRD (*subnucleus reticularis dorsalis*) reçoit des afférences médullaires et projette en retour sur l'ensemble de la moelle. Il serait responsable du phénomène de contre-irritation ou de l'atténuation de la douleur par une douleur plus forte exercée sur une autre partie du corps. Initialement dénommé CIDN pour contrôle inhibiteur diffus nociceptif, il est actuellement nommé CPM pour conditioned pain modulation. Son altération a été mise en évidence dans différentes situations de douleurs chroniques (Yarnitsky 2010).

**Contrôles corticaux.** Les cortex somatosensoriels S1 et S2 codent la localisation et l'intensité de la douleur. Des lésions de cette région produisent une incapacité à localiser et à apprécier l'intensité d'une stimulation controlatérale. L'*insula* répond à des stimulations thermiques et nociceptives et joue un rôle d'inhibition des sensations douloureuses thermiques. Sa stimulation, produit des réactions de peur face à la douleur et sa lésion s'accompagne de comportements inappropriés, tandis qu'une lésion du CCA produit un effet inhibiteur sur la douleur. Ces différentes régions exercent leur modulation via leurs projections sur la PAG et le RVM (R. Bodnar and Heinricher 2013)

**Contrôle périphérique.** S'il est admis que des phénomènes de sensibilisation périphérique sont mis en jeu précocement, où l'inflammation locale et la libération par le nocicepteur de substances excitatrices (substance P, CGRP, CCK, NPY etc) contribuent à sensibiliser le nocicepteur périphérique, des mécanismes inhibiteurs au niveau périphérique ont récemment été mis en évidence par l'équipe de Susan Carlton (Carlton 2014). Un groupe de nocicepteurs exprimant des récepteurs à la somatostatine de type 2A exercent une inhibition tonique, tandis que des nocicepteurs exprimant des récepteurs au glutamate mGluR II et III exercent une inhibition activité-dépendante lors de la sensibilisation par la capsaïcine par exemple.

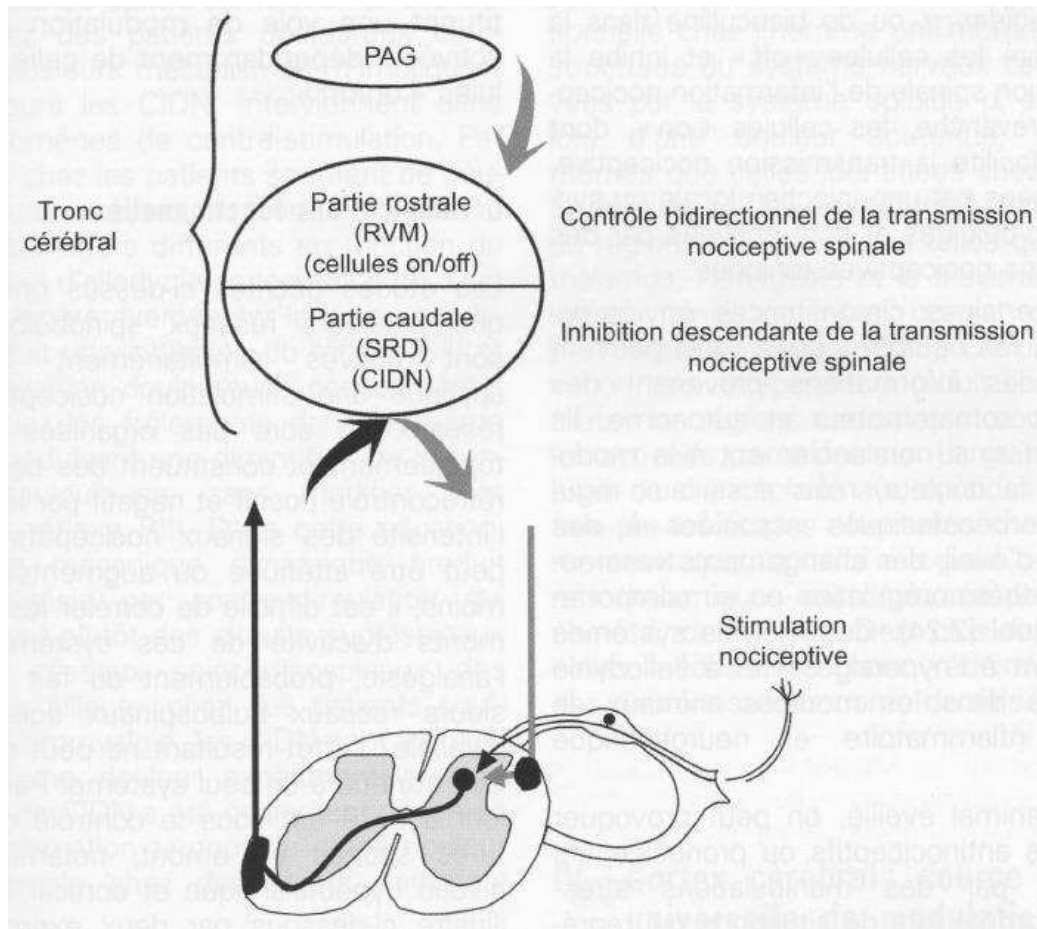


Figure 2 : Contrôles inhibiteurs issus du tronc cérébral qui s'exercent sur la transmission des messages nociceptifs. La PAG exerce via le RVM un contrôle bidirectionnel des messages nociceptifs. Les neurones « on » facilitent la transmission nociceptive et les neurones « off » la bloquent. Le contrôle inhibiteur diffus induit par une stimulation nociceptive CIDN est déclenché uniquement par une stimulation des fibres C ou A $\delta$  périphériques. Villanueva and Bourgeois.2009

## Physiopathologie de la douleur post-chirurgicale

La chirurgie induit inévitablement un traumatisme tissulaire, fréquemment associé à un traumatisme nerveux. Ces lésions vont mettre en action une cascade de réactions dans lesquelles les phénomènes inflammatoires vont jouer un rôle prépondérant dans l'initiation puis dans l'amplification du message douloureux. Cette amplification se traduira cliniquement par des phénomènes d'hyperalgésie et d'allodynie qui traduisent l'abaissement du seuil nociceptif provoqué par l'inflammation mais aussi entretenu par des phénomènes de plasticité neuronale au niveau périphérique et surtout au niveau central (Martinez, Baudic, and Fletcher 2013). L'hyperalgésie est définie comme une sensation très douloureuse en réponse à un stimulus peu douloureux. L'allodynie est définie comme une sensation douloureuse en réponse à un stimulus non douloureux. Ces deux symptômes cliniques sont le résultat d'une diminution du seuil

douloureux, avec un décalage vers la gauche de la courbe qui relie l'intensité de stimulation à celle de la perception douloureuse. Ces symptômes traduisent dans tous les cas une sensibilisation du système nerveux à la douleur qu'il convient de rechercher car elle est à l'origine d'une amplification du message douloureux. Cette sensibilisation peut être périphérique ou centrale (Woolf 2011).

Au niveau périphérique, elle se situe au niveau des nocicepteurs dans le tissu lésé ; on parle alors d'hyperalgésie primaire. Au niveau central, médullaire et supramédullaire, elle s'étend aux tissus non lésés et peut se bilatéraliser voire concerner tout l'organisme ; on parle d'hyperalgésie secondaire. Les mécanismes de sensibilisation périphérique et centrale sont différents.

### Sensibilisation périphérique

En périphérie, les lésions tissulaires, mais aussi nerveuses vont libérer des substances directement algogènes ( $H^+$ , ATP, bradykinine) qui vont se fixer sur des récepteurs qui leur sont propres et générer un potentiel d'action. Ces lésions vont aussi très rapidement initier l'activation des cellules inflammatoires avoisinantes qui vont à leur tour, libérer des substances « sensibilisantes » (histamine, sérotonine, prostaglandines, cytokines, NGF ou *nerve growth factor*, neuropeptides) dont le rôle est d'abaisser le seuil d'activation des nocicepteurs périphériques. Ceci conduit à l'amplification de l'influx nociceptif périphérique, qui se traduira au niveau de la corne dorsale de la moelle, par une augmentation de libération des neuropeptides de la douleur (substance P, BDNF, glutamate) et une activation des cellules gliales (Thacker et al. 2007). Cliniquement l'hypermensibilité primaire se traduit par une inflammation, une rougeur et une sensibilité des tissus lésés (cicatrice) facilement identifiables. Figure 3

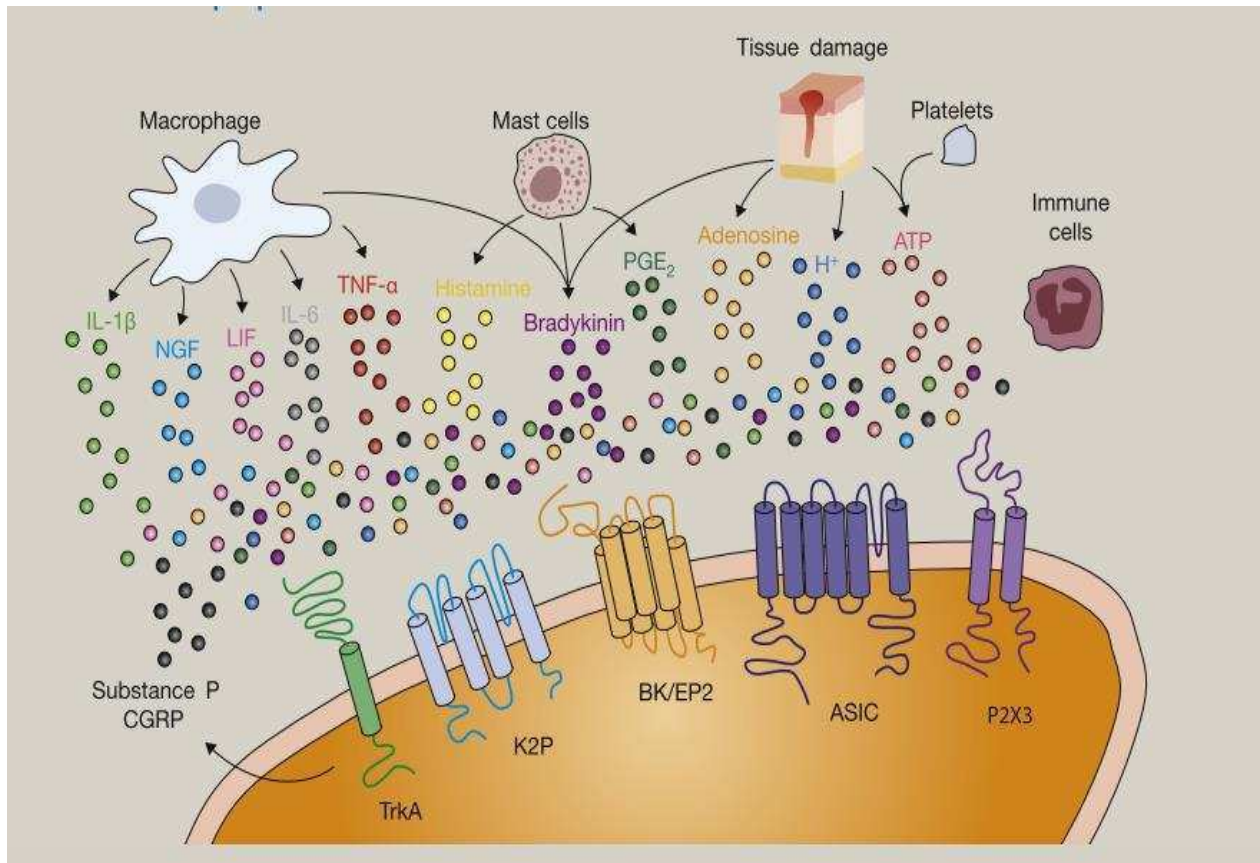


Figure 3 : Mécanismes de la sensibilisation périphérique : ASIC, acid-sensing ion-channel ou canaux sensibles aux ions  $H^+$ ; BK, récepteurs à la bradykinine ; EP2, récepteur à la prostaglandine E2 ; IL-1β, interleukin-1β; IL-6, interleukin-6; LIF, Leukemia inhibitory factor ; K2P, canal potassique à 2 pores; NGF, nerve growth factor ou facteur de croissance des nerfs; P2X3, récepteur à l'ATP; PGE2, prostaglandine E2; TNF-α, tumour necrosis factor. Adapté de Basbaum et al. 2009

### Sensibilisation centrale

Au niveau de la corne dorsale de la moelle, l'augmentation de l'influx nerveux conduit au relargage massif des neuromédiateurs présynaptiques : glutamate, BDNF et substance P. Le glutamate se fixe sur des récepteurs différents (AMPA, mGlu et NMDA). A l'état basal le récepteur NMDA est inactif et son canal cationique bloqué par un ion magnésium ( $Mg^{2+}$ ). L'arrivée d'un influx massif ou lorsqu'il devient sensibilisé par l'activation d'autres récepteurs (AMPA/Kaïnate) ou par phosphorylation, l'ion  $Mg^{2+}$  se déplace et le canal cationique s'ouvre laissant entrer une quantité importante de  $Ca^{2+}$  qui va déclencher l'activation d'un certain nombre de kinases (PKA, PKC, MAPK) et d'enzymes, dont la monoxyde-d'azote (NO) synthase et la cyclo-oxygénase (COX)-2 constitutive intracellulaire. Ces deux enzymes produiront deux messagers aisément diffusibles : le NO et la prostaglandine E<sub>2</sub> ( $PGE_2$ ) qui à leur tour auront deux actions importantes. D'une part, le NO et la  $PGE_2$  vont diffuser dans la fente synaptique et activer des récepteurs pré-synaptiques avec comme conséquence un

accroissement de la libération des neurotransmetteurs (rétrocontrôle positif). D'autre part, ils vont diffuser dans le noyau du neurone secondaire et modifier l'expression de gènes dits à expression immédiate (c-Fos, c-Jun, Cox2, NK1, BDNF/ErkB) qui sont responsables d'une neuroplasticité centrale à l'origine de la pérennisation des phénomènes douloureux (Latremoliere and Woolf 2009; Woolf and Salter 2000). Cliniquement, l'hypersensibilité secondaire se traduit par une douleur située en périphérie des tissus lésés, en zone saine dite zone d'hyperalgésie secondaire. Cette zone n'est identifiable de façon distincte de la zone d'hyperalgésie primaire que par l'application d'une stimulation non nociceptive en partant de la périphérie et en s'approchant progressivement de la cicatrice. Ceci se fait habituellement à l'aide de petits filaments de Von Frey de calibre déterminé pour appliquer une pression constante donnée. La surface péri-cicatricielle mesurée ainsi est corrélée à la survenue d'une douleur chronique post-chirurgicale (DCPC) (Breivik et al. 2008). Elle s'explique par la levée de contrôles inhibiteurs sur les neurones de la sensibilité tactile de cette zone au niveau de leurs synapses avec les neurones convergents non spécifiques, si bien qu'une pression inhibée dans des conditions normales, activera en cas de sensibilisation le neurone convergent qui traduira l'information comme étant nociceptive (allodynie). Il a été démontré que la diminution des opioïdes peropératoires et l'administration de kétamine, réduisent cette zone d'hyperalgésie péricicatricielle (Stubhaug et al. 1997; Reuben and Buvanendran 2007; Loftus et al. 2017). Ces phénomènes de plasticité neuronale correspondent à des modifications phénotypiques des neurones centraux et périphériques qui se succèdent dans le temps, certains se mettent en place en quelques minutes (activation des récepteurs NMDA), d'autres en quelques heures (modifications transcriptionnelles) ou quelques jours (pertes neuronales par entrée massive de  $Ca^{2+}$  ou apoptose) (Ravindran 2014). Certaines modifications précoces sont réversibles, d'autres auront tendance à devenir de plus en plus fixées avec le temps, voire irréversibles (Woolf 2011). Ceci souligne l'importance d'une action pharmacologique précoce pour bloquer ces phénomènes dès les premières minutes d'une intervention chirurgicale. De façon intéressante, il a été montré que l'hypersensibilisation centrale pouvait exister de façon asymptomatique (ou latente) par augmentation des opioïdes endogènes (ou par apport exogène continu d'opioïdes) et ne se révélera qu'à l'occasion d'un nouveau traumatisme (Martinez, Baudic, and Fletcher 2013; Wicksell and Olsson 2010). Figure 4

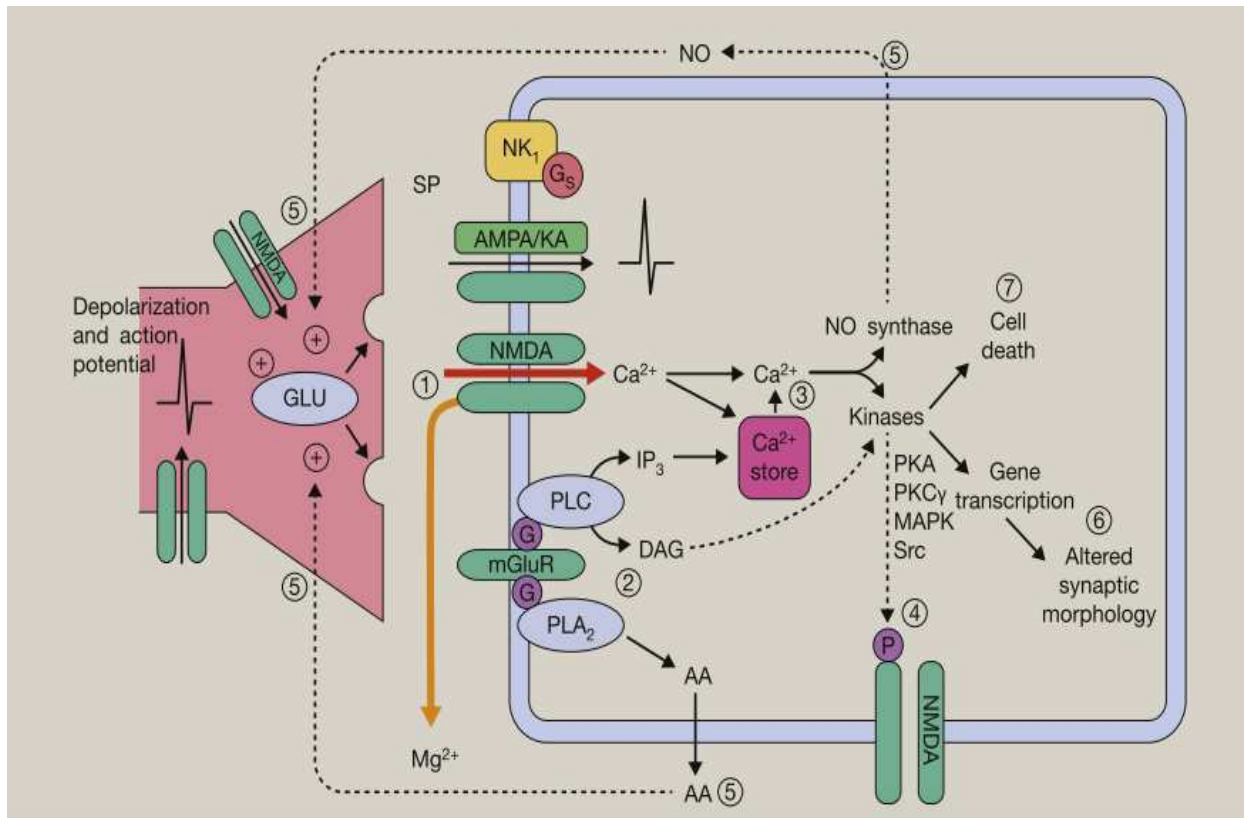


Figure 4 : Mécanismes de sensibilisation centrale. AMPA,  $\alpha$ -amino-3-hydroxy-5-méthyl-4-isoxazolepropionate; KA, kainate; MAPK, mitogen-activated protein kinase; NMDA, N-méthyl-D-aspartate; NO, nitric oxide; PKA, protéine kinase A; PKC $\gamma$ , protéine kinase C $\gamma$ ; PLA<sub>2</sub>, phospholipase A<sub>2</sub>; PLC, phospholipase C; Src, proto-oncogene tyrosine kinase. Adapté de Hudspith et al. 2016

## Activation gliale

Récemment, la participation des cellules gliales aux phénomènes de sensibilisation centrale a été démontrée (Bradesi 2011). Ces cellules, électriquement non excitables, appartiennent au système immunitaire. Elles sont de 3 types : oligodendrocytes, cellules de la microglie et astrocytes (70% des cellules). Elles entourent tous les neurones et toutes les synapses centrales et sont connectées au système vasculaire. Classiquement, on leur attribue un rôle de soutien nutritionnel aux neurones (apport de glucose, transport actif de nutriments du secteur vasculaire vers les neurones, recyclage de neurotransmetteurs, synthèse de myéline). Il a également été montré que les astrocytes et les cellules microgliales jouaient un rôle essentiel dans la communication intercellulaire. Ces cellules s'activent en cas de lésion neurologique qu'elle soit d'origine centrale ou périphérique et sont impliquées dans la physiopathologie de la douleur neuropathique (Mika et al. 2013). Le terme d'activation gliale sous-entend : leur prolifération dans la moelle, la modification de leur morphologie (elles prennent une forme amiboïde), l'expression à leur surface de récepteurs aux différents neurotransmetteurs de la douleur

(glutamate, substance P, ATP) et la synthèse de médiateurs (BDNF) (Grace, Maier, and Watkins 2015). En cas d'influx nociceptif important ou de lésion nerveuse périphérique, ces néo-récepteurs seront activés et déclencheront la synthèse de neuromédiateurs pro-inflammatoires algogènes (TNF $\alpha$ , IL-1, IL-6) et de chémokines par les cellules de la glie et qui viendront entretenir et amplifier l'hyperalgésie centrale (Bradesi 2011). L'activation des cellules de la microglie a été montrée expérimentalement en cas d'exposition prolongée aux opioïdes par différentes voies. Initialement, une activation par les opioïdes des récepteurs TLR4 et TLR2 (toll-like receptors) a été décrite (Hutchinson et al. 2007). Plus récemment, les opioïdes ont été impliqués dans l'activation et la surexpression des récepteurs purinergiques P2X7R et P2X4R de la microglie, qui à leur tour favorisent la synthèse de médiateurs de l'inflammation, ou encore la disparition du co-transporteur potassium-chlore KCC2 via l'activation des récepteurs TrKB (Ferrini et al. 2008). L'ensemble de ces mécanismes d'activation gliale sont résumés dans la Figure 5.

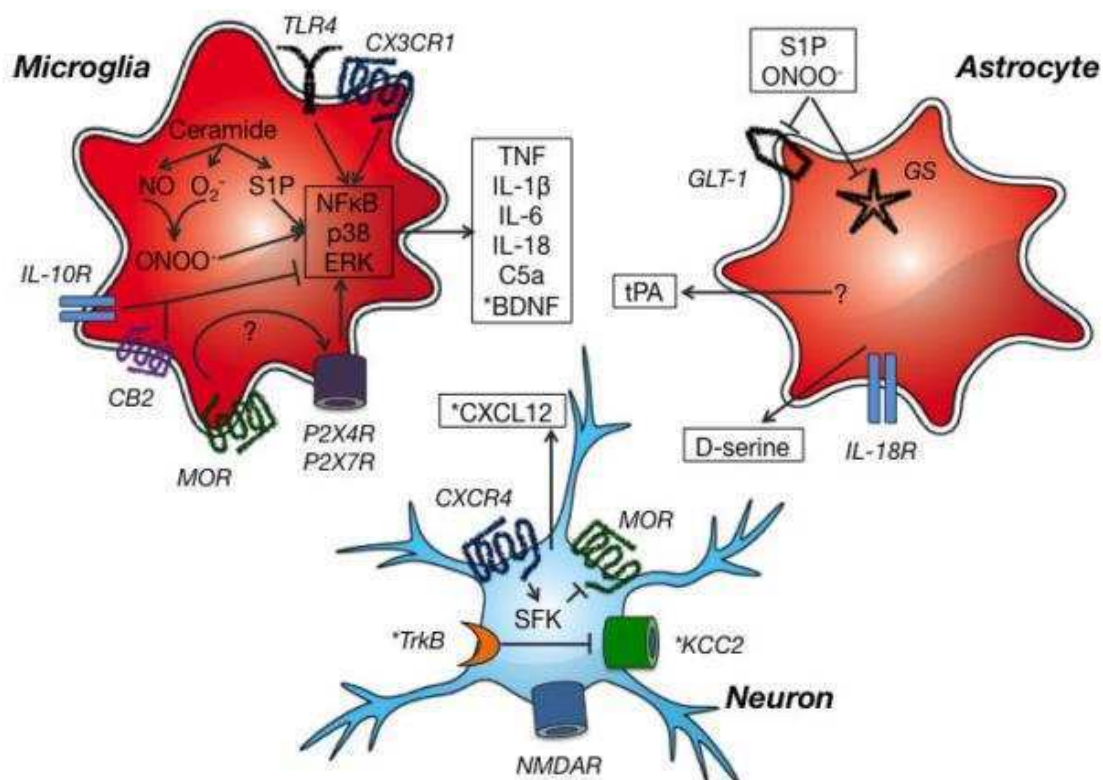


Figure 5 : Mécanismes immunitaires centraux de la tolérance aux opioïdes et de l'hyperalgésie induite par les opioïdes. L'activation de la signalisation TLR4 (toll like receptor 4), la production de sphingosine-1 phosphate (S1P) et de peroxy-nitrite (ONOO<sup>-</sup>; formé par l'interaction du superoxyde (O<sub>2</sub><sup>-</sup>) avec l'oxyde nitrique (NO)), ainsi que l'activation des récepteurs purinergiques P2X4R et P2X7R induisent la production de médiateurs pro-inflammatoires tels que le facteur de nécrose tumorale (TNF), l'interleukine-1β (IL-1β), l'IL-6, l'IL-18, le facteur du complément C5a, CX3CL1 (également connu sous le nom de fractalkine) et l'activateur tissulaire du plasminogène (tPA) dans la microglie, les astrocytes et les neurones. Ces médiateurs immunitaires sont également pro-nociceptifs, et agissent donc comme un processus antagoniste de l'analgésie opioïde à médiation neuronale. La production est largement médiée par l'activation de NFκB et la phosphorylation des protéines kinases p38 et ERK. La signalisation anti-inflammatoire via les récepteurs aux cannabinoïdes 2 (CB2) et à l'IL-10 (IL-10R) s'oppose à la tolérance aux opiacés en inhibant la production des médiateurs pro-inflammatoires. En outre, S1P et ONOO<sup>-</sup> dérèglent l'homéostasie du glutamate en régulant à la baisse l'expression à la fois du transporteur de glutamate GLUT-1 et de la Glutamine Synthase (GS) dans les astrocytes. L'IL-18 microgliale se fixe sur son récepteur astrocytaire (IL-18R), conduisant à la libération de D-sérine par les astrocytes, ce qui peut faciliter l'activation du récepteur NMDA. Le récepteur de la chimiokine CXCR4 peut induire une désensibilisation hétérologue des récepteurs μ opioïdes (MOR) dans les neurones, médiée au moins en partie par activation des kinases de la famille Src (SFK). La signalisation CXCL12 neuronale via le récepteur CXCR4 contribue également à l'hyperalgésie induite par les opioïdes. Le récepteur μ opioïde (MOR) augmente l'expression de P2X4R, déclenchant la libération de BDNF de la microglie. L'activation du récepteur TrkB neuronal par le BDNF régule à la baisse le co-transporteur potassium-chlorure neuronal KCC2 ce qui augmente la concentration intracellulaire de Cl<sup>-</sup> dans les neurones de la lamina I. Cela conduit à une excitation neuronale par les canaux GABAA, et glycine qui expulsent le Cl<sup>-</sup> au lieu de le faire entrer, entraînant une hyperalgésie induite par les opioïdes. \* Indique les mécanismes spécifiques à l'hyperalgésie induite par les opioïdes. Adapté de Grace et al.2015



## Monitoring peropératoire de la nociception

La nécessité de disposer d'indices, reflétant l'intensité de la stimulation nociceptive, plus sensibles et plus spécifiques, que les signes cliniques indirects d'activation sympathique, est à l'origine d'une recherche intense depuis plusieurs années. Plusieurs indices ont été développés par l'industrie, basés d'abord sur les modifications de l'EEG induites par la nociception, puis plus récemment basés sur la réponse du système nerveux autonome. Seuls ces derniers indices ont trouvé une application clinique répondant à la pratique quotidienne. Les différentes techniques de monitoring ont été résumées dans une revue récente (Georges Daccache 2017).

### L'Analgesia Nociception index

Parmi les indices les plus utilisés, l'analgesia nociception index ou ANI est un paramètre dérivé de l'analyse fréquentielle de la variabilité de la FC. En effet, l'intervalle entre deux ondes RR de l'électrocardiogramme varie de façon cyclique en fonction de la respiration (G. Daccache, Jeanne, and Fletcher 2017). Il diminue à l'inspiration et augmente à l'expiration. Ce phénomène appelé « arythmie sinusale respiratoire », est dû à une modulation battement par battement du tonus du nerf vague au niveau du nœud sinusal. Lorsqu'elles sont tracées en fonction du temps, ces variations dessinent une courbe sinusoïdale. Une analyse spectrale appliquée à cette courbe la décompose en plusieurs courbes élémentaires ayant chacune une fréquence, une amplitude et un décalage à l'origine donnés, et dont la somme point par point reconstitue la courbe originale. Des études physiologiques anciennes avaient déjà montré que les composantes de basse fréquence (0,04 à 0,15 Hz) du spectre, obtenues par transformée de Fourier, dépendaient de l'activité sympathique et parasympathique tandis que les composantes de haute fréquence (0,15 à 0,4 Hz) ne dépendaient que de l'activité parasympathique (Marek 1996). Ainsi, l'analyse spectrale des intervalles RR permet d'accéder au système sympathique-parasympathique. Le moniteur d'ANI<sup>®</sup> (MDMS, Loos, France) analyse l'ECG à partir de deux électrodes thoraciques dédiées et réalise l'analyse spectrale de manière rapide par transformée d'ondelettes, puis affiche uniquement la composante de haute fréquence sous forme d'un index l'ANI qui reflète le tonus parasympathique (Pichot et al. 1999). En l'absence de stimulation nociceptive, le tonus parasympathique prédomine et l'ANI est élevé. Lorsqu'une stimulation nociceptive survient, le tonus parasympathique est inhibé puis le sympathique activé si celle-ci est suffisamment intense. Sous anesthésie générale, les premières analyses de l'ANI ont montré que des valeurs < 50 étaient suivies d'une réaction hémodynamique en quelques minutes et

qu'en l'absence de réactivité, les valeurs d'ANI étaient  $> 50$  témoignant donc d'une bonne adéquation entre analgésie et nociception (Mathieu Jeanne et al. 2009).

# Le système Opioïde

## Les différents opioïdes

Le terme opioïde désigne à la fois les opiacés et les opioïdes endogènes.

### Les opioïdes endogènes

Les opioïdes endogènes sont des peptides synthétisés par certains neurones à partir de 4 précurseurs identifiés et clonés : la proopiomélanocortine (POMC) qui produit les endorphines  $\alpha$  et  $\beta$  et d'autres peptides comme l'ACTH, la mélanocortine et la  $\beta$ -lipotrophine ; la proenképhaline (PENK) qui produit les Met et Leu-enképhalines et plusieurs autres peptides opioïdes plus longs comme le BAM22 (Bovine adrenal medulla peptide 22); la prodynorphine (PDYN) qui produit les dynorphines A et B et les néo-endorphines  $\alpha$  et  $\beta$  et la proorphanine FQ (PNOC) qui produit la nociceptine encore nommée orphanine FQ très proche structurellement de la dynorphine A (Przewlocki 2013).

### Les opiacés ou opioïdes exogènes

Le terme « opiacé », désigne les alcaloïdes naturels extraits du pavot (morphine, codéine), leurs dérivés semi-synthétiques (oxycodone, hydromorphone, oxymorphone, levorphanol, naloxone, nalbuphine, buprénorphine, butorphanol), et les dérivés synthétiques phenylpipéridines (mépéridine, fentanyl, alfentanil, sufentanil et rémifentanil) et pseudopipéridines (méthadone, propoxyphène)

Le sufentanil synthétisé en 1984 et le rémifentanil en 1996 sont des dérivés 4-anilinopipéridine synthétisés à partir du fentanyl (Vardanyan and Hruby 2014). Ils possèdent une très grande affinité pour les récepteurs MOR, une affinité modérée pour les DOR et négligeable pour les KOR. Leurs structures chimiques et les différentes propriétés pharmacocinétiques sont résumées dans le tableau 1 (Hall and Hardy 2009).

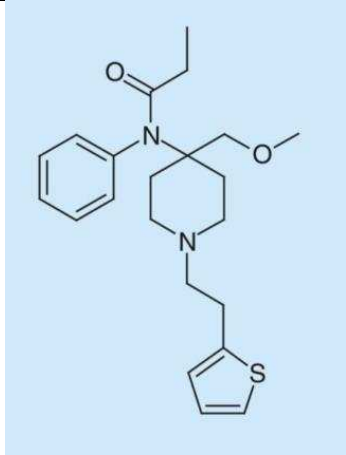
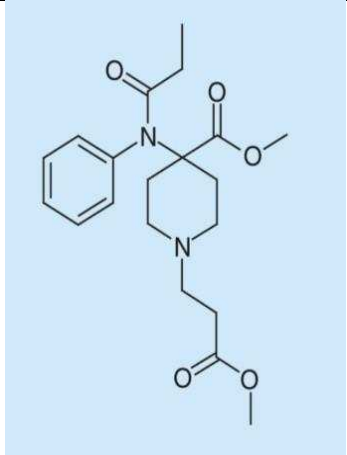
	Sufentanil	Rémifentanil
		
T ½ α (min)	17,7	0,8
T ½ β (min)	164	5-12
T ½ γ (min)	120-180	8-20
Volume de distribution (L/kg)	2,5	0,3-0,6
Clairance (ml/kg/min)	11,3	36,2
PKa	8	7
% ionisé à pH 7,4	80	33
Coefficient de partage Octanol / eau	1750	17,9
Temps pour 80% de décroissance après 4 heures de perfusion (min)	200	5-10
Délai du pic d'action (min)	5-6	1-3
Transformation	Foie (CYP3A4)	Estérases non-spécifiques
Élimination	rénale	rénale
Puissance (x morphine)	1000	100
Affinité MOR (nM)	0,1	1
Concentration cible (ng/ml)	0,1-2	2-6
Dose en perfusion continue (µg/kg/h)	0,1-2	6-36

Tableau 1 : comparaison des structures chimiques et des propriétés pharmacologiques du sufentanil et du rémifentanil. Modifié de Hall et al 2009

## Les récepteurs aux opioïdes

Les opioïdes endogènes comme les opiacés se fixent sur les récepteurs aux opioïdes avec des affinités différentes. Quatre récepteurs ont été caractérisés à ce jour et dont la structure tertiaire a été identifiée par cristallographie ; les récepteurs  $\mu$  pour morphine,  $\delta$  pour déférent,  $\kappa$  pour kétocyclazocine, et le récepteur à la nociceptine/orphanine Q (Filizola and Devi 2013). Chacun de ces récepteurs est codé par un gène unique, tous identifiés. Le gène codant pour le MOR, OPRM1 situé sur le chromosome 6, possède 4 exons, ceux codant pour le DOR et le KOR, OPRD1 et OPRK1 situés sur les chromosomes 6 et 8, possèdent 3 exons. Le gène du récepteur NOP est situé sur le chromosome 20. Des variants de ces récepteurs existent par épissage alternatif conférant aux agonistes une sélectivité d'action différente selon le sous-type de récepteur (Davis and Pasternak 2009). La dénomination internationale des récepteurs aux opioïdes est respectivement MOR, DOR, KOR et NOP (Cox et al. 2015). Ce dernier, structurellement très proche des autres récepteurs possède une très faible affinité pour les opioïdes et n'est pas considéré à proprement parler comme un récepteur aux opioïdes, bien qu'il joue un rôle dans la régulation de la réponse aux opioïdes (Toll et al. 2016).

### Structure des récepteurs

Les récepteurs aux opioïdes font partie de la famille des récepteurs couplés aux protéines G (RCPG), notamment de la classe  $A\gamma$  (Foord et al. 2005) (Tableau 2). Ils sont formés d'une seule chaîne d'acides aminés dont l'extrémité N-terminale est extracellulaire et possède des sites de glycosylation et dont l'extrémité C-terminale est intracellulaire et présente un site de palmitoylation sur une cystéine et plusieurs sites de phosphorylation. Ces récepteurs possèdent 7 domaines transmembranaires TM1 à TM7 qui forment entre eux 3 boucles intracellulaires (I1 à I3) et 3 boucles extracellulaires (E1 à E3). Un pont disulfure relie les boucles E1 et E2. Un motif DRY (Asp-Arg-Tyr) sur la boucle I2 est conservé entre tous les récepteurs de cette classe. Les récepteurs aux opioïdes possèdent une grande homologie de séquence protéique ; les acides aminés transmembranaires étant les plus conservés. La poche de liaison au ligand est assez profonde et se situe entre les domaines transmembranaires (TM3, TM5, TM6 et TM7) avec une partie supérieure qui joue un rôle dans la sélectivité au ligand (adresse) et une partie inférieure comportant des acides aminés conservés entre les récepteurs (D3.32, Y3.33, M3.36, W6.48, et Y7.43), qui joue un rôle dans l'activation du récepteur (message). L'activation et le couplage à

la protéine G nécessitent un changement de configuration entre les domaines transmembranaires TM5 et TM6 (R. J. Bodnar 2017).

