



**FACULDADE DE MEDICINA**

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA: CIÊNCIAS MÉDICAS**

**TESE DE DOUTORADO**

**EFEITO DA ESTIMULAÇÃO TRANSCRANIANA DE CORRENTE CONTÍNUA NA  
HIPERALGESIA INDUZIDA PELO REMIFENTANIL: UM ENSAIO CLÍNICO  
RANDOMIZADO EM HOMENS SAUDÁVEIS**

**GILBERTO BRAULIO**

**ORIENTADOR**

**Prof. Wolnei Caumo, M.D., PhD.**

**Porto Alegre – 2017**

*Estudo do efeito da estimulação transcraniana de corrente contínua na hiperalgesia induzida pelo remifentanil: um ensaio clínico randomizado em homens saudáveis*

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL**

**FACULDADE DE MEDICINA**

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA: CIÊNCIAS MÉDICAS**

**TESE DE DOUTORADO**

**ESTUDO DO EFEITO DA ESTIMULAÇÃO TRANCRANIANA DE CORRENTE CONTÍNUA NA HIPERALGESIA INDUZIDA PELO REMIFENTANIL: UM ENSAIO CLÍNICO RANDOMIZADO EM HOMENS SAUDÁVEIS**

**ORIENTADOR**

**Prof. Wolnei Caumo, M.D., PhD.**

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Medicina Ciências Médicas da Universidade Federal do Rio Grande do Sul como requisito parcial para obtenção do título de Doutor em Ciências Médicas.

**Porto Alegre – 2017**

Aos meus pais Marisa e Armando, pelo amor, carinho e incentivo ao longo da vida.

À minha amada esposa Karina, pelo amor, carinho e apoio ao longo dessa trajetória.

À minha avó Marly pelo constante amor e carinho.

### **Agradecimentos**

Ao meu orientador Professor Dr. Wolnei Caumo, pela oportunidade e pelo estímulo ao longo desta importante etapa. Admiro sua paixão pela ciência. Admiro o seu conhecimento e sua capacidade intelectual. Agradeço por acreditar no meu trabalho e potencial.

A professora Luciana Paula Cadore Stefani pelo incentivo, entusiasmo e apoio logístico.

Aos colegas do serviço de anestesia e medicina perioperatória do HCPA, pelo companheirismo e apoio ao longo dessa jornada.

Aos colegas do Laboratório de Dor e Neuromodulação HCPA-UFRGS, pelo companheirismo e apoio ao longo dessa jornada.

Aos funcionários do Centro de Pesquisa Clínica, pelo auxílio e disponibilidade.

Aos voluntários que participaram dos estudos, pela colaboração e confiança.

Ao Hospital de Clínicas, à Universidade Federal do Rio Grande do Sul e ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas, por oportunizarem a mim e a todos os alunos novas perspectivas na ciência e no mundo acadêmico.

À minha família e amigos, pelo companheirismo e apoio.

## **RESUMO**

**Introdução:** Os opioides são os analgésicos mais efetivos para tratamento da dor moderada a intensa. No entanto, evidências crescentes têm demonstrado que seu uso pode levar a mudanças na sensibilidade dolorosa. Nesse contexto, a hiperalgesia induzida pelo remifentanil (r-IH) envolve um desequilíbrio nos sistemas inibitórios e excitatórios. Postula-se que um dos mecanismos centrais seja a disfunção do sistema modulador descendente da dor. Então, neste estudo, testamos a hipótese de que a estimulação transcraniana de corrente contínua (ETCC), devido aos seus efeitos analgésicos, poderia prevenir a r-IH. Os desfechos primários incluíram a escala numérica de dor (END 0-10) durante o teste repetitivo ao frio (rCOLDT), e a alteração na END (0-10) durante o teste de modulação condicionada de dor (CPM-TASK). Os desfechos secundários foram os limiares de dor ao calor (HPT) e o tempo de reação durante o teste de dor à água gelada [zero graus °C, (IPT)].

**Métodos:** Ensaio clínico randomizado, fatorial, duplo cego, que incluiu 48 homens saudáveis, com idades entre 19 e 40 anos. Os sujeitos foram randomizados em quatro grupos (n=12): ativo (a) - ETCC / solução salina, Sham (s) - ETCC / solução salina, a-ETCC / remifentanil e s-ETCC / remifentanil. Foi aplicado o ETCC sobre o córtex motor primário, com uma sessão única de 20 min e 2 mA.