La signalisation découle majoritairement de récepteurs aux opioïdes sous forme de monomères, mais à l'instar d'autres RCPG la possibilité de dimérisation ou d'oligomérisation stable ou transitoire des récepteurs aux opioïdes a été évoquée (Rozenfeld and Devi 2011). L'existence d'hétérodimères MOR-DOR, KOR, CB1 ou mGluR5 avec une signalisation propre a récemment été mise en évidence (G. L. Thompson et al. 2015).

En plus de la localisation axonale ou terminale sur le neurone et de l'organisation mono- ou oligomérique, il a été montré que la localisation membranaire des récepteurs pouvait être dirigée (par exemple par l'agoniste) vers des microdomaines ou radeaux lipidiques avec des environnements intracellulaires différents qui influenceraient leur signalisation et leur devenir (Zhao, Loh, and Law 2006). Ce mécanisme expliquerait l'activation par le sufentanil de récepteurs MOR couplés à des protéines G<sub>as</sub> (Chakrabarti, Chang, and Gintzler 2010).

Classe A Rhodopsine like (701)				Classe B Sécrétine like (15)	Classe C Récepteurs métabo- tropiques au Glutamate (15)	Récepteurs d'adhésion (24)	Frizzled/T aste 2 (24)
α	β	γ	δ				
Poche hydrophobe entre les TM	Site de liaison Nterm et boucles E+poche TM	Site de liaison Nterm longue	Domaine riche en Leu	Nterm et E3	Nterm qui s'ouvre et se ferme séparés	Nterm longue avec ++cystéines	
Rhodopsine Olfactives Photons B1, B2 α, β1, β2 ATP Adénosine A3	Neuropeptides Cytokines Thrombine NPFF2	Peptides Lipides MOR, DOR, KOR, NOP CXCR4 RFamides	Hormones glycoP LH FSH TSH	Glucagon CRF PTH PACAP VIP Calcitonine	mGlu-R GABA b TAS1 (gout) Péromones Calcium sensing	Fonctions immuno Reconnaissance cellulaire	Tas2 (amer) Dvpt embryon Polarité cellulaire

Tableau 2: Classification internationale des récepteurs couplés aux protéines G. D'après Foord et al 2005

### Distribution anatomique et fonctions des récepteurs aux opioïdes

Les récepteurs aux opioïdes sont distribués dans le système nerveux central et périphérique avec des densités variables selon le site anatomique et le type de récepteur, mais également dans le système nerveux entérique, sur les cellules immunitaires et dans les cardiomyocytes. Sur les neurones leur localisation est somatique, dendritique et axonique. Ils se retrouvent aussi bien au niveau présynaptique que postsynaptique.

**Les récepteurs MOR** sont les plus abondants notamment dans les couches superficielles de la corne dorsale de la moelle (couches I et II de Rexed) où ils constituent 70% des récepteurs aux opioïdes. Ils sont retrouvés dans les fibres C peptidergiques des ganglions de la racine dorsale (GRD) exprimant le récepteur TRPV1 responsables de la sensibilité viscérale et la sensibilité thermique cutanée (Scherrer et al. 2009). Dans le noyau basal de l'amygdale et le noyau accumbens, ils jouent un rôle dans la composante affective et addictive. Au niveau du striatum où ils modulent la motricité ; dans le thalamus latéral mais surtout médial qui projette vers le système limbique médiant la composante affective de la douleur ; dans l'hypothalamus, le noyau du tractus solitaire et l'area postrema médiant les effets endocriniens, autonomes, et les nausées et vomissements. Ils sont aussi retrouvés avec une moindre densité dans tous les centres du tronc cérébral impliqués dans la modulation descendante de la douleur, la PAG, le RVM, le locus cœruleus et la formation réticulée (Davis and Pasternak 2009).

**Les récepteurs DOR** moins nombreux ont la densité la plus élevée au niveau du bulbe olfactif, du cortex, du putamen, du noyau accumbens et de l'amygdale où ils régulent l'humeur. Ils sont retrouvés aussi avec une densité modérée au niveau du thalamus et de l'hypothalamus où ils participent à l'analgésie et la régulation cardiovasculaire et thermique, au niveau de la corne dorsale de la moelle (24% des récepteurs opioïdes) et des nocicepteurs  $A\delta$  des GRD où ils régulent la sensibilité mécanique. Ils participent également à la motricité intestinale (Kieffer and Gavériaux-Ruff 2002).

**Les récepteurs KOR** sont les moins nombreux au niveau de la corne dorsale de la moelle (6%). Cependant on les retrouve dans la PAG, le locus cœruleus et les noyaux du raphé où ils participent à l'analgésie, mais aussi dans la substance noire et l'aire tegmentale ventrale et le noyau du tractus solitaire. Ils jouent un rôle dans la régulation endocrine et ont un effet diurétique.

**Les récepteurs NOP** n'ont pas d'effet analgésique au niveau supraspinal mais un effet anti-opioïde. Ils se retrouvent au niveau du thalamus, de la PAG et du RVM, du noyau parabrachial latéral de la moelle et des GRD. Leur localisation à l'aire tegmentale ventrale, au noyau accumbens, à l'amygdale et au cortex limbique rend compte de leur effet d'atténuation de l'addiction et de la dépendance. Ils modulent l'anxiété, diminuent l'apprentissage spatial et favorisent la prise alimentaire (Toll et al. 2016).

#### Signalisation par les récepteurs aux opioïdes

Les récepteurs aux opioïdes sont couplés à des protéines G hétérotrimériques formées de l'association d'une sous-unité  $G_{\alpha/o}$  inhibitrice (bloquée par la toxine pertussique) et d'un dimère

$G_{\beta\gamma}$ . Après fixation de l'agoniste au récepteur, les voies de signalisation sont multiples et participent à des degrés différents aux effets analgésiques et aux effets secondaires des opioïdes. Dès la fixation de l'agoniste à son site de liaison, la sous-unité  $G_{\alpha i/o}$  se dissocie de  $G_{\beta\gamma}$  et inhibe directement l'adénylate cyclase ce qui diminue la formation d'AMPc. La  $G_{\alpha i/o}$  interagit aussi directement avec les canaux potassiques à rectification entrante Kir3 (3.2 et 3.3) (Irannejad and von Zastrow 2014). Ceci produit une hyperpolarisation de la membrane cellulaire et une diminution de l'activité neuronale tonique. Cette activation du courant potassique est responsable d'une grande partie de l'effet anti-nociceptif des opioïdes (Torrecilla et al. 2002). De son côté, le dimère  $G_{\beta\gamma}$  se lie aux sous-unités  $\alpha_{1A}$  et  $\alpha_{1B}$  de différents canaux calciques de type P/Q, N et L ce qui réduit leur probabilité d'ouverture induite par une dépolarisation. L'administration aiguë d'opioïdes s'accompagne aussi d'une réduction du contenu en  $Ca^{2+}$  des vésicules présynaptiques, ce qui diminue la libération des neurotransmetteurs nociceptifs. La réduction du taux d'AMPc contribue aussi à diminuer l'activation de canaux  $Ca^{2+}$  régulés par l'AMPc (John T Williams et al. 2013).

Même si l'action des opioïdes sur les canaux ioniques est essentielle pour la production de leur effet analgésique immédiat, d'autres voies de signalisation moins rapides sont possibles, indépendamment de l'activation des protéines G et jouent un rôle dans l'effet final des opioïdes. En effet, après activation du récepteur, des kinases spécifiques des récepteurs couplés aux protéines G (GRK) sont recrutées et phosphorylent l'extrémité C-terminale du récepteur activé par l'agoniste, ce qui a pour conséquence le recrutement d'une  $\beta$ -arrestine (Raehal and Bohn 2014). Ce complexe récepteur phosphorylé –  $\beta$ -arrestine, peut induire par lui-même des cascades de signalisation notamment activer les MAP kinases en particulier les ERK1 et 2, les JNK 1-3 et les P38 ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$ ). Les MAP kinases régulent une multitude d'effets intracellulaires, impliquant la prolifération, la différenciation, l'apoptose, la régulation des facteurs transcriptionnels, la phosphorylation de protéines canal et d'échafaudage (Raman, Chen, and Cobb 2007). L'activation des ERK1/2 par les récepteurs MOR a été montrée dans plusieurs modèles cellulaires et in vivo après 5 à 10 min d'exposition à l'agoniste (Nowoczyn et al. 2013; Bobeck et al. 2016). Cette activation nécessite la GRK3 et le recrutement d'une  $\beta$ -arrestine (Tara A Macey et al. 2009). L'activation des ERK1/2 peut avoir un effet direct sur la libération des neurotransmetteurs ou sur les canaux ioniques et participer ainsi à l'effet anti-nociceptif (Subramanian and Morozov 2011). L'activation médiée par les MOR peut se faire aussi via une protéine kinase C ( $PKC\epsilon$ ). D'autres voies d'activation indépendantes des protéines G ont été décrites, impliquant par exemple le facteur de croissance épidermique (EGF) et une



phospholipase C (PLC) par les DOR ou impliquant une PI3-kinase, la PKC $\zeta$  et du Ca<sup>2+</sup> par les KOR (Al-Hasani and Bruchas 2011). Le dimère G $\beta\gamma$  peut également activer les ERK1/2 via la GTPase monomérique Ras ou l'arrestine 3 (équivalent à la  $\beta$ -arrestine 2) (Belcheva et al. 1998). Le recrutement des  $\beta$ -arrestines par les récepteurs opioïdes peut également activer les kinases JNK et p38 dans les cellules gliales et dans différentes populations neuronales (Al-Hasani and Bruchas 2011) (Figure 6). Certains agonistes comme le sufentanil n'activent pas des protéines G $\alpha_i/o$  mais plutôt des protéines G $\alpha_s$  (Goode and Raffaz 1997). De même, l'effet anti-nociceptif du fentanyl dans la PAG ne passe pas par l'activation d'une protéine G $\alpha_i/o$  ni par un processus impliquant l'internalisation (Bobeck et al. 2012).

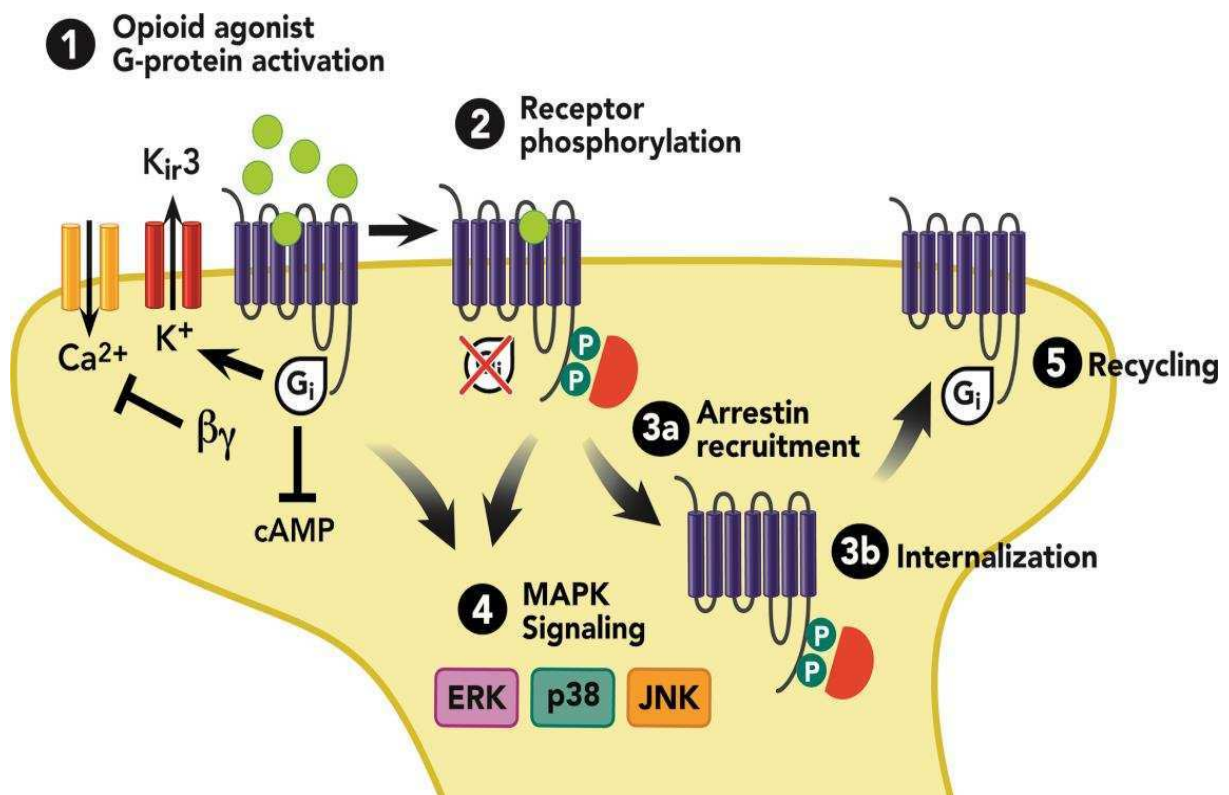


Figure 6 : Résumé de la signalisation des récepteurs opioïdes. La figure représente la transduction du signal et le trafic des récepteurs opioïdes. En général, les quatre types de récepteurs opioïdes (MOR, DOR, KOR, NOP) partagent ces voies communes. Les flèches signifient une activation ; les lignes en T symbolisent le blocage ou l'inhibition de la fonction. Gi ; - sous-unité G $\alpha_i/o$  ; cAMP - adénosine monophosphate cyclique ; ERK - kinase régulée par un signal extracellulaire ; JNK - kinase N-terminale de c-Jun ; MAPK- protéines kinases activées par un mitogène ; P- phosphorylation. D'après Al-Hasani et al 2011

## Désensibilisation, phosphorylation, tolérance

Pour répondre de manière fine aux stimulations extérieures, la cellule doit mettre en place des systèmes de régulation. Après l'activation des récepteurs, les voies de signalisation doivent être

stoppées ou désensibilisées pour éviter la multiplication de signaux devenus obsolètes. La régulation de la signalisation peut se produire après fixation de l'agoniste opioïde sur son récepteur (désensibilisation homologue) ou après activation d'un autre type de récepteur partageant avec le récepteur opioïde des voies de signalisation communes (désensibilisation hétérologue) (Mann et al. 2015). Ces phénomènes sont très largement partagés par les 4 types de récepteurs, cependant quelques différences existent selon le type de récepteur. Les principaux effets des opiacés étant médiés par l'activation des MOR, nous décrirons principalement la régulation qui les concerne.

La régulation se produit par plusieurs étapes, en fonction du temps et de la persistance de l'agoniste. Ces étapes de régulation sont résumées par une séquence classique décrite initialement pour les récepteurs adrénergiques, prototype des RCPG : phosphorylation – découplage – internalisation – déphosphorylation – recyclage membranaire ou dégradation lysosomale (Drake, Shenoy, and Lefkowitz 2006). Bien que ce modèle classique s'applique aux récepteurs opioïdes, plusieurs variations sont possibles en fonction du type de récepteur, des variants générés par épissage, de son éventuelle dimérisation, du niveau d'expression du récepteur, de sa localisation cellulaire, du modèle cellulaire ou animal utilisé, de l'agoniste utilisé (voir plus loin la notion d'agonisme biaisé), de sa voie d'administration, de sa concentration, et de la durée de son application. Nous décrirons la séquence du modèle classique et citerons les principales variantes décrites.

Les phénomènes les plus rapides conduisent à la désensibilisation en quelques minutes, ceux plus tardifs produisent une régulation à plus long terme à l'origine de la tolérance aiguë (quelques heures) ou tardive (quelques jours).

L'étape la plus rapide de désensibilisation du MOR, survient en quelques secondes et se résume à la phosphorylation du récepteur par une GRK 2 ou 3 qui entraîne le découplage de la protéine G et le recrutement d'une  $\beta$ -arrestine en 3 à 5 minutes (Georges Daccache and Allouche 2015). Ceci suffit à la désactivation fonctionnelle du récepteur. A ce stade, des phénomènes inverses de déphosphorylation se mettent en place pour permettre la récupération fonctionnelle du récepteur et un premier équilibre se produit entre désensibilisation et resensibilisation au bout de quelques minutes (Marie, Aguila, and Allouche 2006; John T Williams et al. 2013).

Le recrutement d'une  $\beta$ -arrestine initie l'internalisation du récepteur par recrutement du complexe - protéines adaptatrices AP2 – clathrines – dynamines - qui formera la vésicule d'endocytose contenant le récepteur (Raehal and Bohn 2014).

Le devenir post-endocytose des vésicules d'internalisation implique des mécanismes différents selon le type de récepteur. Ceux qui régulent les MOR sont encore imparfaitement connus. Toutefois, une séquence de la partie C-terminale semble favoriser le recyclage de même que la déphosphorylation du récepteur par des phosphatases sensibles à la calyculine A ou la phosphatase  $1\gamma$  (Allouche, Noble, and Marie 2014). Les protéines participant à l'internalisation- $\beta$ -arrestine, GRK2 et dynamine- peuvent également jouer un rôle dans le recyclage. L'ubiquitination ne semble pas intervenir dans la dégradation du récepteur MOR.

### Notion d'agonisme biaisé

La notion d'agonisme biaisé ou sélectivité fonctionnelle exprime le fait que chaque ligand opioïde qui se fixe sur un récepteur le stabilise dans une conformation qui lui est propre et active de ce fait des voies de signalisation qui lui sont propres. Toutefois, certaines voies d'activation peuvent être communes et d'autres spécifique de l'agoniste. Figure 7.

Ceci permet d'avoir une diversité (presque infinie) de réponses à travers l'activation d'un seul type de récepteurs. Cette sélectivité fonctionnelle concerne l'activation des protéines G, la phosphorylation par différentes kinases et l'interaction avec différentes protéines qui président à l'internalisation et au devenir post-endocytose (Kenakin 2011). Ceci pourrait se traduire par des effets cliniques et des mécanismes de tolérance différents. La sélectivité fonctionnelle n'est pas en rapport avec l'activité intrinsèque de l'agoniste (McPherson et al. 2010). De plus, un même agoniste peut avoir des « signatures » différentes selon la localisation anatomique ou cellulaire du récepteur (G. L. Thompson et al. 2015; Georgina L Thompson et al. 2015).

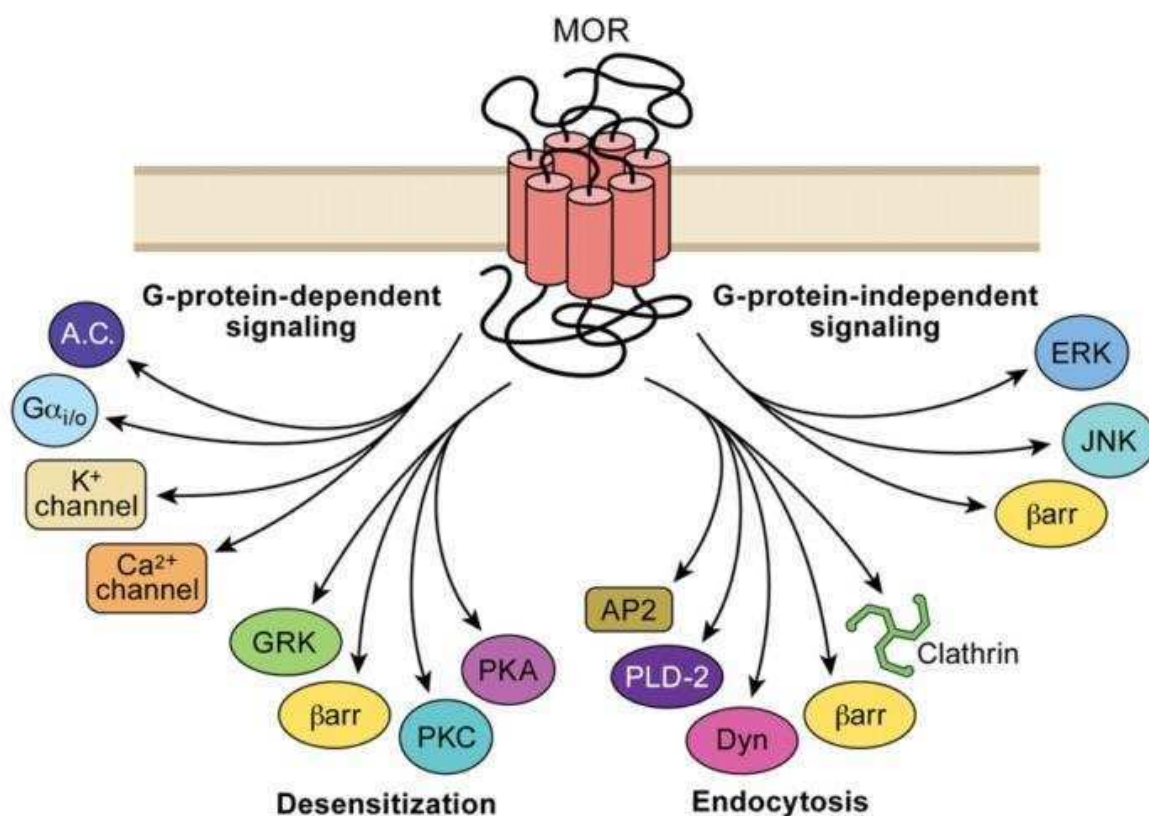


Figure 7 : La liaison de l'agoniste aux MOR peut entraîner l'activation de plusieurs voies en aval. Différents agonistes peuvent activer sélectivement une ou plusieurs de ces voies qui donnent lieu à une signalisation agoniste-dépendante à travers un seul type de récepteur. Les processus dépendants des protéines G comprennent la régulation des canaux ioniques et l'inhibition de l'adénylate cyclase. La désensibilisation peut impliquer l'activation sélective de l'une ou l'autre voie kinase-dépendante. Les processus indépendants des protéines G, y compris les étapes menant à l'endocytose et les interactions avec les molécules d'échafaudage et les kinases, peuvent influencer la signalisation du MOR par des mécanismes directs et/ou indirects. D'après Williams 2013

Par exemple, la morphine induit une activation importante des protéines G, en revanche, elle ne recrute pas les β-arrestines et ne produit presque pas d'internalisation du récepteur. A titre de comparaison l'alfentanil et le fentanyl, produisent une activation des protéines G similaire à la morphine, tout en recrutant fortement les β-arrestines et induisent l'internalisation des MOR (McPherson et al. 2010). L'inhibition de l'internalisation augmente l'activité analgésique du fentanyl mais réduit son effet sur l'activité motrice (Bobeck et al. 2012).

En plus de la notion d'agonisme biaisé, les récepteurs aux opioïdes, comme beaucoup de RCPG possèdent également des sites de fixation pour des modulateurs allostériques qui peuvent influencer la fixation et l'activation par un agoniste et moduler ses effets souhaités et possiblement ses effets indésirables (Burford et al. 2013).

## Mécanismes impliqués dans la tolérance

La désensibilisation et la tolérance font référence à la perte d'efficacité plus ou moins rapide d'une ou de plusieurs voies de la signalisation. Cliniquement, ceci se traduit par une perte d'efficacité du traitement après une période d'exposition plus ou moins longue, conduisant à augmenter les doses pour retrouver l'efficacité initiale. Elle peut concerner, un ou plusieurs effets cliniques à des degrés différents. Par exemple, la tolérance à l'effet analgésique de la morphine ne s'accompagne pas forcément d'une tolérance à ces effets digestifs ou respiratoires (Hayhurst and Durieux 2016). De même, l'inhibition de la  $\beta$ -arrestine 2 augmente l'effet analgésique de la morphine tout en réduisant la dépression respiratoire et la constipation qu'elle produit (Raehal and Bohn 2005).

De nombreuses études cliniques et animales ont mis en évidence l'existence d'une tolérance aux effets des opioïdes après différentes durées d'exposition (Reinecke et al. 2015; Christie 2009; Morgan and Christie 2011). L'incidence précise de ce phénomène est cependant difficile à établir. L'escalade de doses est décrite aussi bien chez des patients traités par opioïdes au long cours, chez les toxicomanes, que dans le contexte postopératoire (Ballantyne and Mao 2003). La tolérance a été rapportée avec tous les opioïdes bien qu'il soit généralement admis que celle-ci survient volontiers avec les opioïdes les moins puissants comme la morphine ou l'oxycodone (John T Williams et al. 2013). Chez l'animal, la tolérance est bien documentée dans différentes espèces et survient même après une dose unique. Toutefois, il est important de distinguer les phénomènes de tolérance aiguë après une exposition courte qui récupèrent en quelques heures, dont le mécanisme relève de la désensibilisation « normale » du récepteur, de la tolérance après exposition prolongée, qui récupère en plusieurs jours ou mois et dont les mécanismes relèvent de plasticité synaptiques complexes impliquant des phénomènes transcriptionnels dans différentes régions du système nerveux (J T Williams, Christie, and Manzoni 2001; Morgan and Christie 2011).

Au niveau du récepteur, un défaut de couplage avec la protéine G, une accélération de la phosphorylation par différentes kinases (GRK, PKC, PKA, PI3K) ou par des protéines régulatrices comme les RGS (regulators of G protein signaling), un défaut d'internalisation ou un défaut de recyclage impliquant le recrutement de de la  $\beta$ -arrestine 2, ont été évoqués même s'il n'y a pas toujours de parallélisme évident entre défaut d'internalisation et tolérance (Jim and Wang 2006; Koch and Höllt 2008; Simonnet and Laulin 2001). L'utilisation d'un agoniste qui favorise l'internalisation a permis de réduire la tolérance induite par des injections répétées de morphine chez la souris (Posa et al. 2016). De même, la déplétion en  $\beta$ -arrestine 2 réduit la

tolérance à la morphine chez les rongeurs. Plusieurs études ont souligné l'implication des  $\beta$ -arrestines dans les phénomènes de tolérance. En effet, les  $\beta$ -arrestines interviennent dans plusieurs processus intracellulaires, comme protéines d'internalisations, de recrutement, d'échafaudage, d'orientation intracellulaire et de signalisation (Raehal and Bohn 2014; Christie 2009)

Au niveau cellulaire, une activation prolongée des MOR induit une suractivation secondaire de l'adénylate cyclase avec surproduction d'AMPc et activation de la PKA qui à son tour active le facteur transcriptionnel CREB (cAMP response-element binding protein) et participe à la plasticité neuronale (Watts 2002; Zhao, Loh, and Law 2006). Après injection répétée de morphine au niveau de la PAG l'équipe de Bobeck a montré que l'inhibition de l'adénylate cyclase diminuait la tolérance induite et que celle-ci impliquait la modulation des récepteurs GABA (Bobeck et al. 2014). De même l'activation des ERK1/2 par les MOR peut jouer un rôle dans la tolérance. La même équipe a montré que l'activation des ERK1/2 par des injections répétées de morphine était impliquée dans la tolérance et que cette activation était dépendante de l'internalisation des MOR (T. A. Macey et al. 2015).

Au niveau du système nerveux, l'activation prolongée des récepteurs MOR, induit des phénomènes d'adaptations « anti-opioïde » visant à rétablir un équilibre allostasique (Dighe et al. 2009). Ces systèmes anti-opioïdes participent à la tolérance mais aussi à l'hyperalgésie induite par les opioïdes. On peut citer l'activation des KOR par une augmentation de la dynorphine A, du neuropeptide FF, de la nociceptine, de la CCK, des récepteurs NK-1 (de la substance P), de la suractivation des récepteurs NMDA et des modifications gliales (Ossipov et al. 2005). Récemment, l'activation du récepteur au facteur de croissance plaquettaire de type tyrosine kinase, a été impliquée dans la tolérance à la morphine (Y. Wang et al. 2012). Certains de ces mécanismes sont communs avec ceux qui sous-tendent l'hyperalgésie induite par les opioïdes (HIO), ce qui n'est pas étranger à une certaine confusion entre ses deux entités. Ils seront décrits plus loin.

### Hyperalgésie induite par les opioïdes (HIO)

L'hyperalgésie est définie par une augmentation de la sensibilité douloureuse pour un stimulus donné. Elle s'accompagne souvent d'une allodynie qui est une sensation douloureuse pour un stimulus non nociceptif. L'augmentation de sensibilité ne se résume pas à la zone initialement douloureuse mais peut diffuser à d'autres zones saines voire à l'ensemble du corps, et persiste

ou même s'aggrave avec l'augmentation des doses d'opioïdes. L'hyperalgésie continue à être confondue avec la tolérance, car la présence des deux, conduit à l'augmentation de la sensation douloureuse. L'incidence de l'HIO est difficile à cerner. Chez les patients traités par morphiniques au long cours des prévalences entre 14 et 28% ont été rapportées (Ballantyne and Mao 2003; Jamison and Mao 2015). De nombreuses études cliniques (Daeninck and Bruera 1999; Fletcher and Martinez 2014; H. J. Lee and Yeomans 2014) et animales (Sufka, Hughes, and Giordano 1991; Rivat et al. 2002; Celérier et al. 2006; Cabanero et al. 2009; Xiangqi Li, Angst, and Clark 2001; Drdla et al. 2009; Kristy Bannister et al. 2017) ont mis en évidence une HIO avec tous les opioïdes, administrés par différentes voies, parfois même après une exposition de quelques heures (Guignard et al. 2000; Lyons et al. 2015). Toutefois, les études cliniques souffrent de plusieurs limitations concernant les critères diagnostiques utilisés, et les différentes populations de patients inclus, si bien que la notion d'HIO reste aujourd'hui encore débattue (Konopka and Wijhe 2010; Raffa and Pergolizzi 2011; Petrenko et al. 2012; Rivosecchi et al. 2014). En effet, il est difficile de distinguer notamment en postopératoire, l'HIO des phénomènes de tolérance ou de sevrage aigu. Des critères diagnostiques ont été proposés pour mieux affiner la détection de l'HIO dans le contexte postopératoire : augmentation de la douleur sous traitement opioïde ; non liée à une complication ; absence de sevrage ; absence d'amélioration (tolérance) voire aggravation par l'augmentation de la posologie ; absence de comportement addictif (Eisenberg, Suzan, and Pud 2015). Parmi les différents tests sensitifs quantitatifs, le test au froid serait le plus discriminant pour détecter une HIO (Krishnan et al. 2012)

### Mécanismes de l'HIO

L'HIO est due à une sensibilisation du système nerveux central et à une activation gliale. De plus les contrôles descendants sont modifiés vers un équilibre pronociceptif. Ceci conduit à une facilitation de la transmission synaptique au niveau de la corne dorsale de la moelle se traduisant par la diminution du seuil douloureux. La sensibilisation des récepteurs NMDA joue un rôle prépondérant, ceux-ci étant à l'origine des phénomènes de potentiation à long terme (LTP) et de neurotoxicité. Leur sensibilisation résulte de nombreux facteurs, comme l'augmentation de l'influx périphérique, leur phosphorylation par différentes kinases (PKC, PKA, ERK) (Drdla et al. 2009) ou via la cathepsine S (Ye et al. 2017), l'inhibition du transport de glutamate (M. Lee et al. 2011), ou l'activation des voies pronociceptives descendantes (H. J. Lee and Yeomans 2014). Cette dernière fait appel à l'inhibition des neurones « OFF » du RVM (Vanderah et al.

2001), l'activation des cellules « ON », à la libération de CCK (Kissin, Bright, and Bradley 2000), du neuropeptide FF (Bourguignon, Simonnet, and Simonin 2006), de nociceptine (Finley et al. 2008; Toll et al. 2016), de dynorphine A (Gardell et al. 2002; Romero et al. 2012) qui stimule les KOR et favorise la libération d'une substance algogène comme le CGRP (calcitonin-gene related peptide) (Vanderah et al. 2001), et de substance P qui facilite la transmission nerveuse par son récepteur NK1 (King et al. 2006; Vera-Portocarrero et al. 2007). L'activation gliale, évoquée plus haut, est aujourd'hui au centre de la recherche sur l'HIO. Son rôle expliquerait également la présence d'une HIO, chez des animaux dépourvus de récepteurs MOR (Waxman et al. 2009). En effet, l'activation des cellules gliales par les opioïdes peut se faire via l'activation direct des récepteurs TLR 2 ou 4 ou par le biais de récepteurs purinergiques qui modulent in fine la concentration de Cl<sup>-</sup> et l'activité des récepteurs GABA (Hutchinson et al. 2007; Chamma et al. 2012). Des radicaux libres peuvent également, favoriser la maturation de la cathepsine S gliale, qui à son tour favorisera le clivage de la fractalkine, qui induit l'activation de la microglie, la libération d'IL- $\beta$  et la phosphorylation du récepteur NMDA (Ye et al. 2017). Récemment, la modulation des récepteurs GABA par des stéroïdes endogènes notamment l'allopregnanolone a été mise en évidence et pourrait constituer une option thérapeutique (Melcangi and Panzica 2014; Guennoun et al. 2015).

### Traitement de l'HIO

Contrairement à la tolérance, l'HIO est aggravée par l'augmentation des doses d'opioïdes. Une des premières approches thérapeutiques consiste à diminuer ou à limiter les doses totales d'opioïdes auxquelles sont exposés les patients (Angst and Clark 2006; Song et al. 2011; M. Lee et al. 2011; Fletcher and Martinez 2014). Un arrêt progressif du rémifentanil en fin d'intervention sur 30 minutes a également été suggéré (Han et al. 2015). L'arrêt des opioïdes conduit en général à la disparition de la douleur. Cette approche n'est pas simple en clinique, car la différence entre tolérance et HIO n'est pas facile à mettre en évidence et diminuer les antalgiques les plus puissants n'est pas facile à faire accepter au patient qui souffre. Dans le contexte opératoire une administration raisonnée des opioïdes est aujourd'hui possible grâce aux monitorages proposés.

Parmi les thérapeutiques les plus efficaces pour limiter l'hyperalgésie, l'utilisation d'antagonistes des récepteurs NMDA a été largement validée aussi bien chez l'homme (Fu, Miguel, and Scharf 1997; Philippe Richebé, Rivat, Laulin, et al. 2005; Joly et al. 2005; Adam et al. 2005; Mion et al. 2008; Bell 2009; Remérand et al. 2009; Loftus et al. 2017) que dans les



modèles animaux (Rivat et al. 2002; P Richebé et al. 2005). Toutefois, leur usage est limité en clinique, par des effets secondaires notamment psychiques qui en limitent la portée. D'autres modulateurs du récepteur NMDA ont également été utilisés, comme l'amantadine (Treskatsch et al. 2014), le sulfate de magnésium (Hollmann et al. 2001; Farouk and Aly 2009; Song et al. 2011), le protoxyde d'azote (Philippe Richebé, Rivat, Creton, et al. 2005; Echevarría et al. 2011; Bessière et al. 2012), la déplétion en polyamines (Le Roy et al. 2013; Estebe et al. 2017). D'autres thérapeutiques avec des mécanismes d'actions multiples ont démontré une certaine efficacité à diminuer l'HIO. On peut citer, la lidocaïne (Farag et al. 2013), le propofol (Singler et al. 2007), l'esmolol (M. H. Lee et al. 2014), la duloxétine (Ho et al. 2010), les  $\alpha_2$  agonistes comme la clonidine (Kirsty Bannister 2015; Bairy et al. 2017) ou la dexmedetomidine (Belgrade and Hall 2010; C. Lee, Kim, and Kim 2013; Yuan et al. 2017), le néfopam (Tirault et al. 2006; Evans et al. 2008; Philippe Richebé et al. 2013), les gabapentinoïdes comme la gabapentine (Compton et al. 2010; Clarke et al. 2012) ou la prégabaline (Koppert et al. 2003; C. Lee, Lee, and Kim 2013; Kirsty Bannister et al. 2017).

De nouvelles thérapeutiques sont en voie de recherche ciblant l'activation gliale par un inhibiteur glial l'ibudilast ou la modulation des récepteurs GABA par l'allopregnanolone (Melcangi and Panzica 2014; Guennoun et al. 2015).

## Projet de recherche

Le projet de cette thèse est double, clinique et expérimental.

### Projet Clinique

Sur le plan clinique, le but principal était d'utiliser une nouvelle technologie de monitoring du tonus parasympathique, l'Analgesia Nociception Index ou ANI, comme reflet de la nociception peropératoire afin de guider de manière plus précise l'administration peropératoire des opioïdes espérant ainsi réduire les surdosages impliqués dans les phénomènes d'hyperalgésie.

Cette technologie étant émergente, il nous fallait dans un premier temps valider sa capacité à détecter les moments douloureux peropératoires, tester sa sensibilité vis-à-vis des paramètres cliniques habituellement utilisés comme reflet de la nociception peropératoire (pression artérielle et la fréquence cardiaque) et enfin tester sa sensibilité par rapport aux autres nouvelles techniques de monitoring de la nociception proposées. Trois études ont été réalisées dans cette perspective.

Dans un second temps, nous avons étudié la possibilité de moduler l'administration du rémifentanyl peropératoire dans différentes situations cliniques en se basant uniquement sur l'ANI. Trois autres études ont été menées pour valider la capacité de l'ANI à guider l'analgésie peropératoire.

### Projet expérimental

Sur le plan expérimental nous avons voulu comparer les effets de doses équipotentes de rémifentanyl et de sufentanyl sur l'hyperalgésie thermique chez la souris. La paucité d'études expérimentales concernant le sufentanyl nous a conduit dans un premier temps à établir des courbes dose-réponse à ces deux agonistes. Ensuite, nous avons comparé l'effet de l'administration chez la souris de 2 doses équipotentes jusqu'à 24 heures, d'une part en effectuant les tests d'hyperalgésie thermique et d'autre part en étudiant les modifications des récepteurs NMDA dans la substance grise périacqueducule chez ces mêmes souris.

Sur le plan mécanistique intracellulaire, nous avons également comparé l'effet du rémifentanyl et du sufentanyl, administrés de manière courte ou prolongée (jusqu'à 24 heures) sur la signalisation intracellulaire de cellules de neuroblastome en culture, d'une part sur la voie des MAP Kinases ERK1/2 et d'autre part sur l'internalisation des récepteurs MOR étudiée sur une culture de cellules embryonnaires de rein humain.

## Etudes de validation de l'ANI

Dans la perspective de validation de l'ANI, 3 études ont été menées :

*L'étude 1 : Analgesia Nociception Index en chirurgie bariatrique : une analyse à posteriori et en double aveugle*

Dans cette étude chez 21 patients de chirurgie bariatrique, les variations peropératoires de l'ANI enregistrées en aveugle durant la chirurgie ont été analysées à posteriori lors de différents temps opératoires douloureux et non douloureux prédéfinis.

Cette étude a montré que les variations de l'ANI aux temps douloureux étaient significativement différentes des temps non douloureux. Une variation de l'ANI de -10 prédisait la survenue d'un événement douloureux avec une bonne sensibilité et spécificité.

*L'étude 2 : Analyse de l'impact sur l'ANI des stimuli nociceptifs en chirurgie cardiaque sous anesthésie standardisée par propofol et rémifentanyl*

Dans cette étude chez 20 patients opérés de chirurgie cardiaque, les variations de l'ANI enregistrées en aveugle durant la chirurgie ont été comparées aux variations de la fréquence cardiaque et de la pression artérielle moyenne et de l'index bispectral (BIS), lors de 4 temps douloureux et d'un temps non douloureux prédéfinis.

Cette étude a montré que, contrairement aux indices cliniques classiques, l'ANI variait significativement lors des temps douloureux mais pas lors du temps non douloureux. De plus cette étude a montré que les variations de l'ANI étaient nettement supérieures aux variations des paramètres cliniques dans la détection du caractère nociceptif ou non d'un temps opératoire.

*L'étude 3 : La pupillométrie et l'Analgesia Nociception Index prédisent la cible de Rémifentanyl pour l'intubation mais pas le Surgical Pleth Index*

Dans cette étude chez 23 patients de chirurgie vasculaire, lors d'une titration de rémifentanyl à l'aide d'une pupillométrie, pour réaliser une intubation orotrachéale sans réactivité

hémodynamique, nous avons évalué la capacité de l'ANI à prédire la réactivité hémodynamique. Nous avons comparé cette capacité à celle d'un autre indice de monitoring de la nociception nouvellement proposé ; le Surgical Pleth Index ou SPI.

Cette étude a montré que, contrairement au SPI, les variations de l'ANI pouvaient prédire la réactivité à l'intubation après titration de rémifentanil avec une bonne sensibilité et spécificité.

#### Etudes d'utilisation clinique de l'ANI

Après validation de l'ANI comme outil fiable de détection de la nociception peropératoire, nous avons étudié la possibilité de moduler l'administration du rémifentanil peropératoire en se basant uniquement sur l'ANI.

Pour cela nous avons réalisé 3 études :

#### *L'étude 4: A Targeted Remifentanil Administration Protocol based on the Analgesia Nociception Index during Vascular Surgery*

A partir d'observations cliniques, nous avons élaboré un algorithme d'administration peropératoire du rémifentanil, basé sur les variations de l'ANI. Le but de cette étude était de valider cet algorithme de manière prospective chez 180 patients opérés de chirurgies vasculaires variées. Pour cela nous avons administré ce protocole et nous avons noté la survenue ou non d'un mouvement ou d'épisodes de réactivité prédéfinis comme des variations de plus de 20% de la fréquence cardiaque ou de la pression artérielle systolique.

Cette étude a montré qu'un tel protocole permet de conduire une anesthésie sans réactivité chez la très grande majorité des patients, avec de faibles doses de rémifentanil et une faible consommation de morphine postopératoire.

#### *L'étude 5 : La Lidocaïne intraveineuse réduit les besoins peropératoires en rémifentanil : une évaluation basée sur l'Analgesia Nociception Index*

Dans cette étude nous avons évalué, chez 66 patients de chirurgie vasculaire, l'impact de l'adjonction de lidocaïne intraveineuse, sur l'administration de rémifentanil selon le protocole basé sur l'ANI et validé dans l'étude précédente.

Nous avons montré qu'une perfusion continue de lidocaïne intraveineuse permettait de réduire d'un facteur 3 la dose nécessaire de rémifentanil peropératoire.

### *L'étude 6 : L'anesthésie sans morphiniques guidée par l'Analgesia Nociception Index (ANI) diminue la douleur postopératoire et la consommation de morphine après chirurgie vasculaire*

Dans cette étude nous avons comparé, chez 111 patients de chirurgie vasculaire, la douleur et la consommation de morphine postopératoires entre, un groupe de patients recevant lidocaïne et rémifentanil en peropératoire, et un groupe ne recevant que la lidocaïne sans rémifentanil peropératoire.

Nous avons montré que la suppression du rémifentanil peropératoire permettait de réduire la douleur et la consommation de morphine postopératoires.

## Etudes cliniques

Les études cliniques ont fait l'objet d'un protocole de recherche, le protocole « ANIFACT » approuvé par le CPP Nord-Ouest III le 07 décembre 2013. Ce protocole vise à étudier séparément et de manière prospective, chez les patients de chirurgie lourde ou non, tout facteur pouvant influencer le tonus parasympathique représenté par le nouveau paramètre de monitoring dénommé « Analgesia Nociception Index ou ANI ». L'ensemble des patients ont été inclus au CHU de Caen.

### Protocole ANIFACT

ANIFACT permet l'inclusion de patients successifs dans des conditions d'anesthésie standardisées, chez qui on étudiera l'impact d'un seul facteur à la fois sur l'ANI.

Ce protocole a permis de réaliser 12 études permettant d'évaluer différents facteurs pouvant influencer l'ANI. Seuls les résultats des 6 études qui font l'objet de cette thèse seront présentés : ceux concernant la validation de l'ANI (études 1 à 3) et ceux concernant la modulation de la quantité de rémifentanil administrée grâce au monitoring par l'ANI et son effet sur la douleur postopératoire (études 4 à 6).

Les critères d'inclusion et de non inclusion dans le protocole ANIFACT étaient identiques pour les 6 études.

Les critères d'inclusion :

Patient âgé de plus de 18 ans

Informé et consentant

Classe ASA I à III (American Society of Anesthesiology)

Opéré d'une chirurgie réglée sous anesthésie générale

Les critères de non inclusion étaient identiques pour toutes les études :

Grossesse ou allaitement

Désordre psychique ou non coopération

Rythme cardiaque non sinusal

Dysautonomie confirmée

## Analgesia Nociception Index en chirurgie bariatrique : une analyse à posteriori et en double aveugle

### Objectif :

Le but de cette étude était d'étudier la sensibilité et la spécificité de l'ANI dans la détection des temps douloureux peropératoires en chirurgie bariatrique.

### Matériel et méthodes :

Dans cette étude prospective de cohorte, 21 patients opérés d'une chirurgie bariatrique ont été inclus. A l'arrivée au bloc opératoire les patients bénéficiaient du monitoring standard Intellivue™ (Philips, Amsterdam, Pays-Bas) comprenant : ECG, analyse du segment ST, pression artérielle non invasive, saturation périphérique en oxygène, monitoring continu de la profondeur d'anesthésie par EEG frontal (BIS ou Index bispectral™), monitoring de la curarisation à l'adducteur du pouce par le train de quatre, et d'un monitoring continu par l'Analgesia Nociception Index à partir de l'ECG récupéré par la sortie analogique du scope par le moniteur Physiodoloris™ (Metrodoloris Medical system™, Loos, France). L'anesthésie se déroulait selon les pratiques habituelles du médecin en charge du patient. Induction par bolus de propofol (2 à 3 mg/kg de poids idéal) et de rémifentanyl (0,5 µg/kg de poids idéal), curarisation par atracurium (0,5 mg/kg de poids réel), entretien par desflurane pour maintenir un BIS entre 40 et 60 et rémifentanyl en débit massique pour un poids fixé à 100 kg. L'ANI instantané était enregistré en aveugle et en continu sur clé USB et les temps opératoires à priori douloureux (intubation ; INT, pose de sonde nasogastrique ; SNG, introduction des trocards ; Troc 1, 2, 3 à 5, sections de l'estomac ; Sect Estom, fermeture de l'orifice ombilical ; Endocl) et non douloureux (fin du pneumopéritoine ; Fin PNP, fin de l'intervention ; Fin ITV) étaient notés par un observateur indépendant. L'ANI était analysé à posteriori par une autre personne, aux différents temps opératoires. Les variations de l'ANI, ( $\Delta \text{ANI} = \text{ANI à la fin du temps} - \text{ANI au début du temps}$ ) étaient calculées pour les différents temps.

### Résultats :

Les patients (4 hommes et 17 femmes) étaient âgés en moyenne de  $40 \pm 9$  ans avec un Indice de Masse corporelle (IMC) de  $42 \pm 6$  kg/m<sup>2</sup>. L'évolution de l'ANI lors des différents temps opératoires est exprimée dans la figure 8.

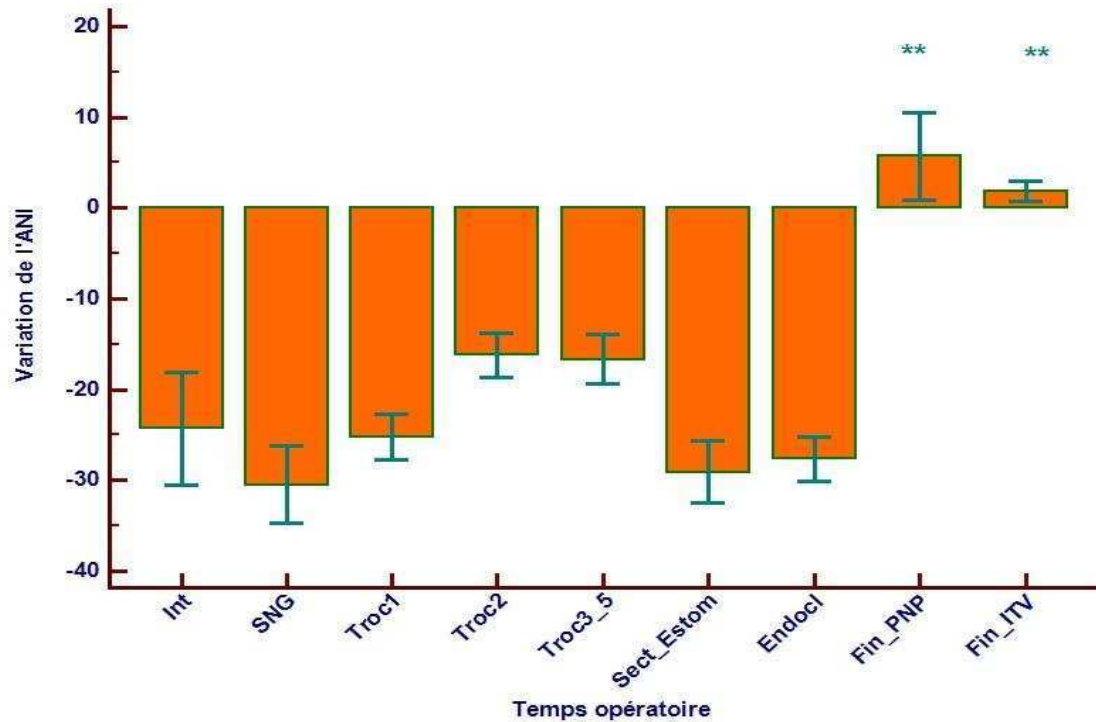


Figure 8 : Evolution de l'ANI au cours des différents temps opératoires prédéfinis a priori comme douloureux : intubation Int, pose de sonde nasogastrique SNG, introduction des trocards Troc 1, 2, 3-5, section de l'estomac Sect Estom, fermeture de l'orifice ombilical Endocl, et non douloureux : fin du pneumopéritoine Fin PNP, fin de l'intervention Fin ITV. \*\*  $p < 0.01$  versus tous les temps douloureux. Les résultats représentent la variation médiane [IC 95%] de l'ANI au cours de chaque temps opératoire. ANOVA pour mesures répétées avec correction de Bonferroni pour comparaisons multiples.

Afin de tester la performance diagnostique des variations de l'ANI à différencier les temps douloureux des temps non douloureux, nous avons construit une courbe ROC (Receiver Operating Characteristics) à partir de ces variations. La figure 9 montre la courbe ROC des Variations de l'ANI.



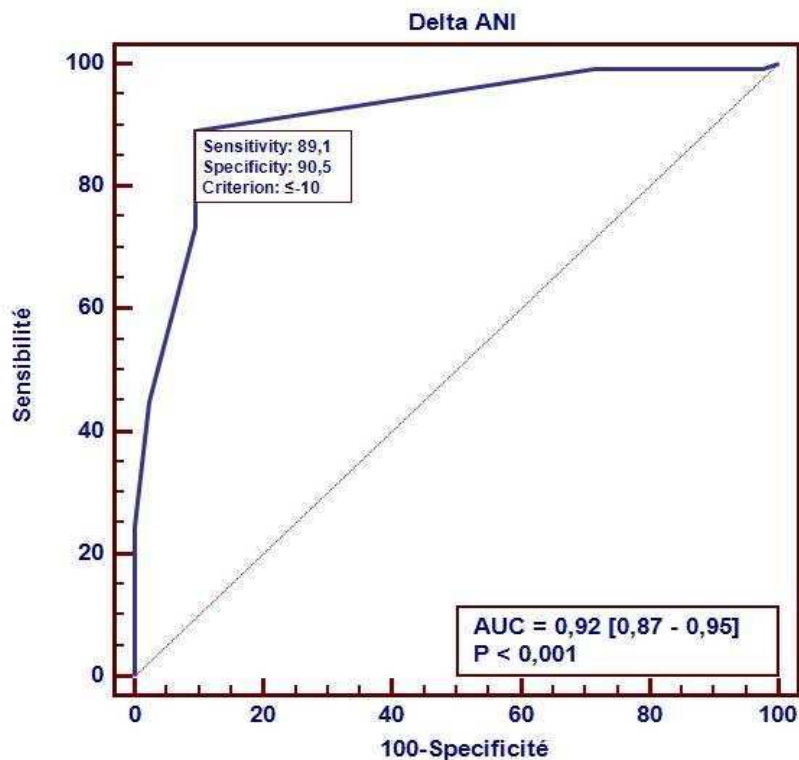


Figure 9 : Courbe ROC de Delta ANI (ANI à la fin du temps – ANI au début du temps). AUC (Area under the curve ou aire sous la courbe) [IC95%]. Une variation de l'ANI d'au moins 10 permet de détecter un évènement douloureux avec une sensibilité de 89,1% et une spécificité de 90,5%.

## Discussion :

Cette étude montre que la variation de l'ANI renseigne bien sur le caractère douloureux ou non des temps opératoires avec une bonne sensibilité et une bonne spécificité. En se basant sur l'ANI, il est donc possible d'adapter la posologie de rémifentanyl lors d'interventions en augmentant les doses lors des évènements douloureux.

Cette étude a fait l'objet d'une publication sous forme de résumé dans les annales françaises d'anesthésie réanimation.



Ann Fr Anesth Réanim 2013 ; 32 : R 566

## Analyse de l'impact sur l'ANI des stimuli nociceptifs en chirurgie cardiaque sous anesthésie standardisée par propofol et rémifentanil

### Objectif :

Le but de cette étude était de comparer la sensibilité de l'ANI à détecter les événements nociceptifs par rapport aux indices classiques (fréquence cardiaque, pression artérielle, index bispectral ou BIS) enregistrés lors de temps douloureux et non douloureux prédéfinis.

### Matériel et Méthodes :

Dans cette étude prospective de cohorte, 21 patients opérés d'une chirurgie cardiaque programmée ont été inclus. A l'arrivée au bloc opératoire les patients bénéficiaient du monitoring standard Intellivue™ (Philips, Amsterdam, Pays-Bas) comprenant : ECG, analyse du segment ST, pression artérielle non invasive, saturation périphérique en oxygène, monitoring continu de la profondeur d'anesthésie par EEG frontal (BIS ou Index bispectral™), monitoring de la curarisation à l'adducteur du pouce par le train de quatre, et d'un monitoring continu par l'Analgesia Nociception Index à partir de l'ECG récupéré par la sortie analogique du scope par le moniteur Physiodoloris™ (Metrodoloris Medical system™, Loos, France). L'anesthésie était conduite par propofol et rémifentanil en AIVOC (Anesthésie intraveineuse à objectif de concentration). L'AIVOC est un mode d'anesthésie intraveineuse, qui consiste à choisir la concentration « cible » d'un agent anesthésique, que l'on souhaite atteindre et maintenir dans le sang et au site d'action (cérébral pour les agents anesthésiques). Un logiciel relié à la pompe de perfusion, calcule les doses correspondantes en se basant sur un modèle pharmacocinétique spécifique du médicament, puis ajuste les doses de l'agent, à la différence entre la concentration prédite par le modèle et la concentration cible réglée par l'anesthésiste. Ce mode, permet d'administrer l'agent anesthésique non plus seulement en fonction du poids du patient, mais selon un modèle pharmacocinétique qui intègre d'autres paramètres comme l'âge, la taille, le sexe et le temps. Après induction et intubation, un cathéter artériel était installé dans une artère radiale ainsi qu'un cathéter veineux central jugulaire. L'anesthésie se déroulait selon les pratiques habituelles du médecin en charge du patient. L'ANI instantané était enregistré en aveugle et en continu sur clé USB et 4 temps opératoires à priori douloureux (intubation ; IOT, incision sternale ; INC, sternotomie ; STERNO, écartement sternal maximal ; ECART) et un temps non douloureux (temps correspondant à la désinfection cutanée et la pose des champs stériles ; STABLE) étaient notés par un observateur indépendant. L'ANI ainsi que

les paramètres cliniques (pression artérielle moyenne ; PAM, fréquence cardiaque ; FC et index bispectral™ ; BIS) étaient analysés à posteriori par une autre personne, aux différents temps opératoires.

Les variations de l'ANI ( $\Delta ANI = ANI_{\text{après}} - ANI_{\text{avant}}$ ) ont été comparées entre les temps douloureux et non douloureux prédéfinis. Pour chacun de ces événements opératoires, nous avons également calculé la variation de la pression artérielle moyenne ( $\Delta PAM$ ), la variation de la fréquence cardiaque ( $\Delta FC$ ) ainsi que la variation de l'index bispectral™ ( $\Delta BIS$ ).

### Résultats :

Au total 13 (65) hommes et 7 (35) femmes, âgés de  $68 \pm 9$  ans, ont été inclus. Treize (65) patients ont été opérés de pontages aorto-coronariens et 7 (35) de remplacement valvulaire aortique.

L'évolution des différents paramètres est résumée dans la figure 10.

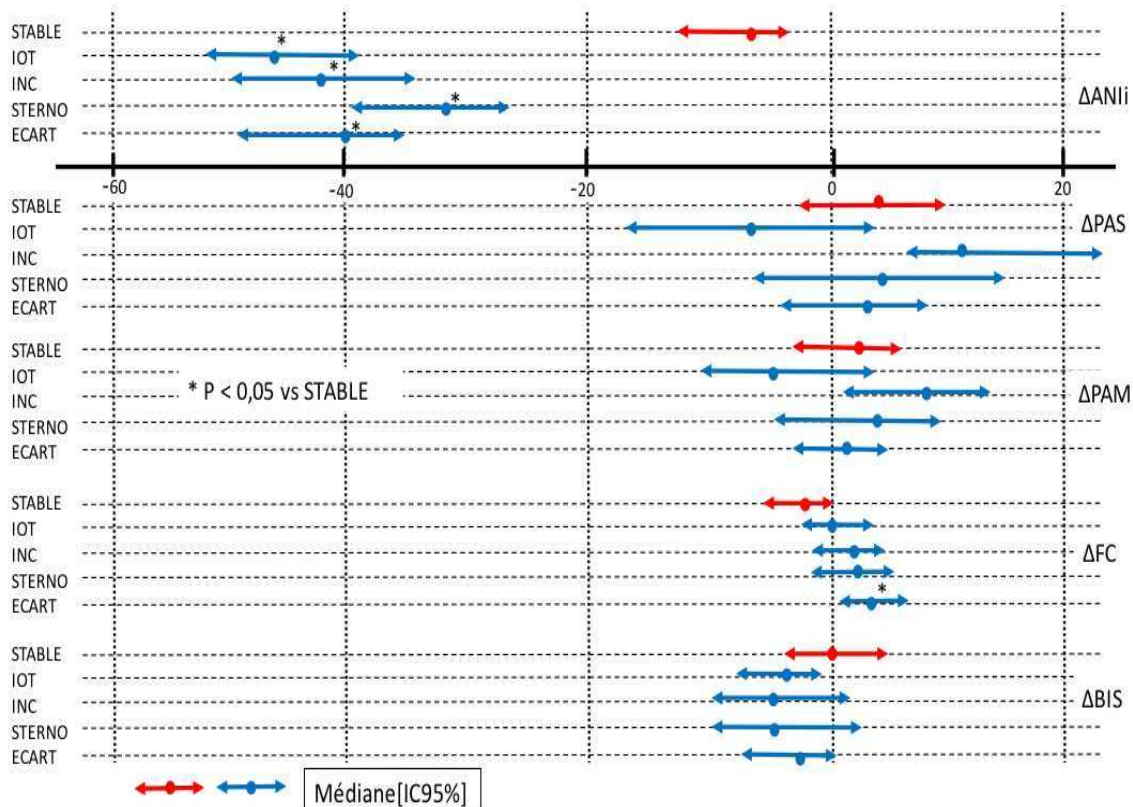


Figure 10 : Variations de l'ANI ( $\Delta ANI_i$ ), de la pression artérielle moyenne ( $\Delta PAM$ ), de la fréquence cardiaque ( $\Delta FC$ ) et de l'index bispectral ( $\Delta BIS$ ) au cours des 4 temps douloureux : intubation (IOT), incision cutanée (INC), sternotomie (STERNO), écartement sternal (ECART) et du temps non douloureux (STABLE). Les résultats représentent la médiane [IC95%]. \*p<0,05 versus STABLE. ANOVA pour mesures répétées avec correction de Bonferroni pour comparaisons multiples.

Afin de comparer les performances respectives des différents paramètres dans la détection des épisodes douloureux, nous avons construit une courbe ROC pour chacun des paramètres puis nous avons comparé les aires sous la courbe (AUC) des différents paramètres par un test de DeLong (figure 11). Les AUC de  $\Delta$ ANI,  $\Delta$ PAM,  $\Delta$ FC et  $\Delta$ BIS étaient de 0,99 [0,96 – 1,00], 0,50 [0,40 – 0,60], 0,70 [0,60 – 0,79] et 0,65 [0,55 – 0,75] respectivement. Les variations de l'ANI sont significativement plus performantes que les variations des autres paramètres.

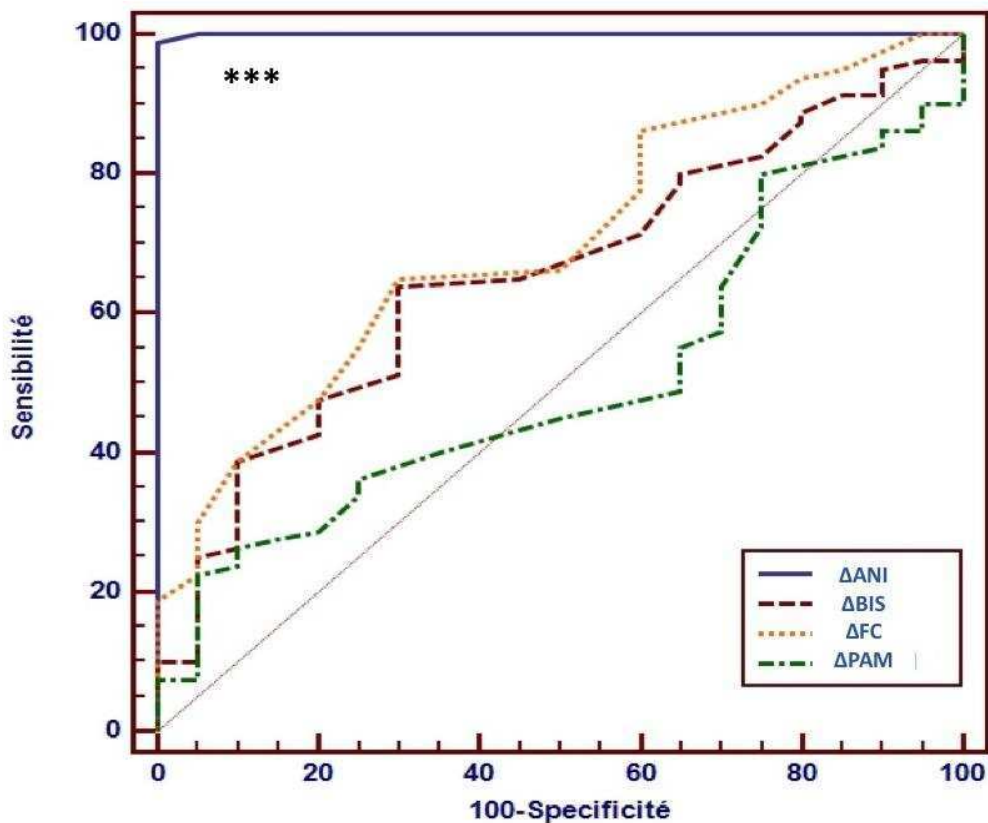


Figure 11 : Comparaison des aires sous la courbe des différents paramètres. L'aire sous la courbe de  $\Delta$ ANI est significativement différente des 3 autres courbes. \*\*\* $p < 0,001$ . Test de DeLong avec calcul binomial exact des intervalles de confiance.

## Discussion :

Les différents résultats de cette étude montrent que les variations de l'ANI ont été plus sensibles que les paramètres classiquement utilisés pour détecter les différents moments douloureux d'une chirurgie cardiaque. Ce qui suggère que l'ANI serait un outil plus performant que la

fréquence cardiaque et la pression artérielle pour adapter les doses de rémifentanyl en chirurgie cardiaque.

Cette étude a fait l'objet d'une publication sous forme de résumé dans les annales françaises d'anesthésie réanimation.



*Ann Fr Anesth Réanim 2016 ; 2 suppl 1 : R272*

## La pupillométrie et l'Analgesia Nociception Index prédisent la cible de rémifentanil pour l'intubation mais pas le Surgical Pleth Index (SPI)

### Objectif :

Dans cette étude nous avons testé la capacité de 3 techniques récentes de monitoring de la nociception disponibles, l'ANI, le SPI (Surgical Pleth Index) et la pupillométrie, à prédire la dose de rémifentanil nécessaire à l'intubation considérée comme un stimulus « nociceptif » ou réflexogène important.

Le SPI ou (Surgical Pleth Index) est un indice calculé à partir de la courbe de pléthysmographie du capteur de saturation artérielle à l'index. Il tient compte de 2 paramètres ; la variation normalisée de l'amplitude de la courbe de pléthysmographie ( $\Delta$ PPGA) et de la fréquence cardiaque représentée par l'intervalle entre deux battements cardiaque ou HRI (heart rate interval).  $SPI = 100 - (\Delta$ PPGA + HRI). Le SPI varie donc de 0 à 100. En cas de stimulus nociceptif, ( $\Delta$ PPGA + HRI) diminue et le SPI augmente. Selon le constructeur, des valeurs de SPI > 50 sont considérées comme le reflet d'un stimulus nociceptif.

La pupillométrie, fait appel au réflexe de dilatation pupillaire (RDP) qui exprime le fait que la pupille se dilate après un stimulus nociceptif. Le diamètre pupillaire peut être mesuré en continu par une caméra à infrarouge ultra-rapide et les variations du diamètre pupillaire calculées instantanément. Selon le constructeur, des variations du RDP > 13% témoignent d'une nociception importante. L'appareil permet aussi de délivrer des stimulations nociceptives calibrées à l'aide d'un câble relié à 2 électrodes cutanées.

### Matériel et Méthodes :

Dans cette étude, 23 patients de classe ASA I-III opérés d'une chirurgie vasculaire ont été inclus. A l'arrivée au bloc opératoire les patients bénéficiaient du monitoring standard Carescape™ (General Electrics™, Helsinki, Finlande) comprenant : ECG, analyse du segment ST, pression artérielle non invasive, saturation périphérique en oxygène, monitoring continu de la profondeur d'anesthésie à partir de l'EEG frontal, par SE (State Entropy™), monitoring de la curarisation à l'adducteur du pouce par le train de quatre, et d'un monitoring continu par l'Analgesia Nociception Index à partir de l'ECG récupéré par la sortie analogique du scope par le moniteur Physiodoloris™ (Metrodoloris Medical system™, Loos, France).

L'induction en AIVOC, débutait par le propofol jusqu'à obtenir un BIS entre 40-60, le rémifentanyl était ensuite débuté à la concentration cible cérébrale de 1 ng/ml.

Les patients étaient curarisés par atracurium (0,5 mg/kg) et ventilés au masque facial étanche, en volume contrôlé (6 ml/ de poids idéal). Des stimulations téaniques croissantes (10 à 60 mA, 100 Hz) étaient appliquées par un pupillomètre Algiscan™ (iDmed™, Marseille, France), au muscle deltoïde avec mesure continue du réflexe de dilatation pupillaire (RDP). En cas de variation du RDP >13%, le rémifentanyl était augmenté par paliers de 0,5 ng/ml toutes les 2 minutes, jusqu'à obtention d'un RDP <13% pour un téanos de 60mA et le patient était alors intubé. La FC, la PAS, l'ANI et le SPI, étaient mesurés simultanément. Une réaction à l'intubation était définie a priori par une augmentation de la FC ou de la PAS après IOT >20% de la valeur avant IOT.

### Résultats :

La dose médiane de rémifentanyl pour l'IOT était de 2,0 [2,0-2,5] ng/ml. Après IOT, 3 patients (13%) ont réagi (FC>20%). Le SPI n'a pas diminué de façon significative après stimulation téanique (22 [15-34] vs 21 [14-34], p=0,60). L'ANI a diminué significativement après stimulation (53 [47-75] vs 31 [26-50], p<0.01).

Afin de déterminer si les variations d'ANI ( $\Delta$ ANI) ou de SPI ( $\Delta$ SPI) après stimulation avaient une valeur prédictive sur la réaction à l'intubation, nous avons construit des courbes ROC pour ces variations.

En fixant un seuil de variation d'ANI inférieur à 21, nous pouvons prédire l'absence de réaction avec une sensibilité de 100% et une spécificité de 61% (AUC= 0,83[0,60-0,96] p<0,01). En revanche, les variations du SPI n'ont pas de valeur prédictive sur la réactivité à l'IOT (AUC = 0,61 [0,39-0,80], p=0,48). Figures 11 et 12.

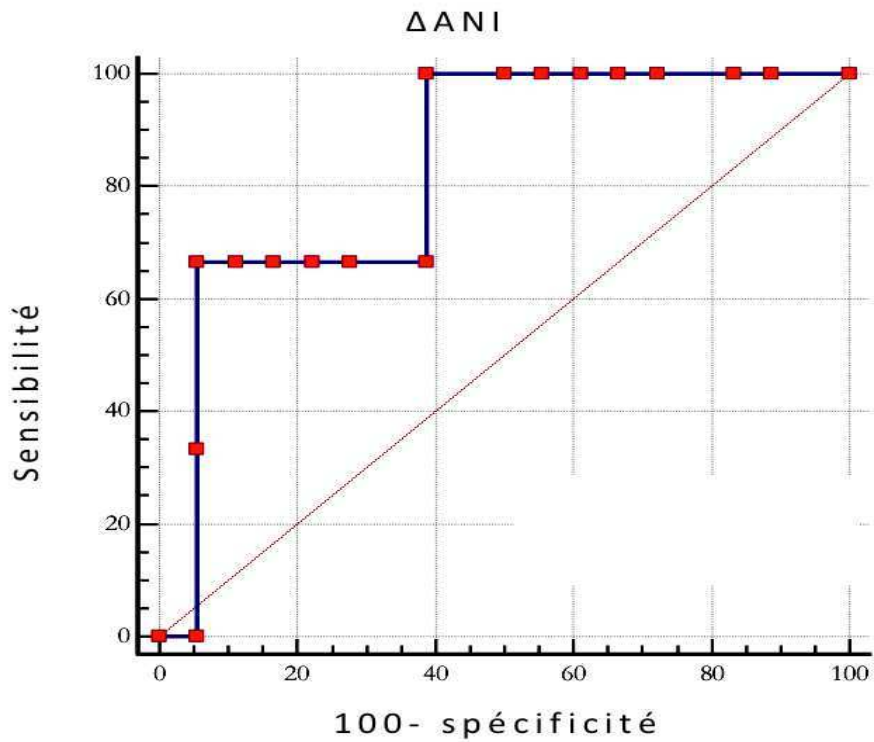


Figure 11 : Courbe ROC de  $\Delta ANI$ . Une valeur de  $\Delta ANI$  inférieure à 21 prédit l'absence de réaction à l'intubation avec une sensibilité de 100% et une spécificité de 61%. L'aire sous la courbe ROC = 0,83 [0,60-0,96] ;  $p < 0,01$

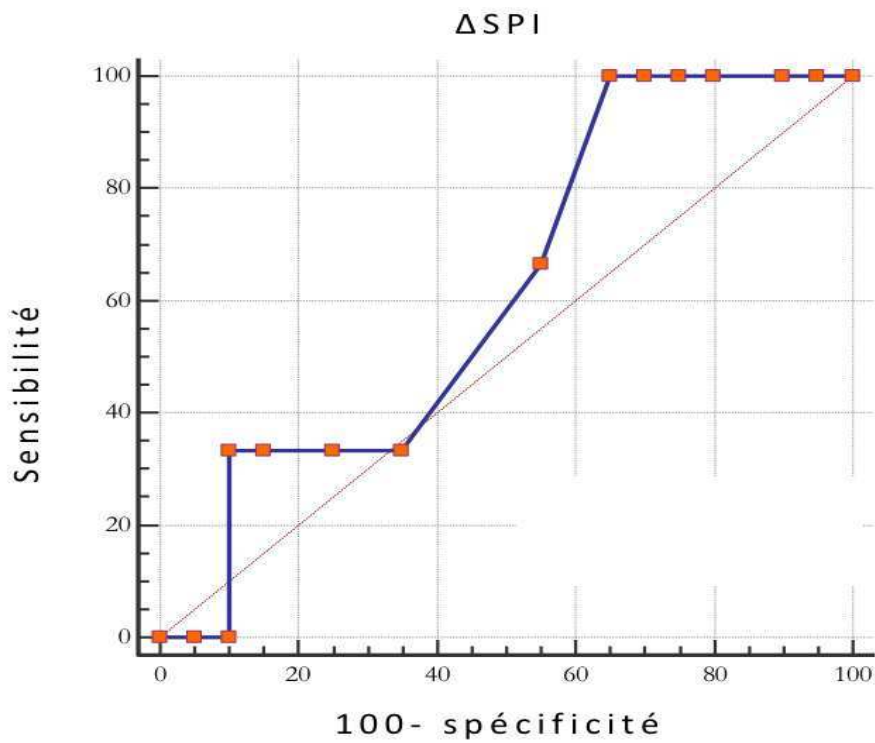


Figure 12 : Courbe ROC de  $\Delta SPI$ . L'aire sous la courbe ROC = 0,61 [0,39-0,80] ;  $p = 0,48$ .  $\Delta SPI$  n'a pas de valeur prédictive quant à la survenue d'une réactivité hémodynamique à l'intubation.