**Resultados:** Durante o rCOLDT, houve um efeito significativo entre os grupos nos escores cumulativos da END ( $P = 0,01$ ). O grupo s-ETCC / remifentanil apresentou maiores escores de dor durante rCOLDT, [media (SD) 5,49 (1,04)] e a-ETCC / remifentanil apresentaram escores relativamente menores [4,15 (1,62)]. Este achado mostra que o efeito da ETCC bloqueou a HI-R. Os grupos a-ETCC / solução salina e s-ETCC / salina apresentaram menor índice de dor durante rCOLDT, [3.11 (1.2)] e [3.15 (1.62)], respectivamente. A incidência de hiperalgesia definida como

um aumento de 15% na END durante o rCOLDT foi de: 31% no grupo s-ETCC/remifentanil; 22% no grupo a-ETCC/remifentanil; 11% no grupo a-ETCC/salina; e 8.3% no grupo s-ETCC/salina. Os grupos com remifentanil apresentaram escore positivo na END (0-10) durante a tarefa CPM, ou seja, produziu um desengate do sistema modulador descendente de dor (DPMS). Além disso, s-ETCC / Remifentanil em comparação com a-ETCC/remifentanil apresentou menor HPT e maior tempo de reação durante o IPT.

**Conclusão:** Esses achados sugerem que os efeitos da a-ETCC previne a disfunção da capacidade inibitória do sistema modulador descendente da dor induzido pelo remifentanil durante o rCOLDT.

**Palavras-chave:** ETCC, hiperalgesia, remifentanil, limiar de dor, CPM.

## **ABSTRACT**

**Background:** Opioids are the most effective analgesics to treat moderate to severe pain. However, growing evidence shows that opioids can elicit unexpected changes in pain sensitivity. In this sense, remifentanil-induced hyperalgesia (r-IH) involves an imbalance in the inhibitory and excitatory systems. It postulates that one of the central mechanisms is the dysfunction of the descending pain modulating system. We tested the hypothesis that transcranial Direct Current Stimulation (t-DCS), given its analgesics effects, could prevent r-IH. The primary outcomes included the Numerical Pain Score NPS (0-10) during the repetitive cold test (rCOLDT) and the change on the NPS (0-10) during the conditioned pain modulation (CPM)-task. The secondary outcomes were the heat pain threshold (HPT) and the reaction-time during the Ice-Water Pain Test (IPT).

**Methods:** This double blinded, explanatory factorial randomized trial included 48 healthy males, ages ranging 19 to 40 years. They were randomized into four equal groups: active (a)-tDCS/saline, sham (s)-tDCS/saline, a-tDCS/remifentanil and s-tDCS/remifentanil. We applied tDCS over the primary motor-cortex, with a single session of 20 minutes and 2mA.

**Results:** During the rCOLDT, there was a significant group effect on the cumulative NPS scores ( $P=0.01$ ). The s-tDCS/remifentanil group presented larger pain scores during rCOLDT, [mean (SD) 5.49 (1.04)] and a-tDCS/remifentanil group had relative lower pain scores [4.15 (1.62)]; showing its blocking effect on r-IH. a-tDCS/saline and s-tDCS/saline groups showed lowest pain scores during rCOLDT, [3.11(1.2)] and [3.15(1.62)], respectively. The incidence of hyperalgesia defined as a 15% increase in NPS during rCOLDT was: 30.3% in the s-tDCS / remifentanil group; 22% in the a-tDCS / remifentanil group; 11% in the a- tDCS / saline group; 8.3% in the s-tDCS / saline group. Remifentanil groups showed positive scores in the NPS (0-10) during the CPM-task, that is, it produced a disengagement of the descending pain modulatory system (DPMS). Also, s-

tDCS/Remifentanil compared to a-tDCS/Remifentanil showed lower HPT and larger reaction-time during the IPT.

**Conclusion:** These findings suggest that the effects of a-tDCS prevents the dysfunction of the inhibitory capacity of the descending modulatory pain system induced by remifentanil during rCOLDT.

**Key words:** tDCS, hyperalgesia, remifentanil, pain threshold, CPM.

### **Lista de Figuras**

<b>Figura 1:</b> Fluxograma da pesquisa sistematizada nas principais bases de dados	22
<b>Figura 2:</b> Esquema ilustrando as vias ascendentes e descendentes de dor	24
<b>Figura 3:</b> Explicação esquemática da avaliação do com	29
<b>Figura 4:</b> Mecanismos celulares da ação dos opioides	33
<b>Figura 5:</b> Efeitos da ETCC na polarização da membrana neuronal	47
<b>Figura 6:</b> Os efeitos modulatórios da ETCC do nível celular a comunicação de rede neuronais	48
<b>Figura 7:</b> Mecanismos do remifentanil na indução de hiperalgesia e os mecanismos contrarregulatórios da ETCC sobre a hiperalgesia	50