## Discussion :

Dans cette étude un RDP < 13% a permis d'ajuster la dose de rémifentanyl pour une IOT sans réaction dans la majorité des cas. De plus, une variation d'ANI < 21 après stimulation téτανique pourrait prédire une IOT sans réaction. En revanche le SPI n'a pas de valeur prédictive. Ces résultats encourageants devraient être confirmés sur une plus grande population.

Cette étude a fait l'objet d'une publication sous forme de résumé dans les annales françaises d'anesthésie réanimation.



*Ann Fr Anesth Reanim 2015 ;1 suppl 1: A19*

## A Targeted Remifentanil Administration Protocol based on the Analgesia Nociception Index during Vascular Surgery

La finalité du monitoring du tonus parasympathique est d'apprécier en temps réel la balance analgésie-nociception sous anesthésie générale. Ceci devrait permettre une adaptation des opioïdes peropératoires aux stimuli nociceptifs et qui tient compte de la variabilité inter-individuelle aux effets des opioïdes.

### Objectif :

Dans cette étude, nous avons voulu valider un algorithme d'administration du rémifentanil basé sur les variations peropératoires de l'ANI et évaluer son impact sur la consommation totale de rémifentanil et la douleur postopératoire.

### Matériel et Méthodes :

Pour cela, nous avons inclus prospectivement 180 patients, de classe ASA I-III, opérés de chirurgie vasculaire programmée.

A l'arrivée au bloc opératoire les patients bénéficiaient du monitoring standard Carescape™ (General Electrics™, Helsinki, Finlande) comprenant : ECG, analyse du segment ST, pression artérielle, saturation périphérique en oxygène, monitoring continu de la profondeur d'anesthésie, à partir de l'EEG frontal, par SE (State Entropy™), monitoring de la curarisation à l'adducteur du pouce par le train de quatre, et d'un monitoring continu par l'Analgesia Nociception Index à partir de l'ECG récupéré par la sortie analogique du scope par le moniteur Physiodoloris™ (MDoloris Medical system™, Loos, France). L'anesthésie était conduite par propofol et rémifentanil en AIVOC (Anesthésie intraveineuse à objectif de concentration). L'induction débutait par le propofol à la concentration cible de 2 µg/ml, augmentée par paliers de 0,5 µg/ml jusqu'à obtenir un SE entre 40 et 60. Le rémifentanil était ensuite débuté à la concentration cible de 2,5 ng/ml jusqu'à l'intubation. Après curarisation par atracurium (0,5 mg/kg) les patients étaient intubés et le rémifentanil diminué à 1 ng/ml.

Par la suite et pendant toute l'intervention le propofol était ajusté pour maintenir SE entre 40 et 60 et le rémifentanil ajusté à l'ANI par paliers de 0,2 ng/ml pour maintenir l'ANI entre 50 et 70. L'échec du protocole était défini a priori par la survenue au cours de l'intervention d'un des critères suivants : réaction motrice ou toux, augmentation de la fréquence cardiaque ou de la pression artérielle systolique > 20% des valeur de base (moyenne des 3 premières valeurs

mesurées à l'arrivée du patient au bloc opératoire). L'analgésie per et postopératoire était standardisée et comprenait, paracétamol 1g/6h, kétoprofène 100 mg/12h, néfopam 20 mg/6h, et oxycodone 5mg/6h si la douleur était > 3 sur l'échelle numérique simple.

Le pourcentage de patients ayant présenté une réaction, la dose totale de rémifentanil ainsi que la douleur maximale et la consommation postopératoires de morphine à H24 ont été analysés.

## Résultats :

Les caractéristiques cliniques des patients sont résumées dans le tableau 3.

Age (années)	68 [65-71]
Genre	
Hommes	140 (78)
Femmes	40 (22)
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	26 [25-27]
Classe ASA	
I	3 (2)
II	59 (33)
III	118 (65)
Hypertension	131 (73)
Cardiopathie ischémique	51 (28)
Diabète	
Type I	9 (5)
Type II	33 (18)
Traitement bêtabloquant	60 (33)
Inhibiteurs du système rénine- angiotensine	103 (57)
Type de chirurgie	
Remplacement aortique par laparotomie	30 (17)
Endarteriectomie carotidienne	60 (33)
Endoprothèse aortique	30 (17)
Revascularisation des membres inférieurs	57 (32)
Divers	3 (2)
Durée de la chirurgie (min)	136 [123-150]

Tableau 3 : Caractéristiques cliniques des patients. IMC, indice de masse corporelle; ASA American Society of Anesthesiology. Les valeurs sont indiquées en nombre (%) ou en médiane [IC95%].

Parmi les 180 patients, 160 (89%) n'ont présenté aucune réactivité au cours de l'intervention. Vingt-cinq épisodes de réactivité ont été relevés chez 20 (11%) patients. Un patient (0,5%) a présenté une FC > 20%, 2 patients (1%) ont présenté une PAS > 20% et 17 (9%) un mouvement ou une toux.

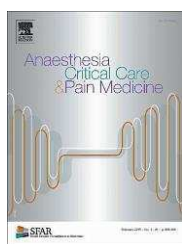
La dose médiane de rémifentanil était de 0,042 [0,040 – 0,044] mg.kg<sup>-1</sup>.min<sup>-1</sup>.

A la 24<sup>ème</sup> heure postopératoire, la douleur maximale évaluée par échelle numérique simple était de 2 [2 - 3]. Cent cinquante-cinq patients (86%) n'ont pas consommé de morphine postopératoire et les 25 (14%) patients ayant eu des morphiniques postopératoires ont consommé 5 [5 – 10] mg d'oxycodone.

### Discussion :

Dans cette étude nous avons montré qu'une analgésie peropératoire guidée par l'ANI est tout à fait adéquate. A notre connaissance, cette étude est la première à valider l'intérêt de l'ANI dans la gestion peropératoire du rémifentanil avec de faibles doses, de faibles douleurs postopératoires et une faible consommation de morphine.

Cette étude a fait l'objet d'une publication sous forme d'article dans *Anesthesia Critical Care and Pain Medicine*



*Anaesthesia Critical Care & Pain Medicine* 2017, 36 (4): 229-32

## La Lidocaïne intraveineuse réduit les besoins peropératoires en rémifentanil : une évaluation basée sur l'Analgesia Nociception Index

### Objectif :

Pour aller plus loin dans l'épargne morphinique et la réduction de l'hyperalgésie, nous avons voulu savoir si la consommation peropératoire du rémifentanil selon le protocole d'anesthésie basé sur l'ANI validé dans l'étude 4, pouvait être encore réduite par l'adjonction de lidocaïne intraveineuse. L'objet de cette étude cas - contrôle, était de comparer la consommation de rémifentanil, la douleur maximale et la consommation de morphine sans les 24 premières heures postopératoires, entre un groupe de patients opérés sans lidocaïne et un groupe de patients opérés avec lidocaïne

### Matériel et Méthodes :

Pour cela, 66 patients opérés de chirurgie vasculaire, répartis entre 2 groupes : 22 patients avec lidocaïne (Lido) et 44 patients sans lidocaïne intraveineuse (Contrôle) ont été inclus dans cette étude. A l'arrivée au bloc opératoire les patients bénéficiaient du monitoring standard CareScape™ (General Electrics™, Helsinki, Finlande) comprenant : ECG, analyse du segment ST, pression artérielle, saturation périphérique en oxygène, monitoring continu de la profondeur d'anesthésie, à partir de l'EEG frontal, par SE (State Entropy™), monitoring de la curarisation à l'adducteur du pouce par le train de quatre, et d'un monitoring continu par l'Analgesia Nociception Index à partir de l'ECG récupéré par la sortie analogique du scope par le moniteur Physiodoloris™ (MDoloris Medical system™, Loos, France). Dans les 2 groupes l'anesthésie était conduite en AIVOC par propofol-rémifentanil selon le protocole validé dans l'étude précédente. Dans le groupe Lido, les patients ont reçu à l'induction un bolus de 2 mg/kg de lidocaïne puis une perfusion intraveineuse continue de 1,5 mg/kg de lidocaïne après l'intubation. Le rémifentanil était toujours ajusté par paliers de 0,2 ng/ml pour maintenir l'ANI entre 50 et 70. Les 44 patients du groupe Rémi étaient appariés en âge, sexe et type d'intervention avec un ratio de 2 contrôles pour 1 cas. Les consommations de propofol et de rémifentanil, la douleur maximale évaluée par échelle numérique simple (EN Max), la consommation de morphine (Morphine) des 24 heures postopératoires et la durée de la chirurgie ont été comparées entre les 2 groupes, par un test de Mann et Whitney.

## Résultats :

Au total 57 (86) hommes et 9 (14) femmes ont été inclus. L'âge moyen était de  $71 \pm 10$  ans et l'IMC de  $26 \pm 5$  kg/m<sup>2</sup>. La chirurgie concernait l'aorte abdominale chez 15 (23) patients, l'artère fémorale chez 48 (73) et la carotide chez 3 (5) patients.

Le tableau 4 montre les caractéristiques per et postopératoires des 2 groupes.

	Groupe Lido (n=22)	Groupe contrôle (n=44)	p
Dose de Rémifentanyl ( $\mu$ g/kg/min)	0,015 [0,00 - 0,09]	0,040 [0,02 - 0,08]	<0,01
Dose de propofol (mg/kg/min)	0,11 [0,06 - 0,17]	0,10 [0,04 - 0,18]	0,52
Durée de la chirurgie (min)	194 [73 - 328]	181 [75 - 617]	0,63
EN Max (H24)	0,0 [0,0 - 4,0]	3,0 [0,0 - 8,0]	<0,01
Morphine (H24)	0,0 [0,0 - 0,0]	0,0 [0,0 - 5,0]	0,26

Tableau 4 : Caractéristiques per et postopératoires des 2 groupes appariés de patients.  $p < 0,05$  était considéré significatif. Test de Mann et Whitney. Les données sont présentées en médiane [extrêmes].

## Discussion :

Cette étude montre que l'administration continue de lidocaïne intraveineuse en chirurgie vasculaire, diminue significativement la consommation de rémifentanyl lorsqu'il est ajusté à l'ANI, sans augmentation significative des besoins en propofol. La réduction de la dose de rémifentanyl renforce le bénéfice de la lidocaïne sur la douleur et l'hyperalgésie postopératoires.

Cette étude a fait l'objet d'une publication sous forme de résumé dans les annales françaises d'anesthésie réanimation.



Ann Fr Anesth Reanim 2016;2 suppl 1: R279

## L'anesthésie sans morphiniques guidée par l'analgésie nociception index (ANI) diminue la douleur postopératoire et la consommation de morphine après chirurgie vasculaire

### Objectif :

Compte-tenu des très faibles doses de rémifentanil utilisées dans l'étude précédente, nous avons modifié notre protocole d'anesthésie de manière à administrer la lidocaïne à des doses plus élevées en supprimant l'utilisation de rémifentanil. L'objectif de cette étude cas - contrôle était de comparer la douleur maximale et la consommation de morphine dans les 48 heures postopératoires entre deux groupes, l'un recevant du rémifentanil et l'autre sans rémifentanil.

### Matériel et Méthodes :

Pour cela, 111 patients opérés de chirurgie vasculaire, ont été répartis entre 2 groupes : 37 patients bénéficiant d'une anesthésie sans morphinique avec propofol - lidocaïne seule (ASM) et 74 patients appariés selon l'âge, le sexe et le type de chirurgie (ratio 2 contrôles pour 1 cas) avec anesthésie par propofol-rémifentanil sans lidocaïne intraveineuse (Contrôle).

A l'arrivée au bloc opératoire les patients bénéficiaient du monitoring standard Carescape™ (General Electrics™, Helsinki, Finlande) comprenant : ECG, analyse du segment ST, pression artérielle, saturation périphérique en oxygène, monitoring continu de la profondeur d'anesthésie, à partir de l'EEG frontal, par SE (State Entropy™), monitoring de la curarisation à l'adducteur du pouce par le train de quatre, et d'un monitoring continu par l'Analgesia Nociception Index à partir de l'ECG récupéré par la sortie analogique du scope par le moniteur Physiodoloris™ (MDoloris Medical system™, Loos, France).

Dans le groupe ASM le propofol était ajusté pour maintenir la SE entre 40 et 60 et la lidocaïne ajustée par paliers de 0,5 mg/kg/h entre 1 et 2 mg/kg/h pour maintenir l'ANI entre 50 et 70.

Dans le groupe Contrôle le propofol était ajusté pour maintenir la SE entre 40 et 60 et le rémifentanil ajusté par paliers de 0,2 ng/ml pour maintenir l'ANI entre 50 et 70.

Les caractéristiques cliniques des patients sont résumées dans le tableau 5.

N = 111	
Sexe (H/F)	(84/27)
Age (années)	68 ± 11
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	26 ± 5
Aorte abdominale	18 (16)
Fémorale	51 (46)
Carotidienne	42 (38)

Tableau 5 : Caractéristiques cliniques des patients. IMC, indice de masse corporelle. Les données sont présentées en nombre (%) ou en moyenne ± DS.

La douleur maximale mesurée par l'échelle numérique simple (EN Max) et la consommation totale de morphine dans les 48h postopératoires ainsi que la consommation de propofol ont été comparées entre les 2 groupes et sont présentées dans le tableau 6.

	Contrôle (n = 74)	ASM (n = 37)	p
Propofol (mg/kg/min)	0,11 [0,04-0,19]	0,13 [0,08-0,20]	0,001
EN Max 48H	2,0 [0,0-8,0]	0,0 [0,0-5,0]	0,007
Morphine H48 (mg)	0,0 [0,0-10,0]	0,0 [0,0-0,0]	0,04

Tableau 6 : Comparaison des consommations peropératoires de propofol, de la douleur maximale évaluée par l'échelle numérique simple (EN Max) et de la consommation cumulée de morphine dans les 48 heures postopératoires entre le groupe avec rémifentanyl (contrôle) et le groupe sans rémifentanyl (ASM). Les valeurs sont exprimées en médiane [min – max]

## Discussion :

Cette étude montre, que la suppression du rémifentanyl dans un protocole basé sur l'ANI, réduit encore plus la douleur et la consommation de morphine postopératoires en chirurgie vasculaire au prix d'une augmentation de la dose de propofol.

Cette étude a fait l'objet d'une publication sous forme de résumé dans les annales françaises d'anesthésie réanimation.





Ann Fr Anesth Reanim 2017;3 suppl 1: R746

## Protocole REMIBOUCLE

La réduction des doses de rémifentanil grâce au monitoring du tonus parasympathique par l'ANI a permis de diminuer la douleur et de la consommation de morphine dans les 48 heures postopératoires. Toutefois, ces deux paramètres ne sont pas spécifiques de l'HIO et évaluent la douleur de manière globale sans rendre compte des mécanismes sous-jacents de cette douleur (tolérance aiguë, inflammation, sensibilisation périphérique, sensibilisation centrale, anxiété, déficience des contrôles inhibiteurs descendants, etc.). L'hyperalgésie périphérique ou primaire peut être mieux évaluée par la mesure des seuils d'hyperalgésie mécanique au niveau de la cicatrice, en appliquant sur celle-ci une pression calibrée croissante (à l'aide de filaments de vonFrey par exemple). L'hyperalgésie secondaire liée aux phénomènes de sensibilisation centrale se traduit par une surface d'hyperalgésie péricicatricielle augmentée. Cette surface peut être mesurée en appliquant sur la peau une pression calibrée de la périphérie vers le centre de la cicatrice tous les 0,5 cm, puis en marquant par un point l'endroit où la sensation devient douloureuse. La répétition de cette mesure selon 4 axes autour de la cicatrice permet de tracer huit points que l'on relie pour délimiter le périmètre de cette aire d'hyperalgésie secondaire, dont on mesurera la surface. Plusieurs études ont suggéré que l'étendue de cette aire était corrélée à l'incidence de douleur chronique 3 ou 6 mois après la chirurgie.

### Objectifs :

Afin de confirmer que le monitoring par ANI permet finalement de réduire l'hyperalgésie induite par le rémifentanil nous avons mis en place l'étude REMIBOUCLE, (approuvée par le CPP Nord-Ouest III le 06 Février 2016), une étude prospective, randomisée, en double aveugle qui compare, deux protocoles d'administration de rémifentanil. L'un basé sur l'ANI et validé dans l'étude 4, l'autre protocole est basé sur le BIS et fonctionne de manière automatisée en boucle fermée. Il a été validé dans une autre étude (Liu et al. 2011). Dans les 2 groupes l'administration de propofol sera automatisée en boucle fermée et basée sur le BIS.

L'objectif principal est de montrer qu'une administration basée sur l'ANI réduit la consommation de rémifentanil par rapport à une administration basée sur le BIS.

L'objectif secondaire est de montrer que la diminution de rémifentanil, diminue l'hyperalgésie mesurée par les aires d'hyperalgésie péri-cicatricielles et les seuils douloureux à 1 cm de la cicatrice.

Cette étude doit inclure 70 patients (35 dans chaque bras). Une analyse intermédiaire est prévue à 50 patients. A ce jour 10 patients ont été inclus.

#### Critères d'inclusion :

Patient âgé de 18 ans et plus

Intervention programmée de revascularisation artérielle périphérique

Ayant signé un consentement éclairé écrit

#### Critères de non-inclusion :

Impossibilité technique de recueillir l'index Bispectral™

Patient sous traitement psychotrope neuroleptique

Patient atteint d'un trouble neurologique central

Rythme cardiaque non sinusal (Pace Maker, défibrillateur, Arythmies)

Chirurgie en urgence

Dysautonomie neurovégétative avérée (diagnostic déjà établi ou hypotension orthostatique vérifiée par une différence >30mmHg entre la pression artérielle systolique couché et debout)

Traitement au long cours (>2 mois) par des morphinomimétiques

Grossesse en cours

Patient sous tutelle ou curatelle

Conduite addictives ou instabilité psycho-affective

Patient déjà inclus dans une autre étude

#### Matériel et Méthodes :

Les patients ne seront pas prémédiqués. Le traitement personnel est donné le matin de l'intervention selon les indications du médecin anesthésiste la veille. Au bloc opératoire, le patient est installé, réchauffé et les paramètres suivants monitorés (fréquence cardiaque, pression artérielle, segment ST, train de quatre à l'adducteur du pouce, SpO<sub>2</sub>, FetCO<sub>2</sub>, BIS). Le moniteur d'ANI est raccordé à la sortie analogique ECG du scope.

Après consentement éclairé et signé, les patients seront randomisés, le matin de l'intervention à l'aide d'enveloppes scellées, en deux groupes. Le groupe « boucle BIS » reçoit le propofol et le rémifentanil en boucle fermée automatisée selon le BIS. Le groupe « boucle ANI » reçoit le propofol en boucle automatisée fermée selon le BIS, mais reçoit le rémifentanil en AIVOC par ajustements manuels selon l'ANI comme décrit dans l'étude 4. Afin de respecter l'aveugle, une

seringue de sérum physiologique sera branchée sur la boucle automatique ou sur la seringue d'AIVOC selon le groupe. Après pose d'une voie veineuse périphérique, le système d'administration de la boucle automatique ainsi qu'une seringue d'AIVOC sont raccordés au patient. L'induction est débutée simultanément par la boucle BIS et par l'AIVOC réglée à 2 ng/ml. A l'obtention d'un BIS entre 40 et 60, le patient est curarisé par atracurium (0,5 mg/kg) puis intubé. Dès l'intubation la seringue AIVOC est ramenée à 1ng/ml, puis modulée par paliers de 0,2 ng/ml toutes les 2 minutes pour maintenir l'ANI entre 50 et 70. Le propofol sera géré automatiquement dans les deux groupes par la boucle automatique pour maintenir le BIS entre 40 et 60. L'analgésie postopératoire sera identique dans les 2 groupes et débutera 30 min avant la fin de l'intervention par paracétamol 1g et kétoprofène 100 mg, qui seront répétés toutes les 6h et 12h respectivement. De plus, dès le réveil une PCA de morphine sera connectée au patient avec bolus de 1 mg et période réfractaire de 7 min.

La douleur postopératoire sera évaluée par l'échelle numérique simple et la consommation de morphine autocontrôlée par le patient (PCA), puis orale à J0, J1 et J2. A J1 et J2 nous mesurerons aussi les seuils de douleur mécanique à 1 cm de la cicatrice par filament de vonFrey électronique, et l'aire d'hyperalgésie péricicatricielle au triangle de Scarpa en appliquant un filament de vonFrey de 100 g.

## Etudes expérimentales

Peu d'études expérimentales sont disponibles concernant le rémifentanil et surtout le sufentanil pourtant largement utilisés en anesthésie-réanimation. Nous avons vu que l'activation des voies de signalisation intracellulaires, mais aussi l'internalisation des récepteurs, et les régulations induites par une exposition prolongée étaient agoniste-dépendant. Cette sélectivité fonctionnelle pourrait produire des effets différents après exposition courte ou prolongée au rémifentanil ou au sufentanil chez l'animal.

Nous avons voulu, d'une part, comparer les effets de ces 2 ligands sur l'hyperalgésie thermique chez la souris et les modifications qu'ils entraînent dans la substance grise périacqueducale, puis d'autre part, voir la régulation des MOR qu'ils induisent et essayer de comprendre les mécanismes cellulaires sous-jacents mis en jeu.

## Chez la souris

Si quelques études se sont intéressées à l'hyperalgésie induite par l'injection sous-cutanée de rémifentanil chez la souris, peu d'études se sont intéressées aux effets du sufentanil et les doses produisant l'effet analgésique maximal ne sont pas connues.

Pour cela, nous avons effectué une première série d'expériences visant à déterminer les concentrations équipotentes pour les 2 agonistes à induire une analgésie maximale. Nous avons réalisé des courbes dose-réponse en utilisant le test de la plaque chaude pour mesurer l'effet analgésique des opioïdes.

Dans une deuxième série d'expériences, nous avons cherché à savoir si l'injection unique de rémifentanil et de sufentanil pouvaient induire une hyperalgésie. Nous avons également abordé les mécanismes pouvant être responsables de cette hyperalgésie en étudiant l'état de phosphorylation du récepteur NMDA dans la PAG.

## Comparaison des courbes dose-réponse sur la nociception thermique

### Matériel et méthodes :

Des souris males de la lignée Swiss, de 26-28 g de poids sont mises en stabulation à raison de cinq animaux par cage à 21°C avec eau et nourriture à volonté pendant une semaine pour les familiariser avec leur nouvel environnement. Les souris seront ensuite exposées ou non (solution saline) à des doses croissantes de rémifentanyl (10 à 40 mg/kg) ou de sufentanyl (1 à 10 µg/kg) dans un volume de 0,1 ml /10 g en injection sous-cutanée. L'analgésie thermique était quantifiée à 1, 2, 5, 15, et 60 minutes après injection, par la mesure du temps de latence en secondes, avant léchage des pattes arrière ou saut lorsque les animaux étaient placés sur une plaque chaude maintenue à 52°C (temps maximal ou cut-off fixé à 180 secondes) à l'intérieur d'un cylindre transparent de 20 cm de diamètre. Les mesures étaient effectuées par des expérimentateurs aveugles au traitement reçu par la souris. L'effet est exprimé en% de l'effet maximal possible (% EMP) = (latence après traitement- latence de base) / (cut-off - latence de base). Dix souris par expérience ont été utilisées.

A la fin de l'expérience les souris ont été sacrifiées par exposition au CO<sub>2</sub> et les cerveaux immédiatement prélevés par dissection et immergés dans une solution d'isopentane sur de la carboglace puis congelés à -80°C.

Les cerveaux seront ensuite ramenés à température ambiante pour prélèvement de la substance grise périaqueducule selon les repères anatomiques (Paxinos and Franklin 2004). Le prélèvement de la PAG se fera par un emporte-pièce (punching). Les PAG de 3 souris seront réunies puis écrasées mécaniquement dans un mortier en verre et homogénéisées dans un tampon (Tris-HCl à 10 mM [pH 7.4]/ sucrose à 10%, EDTA 1 mM, Na<sub>3</sub>VO<sub>4</sub> à 0.1 mM, un mélange d'inhibiteurs de protéases ; Roche) puis centrifugées à 1000g pendant 10 minutes à 4°C. Le surnageant sera centrifugé 45 minutes à 28000 g à 4°C et le culot soniqué dans un tampon de solubilisation (Tris-HCl à 10 mM [pH 7.4], EDTA 1 mM, SDS à 0.1%, NP-40 à 0.1%, NaCl à 150 mM, mélange d'inhibiteurs de protéases, Roche). Après quantification des protéines par la méthode de Bradford et dénaturation à (70°C pendant 10 minutes) dans un tampon de dépôt (10% (w/v) de Sodium Dodécyl Sulfate (SDS), 100 de Tris HCl ajusté à pH 6,8, 10% (v/v) de Glycérol, 0,1% (v/v) de β-mercaptoéthanol, 0,01% (w/v) de Bleu de bromophénol). Les échantillons seront séparés sur un gel d'acrylamide à 12% puis les protéines transférées sur une membrane de nitrocellulose, pour être mises en contact avec des

anticorps dirigés contre les sous-unités NR1, NR2A et NR2B des récepteurs NMDA totales et phosphorylées.

### Résultats de la comparaison des courbes doses-réponse sur la nociception thermique

Nous avons tout d'abord évalué le temps de latence au léchage des pattes arrière après administration sous-cutanée de doses croissantes de rémifentanil (10, 15, 25 et 40 mg/kg). Pour ce faire, les souris ont été placées 1, 2, 5, 15 et 60 min après l'injection sur une plaque chaude. Alors qu'aucun effet analgésique sur le léchage n'est observé pour les doses de 10 et 15 mg/kg de rémifentanil quel que soit le temps d'observation, nous constatons une latence au léchage pour les doses de 25 et 40 mg/kg (figure 13). Cet effet est rapide puisqu'il apparaît dès 1 min après l'injection et fugace car il disparaît après 2 et 5 min respectivement pour les doses de 25 et 40 mg/kg (figure 13). D'autre part, l'effet maximal est obtenu pour la dose de 40 mg/kg de rémifentanil 1 min après l'injection (figure 13).

Les mêmes expériences ont été réalisées avec des doses croissantes de sufentanil (1, 2,5, 5 et 10 mg/kg). De façon surprenante, nous observons une légère augmentation de la latence de léchage des pattes uniquement pour la plus forte concentration de sufentanil et aux temps 5 et 15 min ; l'EMP est alors d'environ 40% (Figure 14)

### Rémifentanil

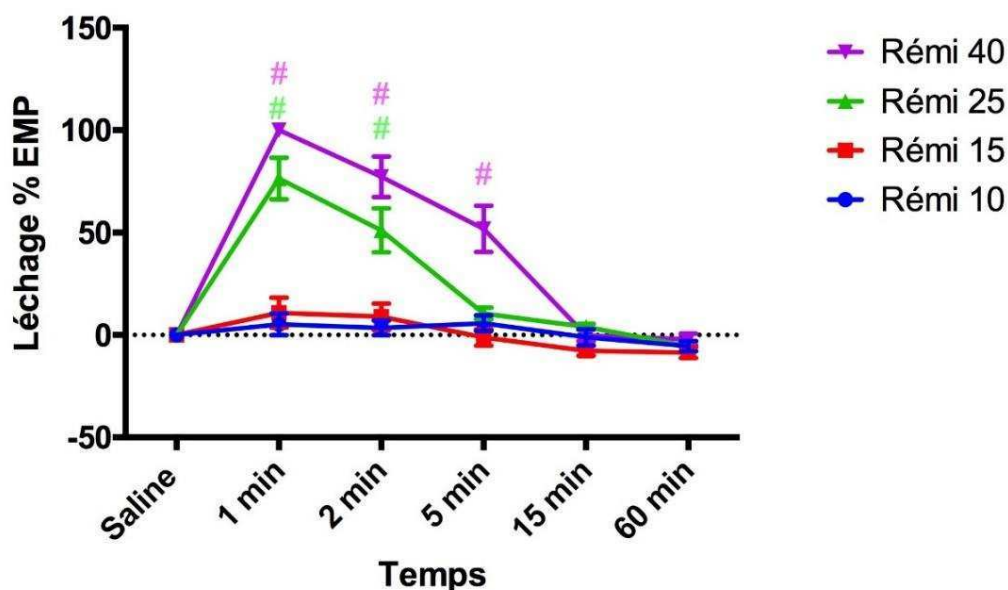


Figure 13 : Courbes dose-réponse sur la latence au léchage des pattes après injection de rémifentanil (10mg/kg, 15 mg/kg, 25 mg/kg et 40 mg/kg) ou d'une solution saline (Saline). Les résultats correspondent à la moyenne  $\pm$  SEM (n=8-10) et sont exprimés en% de l'effet maximal possible (%EMP) après 1, 2, 5, 15 et 60 minutes de l'injection sous-cutanée. #  $p < 0,05$  par rapport à Saline. ANOVA à 2 voies avec correction de Tukey pour comparaisons multiples.

### Sufentanil

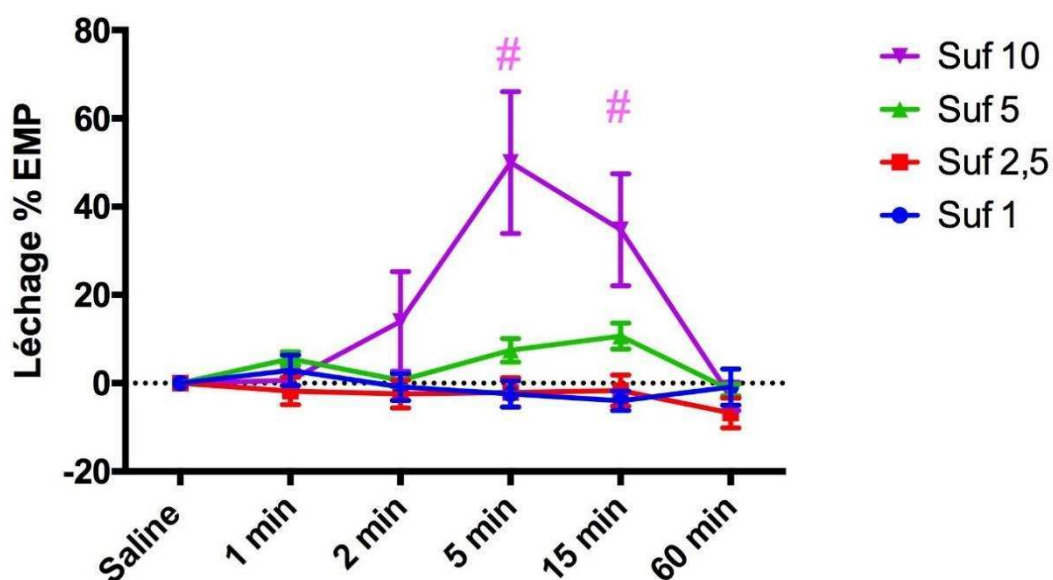


Figure 14 : Courbes dose-réponse sur la latence au léchage des pattes après injection de sufentanil (1µg/kg, 2,5 µg/kg, 5 µg/kg et 10 µg/kg) ou d'une solution saline (Saline). Les résultats correspondent à la moyenne  $\pm$  SEM (n=8-10) et sont exprimés en% de l'effet maximal possible (%EMP) après 1, 2, 5, 15 et 60 minutes de l'injection sous-cutanée. #  $p < 0,05$  par rapport à Saline. ANOVA à 2 voies avec correction de Tukey pour comparaisons multiples.



Pour chaque agoniste et chacune des conditions étudiées, nous avons également mesuré le temps de latence au saut. Comme le montre la figure 15, nous notons une augmentation du temps de latence à partir de la concentration en rémifentanil de 15 mg/kg et dès le temps 1 min. L'effet maximal est obtenu à partir de la concentration de 15 mg/kg. Plus la concentration en agoniste augmente plus l'effet dure dans le temps. En effet, alors que pour 15 mg/kg de rémifentanil l'effet analgésique a disparu 2 min après l'injection, il persiste pour la concentration de 40 mg/kg. Quinze minutes après l'injection de rémifentanil et quelle que soient les doses utilisées, l'effet analgésique n'est plus observé. En revanche, pour la dose de rémifentanil la plus élevée une diminution de la latence est observée à 15 et à 60 minutes. Ceci pourrait correspondre à une hyperalgésie.

Concernant le sufentanil, l'effet analgésique est observé à partir de la plus faible concentration utilisée (1 mg/kg) avec un effet maximal d'environ 50% à 15 min. Lorsque la dose administrée est augmentée, l'effet maximal est toujours obtenu à 15 min mais l'effet analgésique apparaît plus précocement (figure 16). A 10 mg/kg, le sufentanil produit une augmentation du temps de latence au saut dès la deuxième minute après l'injection et correspond à environ 70% de l'effet maximal. A 60 minutes, il n'y a plus d'effet analgésique sur le saut ni d'hyperalgésie.

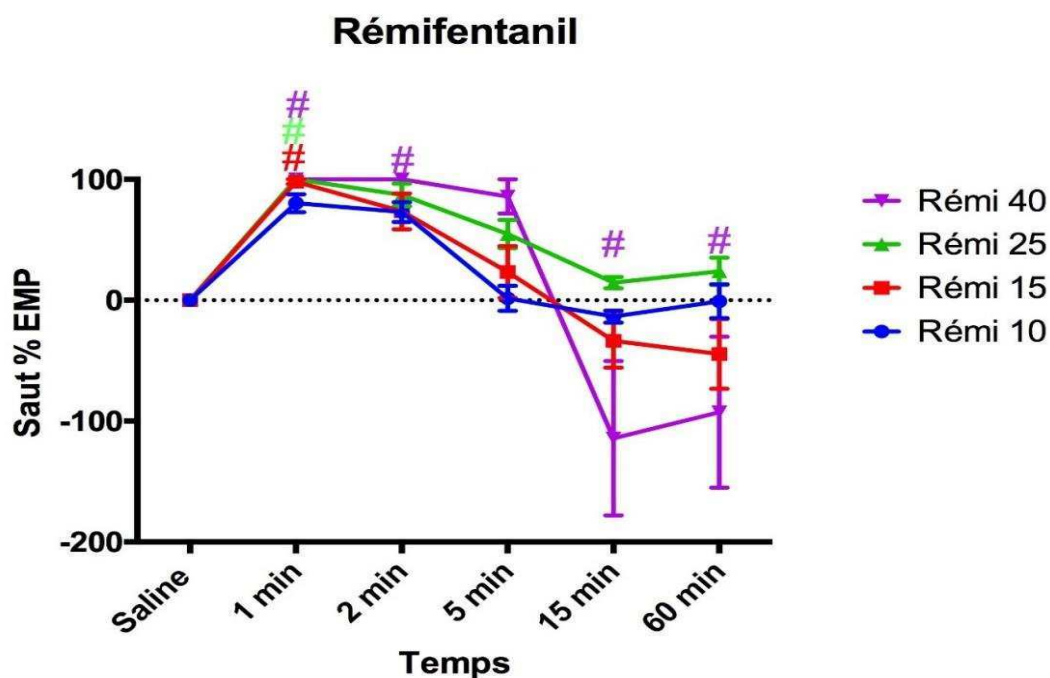


Figure 15 : Courbes dose-réponse sur la latence au saut après rémifentanyl (10mg/kg, 15 mg/kg, 25 mg/kg et 40 mg/kg) ou après injection d'une solution saline (Saline). Les résultats correspondent à la moyenne  $\pm$  SEM (n=8-10) et sont exprimés en% de l'effet maximal possible (%EMP) après 1, 2, 5, 15 et 60 minutes de l'injection sous-cutanée. #  $p < 0,05$  par rapport à Saline. ANOVA à 2 voies avec correction de Tukey pour comparaisons multiples

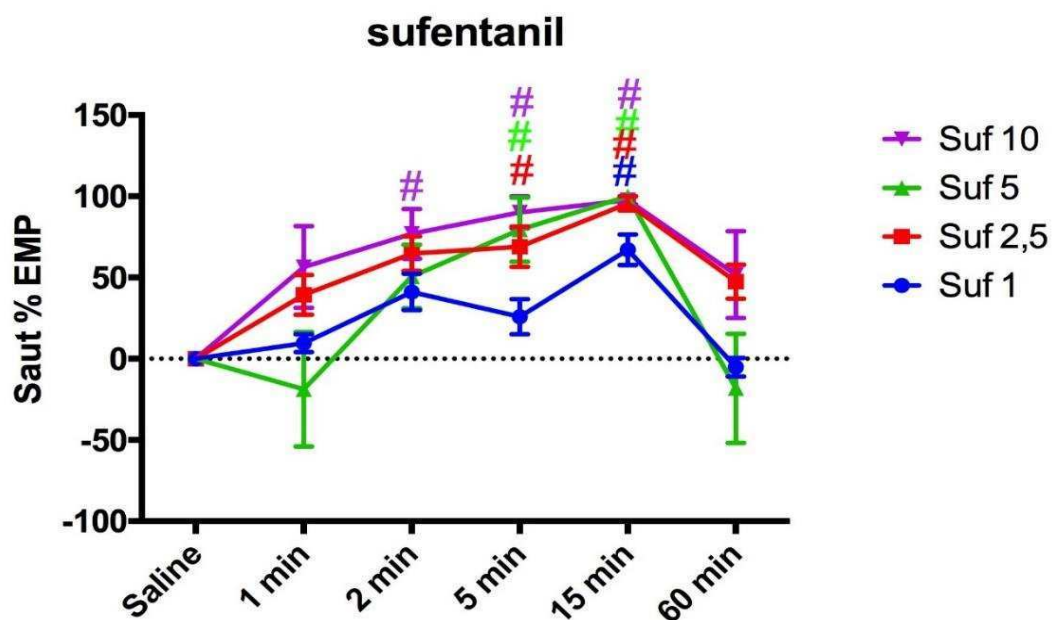


Figure 16 : Courbes dose-réponse sur la latence au saut après sufentanyl (1 $\mu$ g/kg, 2,5  $\mu$ g/kg, 5  $\mu$ g/kg et 10  $\mu$ g/kg) ou après injection d'une solution saline (Saline). Les résultats correspondent à la moyenne  $\pm$  SEM (n=8-10) et sont exprimés en% de l'effet maximal possible (%EMP) après 1, 2, 5, 15 et 60 minutes de l'injection sous-cutanée. #  $p < 0,05$  par rapport à Saline. ANOVA à 2 voies avec correction de Tukey pour comparaisons multiples

## Comparaison de l'effet d'une dose équipotente de rémifentanil et de sufentanil sur l'expression et la phosphorylation des récepteurs NMDA dans la PAG

Afin d'aborder les mécanismes moléculaires pouvant être responsables des effets hyperalgésiques après injection unique de rémifentanil et de sufentanil, nous avons étudié le niveau d'expression ainsi que l'état de phosphorylation des sous-unités NR1, NR2A et NR2B des récepteurs NMDA dans la substance grise périaqueducale.

Le rémifentanil (15 mg/kg) et le sufentanil (2,5µg/kg) (à doses équipotentes sur l'analgésie évaluée par la latence au saut) seront ensuite administrés ou non, en injection unique pour le sufentanil et en infusion continue pour le rémifentanil jusqu'à 15 minutes et les souris sacrifiées par inhalation de CO<sub>2</sub> à 60 minutes. Les cerveaux sont prélevés, la substance grise périaqueducale récupérée puis le niveau d'expression des sous unités NR1, NR2A et NR2B des récepteurs NMDA totales et phosphorylées sont évaluées par western-blot ; ces expériences sont actuellement en cours de réalisation.

## In vitro

### Effets d'une exposition courte sur l'activation des ERK1/2

La voie des MAPK ERK1/2 est connue comme étant activée par les MOR et serait également impliquée dans les processus de régulation lors d'expositions chroniques aux opioïdes (voir justification des études expérimentales dans introduction).

C'est pour cette raison que nous avons étudié cette voie de signalisation après 10 min d'exposition au rémifentanil ou au sufentanil. Ces mêmes expériences ont également été réalisées après une exposition prolongée des cellules SH-SY5Y à ces agonistes jusqu'à 24h.

## Méthodes

### Culture cellulaire

Les cellules SHSY-5Y et HEK sont cultivées à 37°C en atmosphère humide contenant 5% de CO<sub>2</sub>, dans un milieu d'Eagle modifié par Dulbecco (DMEM, Sigma Aldrich™, Saint Quentin Fallavier, France), enrichi en sérum de veau fœtal (SVF) à 10% (v/v) en L-Glutamine à 2 mM (Laboratoires PAA™, Les Mureaux, France) et en antibiotique (Pénicilline – streptomycine) 1% (v/v) (Penstrep™, Thermo Fischer Scientific™, Waltham, MA).

Pour la lignée stable SH-MOR-GFP, un agent de sélection, la phleomycine D1 (Zeocin™, Invitrogen™, Villebon sur Yvette, France) est ajouté au milieu de culture à la concentration de 150µg/ml de milieu, afin d'éliminer les cellules non transfectées. Les cellules sont détachées après ajout de DPBS (Dulbecco phosphate buffered saline), puis de Trypsine EDTA 1% (Thermo Fischer Scientific™, Waltham, MA) puis dissociées à l'aide d'une pipette de pasteur en verre.

Les agonistes utilisés dans toutes les expérimentations in vitro sont fournis par la pharmacie du CHU. Le rémifentanil et le sufentanil (Mylan™, Canonsburg, PA), étaient dilués stérilement dans du sérum physiologique pour obtenir des solutions mères aux concentrations respectives de 10<sup>-3</sup> M et 10<sup>-4</sup> M, puis conservés dans des aliquots à -20°C.

### Lignées cellulaires et transfection

La lignée cellulaire SH-SY5Y (SH-SY5Y WT), qui dérive d'un neuroblastome humain, a été utilisée pour ces expériences cellulaires. Ces cellules expriment de manière endogène des récepteurs MOR et DOR humains avec un rapport, 3 MOR / 1 DOR (Noble et al. 2000).

Nous avons également surexprimé dans ces cellules le MOR couplé à une protéine fluorescente eGFP (SH-SY5Y hMOR). Pour cela, les cellules de la lignée SH-SY5Y ont été transfectées à l'aide du kit de transfection Amaxa Nucleofector™ (Kit V – programme A-023) selon les recommandations du fabricant (Lonza, Levallois-Perret, France), avec le plasmide codant pour le récepteur MOR couplé à la protéine fluorescente eGFP. Ce plasmide contient un gène de résistance à la phleomycine D1 ce qui permet d'obtenir une lignée exprimant de manière stable le récepteur couplé à la protéine eGFP.

Pour l'étude de l'internalisation, nous avons transfecté de manière transitoire des cellules de la lignée HEK (human embryonic kidney). Ces cellules sont cultivées dans les mêmes conditions que les SH-SY5Y. Pour la transfection, les cellules sont déposées sur des lamelles de verres polylysines (60000 cellules / lamelle) dans des plaques de 24 puits pendant 24 heures. Le milieu de culture est changé une heure avant la transfection, puis l'agent de transfection GenJet plus™, (SignaGen™, Rockville, MD) et le plasmide codant soit pour la GFP seule soit pour le récepteur hMOR-eGFP (2% (w:v)) sont ajoutés dans les puits pendant 24 heures avant l'exposition aux agonistes.

#### Etude de la voie ERK1/2 par immuno-empreinte

Après avoir été détachées et comptées, les cellules SH-SY5Y WT ou eGFP sontensemencées dans des plaques de 6 puits à raison de 1 million de cellules / puits et laissées pendant environ 48h jusqu'à confluence. Après sevrage en SVF de 12h dans du DMEM, les cellules sont exposées ou non pendant 10 minutes à 37°C à des doses croissantes de rémifentanil ( $10^{-8}$  à  $10^{-5}$  M) ou de sufentanil ( $10^{-9}$  à  $10^{-6}$  M). Un puits servait de contrôle positif d'activation de la voie ERK 1/2 par du SVF à 20% (v/v).

Concernant les expériences d'expositions prolongées aux agonistes, les cellules SH-SY5Y WT étaient exposées ou non (contrôle) à la concentration de  $10^{-6}$  M de rémifentanil ou de sufentanil pendant 10 min (Naive), 1 heure (1h), 8 heures (8h), 24 heures (24h). Afin de vérifier qu'après 24h, les agonistes n'étaient pas dégradés dans le milieu de culture, la même concentration de ligand était rajoutée dans le puits pendant 10 min (H24+ ago).

#### Western Blot

A la fin du traitement, le milieu était rapidement éliminé, puis 150  $\mu$ L d'un tampon de lyse (10% (w/v) de Sodium Dodécyl Sulfate (SDS), 100 de Tris HCl ajusté à pH 6,8, 10% (v/v) de Glycérol, 0,1% (v/v) de  $\beta$ -mercaptoéthanol, 0,01% (w/v) de Bleu de bromophénol) contenant un cocktail d'inhibiteurs de protéase à 1% (v/v), étaient ajoutés. Le lysat obtenu était soniqué, centrifugé à 20000 g pendant 15 min à 4°C, le surnageant était récupéré puis dénaturé par chauffage à 95°C pendant 3 min. Les échantillons étaient séparés sur un gel d'acrylamide à 12% puis les protéines étaient transférées sur une membrane de nitrocellulose par transfert semi-sec.

Pour chacune de ces conditions, nous avons étudié l'expression des protéines ERK1/2 totales et phosphorylées à l'aide des anticorps primaires de lapin pour MAPK totales, p44/42 MAPK (ERK1/2) (Cell Signaling™, Danvers, MA) et pour MAPK phosphorylées phospho-p44/42 MAPK (ERK1/2) (Cell Signaling™, Danvers, MA).

Après transfert, la membrane est incubée dans un tampon de blocage (Tris-buffered saline TBS, 0,1%(v/v) de Tween 20 (TBS/T), 5% (w/v) de Lait écrémé en poudre) pendant 60 minutes sur agitateur, puis avec l'anticorps primaire anti MAPK phosphorylées dilué au 1/1000<sup>ème</sup> dans un tampon (TBS/T, 5%(w/v) de BSA) pendant 12 heures à 4°C. Après 3 rinçages par TBS/T, la membrane est incubée avec l'anticorps secondaire Anti-rabbit IgG HRP-linked (Cell Signaling™, Danvers, MA) dilué au 1/1000<sup>ème</sup> dans un tampon (TBS/T, 5% (w/v) de Lait écrémé en poudre) pendant 60 minutes, sur agitateur à température ambiante.

La membrane est enfin incubée avec une solution de révélation (Western Lightning Chemiluminescence Reagent Plus™, PerkinElmer™, Waltham, MA). La luminescence produite est mesurée grâce au ChemiDoc™ XRS+ system et son logiciel Quantity One (Bio-Rad Laboratories™, Hercules, CA). L'intensité des bandes est analysée par densitométrie grâce au logiciel ImageJ.

Après révélation la membrane est rincée 3 fois par du TBS/T puis incubée avec une solution de détachement (62 mM de Tris-HCl ajusté au pH 6,8, 2% (w/v) de SDS, 100 mM de  $\beta$ -Mercaptoéthanol) dans un four rotatif à 50°C pendant 30 minutes. Après 3 rinçages par TBS/T, puis blocage par (TBS/T, 5% (w/v) de Lait écrémé en poudre) la membrane est incubée avec l'anticorps primaire anti MAPK ERK1/2 totales dilué au 1/1000<sup>ème</sup> dans un tampon (TBS/T, 5%(w/v) de BSA) pendant 12 heures à 4°C. Après 3 rinçages par TBS/T, la membrane est incubée avec l'anticorps secondaire Anti-rabbit IgG HRP-linked (Cell Signaling™, Danvers,

MA) dilué au 1/1000<sup>ème</sup> dans un tampon (TBS/T, 5% (w/v) de Lait écrémé en poudre) pendant 60 minutes, sur agitateur à température ambiante.

La membrane est de nouveau incubée avec une solution de révélation (Western Lightning Chemiluminescence Reagent Plus<sup>TM</sup>, PerkinElmer<sup>TM</sup>, Waltham, MA) et la luminescence est mesurée comme décrit ci-dessus.

Les résultats sont exprimés sous la forme du ratio phospho-ERK 1/2 sur ERK 1/2 totales.

Nous avons exprimé les résultats par rapport aux cellules non exposées aux agonistes puis normalisé les résultats par rapport à l'effet maximal pour les doses réponses et par rapport à la réponse des cellules naïves pour les expériences de désensibilisation.

#### Trafic membranaire du MOR :

Le trafic membranaire du MOR a été étudié en microscopie confocale après exposition courte (10 min) et prolongée (jusqu'à 24h) par du rémifentanil ou du sufentanil à 1µM, des cellules HEK surexprimant le récepteur couplé à la protéine fluorescente eGFP.

Après transfection dans les plaques de 24 puits, le milieu est changé le lendemain et les cellules sont laissées avec 500µL de milieu de culture pendant 24 heures à 37°C.

Puis, le rémifentanil ou le sufentanil 10µM sont ajoutés ou non (Naive) pendant 10 min (10 min), 1 heure (1h), 8 heures (8h), et 24 heures (24h). De plus, afin de confirmer que l'internalisation était due à l'activation des MOR, les cellules ont été exposées à 10µM de Naloxone seule (Nal) ou ajoutée à chaque agoniste pendant 1 heure (Rémi+Nal 1h) et (Suf+Nal 1h). Après retrait du milieu contenant l'agoniste, les puits sont rincés par un tampon phosphate salin PBS (Phosphate-buffered saline) et les cellules fixées par du paraformaldéhyde à 4% (w/v) à 37°C pendant 15 minutes. Après rinçage au PBS les lamelles sont montées avec une solution de montage Vectashield<sup>TM</sup> (Vector<sup>TM</sup> Laboratories, Burlingame, CA) avec le marqueur de noyau DAPI (4',6-diamidino-2-phénylindole), puis examinées au microscope confocal laser FluoView<sup>TM</sup> (Olympus<sup>TM</sup>, Rungis, France), au grossissement x60 (Plateforme CMABIO, Université de Caen).

#### Résultats :

Nous avons tout d'abord étudié l'activation des protéines ERK1/2 par le rémifentanil et le sufentanil dans la lignée cellulaire « sauvage » SH-SH5Y (SH-SY5Y WT). Comme le montre la figure 17, l'exposition des cellules SH-SY5Y à des doses croissantes de rémifentanil pendant 10 min stimule la phosphorylation des protéines ERK1/2 de façon dose dépendante avec un

Log EC<sub>50</sub> de  $-7,9 \pm 0,2$  M. L'amplitude d'activation à 1  $\mu$ M était d'environ un facteur 3 par comparaison aux cellules non exposées. Le sufentanil stimule également la phosphorylation des protéines ERK1/2 avec Log EC<sub>50</sub> de  $-7,3 \pm 0,2$  M. Comme pour le rémifentanil, l'activation maximale en présence de sufentanil survenait à 1  $\mu$ M avec un facteur d'activation de 5,6 fois (figure 18). L'activation après sufentanil était significativement plus importante que celle après rémifentanil ( $p=0,02$  au test de Mann-Whitney)

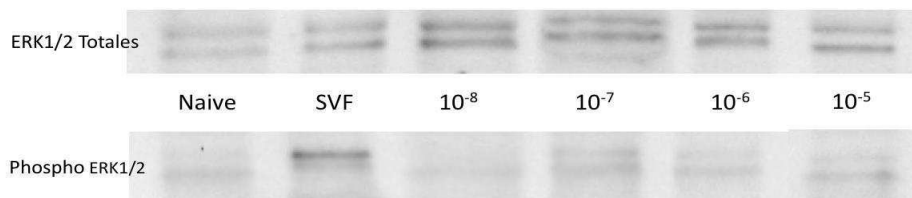
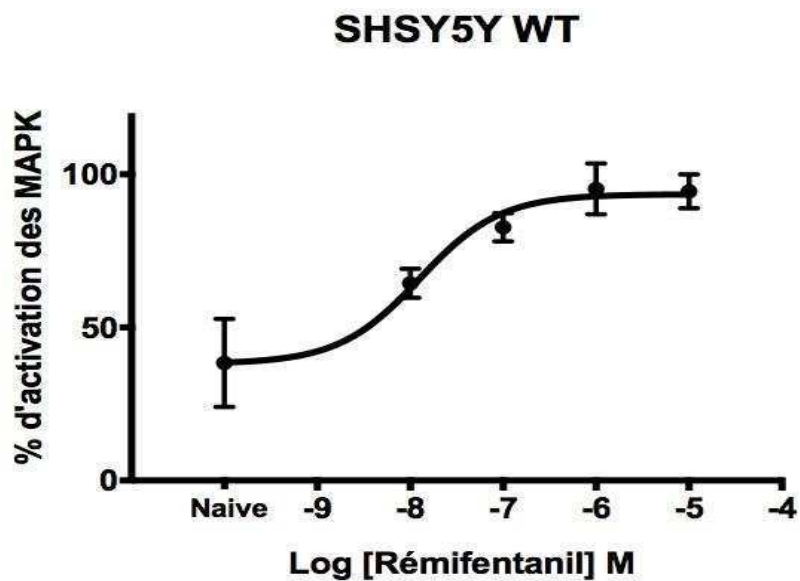


Figure 17: Courbe d'activation de la voie ERK1/2 dans les cellules SH-SY5Y WT exposées pendant 10 minutes à des doses croissantes de rémifentanil [allant de  $10^{-8}$  à  $10^{-5}$  M]. Le niveau d'activation des ERK1/2 correspond au ratio de phospho ERK1/2 sur la quantité totale de ERK1/2. L'effet maximal produit par le rémifentanil est choisi comme 100%. Un western blot représentatif des ERK1/2 totales et phosphorylées est présenté. Les données sont exprimées en moyennes  $\pm$  S.E.M. de 3-6 mesures indépendantes.



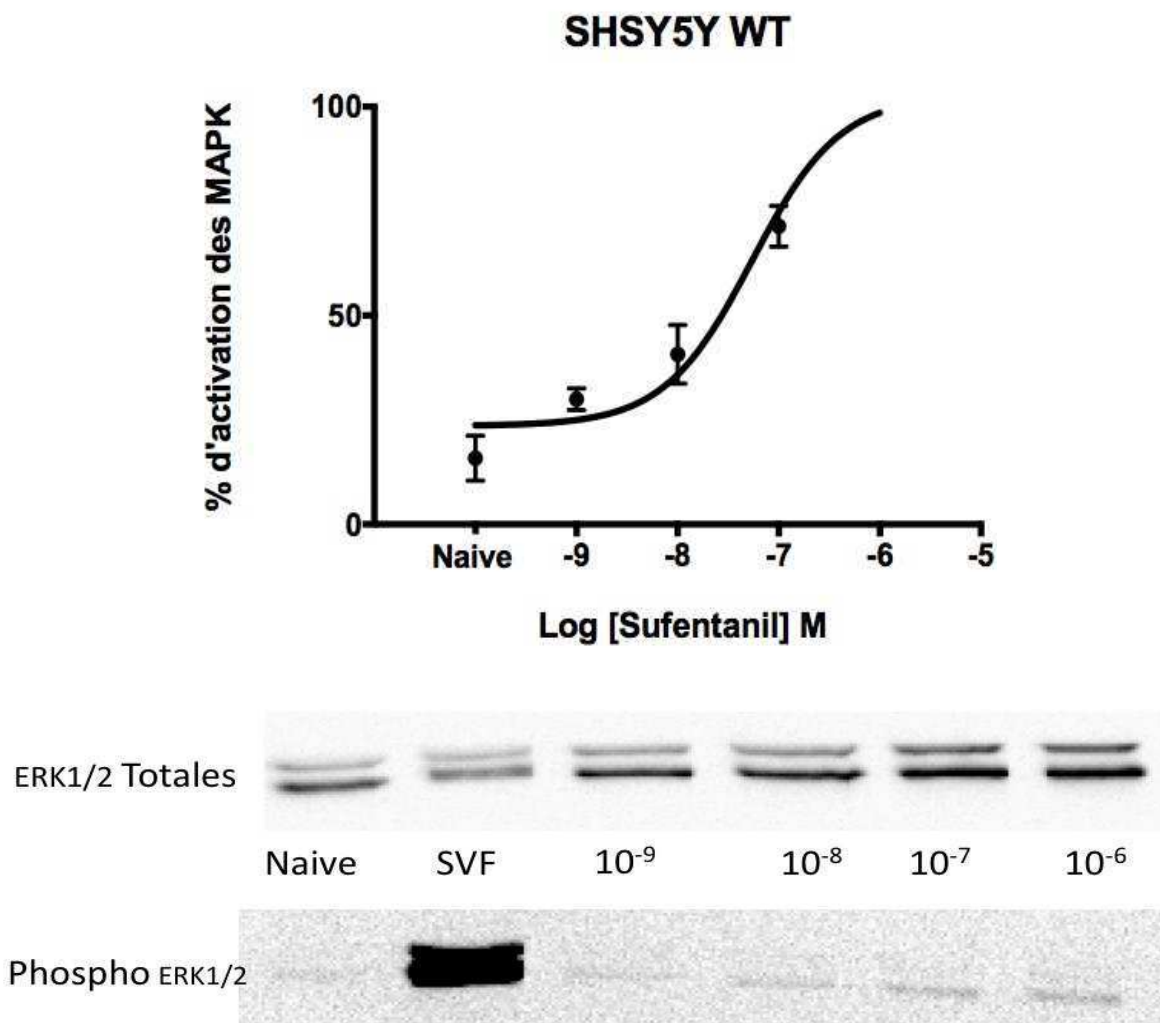


Figure 18: Courbe d'activation de la voie ERK1/2 dans les cellules SH-SY5Y WT exposées pendant 10 minutes à des doses croissantes de sufentanil [allant de  $10^{-9}$  à  $10^{-6}$  M]. Le niveau d'activation des ERK1/2 correspond au ratio de phospho ERK1/2 sur la quantité totale de ERK1/2. L'effet maximal produit par le sufentanil est choisi comme 100%. Un western blot représentatif des ERK1/2 totales et phosphorylées est présenté. Les données sont exprimées en moyennes  $\pm$  S.E.M. de 3-6 mesures indépendantes.

Afin de vérifier que l'activation de la voie ERK1/2 des cellules de la lignée transfectée hMOR-GFP était comparable à celle de la lignée non transfectée WT, des courbes d'activation ont été également obtenues. Comme le montre la figure 19, l'exposition des cellules SH-SY5Y hMOR-eGFP à des doses croissantes de rémifentanil pendant 10 min stimule la phosphorylation des protéines ERK1/2 de façon dose dépendante avec un Log  $EC_{50}$  de  $-7,6 \pm 0,2$  M. L'amplitude d'activation à  $1 \mu\text{M}$  était d'environ un facteur 5 par comparaison aux cellules non exposées. Le sufentanil stimule également la phosphorylation des protéines ERK1/2 avec Log  $EC_{50}$  de  $-8,1$

$\pm 0,2$  M. Comme pour le rémifentanil, l'activation maximale en présence de sufentanil survenait à  $1 \mu\text{M}$  avec un facteur d'activation de 4,2 fois (figure 20). Comme pour la lignée « sauvage » WT, l'activation après sufentanil était significativement plus importante que celle après rémifentanil ( $p=0,04$  au test de Mann-Whitney). Ceci confirme que l'activation des MAPK ERK 1/2 se déroule de manière identique dans les deux lignées, avec toutefois, une pente d'activation plus importante dans la lignée hMOR.

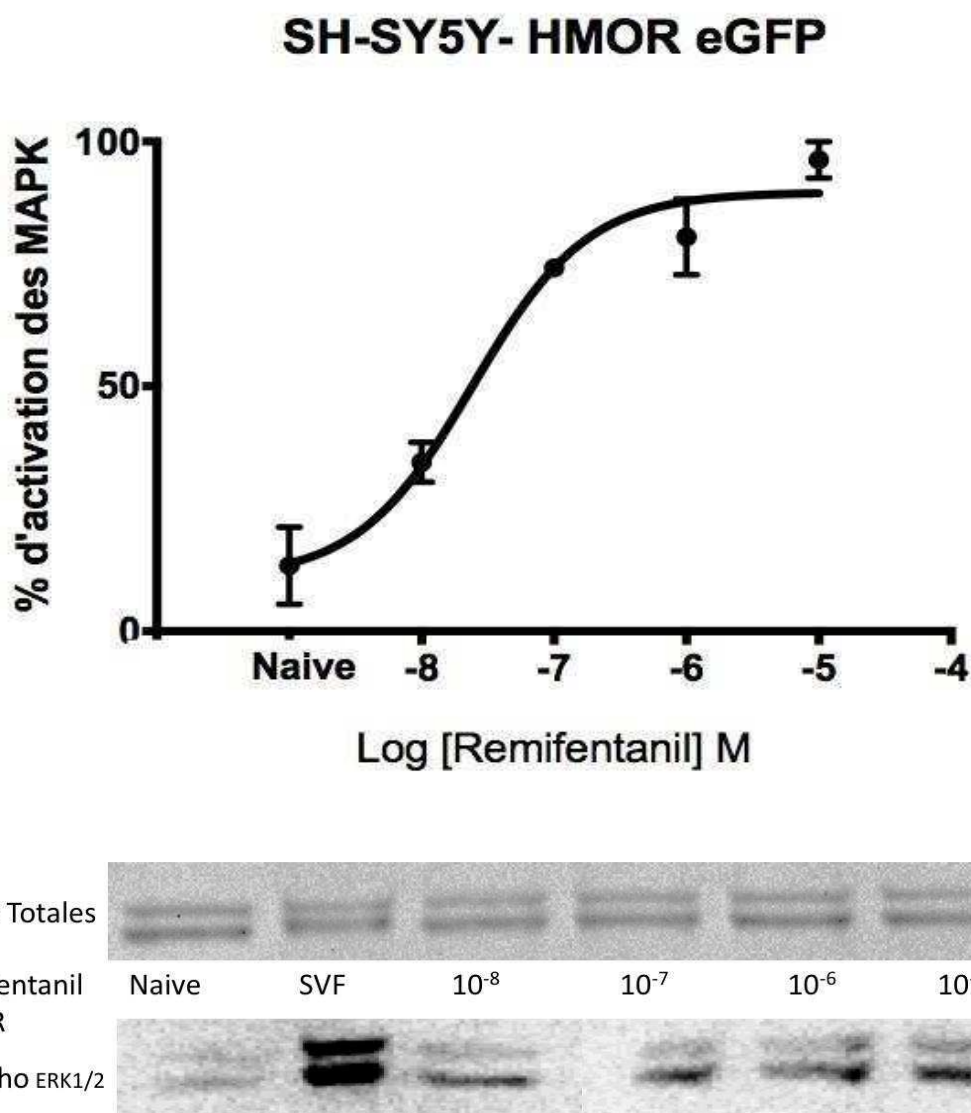


Figure 19 : Courbe d'activation des ERK1/2 des cellules SH-SY5Y exposées pendant 10 minutes à des doses croissantes de rémifentanil [allant de  $10^{-8}$  à  $10^{-5}$  M]. Le niveau d'activation des ERK1/2 correspond au ratio de phospho ERK1/2 sur la quantité totale de ERK1/2. L'effet maximal produit par le rémifentanil est choisi comme 100%. Un western blot représentatif des ERK1/2 totales et phosphorylées est présenté. Les données sont exprimées en moyennes  $\pm$  S.E.M. de 3-6 mesures indépendantes

### SH-SY5Y- HMOR eGFP

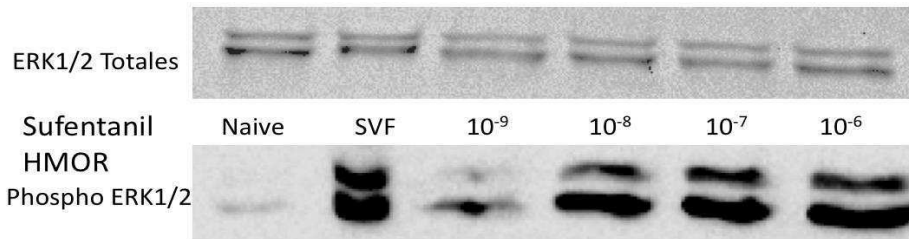
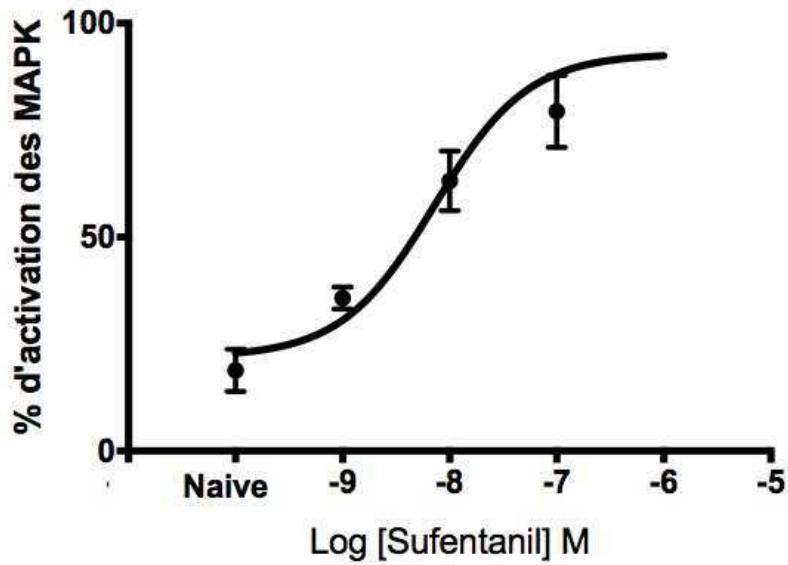


Figure 20: Courbe d'activation des ERK1/2 des cellules SH-SY5Y exposées pendant 10 minutes à des doses croissantes de sufentanil [allant de  $10^{-9}$  à  $10^{-6}$  M]. Le niveau d'activation des ERK1/2 correspond au ratio de phospho ERK1/2 sur la quantité totale de ERK1/2. L'effet maximal produit par le sufentanil est choisi comme 100%. Un western blot représentatif des ERK1/2 totales et phosphorylées est présenté. Les données sont exprimées en moyennes  $\pm$  S.E.M. de 3-6 mesures indépendantes.

En conclusion, après une exposition de 10 minutes, le rémifentanil comme le sufentanil activent la voie des MAPK ERK 1/2 à des concentrations identiques. Toutefois, le niveau d'activation par le sufentanil est supérieur et ce quel que soit le niveau d'expression du récepteur MOR dans les cellules SH-SY5Y.

Ces résultats ont fait l'objet d'une publication sous forme de résumé dans les annales françaises d'anesthésie réanimation.



*Ann Fr Anesth Réanim* 2017 ; 3 suppl 1 : R724

## Effets d'une exposition longue sur l'activation des ERK1/2

Dans une deuxième partie, nous avons étudié cette voie de signalisation après un traitement court (1h) et des traitements soutenus (jusqu'à 24h) en présence de rémifentanyl ou de sufentanyl à la concentration 1 $\mu$ M. En effet, à cette concentration les 2 agonistes produisent leur effet maximal.

Les cellules SH-SY5Y WT ont été exposées ou non (Naïve) à un traitement prolongé pendant 1, 8 ou 24h par une concentration de 1  $\mu$ M de sufentanyl. Dans les cellules naïves (exposées pendant 10 min à l'agoniste), nous observons une augmentation de la phosphorylation d'un facteur  $1,7 \pm 0,4$  par comparaison aux valeurs basales (sans agoniste) Après 1, 8 et 24 h, on observe une diminution de l'activation de la voie ERK1/2 de  $36 \pm 8\%$ ,  $41 \pm 4\%$  et  $40 \pm 6\%$  (figure 21). Afin de vérifier que le sufentanyl n'était pas dégradé après 24h dans le DMEM, nous avons rajouté 1  $\mu$ M de sufentanyl frais et exposé les cellules pendant 10 min supplémentaires (24h + ago). Dans ces conditions, nous n'observons pas de différence significative de réponse par rapport aux cellules traitées pendant 24h indiquant que la diminution de phosphorylation d'ERK1/2 est liée à la désensibilisation des MOR et non à la dégradation de l'agoniste.

## Sufentanil

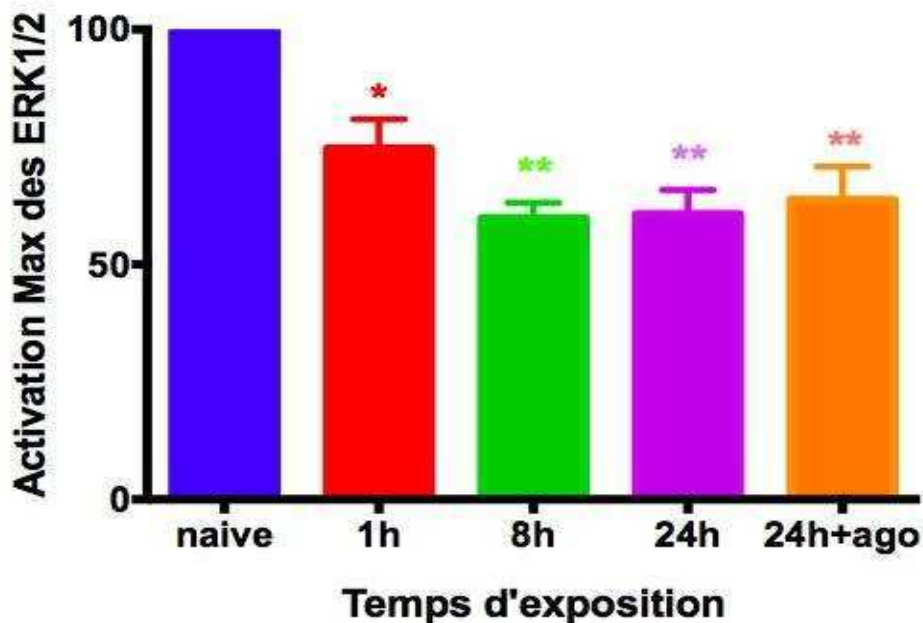


Figure 21 : Etude de la désensibilisation des MOR sur la voie ERK1/2 par le sufentanil.

Les cellules SH-SY5Y WT ont été prétraitées ou non (Naïve) pendant une heure (1h), 8 heures (8h), 24 heures (24h) en présence de 1  $\mu$ M de sufentanil. Pour les cellules (24h+ago), après 24 heures d'exposition au sufentanil, la même concentration a été rajoutée dans le milieu pendant 10 minutes. Le niveau d'activation des protéines ERK1/2 reflété par le ratio phospho-ERK1/2 / ERK1/2 totales a été déterminé pendant 10 min en présence de sufentanil. \*  $p < 0,05$  versus naïve \*\*  $p < 0,01$  versus naïve ANOVA à un facteur avec correction de Tukey pour comparaisons multiples. Les résultats sont exprimés en% de l'effet maximal obtenu. Moyenne  $\pm$  SEM de 5 mesures indépendantes.

Après exposition à  $10^{-6}$ M de rémifentanil, l'amplitude d'activation des ERK1/2 est de  $1,8 \pm 0,3$  fois les valeurs basales (sans agoniste) après 10 min, puis diminue après une heure, 8 heures et 24 heures. Cependant, l'ajout de l'agoniste après 24 heures augmente l'activation d'environ  $1,7 \pm 0,1$  fois. Ceci suggère une dégradation de l'agoniste au fil du temps. Figure 22

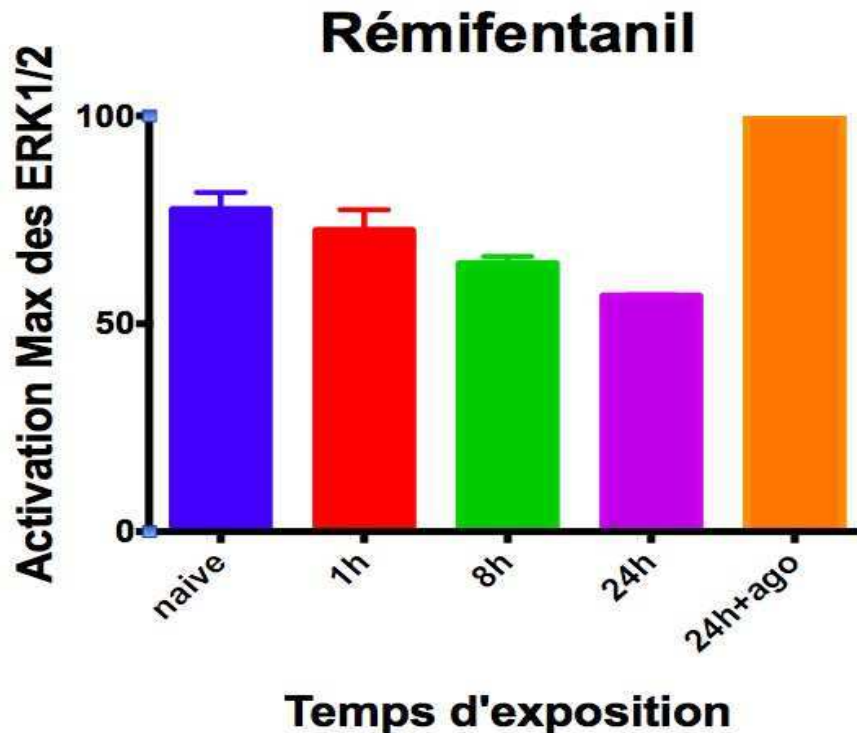


Figure 22 : Les cellules SH-SY5Y WT ont été prétraitées ou non (Naive) pendant une heure (1h), 8 heures (8h), 24 heures (24h) en présence de 1  $\mu$ M de Rémifentanil. Pour les cellules (24h+ago), après 24 heures d'exposition au Rémifentanil, la même concentration a été rajoutée dans le milieu pendant 10 minutes. Le niveau d'activation des protéines ERK1/2 reflété par le ratio phospho-ERK1/2 / ERK1/2 totales a été déterminé pendant 10 min en présence de Rémifentanil.