### **Lista de Figuras do Artigo ( Submetido na *frontiers in pharmacology*)**

<b>Figura 1.</b> Randomization and follow-up of the study subject	79
<b>Figura 2.</b> Experimental design	81
<b>Figura 3.</b> The change in NPS (0-10) during rCOLDT, at baseline before intervention and in three trials after tDCS and continuous infusion of the remifentanil or placebo in the four experimental groups	91
<b>Figura 4.</b> The change in NPS (0-10) during CPM-task, before intervention and immediately after in the four experimental groups	92

## **Lista de Tabelas**

### **Tabelas do artigo**

**Tabela 1:** Characteristics of the study sample. Values are given as the mean (SD) or as a frequency according to the group (n = 48) 87

**Tabela 2:** Pain score on NPS (0-10) during RCOLDT according to groups: Mean  $\pm$  SD and median interquartile (Q<sub>25;75</sub>) pre-intervention (T0) and post-intervention (T1 to T3). OIH defined as an increase equal or higher than 15% on the NPS (0-10) from the T1 to T3 (n = 48) 89

**Tabela 3:** Treatment effect on HPT and AUECVAS between Groups: between Groups: Mean  $\pm$  SD, pre-intervention to post-intervention, mean difference with the confidence interval (95% CI) and standardize difference mean (SDM) (n = 48) 94

## **Lista de abreviaturas**

AMP	Monofosfato de adenosina.
AMPA	$\alpha$ -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionic acid receptor.
AMPC	Monofosfato cíclico de adenosina.
AMPK	5' adenosine monophosphate-activated protein kinase.
AINEs	Anti-inflamatórios não esteróides.
ANOVA	Análise de variância
a-tDCS	Estimulação transcraniana de corrente contínua ativa.
AUCVAS	Área sob a curva de uma escala análogo visual eletrônica de dor.
AUEC	Área sob a curva de efeito
AUECVAS	Área sob a curva de efeito de uma escala análogo visual eletrônica de dor.
BDI	Inventário de Depressão de Beck.
BDNF	Brain Derived Neurotrophic Factor.
BP-PCS	Escala de catastrofismo de dor traduzida para o português brasileiro.
CCK	Colecistocinina
CGRP	Peptídeo relacionado ao gene da calcitonina.
CI	Intervalo de confiança.
CNS	Sistema nervoso central.
COMT	Catechol-O- methyl transferase.
CONSORT	Padrões consolidados de relatórios de ensaios clínicos.
COX	Ciclo-oxigenase
COX-1	Ciclo-oxigenase 1.
COX-2	Ciclo-oxigenase 2.
CPM	Modulação condicionada de dor.

CPM-task	Cold Pressor Task.
CS	Sensibilização central.
DNIC	Controle inibitório difuso nociceptivo.
DP	Desvio padrão.
DPMS	Sistema modulador descendente de dor.
DHSC	Projeções descendentes para o corno dorsal da medula espinal
EAV	Escala visual-analógica.
EC	Estímulo condicionante.
EMT	Estimulação magnética transcraniana.
END	Escala numérica de dor
ET	Estímulo teste.
ETCC	Estimulação transcraniana de corrente contínua.
fMRI	Ressonância magnética funcional.
GABA	Ácido gama-aminobutírico.
GABA-A	Receptor GABA-A.
GABA-B	Receptor GABA-B.
HCPA	Hospital de Clínicas de Porto Alegre.
HIO	Hiperalgesia induzida por opioides
HPT	Limiar de dor ao calor
IC	Intervalo de confiança.
IPT	Teste de dor à água gelada (0 graus célsius)
LTD	Depressão de longa duração.
LTP	Potenciação de longa duração.
MANCOVA	Análise multivariada de covariância

MEP	Potencial evocado motor.
M1	Córtex motor primário.
NAc	Núcleo accumbens.
NA <sup>+</sup> /K <sup>+</sup>	Bomba de sódio e potássio.
NMDA	N-metil-D-aspartato.
NR1A/2A	Subtipo NR1A/2 de receptores NMDA
NR1A/2B	Subtipo NR1A/2B de receptores NMDA
NO	Óxido nítrico.
NPS	Escala numérica de dor.
PAG	Substância cinzenta periaquedutal.
PEM	Potencial evocado motor.
QST	Teste sensorial quantitativo
RVM	Medula rostral ventral
rACC	Córtex cingulado anterior rostral
rCOLDT	Teste repetitivo ao frio
r-IH	Hiperalgesia induzida pelo remifentanil
RR	Risco relativo
SAMPE	Serviço de anestesia e medicina perioperatória
SD	Desvio padrão.
SDM	Desvio padrão da média.
SEM	Erro padrão da média.
SI	Córtex somatossensorial primário
SII	Córtex somatossensorial secundário
SMD	Diferença de média padronizada.