En effet, le métabolisme du rémifentanil se fait essentiellement par l'action d'estérases plasmatiques et tissulaires. Il est possible que les cellules SH-SY5Y possèdent une activité estérasique qui dégrade le rémifentanil lors d'exposition prolongées. Afin de vérifier cette hypothèse, nous avons ajouté l'agoniste à la fin de chaque temps, puis nous avons mesuré l'activation des MAPKines ERK1/2. Ces expériences sont en cours.

#### Etude du trafic des MOR lors d'une exposition longue

Dans un premier temps, les conditions de transfection ont été mises au point en utilisant un plasmide codant pour la GFP seule. En comparant le nombre de cellules vertes (transfectées par le plasmide GFP) avec les noyaux marqués par le DAPI (bleu), nous pouvons observer un rendement de transfection d'environ 30-50% (figure 23). Les cellules HEK ont alors été transfectées avec le plasmide codant pour le récepteur MOR couplé à la protéine fluorescente eGFP. Après expression transitoire (48h), les cellules ont été exposées ou non à 1 $\mu$ M de

rémifentanil ou de sufentanil pendant 10 minutes, 1, 8, et 24 heures. De plus, nous avons exposé ces cellules pendant 1 heure à 10 $\mu$ M de Naloxone seule ou associée à chacun des agonistes. Les résultats sont représentés sur la figure 23. Dans les cellules non exposées à un agoniste opioïde, nous constatons un marquage fluorescent principalement localisé à la surface cellulaire même si quelques cellules pouvaient présenter dans le cytosol de très grosses vésicules vertes. Après 1h d'exposition des cellules en présence de naloxone, le même marquage membranaire était observé. Après 10 minutes d'exposition, un début d'internalisation est observé avec les 2 agonistes. Après 1 heure l'internalisation s'accroît et nous observons à la fois un marquage membranaire ainsi que des vésicules intracellulaires correspondant aux hMOR-eGFP internalisés. Le co-traitement agoniste et naloxone prévient l'internalisation des récepteurs après 1h d'exposition. A 8 heures et à 24 heures une importante internalisation est observée et nous pouvons constater que le marquage membranaire a quasiment disparu notamment après 24h.

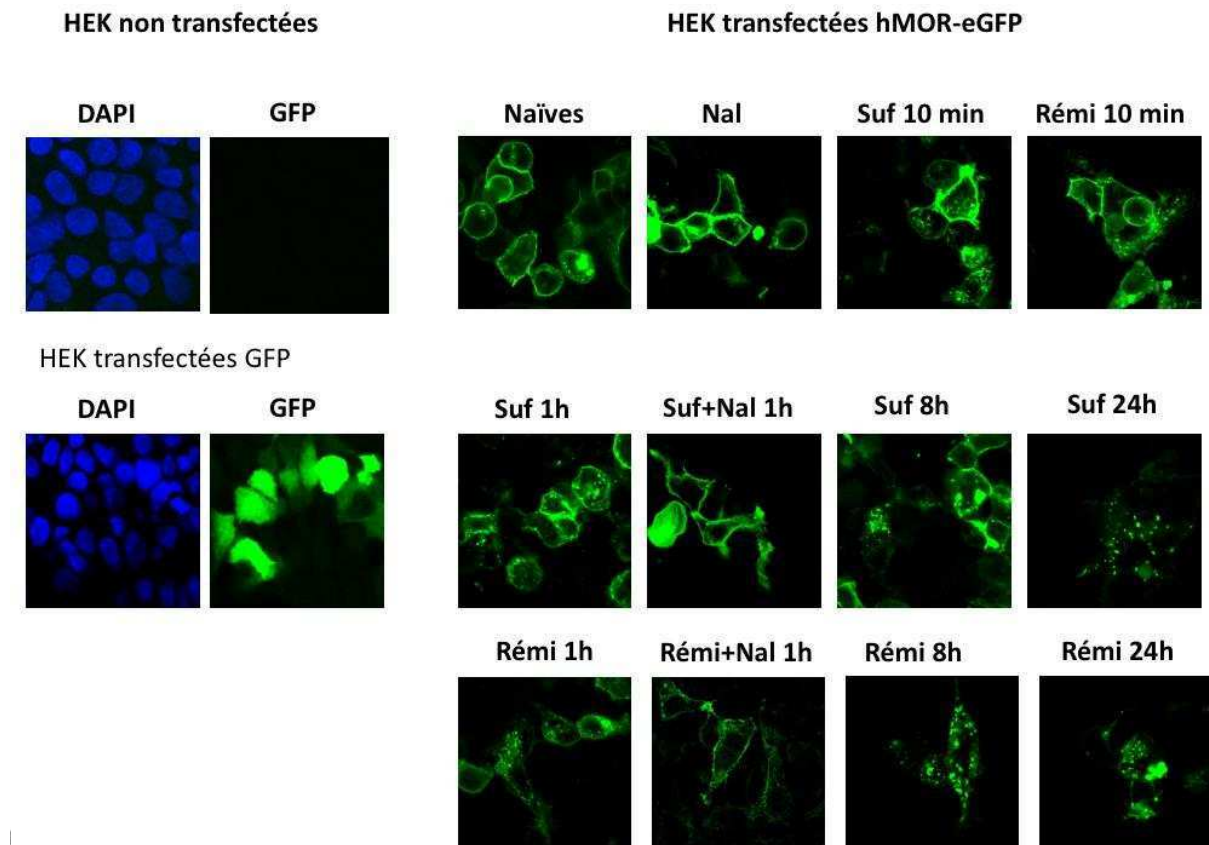


Figure 23 : Internalisation des récepteurs hMOR-eGFP des cellules HEK en microscopie confocale laser (grossissement x 60). Les cellules ont été transfectées pour surexprimer le récepteur hMOR-eGFP. Les conditions de transfection ont été mises au point en utilisant le plasmide codant pour la GFP seule. Après exposition à 1 $\mu$ M de rémifentanil (Rémi) ou au sufentanil (Suf) pendant 10 min, 1h, 8h ou 24h les récepteurs ont été progressivement internalisés de manière similaire avec les 2 agonistes. L'ajout de Naloxone (Nal) à l'agoniste pendant 1h prévient l'internalisation.



## Discussion des études cliniques

Dans les études 1, 2 et 3 nous avons validé l'ANI comme outil de monitoring de la balance analgésie-nociception dans différents contextes de chirurgie lourde.

Au début de notre travail, aucune étude n'avait encore validé cet indice. En 2009, la première étude observationnelle réalisée par Jeanne et al., avait permis de définir une valeur seuil d'ANI (50) avec 3 opioïdes différents (sufentanil, rémifentanil et alfentanil). Lorsqu'une réactivité hémodynamique survenait au cours de l'intervention les valeurs d'ANI dans les 5- 10 minutes qui précédaient étaient basses ( $\approx 46$ ). En revanche, des valeurs d'ANI élevées ( $\approx 54$ ) étaient associées à une absence de réactivité pendant les 30 minutes qui suivaient et ce quel que soit l'opioïde utilisé (Mathieu Jeanne et al. 2009). Ceci a permis au constructeur de définir une fourchette d'ANI entre 50 et 70 qui correspond à une bonne adéquation entre analgésie et nociception. Les valeurs  $> 70$  constituant une « fenêtre » pendant laquelle une diminution des opioïdes serait sans risque de voir apparaître une réactivité sympathique. Notre étude 1, en chirurgie bariatrique confirme que des variations importantes d'ANI enregistrées en aveugle pendant l'intervention et mesurées en « post hoc » également en aveugle, survenaient lors de tous les moments nociceptifs prédéfinis et que les moments non nociceptifs ne s'accompagnaient pas de variations significatives de l'ANI. Lors de cette étude la gestion du rémifentanil était laissée au libre choix de l'anesthésiste. Dans l'étude 2, nous avons également montré, cette fois-ci en chirurgie cardiaque, et avec le même schéma d'étude qu'en chirurgie bariatrique, que l'ANI diminuait significativement lors des moments nociceptifs prédéfinis alors qu'il n'était pas modifié pendant une période de référence en l'absence de toute stimulation. De plus, les variations de l'ANI sont survenues alors que les paramètres hémodynamiques classiques (fréquence cardiaque et pression artérielle) n'ont pas augmenté significativement. Ces résultats ont été confirmés depuis par plusieurs études aussi bien chez l'adulte, en chirurgie digestive et orthopédique et (M Jeanne et al. 2012; M Gruenewald et al. 2013; Mathieu Jeanne et al. 2014; Matthias Gruenewald et al. 2014), que chez l'enfant (Sabourdin et al. 2013). Dans ces études l'hypnotique utilisé (propofol ou sévoflurane) était toujours ajusté selon l'index bispectral pour s'assurer d'une profondeur d'anesthésie adéquate. De plus lorsque différentes concentrations d'opioïdes étaient utilisées, la diminution de l'ANI était inversement proportionnelle à la dose de l'opioïde et survenait sans augmentation de fréquence cardiaque ou pression artérielle. Ce qui confirme la plus grande sensibilité de l'ANI à détecter les stimuli nociceptifs par rapport aux signes cliniques habituellement utilisés pour

l'ajustement des opioïdes peropératoires. Une étude récente a confirmé encore une fois, la meilleure discrimination de l'ANI par rapport aux signes cliniques dans la détection d'un stimulus nociceptif calibré (tétanos à 60mA ou stimulation électrique sous-cutanée) (Funcke et al. 2017)

Dans l'étude 3 nous avons montré qu'une faible diminution de l'ANI  $< 21$  après un stimulus nociceptif calibré (tétanos d'une seconde à 60mA) appliqué au muscle deltoïde était prédictif d'une intubation sans réactivité avec une bonne sensibilité et une excellente spécificité. Cette étude est la première à utiliser un monitoring de la nociception (ici la pupillométrie) pour ajuster la dose de rémifentanil nécessaire à l'intubation. De plus, la dose de rémifentanil nécessaire à une intubation sans réactivité dans ces conditions était plus faible que les doses habituellement recommandées (Billard 2014). Tout récemment, une étude en chirurgie gynécologique a montré que l'administration du rémifentanil guidée par la pupillométrie réduisait par un facteur 2 la dose totale par rapport à une administration selon les pratiques habituelles. De plus les patientes ayant reçu moins de rémifentanil ont consommé moins de morphine en postopératoire et avaient moins de douleur 3 mois après la chirurgie (Sabourdin et al. 2017). Plusieurs études ont utilisé la variation de l'ANI comme critère prédictif d'une stimulation nociceptive intense. Dans une étude en chirurgie ORL, Boselli et al. ont trouvé qu'une valeur d'ANI  $< 55$  prédisait la survenue de variations hémodynamique à la laryngoscopie en suspension avec une sensibilité de 88% et une spécificité de 83% (Boselli et al. 2015). En utilisant cette fois-ci les variations dynamiques de l'ANI ( $\Delta$ ANI) ces mêmes auteurs trouvent qu'une variation de  $-19$  de l'ANI prédisait la survenue d'une augmentation de la fréquence cardiaque ou de la pression artérielle de 20% dans les 5 minutes qui suivent avec une sensibilité et une spécificité de 85% (Boselli et al. 2016). Dans notre étude 3, une baisse d'ANI  $< 21$  après une stimulation tétanique calibrée ne s'accompagnait pas de réactivité après intubation, confirmant l'intérêt de l'ANI pour l'ajustement des doses d'opioïdes avant d'intuber. Cependant dans les études de Boselli et al., les variations de l'ANI n'étaient pas utilisées pour ajuster la dose de l'opioïde utilisé. Dans notre étude, l'ajustement du rémifentanil après stimulation était basé sur la pupillométrie et l'ANI mesuré simultanément.

Dans l'étude 4 nous avons mis au point et validé un algorithme d'utilisation du rémifentanil peropératoire en chirurgie vasculaire basé sur l'ANI (Georges Daccache et al. 2017). En effet, malgré la sensibilité de l'ANI aux stimuli nociceptifs, son intérêt pour ajuster les opioïdes

peropératoires n'était pas encore validé. Notre étude est la première à valider prospectivement une administration de rémifentanil basée sur l'ANI, sur un nombre important de patients et dans des chirurgies vasculaires aussi bien modérées que lourdes. De plus, nous avons montré qu'une telle administration permettait de réaliser ces chirurgies avec de très faibles doses de rémifentanil (0,04 µg/kg/min) comparativement aux doses recommandées ou couramment utilisées (0,1 à 0,3 µg/kg/min), ce qui s'est traduit par des scores de douleur postopératoires et une consommation de morphine faibles. En effet, l'utilisation peropératoire de fortes doses d'opioïdes majore les douleurs post-opératoires et la consommation de morphine et témoigne sans doute de l'hyperalgésie induite. D'autres études ont échoué à montrer un bénéfice à l'utilisation de l'ANI pour guider l'analgésie peropératoire. Dans une étude randomisée en chirurgie digestive, l'administration de l'opioïde peropératoire selon l'ANI n'a pas permis d'en réduire les doses ou les scores de douleur et la consommation de morphine postopératoire (Szental et al. 2015). Dans cette étude le paramètre d'ajustement choisi était l'ANI moyenné sur 4 minutes et non pas l'ANI instantané, plus réactif. De plus l'opioïde utilisé était la morphine dont le délai d'action n'est pas suffisamment rapide pour écrêter un excès de nociception peropératoire. Dans une étude de cas - contrôles non appariés en chirurgie bariatrique, l'administration du sufentanil en AIVOC ajustée selon l'ANI a permis de réduire modestement mais significativement la dose par rapport à une administration basée sur des signes cliniques, sans toutefois retrouver de différence sur la douleur postopératoire et les besoins en morphine. Dans cette étude, la faible réduction des doses de sufentanil est probablement insuffisante pour percevoir un bénéfice sur la douleur postopératoire (Le Gall et al. 2017). De manière intéressante, en chirurgie lombaire, la randomisation de l'administration du fentanyl peropératoire selon l'ANI ou selon les signes hémodynamiques habituels, a permis de diminuer la douleur postopératoire de 30% et la consommation de fentanyl postopératoire de 46% (Upton et al. 2017). L'adaptation de l'opioïde aux stimuli nociceptifs préviendrait la mise en place des mécanismes conduisant à l'hyperalgésie. L'adaptation des opioïdes aux stimuli nociceptifs peropératoires grâce à l'ANI pourrait en soi apporter un bénéfice sur la douleur et la consommation de morphine postopératoires.

Les études 5 et 6 ont montré que tout en utilisant l'ANI pour l'ajustement du rémifentanil peropératoire, l'adjonction de lidocaïne intraveineuse a permis une épargne supplémentaire de rémifentanil allant jusqu'à son arrêt total et une diminution significative de la douleur et de la consommation de morphine dans les 48 heures postopératoires. Nos résultats sont en accord

avec les nombreuses études soulignant l'effet dose-dépendant de l'hyperalgésie induite par le rémifentanil sans qu'un seuil de dose puisse être défini (Angst 2015; Kim et al. 2013; M. H. Lee et al. 2014; Fletcher and Martinez 2014). En chirurgie digestive, les patients ayant reçu 0,3 µg/kg/min de rémifentanil pendant 4 heures avaient des scores de douleurs 50% plus élevés et ont nécessité 85% de morphine supplémentaire dans les 4 heures postopératoires, comparés à ceux ayant reçu 0,1 µg/kg/min de rémifentanil. Après hystérectomie par laparotomie, les patientes ayant reçu 22µg/kg de fentanyl avaient 40% de douleur en plus et ont consommé deux fois plus de morphine que celles qui n'ont reçu que 1µg/kg de fentanyl (Angst 2015). Ces études soulignent bien l'effet dose-dépendant de l'HIO mais aussi la grande variabilité des doses lorsque les opioïdes sont administrés de manière « libérale ». Dans notre étude 4, la dose de rémifentanil pour la chirurgie vasculaire lourde par laparotomie était de 0,05 µg/kg/min et 66% des patients n'ont reçu aucun opioïde dans la période postopératoire.

Dans les études 5 et 6, nous avons montré que l'adjonction de lidocaïne à l'anesthésie par rémifentanil toujours guidée par l'ANI permettait de réduire encore plus la dose de rémifentanil (0,015 µg/kg/min dans l'étude 5 et pas de rémifentanil dans l'étude 6). Ceci s'est traduit par une diminution supplémentaire et significative de la douleur et de la consommation postopératoire de morphine. Toutefois, même si la réduction du rémifentanil a réduit la douleur postopératoire une participation de la lidocaïne intraveineuse ne peut pas être exclue, et l'épargne de douleur ne peut être attribuée à la seule réduction de la dose de rémifentanil. En effet, la lidocaïne possède des propriétés anti-inflammatoires et anti-hyperalgésiques et certaines études ont montré son intérêt dans la diminution de la douleur postopératoire et de la consommation de morphine (Cui et al. 2010; Farag et al. 2013). Toutefois, d'autres études n'ont pas pu mettre en évidence de bénéfice à son utilisation et l'intérêt de la lidocaïne demeure controversé (Dewinter et al. 2017). Les mécanismes biologiques par lesquelles la lidocaïne réduit l'HIO restent à approfondir.

## Discussion des études expérimentales

Les études cliniques chez l'homme ont montré qu'en réduisant les doses d'opioïdes peropératoires on pouvait réduire l'hyperalgésie postopératoire. Toutefois, les mécanismes

cellulaires qui sous-tendent ces effets pour les 2 agonistes qui nous intéressent ne sont pas bien connus. Nous avons donc cherché à mieux comprendre ces mécanismes, tout d'abord chez l'animal, ensuite au niveau cellulaire en comparant les deux agonistes les plus utilisés en anesthésie et en réanimation en France.

## Etudes in vivo

A notre connaissance, aucune étude n'a étudié l'effet analgésique du rémifentanil ou du sufentanil dans la lignée des souris Swiss male, excepté l'étude de Nowoczyn. Dans cette étude, seul le rémifentanil a été injecté en intrapéritonéal à la concentration unique de 10 mg/kg ce qui produisit une analgésie thermique de 30% de l'effet maximal possible. L'effet analgésique a été mesuré immédiatement après l'injection péritonéale ce qui ne correspond peut être pas au moment de l'effet maximal (Nowoczyn et al. 2013). La cinétique d'élimination du rémifentanil est extrêmement rapide et l'effet peut disparaître en quelques minutes. Dans notre étude, l'analgésie thermique produite avec 10mg/kg de Rémifentanil était de 80% de l'EMP et a été observée une minute après l'injection. Après 2 minutes, il n'y avait plus d'effet à cette dose. Les deux agonistes étudiés ont des pharmacocinétiques totalement différentes et les courbes dose-réponses ainsi que leurs cinétiques sont essentielles pour permettre de les comparer. Celles-ci ont montré des effets différents entre le réflexe de léchage et le saut.

Plusieurs facteurs peuvent influencer la réponse à un stimulus nociceptif unique. Dans une étude comparant quatre souches différentes de rats, Laboureyeras et al. ont montré que les injections répétées de fentanyl (4 fois 60 mg/kg) produisaient des HIO d'intensité et de durée différentes selon la souche et que une des souches ne présentait pas d'HIO du tout (Laboureyeras et al. 2014). Peu d'études sont disponibles comparant les différentes souches de souris avec différents agonistes et différentes voies d'injection. Dans une étude utilisant des souris C57BL6 l'injection intrapéritonéale de rémifentanil (0,2 -1 mg/kg), ou de sufentanil (50 à 100 µg/kg) produisaient des effets extrêmement variables et inexploitable entre les souris. Toutefois, dans les études utilisant le rémifentanil par voie sous-cutanée, les doses utilisées varient dans des proportions importantes selon la souche de souris. Une HIO a été mise en évidence pour des doses de rémifentanil de 40 à 80 µg/kg chez des souris CD1 (Celérier et al. 2006; Cabanero et al. 2009; Romero et al. 2012) et 100 µg/kg chez des souris C57BL6 (Kashiwadani, Kanmura, and Kuwaki 2017). Concernant le sufentanil, une seule étude a été retrouvée utilisant des souris

C57BL6 avec une dose de sufentanil de 10 µg/kg injectée 4 fois à 15 minutes d'intervalle (Minville et al. 2010). Notre étude est la première à produire des courbes dose-réponse chez la souris. Ceci est d'une importance capitale dans la comparaison des effets entre opioïdes, car l'HIO étant dose dépendante, le choix de la dose et du moment où la mesure est effectuée peut influencer le résultat, notamment avec un opioïde à cinétique rapide comme le rémifentanil.

Le léchage et le saut sont des mécanismes intégrés à un niveau supra-spinal et qui impliquent des centres de régulation différents. L'effet d'un agoniste peut être différent selon sa concentration au niveau d'un groupe de neurone et impliquer des mécanismes de régulation différents. Le rémifentanil et le sufentanil ont des liposolubilités différentes et leur diffusion au sein des nombreuses structures cérébrales sera différente. Leur affinité pour le MOR sont également différentes. En effet, l'effet maximal obtenu sur le léchage est d'environ 40% pour le sufentanil à la dose la plus élevée, alors qu'il est de 100% pour le rémifentanil mais seulement pour les doses les plus élevées. Ces effets sont très différents de ceux obtenus pour le saut qui débutent pour des doses plus faibles et atteignent 100% de l'effet maximal pour les deux agonistes. Le léchage des pattes arrière est considéré comme le saut, un acte moteur volontaire finalisé. Toutefois, les effets sur les circuits supraspinaux mis en jeu sont différents et pourraient expliquer l'effet différentiel des agonistes.

De manière surprenante, le rémifentanil à la dose la plus élevée a produit une hyperalgésie qui s'est manifestée à 15 et 60 minutes après l'injection. Il est possible que le mécanisme sous-jacent soit en relation avec la disparition rapide du rémifentanil de la circulation et du site d'action, contrairement au sufentanil pour lequel l'effet analgésique dure plus longtemps après l'injection. Le caractère différentiel de l'hyperalgésie entre le léchage et le saut est en accord avec plusieurs constatations chez l'animal et chez l'homme (Cabanero et al. 2009; Hayhurst and Durieux 2016)

## Etudes in vitro

Notre étude a montré que le rémifentanil et le sufentanil activent la voie des MAP kinases ERK1/2. L'activation de cette voie de signalisation par des agonistes MOR a été montrée dans plusieurs études (Pradhan et al. 2012; Raman, Chen, and Cobb 2007; Christie 2009). Les MAPK régulent de nombreuses fonctions cellulaires et leur activation a été impliquée dans des mécanismes d'analgésie mais aussi de tolérance. L'inhibition des ERK1/2 diminue l'effet anti-

nociceptif de l'agoniste MOR sélectif DAMGO ([D-A1a<sup>2</sup>,Me-Phe<sup>4</sup>,Gly-ol 5]enképhaline) (Subramanian and Morozov 2011), augmente la tolérance à la morphine (Z. Wang et al. 2010) ou au contraire la diminue selon le site d'injection (Tara A Macey et al. 2009).

Selon le modèle décrit par l'équipe de Lefkowitz, l'activation des ERK1/2 par les RCPG nécessite la phosphorylation du récepteur par une GRK qui permet ensuite le recrutement d'une  $\beta$ -arrestine, qui à son tour, en jouant un rôle de protéine d'échafaudage, va activer cette voie de signalisation. Toutefois, si le DAMGO ou le fentanyl activent les ERK 1/2 en recrutant la  $\beta$ -arrestine2 et la GRK3 d'autres mécanismes sont possibles (Bobeck et al. 2012). Par exemple, l'activation des ERK1/2 par la morphine n'utilise pas la voie des  $\beta$ -arrestines mais une PKC (Tara A Macey, Lowe, and Chavkin 2006). L'expression ectopique des récepteurs opioïdes dans des cellules rénales de singe conduit à l'activation des ERK1/2 par des agonistes sélectifs pour les MOR, DOR et KOR et implique le dimère  $G\beta\gamma$ , la protéine Ras et le facteur de croissance épidermique (EGF) (Belcheva et al. 1998). Dans notre laboratoire, Nowoczyn et al ont montré en utilisant le modèle cellulaire SH-SY5Y que le rémifentanyl et la morphine activaient tous les deux la voie des ERK1/2 après 5 minutes d'exposition à l'agoniste avec des EC<sub>50</sub> de 0,2  $\mu$ M et de 1,7  $\mu$ M et une activation de 4,5 fois et de 4,3 fois respectivement sans recrutement de la  $\beta$ -arrestine 2 à la surface membranaire (Nowoczyn et al. 2013). Dans notre étude, on retrouve une activation des ERK1/2 du même ordre (3 fois avec des EC<sub>50</sub> de 0,1  $\mu$ M) après 10 minutes d'exposition au rémifentanyl. De plus, on montre pour la première fois, que le sufentanyl active également les ERK1/2 avec un niveau d'activation plus important qu'avec le rémifentanyl. (5,6 fois) pour une EC<sub>50</sub> similaire.

L'activation des ERK1/2 dépend du modèle cellulaire, du site anatomique d'injection, de l'agoniste, mais aussi de la durée d'exposition. Dans une étude mesurant l'agonisme biaisé de tous les peptides opioïdes endogènes et de 3 opiacés (DAMGO, morphine et loperamide) sur le MOR exprimé dans des cellules ovariennes d'hamster, la morphine a montré la plus faible activation des ERK1/2 (Georgina L Thompson et al. 2015). Dans la moelle épinière ou dans la PAG, une injection unique de morphine n'active pas les ERK1/2 mais des injections répétées finissent par les activer (T. A. Macey et al. 2015; Horvath et al. 2010), tandis que, dans la PAG, le fentanyl ne produit aucune activation des ERK1/2 et l'inhibition des ERK ne reverse pas la tolérance induite par les injections répétées de fentanyl (Bobeck et al. 2012).

Peu d'études ont exploré l'effet d'une exposition prolongée des récepteurs opioïdes à un agoniste sur l'activation des ERK1/2.

Dans notre étude nous avons exposé les cellules au rémifentanil et au sufentanil pour des durées prolongées jusqu'à 24 heures. Après une heure d'exposition et jusqu'à 24 heures le sufentanil une désensibilisation des MOR sur l'activation des ERK1/2 est observée. En effet, après 1h la perte d'activation par rapport à l'effet maximal est significative et est d'environ 25% puis atteint environ 40% à 8 et 24 heures. L'ajout de l'agoniste à 24h ne produit pas d'activation supplémentaire ce qui prouve que le sufentanil est resté stable dans le milieu de culture et que la diminution de l'activation n'est pas liée à une dégradation de l'agoniste. Dans notre laboratoire, une diminution significative de l'activation de la voie ERK1/2 a été constatée dès la 15<sup>ème</sup> minute d'exposition aussi bien au rémifentanil qu'à la morphine (Nowoczyn et al., 2013). Cette désensibilisation a persisté jusqu'à 60 minutes d'exposition à l'agoniste. De plus, une désensibilisation croisée entre rémifentanil et morphine était mise en évidence après 60 minutes d'exposition à l'un ou l'autre agoniste.

Dans une étude, sur des cellules HEK exprimant les MOR, Bot et al. ont montré qu'une exposition prolongée de 3 heures au fentanyl ou au sufentanil produisait une désensibilisation sur la voie de l'AMPC (Bot et al. 1998).

Notre étude a montré les effets d'une exposition courte et prolongée sur l'internalisation des récepteurs. Celle-ci est observable 10 minutes après exposition à l'agoniste et se poursuit de manière plus intense à 1h, 8h et jusqu'à 24 heures avec les deux agonistes. L'ajout de Naloxone, dénuée de tout effet internalisant, à l'agoniste prévient cette internalisation, après 1 heure d'exposition. L'internalisation est un effet observé à des degrés variables avec plusieurs opioïdes. Certains induisent une forte internalisation, comme le fentanyl, la R-méthadone, et le rémifentanil, d'autres induisent peu ou pas d'internalisation comme la morphine ou l'oxycodone (Posa et al. 2016). Dans notre laboratoire, Nowoczyn et al. ont démontré que le rémifentanil induisait une internalisation après seulement 5 minutes d'exposition et jusqu'à une heure. Concernant le sufentanil, Bot et al. ont montré qu'une exposition des cellules HEK au sufentanil pendant 3 heures ne produisait qu'une faible internalisation des MOR transfectés (Bot et al. 1998). Notre étude montre qu'il produit une internalisation aussi prolongée que celle du rémifentanil. Toutefois, les études en microscopie confocale ne sont pas quantitatives et ne permettent qu'une appréciation qualitative de l'internalisation.



## Conclusion et perspectives

L'ensemble de nos travaux avait pour objectif de mieux utiliser les opioïdes en peropératoire et de mieux caractériser leurs effets après exposition courte et prolongée sur la voie de signalisation des ERK1/2 et sur le trafic des MOR.

Nous avons validé l'utilisation d'un monitoring de la nociception basé sur l'évaluation continue du tonus parasympathique. Puis nous avons montré que l'utilisation de ce monitoring permettait une meilleure utilisation du rémifentanil en peropératoire conduisant à une réduction importante des doses totales. Celle-ci s'est accompagnée d'une diminution en post-opératoire de la douleur et de la consommation de morphine. Toutefois, il est important de démontrer que derrière cette diminution il y a aussi une réduction de l'hyperalgésie secondaire considérée comme un facteur favorisant la chronicisation de la douleur.

L'étude REMIBOUCLE qui devrait apporter la réponse à cette interrogation.

Sur le plan expérimental, nous avons montré que les deux agonistes les plus utilisés en France avaient des profils d'activation similaires sur la voie ERK1/2, avec une désensibilisation lors d'expositions prolongées. L'étude sur l'internalisation nous a également montré qu'ils induisaient tous les deux une forte internalisation. Ceci peut expliquer en partie l'effet observé sur la désensibilisation de la voie des ERK 1/2. En effet, la non disponibilité du récepteur à la surface diminue l'effet de l'agoniste.

Chez la souris, la détermination des courbes dose-réponse nous a permis d'observer des différences concernant les comportements induits par une stimulation thermique nociceptive. De plus, elle nous permettra des comparaisons futures avec des doses équipotentes des deux agonistes, adaptées au modèle de souris utilisé. Cette partie doit être réalisée prochainement en exposant les souris à des doses équipotentes de sufentanil et de rémifentanil pendant des temps courts et prolongés, afin d'étudier l'effet des deux agonistes sur l'hyperalgésie thermique et les modifications qu'ils induisent au niveau de la PAG ; une région hautement impliquée dans le contrôle de la réponse nociceptive.

Des études, reliant les effets cellulaires aux effets analgésiques ou hyperalgésiques seront nécessaires et ouvriront possiblement la voie à des applications cliniques.

Bien que l'analgésie chirurgicale soit possible sans opioïdes et qu'elle est amenée à se développer, une meilleure compréhension des mécanismes d'action des opioïdes reste indispensable, du fait qu'ils restent encore le traitement antalgique le plus prescrit pour un très grand nombre de patients, dont une certaine fraction aura besoin un jour ou l'autre de soins péri-opératoires adaptés. En tous cas, quel que soit l'analgésique utilisé nous avons montré que le monitoring du tonus parasympathique tel que reflété par l'ANI était d'une aide considérable pour réaliser une analgésie « à la carte » selon les besoins du patient et de la chirurgie.

Les études *in vitro* et *in vivo* nous apporteront des bases solides dans la compréhension des mécanismes impliqués dans l'HIO et permettront de modifier l'utilisation empirique des opioïdes.

## Bibliographie

- Adam, Frédéric, Marcel Chauvin, Bertrand Du Manoir, Mathieu Langlois, Daniel I Sessler, and Dominique Fletcher. 2005. "Small-Dose Ketamine Infusion Improves Postoperative Analgesia and Rehabilitation after Total Knee Arthroplasty." *Anesthesia and Analgesia* 100 (2): 475–80.
- Al-Hasani, Ream, and Michael R. Bruchas. 2011. "Molecular Mechanisms of Opioid Receptor-Dependent Signaling and Behavior." *Anesthesiology* 115 (6):1363-81
- Allouche, Stéphane, Florence Noble, and Nicolas Marie. 2014. "Opioid Receptor Desensitization : Mechanisms and Its Link to Tolerance." *Frontiers in Pharmacology* 5 (December): 1–20.
- Angst, Martin S. 2015. "Intraoperative Use of Remifentanyl for TIVA: Postoperative Pain, Acute Tolerance, and Opioid-Induced Hyperalgesia." *Journal of Cardiothoracic and Vascular Anesthesia* 29 (S1): S16–22.
- Angst, Martin S, and David J Clark. 2006. "Opioid Induced Hyperalgesia." *Anesthesiology* 104 (3): 570–87.
- Arout, Caroline A., Ellen Edens, Ismene L. Petrakis, and Mehmet Sofuoglu. 2015. "Targeting Opioid-Induced Hyperalgesia in Clinical Treatment: Neurobiological Considerations." *CNS Drugs* 29 (6): 465–86.
- Bairy, Laurent, Marie Vanderstichelen, Jacques Jamart, and Edith Collard. 2017. "Clonidine or Remifentanyl for Adequate Surgical Conditions in Patients Undergoing Endoscopic Sinus Surgery: A Randomized Study." *Peer J* 5: e3370.
- Ballantyne, Jane C., and Jianren Mao. 2003. "Opioid Therapy for Chronic Pain." *New England Journal of Medicine* 349 (20): 1943–53.
- Bannister, Kirsty. 2015. "Opioid-Induced Hyperalgesia : Where Are We Now ?" *Current Opinion in Supportive and Palliative Care* 9 (2): 116–21.
- Bannister, Kristy, Shafaq Sikandar, Claudia Bauer, Annette C Dolphin, Frank Porreca, and Anthony H Dickenson. 2017. "Pregabalin Suppresses Spinal Neuronal Hyperexcitability and Visceral Hypersensitivity in the Absence of Peripheral Pathophysiology." *Anesthesiology* 115 (1): 144–52.
- Belcheva, Mariana M, Zyj Vogel, Elena Ignatova, Tomer Avidor-reiss, Renata Zippel, Rivka Levy, Eric C Young, and Carmine J Coscia. 1998. "Opioid Modulation of Extracellular Signal-Regulated Protein Kinase Activity Is Ras-Dependent and Involves Gβγ Subunits."