SNA	Sistema Nervoso Autônomo.
SNC	Sistema Nervoso Central.
SNP	Sistema Nervoso Periférico
SRD	Subnúcleos reticular dorsal
SSPEs	Potenciais evocados somatosensoriais.
s-tDCS	Estimulação transcraniana de corrente contínua - sham.
STAI	Inventário de traço-ansiedade
tDCS	Transcranial direct current stimulation.
TMS	Estimulação magnética transcraniana.
TRP	Transient receptor potential
TRPV 1	Transient receptor potential vanilloid 1.
TRPV2	Transient receptor potential vanilloid 2.
UFRGS	Universidade Federal do Rio Grande do Sul.
VAS	Escala análogo-visual.
VASS	Escala análogo-visual de sono
VLO	Córtex ventrolateral orbital
VGCC	Canais de cálcio voltagem dependentes
WDR	Wide dynamic range (amplo alcance dinâmico)

1 Introdução	17
2. Revisão sistematizada da literatura	22
2.1 Estratégias para localizar e selecionar informações	22
2.2 Processamento e modulação da dor	23
2.2.1 Modulação condicionada de dor (CPM)	27
2.3 Opioides como moduladores do sistema nociceptivo	29
2.3.1 Farmacodinâmica dos opioides	31
2.4 Hiperalgesia induzida pelo opioide (HIO)	33
2.4.1 Mecanismos fisiológicos da hiperalgesia induzida pelo opioide	36
2.4.2 Função do sistema modulador descendente da dor e HIO	38
2.4.3 Prevenção da hiperalgesia induzida pelo opioide	40
2.5 Estimulação transcraniana por corrente contínua e mecanismos neurobiológicos	43
2.6 Modelo de dor experimental	48
2.7 Marco teórico	50
3. Justificativa	50
4. Objetivos	52
4.1 Objetivo geral	52
4.2 Objetivos específicos	52

5. Referências bibliográficas da revisão	53
6. Artigo em inglês	72
7. Considerações finais	106
7.1 Conclusões	106
7.2 Perspectivas	106
8. CONSORT	108
9. Anexos	110
9.1 Consentimento informado	110

## **1. INTRODUÇÃO**

A dor é uma experiência sensorial e emocional, que possui quatro componentes: sensorio-discriminativo, cognitivo-avaliativo, afetivo-motivacional e social <sup>1</sup>. Trata-se de um fenômeno prevalente, que constitui a principal causa de busca de atendimento médico. Pode ser aguda, com função adaptativa, duração limitada, que não se estende para além de três meses do período esperado para a resolução da lesão ou processo, cujo mecanismo fisiopatológico central é a nocicepção vinculada à inflamação. Enquanto a dor crônica é aquela que persiste por mais de seis meses, e compreendida como um processo de plasticidade mal adaptativa, definida pela taxonomia da *IASP* (associação internacional para o estudo da dor) de 2017 pelo termo "nociplastic pain", que a define como: "dor que surge da nocicepção alterada, apesar de não existir evidência clara de danos teciduais que causam a ativação de nociceptores periféricos ou evidência de doença ou lesão do sistema somatossensorial". Seu mecanismo fisiopatológico pode envolver mecanismos diversos, não mutuamente excludentes, tais como: nocicepção, neuropático ou ambos (dor mista). A dor nociceptiva é provocada pela ativação de nociceptores específicos ativados por mediadores inflamatórios, enquanto que a dor neuropática decorre de lesão das fibras sensoriais ou de danos ao sistema nervoso central (SNC) <sup>2</sup>. O mecanismo fisiopatológico é o determinante central na definição da terapêutica. No cenário terapêutico tanto da dor aguda quanto da dor crônica, os opioides ocupam um destacado papel na maioria das condições álgicas, exceto no tratamento de dores músculo-esqueléticas crônicas, onde sua prescrição deve ser feita de maneira judiciosa e estrita. Ainda, no cenário do perioperatório, os opioides são fármacos amplamente utilizados e produzem analgesia potente, com supressão de respostas cardiovasculares à estimulação nociva da cirurgia, figurando como um dos pilares do ato anestésico. Sabe-se que o mecanismo farmacodinâmico dos opioides é mediado por ação em receptores específicos e que este sistema funciona integrado aos demais sistemas neurobiológicos. A ativação do sistema opioide potencializa a modulação

inibitória, que ativa outros sistemas neurobiológicos excitatórios com a finalidade de contra-regular os processos e manter a homeostasia funcional. O uso em larga escala no cenário clínico tem evidenciado que certas características intrínsecas de alguns agentes opioides sintéticos muito potentes, com ação ultra-curta, tais como o remifentanil, parecem disfuncionar os sistemas moduladores de dor endógenos, mesmo em curto prazo.