- Journal of Neurochemistry* 70: 635–45.
- Belgrade, Miles, and Sara Hall. 2010. “Dexmedetomidine Infusion for the Management of Opioid-Induced Hyperalgesia.” *Pain Medicine* 11 (12): 1819–26.
- Bell, Rae Frances. 2009. “Ketamine for Chronic Non-Cancer Pain.” *Pain* 141 (3). International Association for the Study of Pain: 210–14.
- Bessière, Baptiste, Emilie Laboureyras, Méric Ben Boujema, Jean Paul Laulin, and Guy Simonnet. 2012. “A High-Dose of Fentanyl Induced Delayed Anxiety-like Behavior in Rats. Prevention by a NMDA Receptor Antagonist and Nitrous Oxide (N<sub>2</sub>O).” *Pharmacology Biochemistry and Behavior* 102 (4): 562–68.
- Bhavsar, Rajesh, Pia Katerina Ryhammer, Jacob Greisen, Linda A. Rasmussen, and Carl Johan Jakobsen. 2016. “Remifentanyl Compared With Sufentanyl Does Not Enhance Fast-Track Possibilities in Cardiac Surgery—A Randomized Study.” *Journal of Cardiothoracic and Vascular Anesthesia* 30 (5): 1212–20.
- Billard, Valérie. 2014. “Anesthésie À Objectif de Concentration Intraveineuse ( AIVOC ) et Inhalée ( AINOC ).” *Conférences d’actualisation SFAR*, 1–16.
- Bobbeck, Erin N., Qiliang Chen, Michael M. Morgan, and Susan L. Ingram. 2014. “Contribution of Adenylyl Cyclase Modulation of Pre- and Postsynaptic GABA Neurotransmission to Morphine Antinociception and Tolerance.” *Neuropsychopharmacology* 39 (9): 2142–52.
- Bobbeck, Erin N., Rachel A Haseman, Dona Hong, Susan L. Ingram, and Michael M. Morgan. 2012. “Differential Development of Antinociceptive Tolerance to Morphine and Fentanyl Is Not Linked to Efficacy in the Ventrolateral Periaqueductal Gray of the Rat.” *Journal of Pain* 13 (8): 799–807.
- Bobbeck, Erin N., Susan L. Ingram, Sam M. Hermes, Sue A Aicher, and Michael M. Morgan. 2016. “Ligand-Biased Activation of Extracellular Signal-Regulated Kinase 1/2 Leads to Differences in Opioid Induced Antinociception and Tolerance.” *Behavioral Brain Research* 298 (1): 17–24.
- Bodnar, Richard, and Mary M Heinricher. 2013. “Central Mechanisms of Pain Suppression.” In *Neuroscience in the 21st Century*, 2595–2620. doi:10.1007/978-1-4614-1997-6.
- Bodnar, Richard J. 2017. “Peptides Endogenous Opiates and Behavior : 2015.” *Peptides* 88: 126–88.
- Boselli, E., R. Logier, L. Bouvet, and B. Allaouchiche. 2016. “Prediction of Hemodynamic Reactivity Using Dynamic Variations of Analgesia/Nociception Index ( $\Delta$ ANI).” *Journal*

- of Clinical Monitoring and Computing* 30 (6): 977–84.
- Boselli, E, L Bouvet, G Bégou, S Torkmani, and Bernard Allaouchiche. 2015. “Prediction of Hemodynamic Reactivity during Total Intravenous Anesthesia for Suspension Laryngoscopy Using Analgesia / Nociception Index (ANI ): A Prospective Observational Study.” *Minerva Anestesiologica* 81 (March): 288–97.
- Bot, George, Allan D Blake, Shuixing Li, and Terry Reisine. 1998. “Fentanyl and Its Analogs Desensitize the Cloned Mu Opioid.” *The Journal of Pharmacological and Experimental Therapeutics* 285 (3): 1207–18.
- Bourguignon, J.J., G. Simonnet, and F. Simonin. 2006. “Le RF9, Un Antagoniste Puissant et Sélectif Des Récepteurs Du Neuropeptide FF , Préviend Le Développement de La Tolérance Aux Opiacés.” *Médecine Sciences* 22 (October): 579–80.
- Bradesi, Sylvie. 2011. “Role of Spinal Cord Glia in the Central Processing of Peripheral Pain Perception.” *Neurogastroentérology* 22 (5): 499–511.
- Breivik, H, P C Borchgrevink, S M Allen, L A Rosseland, L Romundstad, E K Breivik Hals, G Kvarstein, and A Stubhaug. 2008. “Assessment of Pain” 101 (1): 17–24.
- Burford, N. T., M. J. Clark, T. S. Wehrman, S. W. Gerritz, M. Banks, J. O’Connell, J. R. Traynor, and A. Alt. 2013. “Discovery of Positive Allosteric Modulators and Silent Allosteric Modulators of the  $\mu$ -Opioid Receptor.” *Proceedings of the National Academy of Sciences* 110 (26): 10830–35.
- Cabanero, David, Ana Campillo, Evelyne Célérier, Asuncion Romero, and Margarita M Puig. 2009. “Pronociceptive Effects of Remifentanyl in a Mouse Model of Postsurgical Pain.” *Anesthesiology* 111 (6): 1334–45.
- Carlton, Susan M. 2014. “Nociceptive Primary Afferents: They Have a Mind of Their Own.” *The Journal of Physiology* 592 (16): 3403–11.
- Castro, Victor De, Pierre Coriat, Gilles Godet, and Gonzalo Mencia. 2003. “Target-Controlled Infusion for Remifentanyl in Vascular Patients Improves Hemodynamics and Decreases Remifentanyl Requirement.” *Anesthesia and Analgesia* 96:33-8
- Célérier, Evelyne, Juan R Gonzalez, Rafael Maldonado, David Cabanero, and Margarita M Puig. 2006. “Opioid-Induced Hyperalgesia in a Murine Model of Postoperative Pain.” *Anesthesiology* 104 (3): 546–55.
- Chakrabarti, Sumita, Andrew Chang, and Alan R Gintzler. 2010. “Subcellular Localization of  $\mu$ -Opioid Receptor G S Signaling.” *The Journal of Pharmacological and Experimental Therapeutics* 333 (1): 193–200.

- Chamma, Ingrid, Quentin Chevy, Jean Christophe Poncer, and Sabine Lévi. 2012. "Role of the Neuronal K-Cl Co-Transporter KCC2 in Inhibitory and Excitatory Neurotransmission." *Frontiers in Cellular Neuroscience* 6 (February): 1–15.
- Christie, M J. 2009. "Cellular Neuroadaptations to Chronic Opioids: Tolerance, Withdrawal and Addiction." *British Journal of Pharmacology* 154 (2): 384–96.
- Clarke, Hance, Robert P Bonin, Beverley A Orser, Marina Englesakis, Duminda N Wijesundera, and Joel Katz. 2012. "The Prevention of Chronic Postsurgical Pain Using Gabapentin and Pregabalin: A Combined Systematic Review and Meta-Analysis." *Anesthesia and Analgesia* 115 (2): 10–12.
- Compton, Peggy, Priscilla Kehoe, Karabi Sinha, Matt A Torrington, and Walter Ling. 2010. "Gabapentin Improves Cold-Pressor Pain Responses in Methadone-Maintained Patients." *Drug Alcohol Dependence* 109 (June 1): 213–19.
- Constant, I, N Louvet, M Guye, and N Sabourdin. 2012. "General Anaesthesia in Children : A French Survey of Practices." *Annales Francaises D'anesthesie et de Reanimation* 31: 709–23.
- Constantin, J, G Chanques, B De Jonghe, P Sanchez, J Mantz, J Payen, F Sztark, et al. 2010. "Current Use of Sedation and Analgesia : 218 Resuscitations in France Services Practices Survey." *Annales Francaises D'anesthesie et de Reanimation* 29: 339–46.
- Cox, Brian M, Macdonald J Christie, Lakshmi Devi, Lawrence Toll, and John R Traynor. 2015. "Challenges for Opioid Receptor Nomenclature : IUPHAR Review 9." *British Journal of Pharmacology* 172: 317–23.
- Cui, Weihua, Yanping Li, Shuren Li, Rulong Wang, and Junfa Li. 2010. "Systemic Administration of Lidocaine Reduces Morphine Requirements and Postoperative Pain of Patients Undergoing Thoracic Surgery after Propofol – Remifentanyl- Based Anaesthesia." *European Journal of Anaesthesiology* 27: 41–46.
- Daccache, G., M. Jeanne, and D. Fletcher. 2017. "The Analgesia Nociception Index: Tailoring Opioid Administration." *Anesthesia and Analgesia* 125 (1):15-17
- Daccache, Georges. 2017. "Monitorer L'analgésie Pour Mieux L'adapter Aux Stimuli Nociceptifs." *Oxymag* 154 (Mai/juin): 12–16.
- Daccache, Georges, and Stéphane Allouche. 2015. "Recent Advances towards Understanding the Role of Opioid Receptor Phosphorylation." *Journal of Clinical & Experimental Pathology* 6 (1): 1–4.
- Daccache, Georges, and Pierre Beaulieu. 2014. "Prise En Charge de La Douleur

- Postopératoire Aigue En Chirurgie Cardiaque.” In *Anesthésie-Réanimation En Chirurgie Cardiaque*, 203–19.
- Daccache, Georges, Edouard Caspersen, Michel Pegoix, Kelly Monthé-Sagan, Ludovic Berger, Dominique Fletcher, and Jean-luc Hanouz. 2017. “A Targeted Remifentanil Administration Protocol Based on the Analgesia Nociception Index during Vascular Surgery.” *Anesthesia Critical Care and Pain Medicine* 36 (4): 229–32.
- Daeninck, P.J, and E Bruera. 1999. “Opioid Use in Cancer Pain. Is a More Liberal Approach Enhancing Toxicity?” *Acta Anaesthesiologica Scandinavica* 43: 924–38.
- Davis, Mellar P, and Gavril W Pasternak. 2009. “Opioid Receptors and Opioid Pharmacodynamics.” In *Opioids in Cancer Pain*, 1–58.
- Dewinter, G, P Moens, S Fieuws, B Vanaudenaerde, and S Rex. 2017. “Systemic Lidocaine Fails to Improve Postoperative Morphine Consumption , Postoperative Recovery and Quality of Life in Patients Undergoing Posterior Spinal Arthrodesis. A Double-Blind, Randomized, Placebo-Controlled Trial.” *British Journal of Anaesthesia* 118 (4): 576–85.
- Dighe, Shveta V., Priyanka A. Madia, Sunil Sirohi, and Byron C. Yoburn. 2009. “Continuous Morphine Produces More Tolerance than Intermittent or Acute Treatment.” *Pharmacology Biochemistry and Behavior* 92 (3): 537–42.
- Drake, Matthew T., Sudha K. Shenoy, and Robert J. Lefkowitz. 2006. “Trafficking of G Protein-Coupled Receptors.” *Circulation Research* 99 (6): 570–82.
- Drdla, R., M. Gassner, E. Gingl, and J. Sandkuhler. 2009. “Induction of Synaptic Long-Term Potentiation After Opioid Withdrawal.” *Science* 325 (5937): 207–10.
- Echevarría, G, F Elgueta, C Fierro, D Bugedo, G Faba, R Iñiguez-Cuadra, H R Muñoz, and L I Cortínez. 2011. “Nitrous Oxide (N<sub>2</sub>O) Reduces Postoperative Opioid-Induced Hyperalgesia after Remifentanil-Propofol Anaesthesia in Humans.” *British Journal of Anaesthesia* 107 (6): 959–65.
- Egan, Talmage D. 1998. “The Clinical Pharmacology of Remifentanil: A Brief Review.” *Journal of Anesthesia* 12: 195–204.
- Eisenberg, Elon, Erica Suzan, and Dorit Pud. 2015. “Opioid-Induced Hyperalgesia (OIH): A Real Clinical Problem or Just an Experimental Phenomenon?” *Journal of Pain and Symptom Management* 49 (3): 632–36.
- Estebe, J.-P., C. Degryse, G. Rezzadori, F. Dimache, G. Daccache, A. Le Naoures, A. Belbachir, P. Schoeffler, and A.-L. Sérandour. 2017. “Tolerance and Efficacy of a Polyamine-Deficient Diet for the Treatment of Perioperative Pain.” *Nutrition* 36 Apr:33-

- Evans, M S, C Lysakowski, M R Trame, and Medical Faculty. 2008. "Nefopam for the Prevention of Postoperative Pain : Quantitative Systematic Review" 101 (5): 610–17.
- Farag, Ehab, Michael Ghobrial, Daniel Sessler, Jarrod E Dalton, Jinbo Liu, Jae H Lee, Sherif Zaky, Edward Benzel, William Bingaman, and Andrea Kurz. 2013. "Effect of Perioperative Intravenous Lidocaine Administration on Pain , Opioid Consumption , and Quality of Life after Complex Spine Surgery." *Anesthesiology* 119 (4): 932–40.
- Farouk, Sherif, and Ansam Aly. 2009. "A Comparison of Intra-Articular Magnesium And/or Morphine with Bupivacaine for Postoperative Analgesia after Arthroscopic Knee Surgery." *Journal of Anesthesia* 23 (4): 508–12.
- Fechner, J, H Ihmsen, J Schüttler, and C Jeleazcov. 2013. "The Impact of Intra-Operative Sufentanil Dosing on Post-Operative Pain , Hyperalgesia and Morphine Consumption after Cardiac Surgery" *European Journal of Pain* 17: 562–70.
- Ferrini, Francesco, Tuan Trang, Theresa-Alexandra M Mattioli, Sophie Laffray, Thomas Del Guidice, Louis-Etienne Lorenzo, Annie Castonguay, et al. 2008. "Morphine Hyperalgesia Gated through Microglia-Mediated Disruption of Neuronal Cl-homeostasis." *Nature Neuroscience* 49 (2): 743–50.
- Filizola, Marta, and Lakshmi A Devi. 2013. "Grand Opening of Structure-Guided Design for Novel Opioids." *Trends in Pharmacological Sciences* 34 (1): 6–12.
- Finley, M. J., C. M. Happel, D. E. Kaminsky, and T. J. Rogers. 2008. "Opioid and Nociceptin Receptors Regulate Cytokine and Cytokine Receptor Expression." *Cellular Immunology* 252 (1–2): 146–54.
- Fletcher, D, and V Martinez. 2014. "Opioid-Induced Hyperalgesia in Patients after Surgery: A Systematic Review and a Meta-Analysis." *British Journal of Anaesthesia* 112 (6): 991–1004.
- Foord, Steven M, Tom I Bonner, Richard R Neubig, Edward M Rosser, Jean-phillipe Pin, Anthony P Davenport, Michael Spedding, and Anthony J Harmar. 2005. "International Union of Pharmacology. XLVI. G Protein-Coupled Receptor List." *Pharmacological Reviews* 57 (2): 279–88.
- Fu, E S, R Miguel, and J E Scharf. 1997. "Preemptive Ketamine Decreases Postoperative Narcotic Requirements in Patients Undergoing Abdominal Surgery." *Anesthesia and Analgesia* 84 (5): 1086–90.
- Funcke, Sandra, Sven Sauerlaender, Hans. O Pinnschmidt, Bernd C Saugel, Kai Bremer,



- Daniel A Reuter, and Rainer Nitzschke. 2017. "Validation of Innovative Techniques for Monitoring Nociception during General Anesthesia." *Anesthesiology* 127: 272-83.
- Gardell, Luis R, Ruizhong Wang, Shannon E Burgess, Michael H Ossipov, Todd W Vanderah, T Philip Malan, Josephine Lai, Frank Porreca, and Frank Porreca. 2002. "Sustained Morphine Exposure Induces a Spinal Dynorphin-Dependent Enhancement of Excitatory Transmitter Release from Primary Afferent Fibers." *The Journal of Neuroscience* 22 (15): 6747–55.
- Gayraud, G, O Bastien, H Taheri, P Schoeffler, and C Duale. 2013. "Enquête Sur Les Pratiques Françaises D'analgésie En Chirurgie Thoracique ( Réalisée Avec Le Concours de l'ARCOTHOVA ). A French Survey on the Practice of Analgesia for Thoracic Surgery." *Annales Françaises d'Anesthésie et de Réanimation* 32: 684–90.
- Girard, C, Ph Mauriat, J Goudeau, P D Athis, D Bompard, J Dalmas, J L Fellahi, F Lévy, D Longrois, and J P Parthiot. 2004. "Anaesthesia and Intensive Care for Cardiac Surgery in France. Results of the Three Days National Survey Realised in 2001 by the Club of Anaesthesia, Intensive Care and Technics in Cardiac Surgery ( ARTECC )." *Annales Francaises D'anesthesie et de Reanimation* 23: 862–72.
- Goode, L, and B Raffaz. 1997. "An Examination of the Relationship Between M-Opioid Antinociceptive Efficacy and G-Protein Coupling Using Pertussis And Cholera Toxins." *Pharmacology Letters* 60 (7): 107–13.
- Grace, Peter M, Steven F Maier, and Linda R Watkins. 2015. "Opioid-Induced Central Immune Signaling: Implications for Opioid Analgesia." *Headache* 55 (4): 475–89.
- Gruenewald, M, C Ilies, J Herz, T Schoenherr, A Fudickar, J Hocker, and B Bein. 2013. "Influence of Nociceptive Stimulation on Analgesia Nociception Index ( ANI ) during Propofol – Remifentanil Anaesthesia." *British Journal of Anaesthesia* 110 (March): 1024–30.
- Gruenewald, Matthias, Jonas Herz, Thekla Schoenherr, Carsten Thee, Markus Steinfath, and Berthold Bein. 2014. "Measurement of Nociceptive Balance by Analgesia Nociception Index (ANI) and Surgical Pleth Index (SPI) during Sevoflurane-Remifentanil Anaesthesia." *Minerva Anestesiologica* 81:481-9
- Gruenewald, M, S Willms, O Broch, M Kott, M Steinfath, and B Bein. 2014. "Sufentanil Administration Guided by Surgical Pleth Index vs Standard Practice during Sevoflurane Anaesthesia: A Randomized Controlled Pilot Study." *British Journal of Anaesthesia* 112 (5): 898–905.

- Guennoun, R., F. Labombarda, M. C. Gonzalez Deniselle, P. Liere, A. F. De Nicola, and M. Schumacher. 2015. "Progesterone and Allopregnanolone in the Central Nervous System: Response to Injury and Implication for Neuroprotection." *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology* 146: 48–61.
- Guignard, Bruno, Anne Elisabeth Bossard, Carole Coste, Daniel Sessler, Claude Lebrault, Pascal Alfonsi, Dominique Fletcher, and Marcel Chauvin. 2000. "Acute Opioid Tolerance. Intraoperative Remifentanil Increases Postoperative Pain and Morphine Requirement." *Anesthesiology* 93 (2): 409–17.
- Hall, Anthony, and Janet Hardy. 2009. "The Lipophilic Opioids: Fentanyl, Alfentanil, Sufentanil, and Remifentanil." In *Opioids in Cancer Pain* (2)
- Han, Sun Sook, Sang Hwan Do, Tae Hee Kim, Won Joon Choi, Ji Sup Yun, and Jung Hee Ryu. 2015. "Stepwise Tapering of Remifentanil at the End of Surgery Decreased Postoperative Pain and the Need of Rescue Analgesics after Thyroidectomy." *BMC Anesthesiology* 15 (46): 1–6.
- Hanouz, J, T Simonet, C Marliot, A Mayaud, A Girard, N Rakotnirina, J.-L. Fellahi, and J.-L. Gérard. 2012. "French National Survey on Remifentanil Utilisation for Obstetrical Peridural Analgesia." *Annales Francaises D'anesthesie et de Reanimation* 31: 682–86.
- Hayhurst, Christina, and Marcel Durieux. 2016. "Differential Opioid Tolerance and Opioid-Induced Hyperalgesia." *Anesthesiology* 124 (2): 483–88.
- Heinricher, M. M., I. Tavares, J. L. Leith, and B. M. Lumb. 2009. "Descending Control of Nociception: Specificity, Recruitment and Plasticity." *Brain Research Reviews* 60 (1): 214–25.
- Henkel, Gretchen. 2000. "Acute Opioid Tolerance Manifested by Increased Postoperative Pain." *Anesthesiology* 93 (2): 5–6.
- Ho, K-Y, W Tay, M-C Yeo, H Liu, S-J Yeo, S-L Chia, and N-N Lo. 2010. "Duloxetine Reduces Morphine Requirements after Knee Replacement Surgery." *British Journal of Anaesthesia* 105 (3): 371–76.
- Hollmann, M W, H T Liu, C W Hoenemann, W H Liu, and M E Durieux. 2001. "Modulation of NMDA Receptor Function by Ketamine and Magnesium. Part II: Interactions with Volatile Anesthetics." *Anesthesia and Analgesia* 92 (5): 1182–91.
- Horvath, Ryan J, Russell P Landry, E Alfonso Romero-Sandoval, and Joyce A De Leo. 2010. "Morphine Tolerance Attenuates the Resolution of Postoperative Pain and Enhances Spinal Microglial p38 and ERK Phosphorylation." *Neuroscience* 169 (2): 843–54.

doi:10.1002/nbm.3066.Non-invasive.

- Hudspith, Michael J. 2016. "Anatomy , Physiology and Pharmacology of Pain." *Anaesthesia and Intensive Care Medicine* 17 (9): 425–30.
- Hutchinson, Mark R, Sondra T Bland, Kirk W Johnson, Kenner C Rice, Steven F Maier, and Linda R Watkins. 2007. "Opioid-Induced Glial Activation : Mechanisms of Activation and Implications for Opioid Analgesia , Dependence , and Reward." *The Scientific World Journal* 7: 98–111.
- Irannejad, Roshanak, and Mark von Zastrow. 2014. "GPCR Signaling along the Endocytic Pathway." *Current Opinion in Cell Biology* 27 (April): 109–16.
- Jamison, Robert N, and Jianren Mao. 2015. "Opioid Analgesics." *Mayo Clinic Proceedings* 90 (7). Elsevier Inc: 957–68.
- Jeanne, M, C Clément, J De Jonckheere, R Logier, and B Tavernier. 2012. "Variations of the Analgesia Nociception Index during General Anaesthesia for Laparoscopic Abdominal Surgery." *Journal of Clinical Monitoring and Computing* 26 (1): 289–94.
- Jeanne, Mathieu, Michel Delecroix, Julien De Jonckheere, Abdel Keribedj, Régis Logier, and Benoit Tavernier. 2014. "Variations of the Analgesia Nociception Index During Propofol Anesthesia for Total Knee Replacement." *Clinical Journal of Pain* 30 (12): 1084–88.
- Jeanne, Mathieu, Régis Logier, Julien De Jonckheere, and Benoît Tavernier. 2009. "Heart Rate Variability during Total Intravenous Anesthesia : Effects of Nociception and Analgesia." *Autonomic Neuroscience* 147 (1–2). Elsevier B.V.: 91–96.
- Jim, Zaijie, and Lili X Wang. 2006. "Phosphorylation : A Molecular Switch in Opioid Tolerance." *Life Sciences* 79: 1681–91.
- Joly, Vincent, Philippe Richebé, Bruno Guignard, Dominique Fletcher, Pierre Maurette, Daniel I Sessler, and Marcel Chauvin. 2005. "Remifentanil-Induced Postoperative Hyperalgesia and Its Prevention with Small-Dose Ketamine." *Anesthesiology* 103 (1): 147–55.
- Kashiwadani, Hideki, Yuichi Kanmura, and Tomoyuki Kuwaki. 2017. "Application of Calibrated Forceps for Assessing Mechanical Nociception with High Time Resolution in Mice." *PLoS ONE*, 1–10.
- Kenakin, Terry. 2011. "Functional Selectivity and Biased Receptor Signaling." *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 336 (2): 296–302.
- Kieffer, Brigitte L, and Claire Gavériaux-Ruff. 2002. "Exploring the Opioid System by Gene Knockout." *Progress in Neurobiology* 66 (February): 285–306.

- Kim, Sung-hoon, Min H Lee, Hyungseok Seo, In-gyu Lee, Jeong-yeon Hong, D Ph, Jai-hyun Hwang, and D Ph. 2013. "Intraoperative Infusion of 0.6-0.9 Mg.kg-1.min-1 Remifentanyl Induces Acute Tolerance in Young Children." *Anesthesiology* 118 (2): 337–43.
- King, Tamara, Luis R Gardell, Ruizhong Wang, Anna Vardanyan, Michael H Ossipov, T Philip Malan, Todd W Vanderah, et al. 2006. "Role of NK-1 Neurotransmission in Opioid-Induced Hyperalgesia." *Pain* 116 (3): 276–88.
- Kissin, Igor, Cheryl A Bright, and Edwin L Bradley. 2000. "Acute Tolerance to Continuously Infused Alfentanil: The Role of Cholecystokinin and N-Methyl-D-Aspartate-Nitric Oxide Systems." *Anesthesia and Analgesia* 91: 110–16.
- Koch, Thomas, and Volker Höllt. 2008. "Role of Receptor Internalization in Opioid Tolerance and Dependence." *Pharmacology & Therapeutics* 117: 199–206.
- Konopka, K, and M Van Wijhe. 2010. "Opioid-Induced Hyperalgesia: Pain Hurts?" *British Journal of Anaesthesia* 105 (5): 555–57.
- Koppert, W, W Koppert, R Sittl, R Sittl, K Scheuber, K Scheuber, M Alsheimer, et al. 2003. "Differential Modulation of Remifentanyl-Induced Analgesia and Postinfusion Hyperalgesia by S-Ketamine and Clonidine in Humans." *Anesthesiology* 99 (1): 152–59.
- Krishnan, Sumithra, Amy Salter, Thomas Sullivan, Melanie Gentgall, Jason White, and Paul Rolan. 2012. "Comparison of Pain Models to Detect Opioid-Induced Hyperalgesia." *Journal of Pain Research* 5: 99–106.
- La Colla, Luca, Andrea Albertin, and G La Colla. 2009. "Pharmacokinetic Model-Driven Remifentanyl Administration in the Morbidly Obese." *Clinical Pharmacokinetics* 48 (6): 397–98.
- Laboureyras, Emilie, Frédéric Aubrun, Maud Monsaigne, Jean Benoît Corcuff, Jean Paul Laulin, and Guy Simonnet. 2014. "Exogenous and Endogenous Opioid-Induced Pain Hypersensitivity in Different Rat Strains." *Pain Research and Management* 19 (4): 191–97.
- Lagneau, F, T Oliviéri, and J Marty. 2013. "AIVOC : Anesthésie Intraveineuse À Objectif de Concentration." *Conférence d'Actualisation*, 1–9.
- Latremoliere, Alban, and Clifford J Woolf. 2009. "Central Sensitization: A Generator of Pain Hypersensitivity by Central Neural Plasticity." *The Journal of Pain* 10 (9): 895–926.
- Lau, Benjamin K., and Christopher W. Vaughan. 2014. "Descending Modulation of Pain: The GABA Disinhibition Hypothesis of Analgesia." *Current Opinion in Neurobiology* 29: 159–64.

- Le Gall, Lisa, Anaëlle David, Pauline Carles, Sébastien Leuillet, Brigitte Chastel, Catherine Fleureau, Antoine Dewitte, and Alexandre Ouattara. 2017. "Intraoperative Analgesia Guided by the Analgesia Nociception Index in Bariatric: An Unmatched Case-Control Study." *Anaesthesia Critical Care & Pain Medicine* 12
- Le Roy, Chloé, Emilie Laboureyras, Jean-Paul Laulin, and Guy Simonnet. 2013. "A Polyamine-Deficient Diet Opposes Hyperalgesia, Tolerance and the Increased Anxiety-like Behaviour Associated with Heroin Withdrawal in Rats." *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior* 103 (3): 510–19.
- Lee, Cheol, Yeon Dong Kim, and Ji Na Kim. 2013. "Antihyperalgesic Effects of Dexmedetomidine on High-Dose Remifentanil-Induced Hyperalgesia." *Korean Journal of Anesthesiology* 64 (4): 301–7.
- Lee, Cheol, Hyun-wook Lee, and Ji-na Kim. 2013. "Effect of Oral Pregabalin on Opioid-Induced Hyperalgesia in Patients Undergoing Laparo-Endoscopic Single-Site Urologic Surgery." *Korean Journal of Anesthesiology* 64 (1): 19–24.
- Lee, Hyeon Jeong, and David C Yeomans. 2014. "Opioid Induced Hyperalgesia in Anesthetic Settings." *Korean Journal of Anesthesiology* 67 (5): 299–304.
- Lee, Marion, Silverman Sanford, Hansen Hans, Patel Vikram, and Manchikanti Laxmaiah. 2011. "A Comprehensive Review of Opioid-Induced Hyperalgesia." *Pain Physician*, no. 14: 145–61.
- Lee, Mi Hyeon, Mi Hwa Chung, Cheol Sig Han, Jeong Hyun Lee, Young Ryong Choi, Eun Mi Choi, Hyun Kyung Lim, and Young Duk Cha. 2014. "Comparison of Effects of Intraoperative Esmolol and Ketamine Infusion on Acute Postoperative Pain after Remifentanil-Based Anesthesia in Patients Undergoing Laparoscopic Cholecystectomy." *Korean Journal of Anesthesiology* 66 (3): 222–29.
- Li, X., M.S. Angst, and J. David Clark. 2001. "A Murine Model of Opioid-Induced Hyperalgesia." *Molecular Brain Research* 86 (1–2): 546–55.
- Li, Xiangqi, Martin S Angst, and J David Clark. 2001. "Opioid-Induced Hyperalgesia and Incisional Pain." *Anesth Analg* 93: 204–9.
- Liu, Ngai, Thierry Chazot, Sophie Hamada, Alain Landais, Nathalie Boichut, Corinne Dussaussoy, Bernard Trillat, et al. 2011. "Closed-Loop Coadministration of Propofol and Remifentanil Guided by Bispectral Index: A Randomized Multicenter Study" 112 (3): 546–57.
- Loftus, Rady W, Mark P Yeager, Jeffrey A Clark, Jeremiah R Brown, William A Abdu, Dilip

- K Sengupta, and Michael L Beach. 2017. "Intraoperative Ketamine Reduces Perioperative Opiate Consumption in Opiate-Dependent Patients with Chronic Back Pain Undergoing BACK Surgery." *Anesthesiology* 113 (3): 639–46.
- Lyons, Pamela J, Ryan M Rivosecchi, Jose P Nery, and Sandra L Kane-gill. 2015. "Fentanyl-Induced Hyperalgesia in Acute Pain Management." *Journal of Pain & Palliative Care Pharmacotherapy* 29: 153–60.
- Macey, T. A., E. N. Bobeck, K. L. Suchland, M. M. Morgan, and S. L. Ingram. 2015. "Change in Functional Selectivity of Morphine with the Development of Antinociceptive Tolerance." *British Journal of Pharmacology* 172 (2): 549–61.
- Macey, Tara A, Erin N Bobeck, Deborah M Hegarty, Sue A Aicher, Susan L Ingram, and Michael M Morgan. 2009. "Extracellular Signal-Regulated Kinase 1 / 2 Activation Counteracts Morphine Tolerance in the Periaqueductal Gray of the Rat." *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 331 (2): 412–18.
- Macey, Tara A, Janet D Lowe, and Charles Chavkin. 2006. "Mu Opioid Receptor Activation of ERK1 / 2 Is GRK3 and Arrestin Dependent in Striatal Neurons." *The Journal of Biological Chemistry* 281 (45): 34515–24.
- Mann, Anika, Susann Illing, Elke Miess, and Stefan Schulz. 2015. "Different Mechanisms of Homologous and Heterologous  $\mu$ -Opioid Receptor Phosphorylation." *British Journal of Pharmacology* 172 (2): 311–16.
- Marek, Malik. 1996. "Heart Rate Variability : Standards of Measurement , Physiological Interpretation and Clinical Use." *Circulation* 93 (March 1996): 1043–65.
- Marie, Nicolas, Benjamin Aguila, and Stéphane Allouche. 2006. "Tracking the Opioid Receptors on the Way of Desensitization." *Cellular Signaling* 18: 1815–33.
- Martinez, V, S Baudic, and D Fletcher. 2013. "Douleurs Chroniques Postchirurgicales. Chronic Postsurgical Pain." *Annales Francaises D'anesthesie et de Reanimation* 32 (6): 422–35.
- McDonald, John, and David G Lambert. 2013. "Opioid Mechanisms and Opioid Drugs." *Anaesthesia and Intensive Care Medicine* 14 (11). Elsevier Ltd: 505–9.
- McPherson, J., G. Rivero, M. Baptist, J. Llorente, S. Al-Sabah, C. Krasel, W. L. Dewey, et al. 2010. "M-Opioid Receptors: Correlation of Agonist Efficacy for Signalling with Ability to Activate Internalization." *Molecular Pharmacology* 78 (4): 756–66.
- Melcangi, Roberto Cosimo, and Gian Carlo Panzica. 2014. "Allopregnanolone: State of the Art." *Progress in Neurobiology* 113: 1–5.

- Mika, Joanna, Magdalena Zychowska, Katarzyna Popiolek-barczyk, Ewelina Rojewska, and Barbara Przewlocka. 2013. "Importance of Glial Activation in Neuropathic Pain." *European Journal of Pharmacology* 716: 106–19.
- Millan, Mark J. 2002. "Descending Control of Pain." *Progress in Neurobiology* 66 (February): 355–474.
- Minville, V., O. Fourcade, J. P. Girolami, and I. Tack. 2010. "Opioid-Induced Hyperalgesia in a Mice Model of Orthopaedic Pain: Preventive Effect of Ketamine." *British Journal of Anaesthesia* 104 (2): 231–38.
- Mion, Georges, Nicolas Libert, Audrey Cirodde, and Jean-pierre Tourtier. 2008. "Kétamine : Quelles Modalités D'utilisation En 2008 ?" *Web-Anesthésie* 2 (4): 1–15.
- Morgan, Michael M., and MacDonald J. Christie. 2011. "Analysis of Opioid Efficacy, Tolerance, Addiction and Dependence from Cell Culture to Human." *British Journal of Pharmacology* 164 (4): 1322–34.
- Noble, Florence, Maria Szucs, Brigitte Kieffer, and Bernard P Roques. 2000. "Overexpression of Dynamin Is Induced by Chronic Stimulation of M - but Not  $\delta$  - Opioid Receptors : Relationships with M -Related Morphine Dependence." *Molecular Pharmacology* 58: 159–66.
- Nowoczyn, M, N Marie, L Coulbault, M Hervault, A Davis, J L Hanouz, and S Allouche. 2013. "Remifentanil Produces Cross-Desensitization and Tolerance with Morphine on the Mu-Opioid Receptor." *Neuropharmacology* 73. Elsevier Ltd: 368–79.
- Ossipov, Michael H., Josephine Lai, Tamara King, Todd W. Vanderah, and Frank Porreca. 2005. "Underlying Mechanisms of Pronociceptive Consequences of Prolonged Morphine Exposure." *Biopolymers - Peptide Science* 80 (2–3): 319–24.
- Paxinos, George, and Keith B. J Franklin. 2004. "The Mouse Brain in Stereotaxic Coordinates." In *The Mouse Brain in Stereotaxic Coordinates*.
- Petrenko, Andrey B., Hideaki Ishii, Tatsuro Kohno, and Hiroshi Baba. 2012. "When Similar Is Not Alike: Decreased Sensory Thresholds after Intravenous Infusion of Remifentanil May Not Be Remifentanil-Induced Hyperalgesia." *Anesthesia and Analgesia* 115 (4): 977.
- Piacevoli, Q, C Minto, and T Schnider. 2011. *3<sup>rd</sup> World Congress of Total Intravenous Anaesthesia & Target Controlled Infusion*.1-77
- Pichot, Vincent, Jean-michel Gaspoz, Serge Molliex, Anestis Antoniadis, Thierry Busso, Frédéric Roche, Frédéric Costes, Luc Quintin, Jean-René Lacour, and Jean-Claude

- Barthélémy. 1999. "Wavelet Transform to Quantify Heart Rate Variability and to Assess Its Instantaneous Changes." *Journal of Applied Physiology* 86: 1081–91.
- Posa, Luca, Alison Accarie, Florence Noble, and Nicolas Marie. 2016. "Methadone Reverses Analgesic Tolerance Induced by Morphine Pretreatment." *International Journal of Neuropsychopharmacology* 19 (7): 1–11.
- Pradhan, Aymnah A., Monique L. Smith, Brigitte L. Kieffer, and Christopher J. Evans. 2012. "Ligand-Directed Signalling within the Opioid Receptor Family." *British Journal of Pharmacology* 167 (5): 960–69.
- Przewlocki, Ryszard. 2013. "Opioid Peptides." In *Neuroscience in the 21st Century*, 1525–54.
- Raehal, Kirsten M, and Laura M Bohn. 2005. "Mu Opioid Receptor Regulation And Opiate Responsiveness." *The AAPS Journal* 7 (3): 587–91.
- Raehal, Kirsten M, and Laura M Bohn. 2014. "Arrestins - Pharmacology and Therapeutic Potential." *Handb Exp Pharmacol.* 219: 427–43.
- Raffa, Robert B, and Joseph V Pergolizzi. 2011. "Opioid-Induced Hyperalgesia : Is It Clinically Relevant for the Treatment of Pain Patients ?" *Pain Management Nursing.* American Society for Pain Management Nursing, 1–17.
- Raman, M, W Chen, and M H Cobb. 2007. "Differential Regulation and Properties of MAPKs." *Oncogene* 26: 3100–3112.
- Ravindran, Deepak. 2014. "Chronic Postsurgical Pain : Prevention and Management And Treatment," 51–53.
- Reinecke, H., C. Weber, K. Lange, M. Simon, C. Stein, and H. Sorgatz. 2015. "Analgesic Efficacy of Opioids in Chronic Pain: Recent Meta-Analyses." *British Journal of Pharmacology* 172 (2): 324–33.
- Remérand, Francis, Charlotte Le Tendre, Annick Baud, Claude Couvret, Xavier Pourrat, Luc Favard, Marc Laffon, and Jacques Fusciardi. 2009. "The Early and Delayed Analgesic Effects of Ketamine after Total Hip Arthroplasty: A Prospective, Randomized, Controlled, Double-Blind Study." *Anesthesia and Analgesia* 109 (6): 1963–71.
- Reuben, Scott S, and Asokumar Buvanendran. 2007. "Preventing the Development of Chronic Pain after Orthopaedic Surgery with Preventive Multimodal Analgesic Techniques." *The Journal of Bone and Joint Surgery. American Volume* 89 (6): 1343–58.
- Richebé, P, C Rivat, B Rivalan, P Maurette, and G Simonnet. 2005. "Kétamine À Faibles Doses : Antihyperalgésique , Non Analgésique Low Doses Ketamine : Antihyperalgesic



- Drug , Non-Analgesic.” *Annales Françaises d’Anesthésie et de Réanimation* 24: 1349–59.
- Richebé, Philippe, Walter Picard, Cyril Rivat, Srdjan Jelacic, Olivier Branchard, Sandy Leproust, Alex Cahana, and Gérard Janvier. 2013. “Effects of Nefopam on Early Postoperative Hyperalgesia after Cardiac Surgery.” *Journal of Cardiothoracic and Vascular Anesthesia* 27 (3): 427–35.
- Richebé, Philippe, Cyril Rivat, Cyril Creton, Jean-Paul Laulin, Pierre Maurette, Marc Lemaire, and Guy Simonnet. 2005. “Nitrous Oxide Revisited: Evidence for Potent Antihyperalgesic Properties.” *Anesthesiology* 103 (4): 845–54.
- Richebé, Philippe, Cyril Rivat, Jean-Paul Laulin, Pierre Maurette, and Guy Simonnet. 2005. “Ketamine Improves the Management of Exaggerated Postoperative Pain Observed in Perioperative Fentanyl-Treated Rats.” *Anesthesiology* 102 (2): 421–28.
- Rivat, Cyril, Jean-Paul Laulin, Jean-Benoît Corcuff, Evelyne Célèrier, Laure Pain, and Guy Simonnet. 2002. “Fentanyl Enhancement of Carrageenan-Induced Long-Lasting Hyperalgesia in Rats.” *Anesthesiology* 96 (2): 381–91.
- Rivosecchi, R M, M J Rice, P L Smithburger, M S Buckley, J C Coons, and S L Kane-Gill. 2014. “An Evidence Based Systematic Review of Remifentanil Associated Opioid-Induced Hyperalgesia.” *Expert Opinion on Drug Safety* 13 (5): 587–603.
- Romero, A, A Gonzalez-Cuello, M.L Laorden, A Campillo, N Vasconcelos, E Romero-Alejo, and M.M Puig. 2012. “Effects of Surgery and / or Remifentanil Administration on the Expression of pERK1 / 2 , c-Fos and Dynorphin in the Dorsal Root Ganglia in Mice.” *Naunyn-Schmiedeberg’s Archives of Pharmacology* 385: 397–409.
- Rozenfeld, Raphael, and Lakshmi A. Devi. 2011. “Exploring a Role for Heteromerization in GPCR Signalling Specificity.” *Biochemical Journal* 433 (1): 11–18.
- Sabourdin, Nada, Michel Arnaut, Nicolas Louvet, Marie-laurence Guye, Federica Piana, and Isabelle Constant. 2013. “Pain Monitoring in Anesthetized Children : First Assessment of Skin Conductance and Analgesia-Nociception Index at Different Infusion Rates of Remifentanil.” *Pediatric Anesthesia* 23: 149–55.
- Sabourdin, Nada, Jérôme Barrois, Nicolas Louvet, Agnès Rigouzzo, Marie Laurence Guye, Christophe Dadure, Isabelle Constant. 2017 " Pupillometry-guided Intraoperative Remifentanil Administration versus Standard Practice Influences Opioid Use. A Randomized Study" *Anesthesiology* 127: 284-92
- Salengros, Jean-Corentin, Isabelle Huybrechts, Anne Ducart, David Faraoni, Corinne

- Marsala, Luc Barvais, Matteo Cappello, and Edgard Engelman. 2010. "Different Anesthetic Techniques Associated with Different Incidences of Chronic Post-Thoracotomy Pain: Low-Dose Remifentanil Plus Presurgical Epidural Analgesia Is Preferable to High-Dose Remifentanil with Postsurgical Epidural Analgesia." *Journal of Cardiothoracic and Vascular Anesthesia* 24 (4): 608–16.
- Scherrer, Gregory, Noritaka Imamachi, Yu-qing Cao, Candice Contet, Dajan O' Donnell, Brigitte L Kieffer, and Allan I Basbaum. 2009. "Dissociation of the Opioid Receptor Mechanisms That Control Mechanical and Heat Pain." *Cell* 137 (June 12): 1148–59.
- Simonnet, G, and J P Laulin. 2001. "Tolérance Aux Effets Analgésiques Des Substances Opiacées : Données Fondamentales et Perspectives Thérapeutiques." In *Conférences D'actualisation SFAR*, 77–98.
- Singler, Boris, Andreas Tröster, Neil Manering, Jürgen Schüttler, and Wolfgang Koppert. 2007. "Modulation of Remifentanil-Induced Postinfusion Hyperalgesia by Propofol." *Anesthesia and Analgesia* 104 (6): 1397–1403.
- Song, Jong Wook, Youn Woo Lee, Kyung Bong Yoon, Soo Jung Park, and Yon Hee Shim. 2011. "Magnesium Sulfate Prevents Remifentanil-Induced Postoperative Hyperalgesia in Patients Undergoing Thyroidectomy." *Anesthesia and Analgesia* 113 (2): 390–97.
- Stanley, Theodore H. 2014. "The Fentanyl Story." *The Journal of Pain* 15 (12). Elsevier Ltd: 1215–26.
- Stubhaug, A, H Breivik, P K Eide, M Kreunen, and A Foss. 1997. "Mapping of Punctuate Hyperalgesia around a Surgical Incision Demonstrates That Ketamine Is a Powerful Suppressor of Central Sensitization to Pain Following Surgery." *Acta Anaesthesiologica Scandinavica* 41: 1124–32.
- Subramanian, J., and A. Morozov. 2011. "Erk1/2 Inhibit Synaptic Vesicle Exocytosis through L-Type Calcium Channels." *Journal of Neuroscience* 31 (12): 4755–64.
- Sufka, Kenneth J., Richard A. Hughes, and James Giordano. 1991. "Effects of Selective Opiate Antagonists on Morphine-Induced Hyperalgesia in Domestic Fowl." *Pharmacology, Biochemistry and Behavior* 38 (1): 49–54.
- Szentel, J A, A Webb, C Weeraratne, A Campbell, H Sivakumar, and S Leong. 2015. "Postoperative Pain after Laparoscopic Cholecystectomy Is Not Reduced by Intraoperative Analgesia Guided by Analgesia Nociception Index ( ANI W ) Monitoring : A Randomized Clinical Trial." *British Journal of Anaesthesia*.
- Thacker, Michael A, Anna K Clark, Fabien Marchand, and Stephen B McMahon. 2007.

- “Pathophysiology of Peripheral Neuropathic Pain : Immune Cells and Molecules.” *Anesthesia and Analgesia* 105 (3): 838–47.
- Thompson, G. L., E. Kelly, A. Christopoulos, and M. Canals. 2015. “Novel GPCR Paradigms at the  $\mu$ -Opioid Receptor.” *British Journal of Pharmacology* 172 (2): 287–96.
- Thompson, Georgina L, J Robert Lane, Thomas Coudrat, Patrick M Sexton, Arthur Christopoulos, and Meritxell Canals. 2015. “Biased Agonism of Endogenous Opioid Peptides at the M-Opioid Receptor.” *Molecular Pharmacology* 88: 335–46.
- Tirault, Myriam, Nicolas Derrode, David Clevenot, Dominique Fletcher, Bertrand Debaene, and Delphine Rolland. 2006. “The Effect of Nefopam on Morphine Overconsumption Induced by Large-Dose Remifentanil During Propofol Anesthesia for Major Abdominal Surgery,” 14: 110–17.
- Toll, Lawrence, Michael R Bruchas, Brian M Cox, and Nurulain T Zaveri. 2016. “Nociceptin/Orphanin FQ Receptor Structure , Signaling , Ligands , Functions , and Interactions with Opioid Systems.” *Pharmacological Reviews* 68 (April): 419–57.
- Torrecilla, Maria, Cheryl L Marker, Stephanie C Cintora, Markus Stoffel, John T Williams, and Kevin Wickman. 2002. “G-Protein-Gated Potassium Channels Containing Kir3.2 and Kir3.3 Subunits Mediate the Acute Inhibitory Effects of Opioids on Locus Ceruleus Neurons.” *The Journal of Neuroscience* 22 (11): 4328–34.
- Tremblay, Marie-Hélène (Université de Montréal). 2005. “L’hyperalgésie Associée Au Rémifentanil.” 1-20
- Treskatsch, Sascha, Michael Klambeck, Shaaban A Mousa, Andreas Kopf, and Michael Schafer. 2014. “Influence of High-Dose Intraoperative Remifentanil with or without Amantadine on Postoperative Pain Intensity and Morphine Consumption in Major Abdominal Surgery Patients A Randomised Trial.” *European Journal of Anaesthesiology* 31: 41–49.
- Upton, Henry David, Guy Ludbrook, Andrew Wing, and Jamie Sleight. 2017. “Intraoperative ‘ Analgesia Nociception Index ’ ( ANI ) -Guided Fentanyl Administration During Sevoflurane Anesthesia in Lumbar Discectomy and Laminectomy : A Randomized Clinical Trial.” *Anesthesia & Analgesia* 125 (1):81-90.
- Vanderah, Todd W, Michael H Ossipov, Josephine Lai, T Philip Malan, and Frank Porreca. 2001. “Mechanisms of Opioid-Induced Pain and Antinociceptive Tolerance : Descending Facilitation and Spinal Dynorphin.” *Pain* 92: 5–9.
- Vardanyan, Ruben S, and Victor J Hraby. 2014. “Fentanyl-Related Compounds and

- Derivatives: Current Status Future Prospects for Pharmaceutical Applications.” *Future Med Chem* 6 (4): 385–412.
- Vera-Portocarrero, Louis P, En-Tan Zhang, Tamara King, Michael H Ossipov, Todd W Vanderah, Josephine Lai, and Frank Porreca. 2007. “Spinal Nk-1 Receptor Expressing Neurons Mediate Opioid-Induced Hyperalgesia And Antinociceptive Tolerance Via Activation Of Descending Pathways.” *Pain* 129 (May): 35–45.
- Villanueva, Luis, and Laurence Bourgeois. 2009. “Systèmes de Modulation de La Douleur.” In *Douleurs, Physiologie, Physiopathologie et Pharmacologie*. 29-44
- Wang, Yan, Katherine Barker, Shanping Shi, Miguel Diaz, Bing Mo, and B Howard. 2012. “Blockade of PDGFR- $\beta$  Activation Eliminates Morphine Analgesic Tolerance.” *Nature Medicine* 18 (3): 385–87.
- Wang, Zhiyong, Weiya Ma, Jean Guy Chabot, and Remi Quirion. 2010. “Calcitonin Gene-Related Peptide as a Regulator of Neuronal CaMKII-CREB, Microglial p38-NF $\kappa$ B and Astroglial ERK-Stat1/3 Cascades Mediating the Development of Tolerance to Morphine-Induced Analgesia.” *Pain* 151 (1): 194–205.
- Watts, Val J. 2002. “Molecular Mechanisms for Heterologous Sensitization of Adenylate Cyclase.” *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 302 (1): 1–7.
- Waxman, Amanda R., Caroline Arout, Megan Caldwell, Albert Dahan, and Benjamin Kest. 2009. “Acute and Chronic Fentanyl Administration Causes Hyperalgesia Independently of Opioid Receptor Activity in Mice.” *Neuroscience Letters* 462 (1): 68–72.
- Wicksell, Rikard K, and Gunnar L Olsson. 2010. “Predicting and Preventing Chronic Postsurgical Pain and Disability.” *Anesthesiology* 113 (6): 1260–61.
- Williams, J T, M J Christie, and O Manzoni. 2001. “Cellular and Synaptic Adaptations Mediating Opioid Dependence.” *Physiological Reviews* 81 (1): 299–343.
- Williams, John T, Susan L Ingram, Graeme Henderson, Charles Chavkin, Mark von Zastrow, Stefan Schulz, Thomas Koch, Christopher J Evans, and Macdonald J Christie. 2013. “Regulation of  $\mu$ -Opioid Receptors: Desensitization, Phosphorylation, Internalization, and Tolerance.” *Pharmacological Reviews* 65 (1): 223–54.
- Woolf, Clifford J. 2011. “Central Sensitization: Implications for the Diagnosis and Treatment of Pain.” *Pain* 152 (3 Suppl). International Association for the Study of Pain: S2-15.
- Woolf, Clifford J, and Michael W Salter. 2000. “Neuronal Plasticity : Increasing the Gain in Pain.” *Science* 1765: 1765–68.
- Yarnitsky, David. 2010. “Conditioned Pain Modulation (the Diffuse Noxious Inhibitory

- Control-like Effect): Its Relevance for Acute and Chronic Pain States.” *Current Opinion in Anaesthesiology* 23 (5): 611–15.
- Ye, L, L Xiao, SY Yang, JJ Duan, Y Chen, Y Cui, and Y Chen. 2017. “Cathepsin S In The Spinal Microglia Contributes To Remifentanil-Induced Hyperalgesia In Rats.” *Neuroscience* 344: 265–75.
- Yi, Peter, and Peter Pryzbylowski. 2015. “Opioid Induced Hyperalgesia.” *Pain Medicine* 16: S32–36.
- Yuan, Yuan, Zhe Sun, Yi Chen, Yuxin Zheng, Ke Liang Xie, Ying He, Zhifen Wang, Guo Lin Wang, and Yong Hao Yu. 2017. “Prevention of Remifentanil Induced Postoperative Hyperalgesia by Dexmedetomidine via Regulating the Trafficking and Function of Spinal NMDA Receptors as Well as PKC and CaMKII Level in Vivo and in Vitro.” *PLoS ONE* 12 (2): 1–13.
- Zhao, Hui, Horace H Loh, and P Y Law. 2006. “Adenylyl Cyclase Superactivation Induced by Long-Term Treatment with Opioid Agonist Is Dependent on Receptor Localized within Lipid Rafts and Is Independent of Receptor Internalization.” *Molecular Pharmacology* 69 (4): 1421–32.



## Original Article

## A targeted remifentanyl administration protocol based on the analgesia nociception index during vascular surgery



Georges Daccache<sup>a,b,\*</sup>, Edouard Caspersen<sup>a</sup>, Michel Pegoix<sup>a</sup>, Kelly Monthé-Sagan<sup>a</sup>, Ludovic Berger<sup>a,b</sup>, Dominique Fletcher<sup>c</sup>, Jean-Luc Hanouz<sup>a,b</sup>

<sup>a</sup>CHU de Caen, avenue de la Côte-de-Nacre, CS 30001, 14000 Caen, France

<sup>b</sup>EA 4650, université de Caen Basse-Normandie, esplanade de la Plage, CS 14032, 14000 Caen, France

<sup>c</sup>Hôpital Raymond-Poincaré, 92380 Garches, France

## ARTICLE INFO

**Article history:**  
Available online 12 October 2016

**Keywords:**  
Analgesia/nociception index  
Remifentanyl  
Vascular surgery  
Total intravenous anaesthesia

## ABSTRACT

**Background:** The intraoperative modulation of opioids continues to be based on clinical signs. This may result in adverse events such as sympathetic reactivity or opioid-induced hyperalgesia. Recently, the Analgesia/Nociception Index (ANI), a non-invasive 0–100 index derived from heart rate variability analysis, has been proposed for nociception assessment. However, the ability of the ANI to adequately guide intraoperative opioid administration has never been demonstrated. We designed a prospective study to evaluate the ability of the ANI to guide remifentanyl administration in vascular surgery.

**Method:** One hundred and eighty adults presenting for elective surgery were included. All received total intravenous anaesthesia with propofol adjusted to entropy and remifentanyl adjusted to the ANI. The primary endpoint was the number of patients without any episode of reactivity defined as a 20% increase in heart rate or arterial pressure or the occurrence of movement. Secondary endpoints included opioid use and maximal pain rate in the first postoperative day.

**Results:** Anaesthesia was achieved without any episode of reactivity in 160 (89%) patients. Twenty-five episodes of reactivity occurred in 20 (11%) patients. The median remifentanyl dose was 0.042 [0.040–0.044]  $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$ . At 24 hours, the maximal NRS pain score was 2 [2,3]. One hundred and fifty-five patients (86%) did not receive any postoperative opioids, whereas 25 (14%) received a median dose of 5 [5–10] mg of oxycodone.

**Conclusion:** This prospective study demonstrated that the ANI can be used to adequately guide intraoperative remifentanyl administration during vascular surgery. Such guidance resulted in low remifentanyl consumption, low postoperative pain rates and low opioid rescue analgesia.

© 2016 Société française d'anesthésie et de réanimation (Sfar). Published by Elsevier Masson SAS. All rights reserved.

## 1. Background

Opioids are used to control the intraoperative response to nociception. Under-dosing opioids may lead to significant haemodynamic changes and movements. On the other hand, overdosing opioids is associated with haemodynamic instability and the risk of developing postoperative hyperalgesia [1]. For these reasons, adequate opioid dosing is of paramount importance and has led to the recent development of various monitors analysing the sympathetic tone and that have been tested for this purpose

[2,3]. Despite some association with acute pain and intraoperative noxious stimuli intensity, these new monitoring systems have not yet demonstrated clear benefits in terms of opioid dosing guidance when compared to standard monitoring.

The Analgesia Nociception Index (ANI) is a unit-less index ranging from 0 to 100 calculated from the instantaneous wavelet transform analysis of heart rate variability (HRV) that has recently been proposed as surrogate marker for intraoperative noxious intensity [4]. Previous studies have shown that HRV analysis provides information related to the Autonomic Nervous System activity [5,6]. HRV is mediated by the sympathetic and parasympathetic efferent change to the sinoatrial node of the heart. Studies using selective pharmacological blockades of the cardiac autonomic receptors have shown that high frequency fluctuations above 0.15 Hz in the HRV are mediated by changes in the

\* Corresponding author. Pôle réanimations-anesthésie-Samu/Smur, CHU de Caen, avenue de la Côte-de-Nacre, 14000 Caen, France. Tel.: +33 2 310 647 36; fax: +33 2 310 651 37.  
E-mail address: daccache.g@chu-caen.fr (G. Daccache).

<http://dx.doi.org/10.1016/j.jaccpm.2016.08.006>

2352-5568/© 2016 Société française d'anesthésie et de réanimation (Sfar). Published by Elsevier Masson SAS. All rights reserved.

parasympathetic tone, whereas low frequency changes are under both sympathetic and parasympathetic influence. As the ANI is derived from high frequency filtered information, it indirectly reflects the parasympathetic tone, with higher ANI values indicating a prominent parasympathetic tone. The ANI is sensitive to nociception stimuli and has recently been proposed in various clinical settings, including the prediction of postoperative pain, the prediction of intraoperative haemodynamic changes or the evaluation of the analgesia/nociception equilibrium [7–10].

As fast wavelet transforms are used for high frequency filtering of the RR series, providing instantaneous calculation of the ANI, remifentanyl appears to be the most adequate opioid due to its pharmacokinetic properties and the resulting potential for rapid modulations. We hypothesized that guiding remifentanyl administration by very small steps according to ANI variation should be appropriate and provide adequate intraoperative analgesia with minimal doses of remifentanyl.

To our knowledge, no study has investigated how ANI monitoring can be used to adequately guide intraoperative opioids dosing. One recent study showed that intraoperative morphine dosing according to average ANI values failed to demonstrate any benefit on immediate postoperative pain after laparoscopic cholecystectomy [11].

The aim of our study was to prospectively assess the safety of a stepwise adaptation of remifentanyl targets based on ANI values during propofol anaesthesia for vascular surgery.

## 2. Methods

### 2.1. Patient population

This was a prospective, observational study conducted in accordance with the STROBE statement, approved by the local Ethics Committee (*Comité de Protection des Personnes Nord-Ouest III*, study identifier: CPP A13-D62-VOL19, Clinical-Trials.gov identifier NCT02305576) and performed between January 2014 and April 2015 at the University Hospital of Caen (Caen, France). As part of the approved study, 180 consecutive adult patients, American Society of Anaesthesiologists Physical Status (ASA) I–III, scheduled for elective vascular surgery under general anaesthesia were included. Consent was obtained after written information for all participants. Exclusion criteria were age < 18 years, emergency surgery, pregnant or breastfeeding women, non-sinus rhythm, documented autonomic nervous system dysfunction, non-cooperative patient, and psychiatric disorder.

### 2.2. Anaesthetic technique and study protocol

Patients were orally pre-medicated 2 hours before surgery with 75 mg pregabalin. After arrival in the operating room, patients were monitored with a five-lead ECG, ST-Segment continuous monitoring, continuous or intermittent arterial blood pressure, and pulse oximetry. The depth of anaesthesia was monitored according to State Entropy (SE) (General Electrics, Helsinki, Finland) calculated from a frontal EEG sensor. Additional haemodynamic monitoring (e.g. cardiac output by Oesophageal Doppler or pulse wave contour analysis) was used when indicated. The ANI was recorded using the Physiodoloris<sup>®</sup> monitor (MDoloris Medical System, Loos, France) which was connected to the ECG analogue output of the anaesthesia monitor. After obtaining venous access and pre-oxygenation, anaesthesia was performed using a target-controlled total intravenous anaesthesia (Orchestra<sup>®</sup> Base Primea, Fresenius Kabi, France) with propofol (Schneider model) and remifentanyl (Minto model). The propofol site-effect

concentration was initially set at 2  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  and adjusted by steps of 1  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  every 2 minutes in order to reach an SE in the [40–60] target interval. Remifentanyl was then started at a fixed target dose of 2.5  $\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$  for intubation and the patient paralyzed with 0.5  $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  atracurium. The muscle relaxant effect was monitored by the train of four at the adductor pollicis. After orotracheal intubation, patients were mechanically ventilated with 7  $\text{ml}\cdot\text{kg}^{-1}$  of ideal weight tidal volume and the respiratory rate adjusted to keep end-tidal  $\text{CO}_2$  pressure between 35–40 mmHg with a 60%  $\text{O}_2$ – $\text{N}_2\text{O}$  mixture. Remifentanyl was decreased to 1  $\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$  immediately after intubation and then adjusted by increasing or decreasing the target by 0.2  $\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$  steps every minute to maintain the ANI between 50 and 70 until the end of surgery. The depth of anaesthesia was maintained by adjusting propofol by 0.5  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  steps to keep the SE between 40 and 60.

Multimodal analgesia was started after intubation and included: 1 g paracetamol, 20 mg nefopam, 100 mg ketoprofen and 0.3  $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  ketamine. When the surgery duration was expected to exceed 2 hours, continuous ketamine infusion (1  $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$ ) was associated and paracetamol and nefopam were repeated 2 hours after the skin incision. Postoperative analgesia was standardized and included paracetamol (1 g/6 h), ketoprofen (100 mg/12 h), nefopam (20 mg/6 h) and oxycodone (5 mg/4 h) if the numeric rate scale (NRS) was above 3. Patients with abdominal incisions received an additional 0.2  $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$  ropivacaine through a wound catheter at a rate of 10  $\text{ml}\cdot\text{h}^{-1}$ .

The primary outcome was the number of patients with no adverse events. An adverse event was considered as the occurrence of an episode of reactivity defined as a 20% increase in heart rate, mean arterial pressure, or movement. Concomitant variation in several parameters counted as one event. The number of adverse events during surgery was recorded.

Secondary outcomes were the overall administered doses of propofol and remifentanyl, the proportion of patients not requiring opioids in the postoperative period, the total oxycodone consumption and maximal pain rates up to 24th postoperative hour, the proportion of patients with an ANI out of the [50–70] range or an SE out of the [40–60] range during the reactivity periods. Remifentanyl doses were compared between patients with or without beta-blockers, diabetics versus non-diabetics and according to the type of surgery.

### 2.3. Statistical analysis

Data are expressed as means  $\pm$  SD or medians [95%CI] according to variable distributions (D'Agostino Pearson test). Comparisons of means, medians and proportions were performed using unpaired Student *t* tests, Mann-Whitney U tests or Fischer's exact tests as appropriate. Multiple comparisons were performed using Kruskal-Wallis tests. A *P* value of less than 0.05 was considered significant, and all *P* values were two-tailed. Statistical analyses were performed using MedCalc Statistical Software version 15.2 (MedCalc Software bvba, Ostend, Belgium; <http://www.medcalc.org>; 2015).

## 3. Results

During the study period, 218 patients presenting for a scheduled vascular surgery under total intravenous general anaesthesia were assessed for eligibility. Exclusion criteria were present in 38 patients and a total of 180 patients were included in whom the small-step ANI-based algorithm was successfully achieved. Data from all 180 patients were analysed. Patient characteristics are summarized in Table 1. In 160 (89%) patients, the protocol was achieved without any adverse events. Twenty-five episodes of reactivity occurred in 20 patients (11%). Reactivity

**Table 1**  
Characteristics of the study population.

Age (yr)	68 [65–71]
Gender	
Male	140 (78)
Female	40 (22)
BMI (kg.m <sup>-2</sup> )	26 [25–27]
ASA class	
I	3 (2)
II	59 (33)
III	118 (65)
Hypertension	131 (73)
Ischemic heart disease	51 (28)
Diabetes mellitus	
Type I	9 (5)
Type II	33 (18)
Beta-blockers	60 (33)
ACE inhibitors or ARB	103 (57)
Type of procedure	
Open aortic replacement	30 (17)
Carotid endarterectomy	60 (33)
Endovascular aortic repair	30 (17)
Lower limb revascularisation	57 (32)
Miscellaneous	3 (2)
Duration of surgery (min)	136 [123–150]

BMI: Body Mass Index; ACE: angiotensin converting enzyme; ARB: Angiotensin Receptor blockers. Data are expressed as median [95%CI] or number (%).

corresponded to an increase in arterial pressure in 2 (1%) patients, an increase in heart rate in 1 (0.5%) patient, and 22 movements or coughs in 17 (9%) patients. The ANI was < 50 in 10 episodes, and decreased < 50 after 3 episodes. The SE was > 60 before 2 episodes, and increased > 60 in 2 others. In 16 episodes, the ANI remained > 50; all of these corresponded to coughs or movements. The SE remained between 40 and 60 in 21 episodes. The remifentanyl site-effect target was  $\leq 0.08 \text{ ng.mL}^{-1}$  in 5 episodes.

The median remifentanyl dose was  $0.042 [0.040\text{--}0.044] \mu\text{g.kg}^{-1}.\text{min}^{-1}$ . No statistical difference in remifentanyl consumption was found between diabetic and non-diabetic patients ( $0.042 [0.039\text{--}0.048]$  and  $0.043 [0.040\text{--}0.044] \mu\text{g.kg}^{-1}.\text{min}^{-1}$  respectively;  $P=0.29$ ), nor between patients with or without  $\beta$ -blockers in their preoperative treatment ( $0.044 [0.038\text{--}0.049]$  and  $0.041 [0.040\text{--}0.044] \mu\text{g.kg}^{-1}.\text{min}^{-1}$ , respectively;  $P=0.58$ ; respectively). No differences were observed in median remifentanyl doses according to the type of surgery. The median propofol dose was  $0.11 [0.10\text{--}0.12] \text{ mg.kg}^{-1}.\text{min}^{-1}$ . No difference was observed in median propofol dose according to the type of surgery (Table 2).

All patients were successfully extubated at the end of surgery after they achieved a body core temperature > 36 °C and a T4/T1 ratio at the adductor pollicis > 90%. Two patients were reintubated within the first day for postoperative bleeding.

At 24 hours, one hundred and fifty-five patients (86%) did not receive any opioids for postoperative pain whereas 25 patients (14%) received a median dose of 5 [5–10] mg of oral oxycodone. The maximal NRS pain score was 2 [2,3]. Postoperative analgesia was free of opioids in 66, 89, 95 and 100% of patients operated for open aortic replacement, lower limb revascularisation, carotid endarterectomy and endovascular aortic repair, respectively.

#### 4. Discussion

In this study, we demonstrated that the ANI can be used to adequately guide intraoperative remifentanyl administration using a small-step algorithm in vascular surgery. To our knowledge, this is the first study demonstrating the safety of ANI guidance for intraoperative opioid dosing.

In a recent study, Szental and al. [11] investigated the ability of a protocol-driven intraoperative analgesia procedure (ANI scores averaged over a 4-minute interval every 5 minutes) to reduce postoperative pain. They found no difference between the ANI-based group and the clinical signs-based group (control). However, in this study, the opioids used were morphine or fentanyl, which both have a slow pharmacokinetic profile and may not rapidly blunt an acute pain stimulus, especially when the ANI value used is averaged over 4 minutes. Furthermore, the authors used a fixed dose of opioid for reinjections which may result in different site-effect concentrations and different attenuations of the nociceptive input. Under these conditions, there was no difference between the amounts of intraoperative opioids, nor in the time spent with an ANI < 50 (i.e. inadequate analgesia). Finally, the authors did not report the percentage of sympathetic reactions that occurred in either group.

In our study, we used remifentanyl as the only opioid because it had the fastest pharmacokinetic profile. We based our algorithm on the instantaneous ANI, which is a moving average over 120 s of values computed on a 64-s sliding window with a step of 1 s [12]. ANI is derived from high frequency band pass filtered RR series (between 0.15 and 0.4 Hz), which reflects parasympathetic activity. As the nociceptive inputs result in parasympathetic inhibition and sympathetic activation, a rapid decrease in the ANI could rapidly detect haemodynamic reactivity, allowing for sufficient time to increase remifentanyl and blunt the reaction.

We also based our algorithm on a site-effect remifentanyl variation of  $0.2 \text{ ng.mL}^{-1}$  according to Minto's model. In our study, 20 (11%) patients experienced 25 episodes of reactivity; most of these episodes corresponded to coughing or a sudden increase in respiratory pressure. The ANI was < 50 in 10 episodes. This is probably due to a delay in increasing remifentanyl and/or to the intensity of the nociceptive input, especially when remifentanyl concentrations were very low. This delay may be eliminated in the future by the use of closed loop injection devices. In 2 episodes, reactivity was probably due to inadequate depth of hypnosis since the SE was over 60. Of note, in 16 episodes neither the ANI nor the SE significantly changed, meaning that reactivity, in particular coughing or movements that belongs to medullar reflex loops, may occur without significant influence on the autonomic balance.

Opioids are used to prevent excessive sympathetic reactivity to noxious stimuli. Reinjections are usually performed at regular intervals or when the patients elicit clinical signs of sympathetic reactivity. However, the incidence of sympathetic reactivity episodes during surgery is poorly reported and may vary according to different anaesthetic protocols and surgical settings. In our study, 89% of patients were free of any episode of reactivity. In their

**Table 2**  
Overall doses of propofol and remifentanyl according to the type of surgery.

Type of surgery	Open aortic repair n = 30	Lower limb revascularization n = 56	Carotid endarterectomy n = 60	Endovascular aortic repair n = 30	P
Propofol $\text{mg.kg}^{-1}.\text{min}^{-1}$	0.09 [0.08–0.10]	0.11 [0.10–0.12]	0.14 [0.13–0.15]	0.10 [0.09–0.13]	0.1
Remifentanyl $\mu\text{g.kg}^{-1}.\text{min}^{-1}$	0.05 [0.04–0.05]	0.04 [0.04–0.05]	0.04 [0.04–0.05]	0.04 [0.03–0.04]	0.1

Data are expressed as median [95% CI]. Patients of miscellaneous surgeries (n = 4) have not been included for comparison.  $P < 0.05$  was significant.



first clinical study using ANI monitoring, Jeanne et al. reported 51 episodes of reactivity in 19 of 49 patients. In this study, opioid reinjections were based on clinical signs defined as a 20% increase in blood pressure or heart rate, or the occurrence of coughing or movements. The ANI recorded during the 5 minute periods preceding these episodes was < 50 whereas the ANI was > 50 in the absence of stimulation or sympathetic reactivity signs [4]. In another study on total knee replacement under general anaesthesia, 20 out of 27 patients presented at least one episode of reactivity during the surgery. The ANI was recorded blindly and was 48 (23) during reactivity episodes and 83 (30) in the absence of nociceptive stimulation [9].

Remifentanyl is widely used in various surgical settings as a part of balanced anaesthesia, usually as a continuous infusion at a fixed concentration of 0.1–0.4  $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$ . In the presence of haemodynamic reactivity, anaesthesiologists often increase hypnosis or opioids or both to blunt the sympathetic reaction. In the absence of monitoring, this may lead to overdosing hypnotics or opioids, which may increase perioperative morbidity in both cases. In our study, hypnosis was monitored in all patients and propofol was adjusted to maintain a steady entropy between 40 and 60. Remifentanyl was continuously modulated according to the ANI value and resulted in a mean concentration as low as 0.04  $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$  regardless of the type of surgery and without an increase in propofol needs. This suggests that higher remifentanyl doses would be excessive according to the patient's needs and may lead to postoperative hyperalgesia.

Opioids induce postoperative hyperalgesia, especially when high doses are used intraoperatively. In a recent meta-analysis, Fletcher and Martinez demonstrated that remifentanyl-induced hyperalgesia was less intense in patients who received less than 0.04  $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$  [1]. Hyperalgesia leads to an increase in postoperative pain and opioid consumption. In our study, patients underwent mild, moderate or major surgery. In major surgery, pain at rest was mild and 66% of patients did not require opioids for postoperative pain relief. Moreover, 86% of all patients did not require opioids in the postoperative period.

There are limitations to our study. First, it is a single-centre, observational study in vascular surgery patients and results may not be extrapolated to all types of surgeries. Secondly, we used a standard multimodal analgesia protocol associated with anti-hyperalgesic drugs such as ketamine and nitrous oxide. As postoperative pain and opioid use vary according to postoperative analgesia protocols, the rate of opioid free patients may similarly vary. Moreover, we chose to evaluate pain and opioid consumption on the first day only. Patients undergoing aortic surgery had a ropivacaine indwelling catheter which was left in the preperitoneal space for 48 hours; thus, postoperative pain in these patients may have been greater after the removal of the catheter. Finally, ANI values and the number of episodes of reactivity may have been influenced by the use of  $\beta$ -blockers, muscle relaxants, or by the presence of an altered baroreflex activity in aged or diabetic patients. Although we excluded patients with patent autonomic nervous system dysfunction, we cannot rule out the influence of an infra-clinic alteration on the ANI interpretation. Since ANI

monitoring is designed to be used as standard monitoring for analgesia/nociception balance, we did not exclude patients with chronic  $\beta$ -blocker treatments nor diabetes. However, in our study, these factors did not influence remifentanyl consumption.

## 5. Conclusion

To conclude, our study demonstrates that ANI monitoring can be safely used for stepwise remifentanyl target adaptation during propofol anaesthesia for vascular surgery. This results in few intraoperative adverse event episodes, low postoperative pain and opioid consumption. However, comparative studies should be carried out to confirm these encouraging results.

## Financial support

Support was provided solely from institutional and/or departmental sources.

## Disclosure of interest

The authors declare that they have no competing interest.

## References

- [1] Fletcher D, Martinez V. Opioid-induced hyperalgesia in patients after surgery: a systematic review and meta-analysis. *Br J Anaesth* 2014;112:991–1004.
- [2] Ledowski T, Pascoe E, Ang B, et al. Monitoring of intra-operative nociception: skin conductance and surgical stress index versus stress hormone plasma levels. *Anaesthesia* 2010;65:1001–6.
- [3] Bonhomme V, Uutela K, Macquoi L, et al. Comparison of the surgical pleth index with haemodynamic variables to assess nociception-anti-nociception balance during general anaesthesia. *Br J Anaesth* 2011;106:101–11.
- [4] Jeanne M, Logier R, De Jonckheere J, Tavernier B. Heart rate variability during total intravenous anaesthesia: effects of nociception and analgesia. *Auton Neurosci* 2009;147:91–6.
- [5] Task force of the European society of cardiology and the North American society of pacing and electrophysiology, 1996. Heart rate variability. Standards of measurement, physiological interpretation and clinical use. *Circulation* 1996;93:1043–65.
- [6] Pichot V, Gaspoz J-M, Molliex S, et al. Wavelet transform to quantify heart rate variability and to assess its instantaneous changes. *J Appl Physiol* 1999;86:1081–91.
- [7] Boselli E, Bouvet L, Bégou G, et al. Prediction of immediate postoperative pain using the analgesia/nociception index: a prospective observational study. *Br J Anaesth* 2014;112:715–21.
- [8] Gruenewald M, Illies C, Herz J, et al. Influence of nociceptive stimulation on analgesia/nociception index (ANI) during propofol-remifentanyl anaesthesia. *Br J Anaesth* 2013;110:1024–30.
- [9] Jeanne M, Delecroix M, De Jonckheere J, et al. Variations of the analgesia/nociception index during propofol anaesthesia for total knee replacement. *Clin J Pain* 2014;30:1084–8.
- [10] Daccache G, Coursaud S, Lemasson E, Berger L, Fellahi JL, Hanouz JL. Target-controlled dosing of remifentanyl guided by the analgesia/nociception index: a feasibility study. *3AP2-9*. *Eur J Anaesthesiol* 2014;31:335.
- [11] Szentl JA, Webb A, Weeraratne C, Campbell A, Sivakumar H, Leong S. Postoperative pain after laparoscopic cholecystectomy is not reduced by intraoperative analgesia guided by analgesia/nociception index (ANI) monitoring: a randomized clinical trial. *Br J Anaesth* 2015;114:640–5.
- [12] Logier R, Jeanne M, De Jonckheere J, Dassonneville A, Delecroix M, Tavernier B. Phiodoloris: a monitoring device for analgesia/nociception balance evaluation using heart rate variability analysis. *Conf Proc IEEE Eng Med Biol Soc* 2010;1:1194–7.

## Le moniteur de l'Analgesia Nociception Index



Ecran du moniteur Physiodoloris™ : Les valeurs de l'ANI calculées par analyse spectrale de la variabilité de l'espace RR de l'ECG, sur les 120 dernière secondes (en jaune) ou moyenné sur les 4 dernières minutes (en orange) reflètent le tonus parasympathique. Energy représente le contenu spectral total de l'analyse. Respiratory pattern représente les variations dans le temps des hautes fréquences du spectre sous l'influence de la respiration.