O remifentanil possui alta solubilidade lipídica, rápido início de efeito, sendo metabolizado por esterases plasmáticas não específicas no sangue e tecidos. É um agente comumente utilizado em infusão contínua para indução e manutenção da anestesia geral, cuja dose varia de acordo com o objetivo, mas o seu perfil de cinética de recuperação rápida tem permitido maior complacência das doses, o que o torna o opioide mais titulável dentre todos os agentes opioides venosos disponíveis. Entretanto, evidências têm demonstrado que seu uso pode induzir a um estado de hiperalgesia<sup>3</sup>. Em geral, a hiperalgesia induzida pelos opioides (HIO) refere-se a uma maior sensibilidade à dor, consequente da exposição aos opioides. A HIO pode se apresentar como um quadro em que existe um agravamento da dor, mesmo com o aumento das doses das medicações analgésicas, mas não relacionado ao agravo vinculado ao evento causal inicial. Trata-se de um estado hiperalgésico difuso, em locais distintos ao que induziu o uso de analgésicos ou dor excessiva após procedimentos cirúrgicos<sup>4-6</sup>. Embora o mecanismo molecular da HIO ainda não seja totalmente compreendido, acredita-se que seja um resultado de alterações na neuroplasticidade do sistema nervoso periférico e central que levem à sensibilização das vias pronociceptivas<sup>7</sup>. Uma revisão sistemática demonstrou que há evidências consistentes sobre a HIO em humanos, sendo a evidência mais forte proveniente de infusões de opioides em voluntários saudáveis<sup>8</sup>. Cabe ressaltar que, para compreender este processo e os potenciais sistemas neurobiológicos envolvidos, o estudo em modelos com voluntários permite que se controle certos fatores confundidores importantes, tais como o local e a intensidade dos estímulos, assim como uma maior precisão de parâmetros de medida não factíveis num cenário clínico.

A incidência de dor pós-cirúrgica persistente potencialmente relacionada a HIO varia entre 16 a 70% <sup>9</sup>. A HIO pode ter um impacto significativo diante do tratamento de dor em pacientes submetidos a procedimentos cirúrgicos, visto que é uma resposta paradoxal. Uma revisão sistemática recente que envolveu 27 estudos e 1494 pacientes agregou evidências de HIO em humanos <sup>10</sup>, o que, possivelmente, causa um aumento significativo na intensidade da dor pós-operatória em repouso, que persiste até 24h após a cirurgia. Outro estudo demonstrou que os pacientes submetidos à toracotomia que receberam remifentanil em altas doses, sem analgesia peridural, apresentaram uma área três vezes maior de alodinia em comparação com a infusão de remifentanil em baixa dose <sup>9</sup>. Com seis meses de seguimento, observou-se maior incidência de dor crônica semelhante a dor neuropática naqueles que receberam altas doses de remifentanil <sup>9</sup>. Embora as evidências não sejam conclusivas, estudos pré-clínicos e clínicos demonstraram que o remifentanil pode induzir hiperalgesia, com uso agudo ou crônico <sup>3,11,12</sup>.

De acordo com relatos anteriores, a morfina bloqueia os efeitos do controle inibitório nocivo difuso (DNIC) em ratos <sup>13,14</sup> e seres humanos saudáveis <sup>15</sup>. Outro estudo mostrou que os pacientes com dor crônica tratados com opioides orais exibiram menor capacidade de inibir sinais de dor em comparação com pacientes não tratados. Especificamente relacionado ao remifentanil, uma hipótese atrativa é a de que seus efeitos envolvam o N-metil-D-aspartato (NMDA) (NR1A / 2A e NR1A / 2B) e, portanto, induzam uma disfunção do sistema modulador da dor descendente (DPMS), que é rico em receptores  $\mu$ -opioides (inibitórios) e NMDA (excitatórios) <sup>16</sup>. De fato, em um estudo experimental em seres humanos, a S-ketamina aboliu a hiperalgesia induzida pelo remifentanil <sup>17</sup>. Além disso, camundongos sem receptores opioides  $\mu$ ,  $\delta$  ou  $\kappa$  desenvolvem hiperalgesia térmica quando expostos ao uso agudo ou crônico de fentanil <sup>18</sup>. Finalmente, quando a morfina-6 $\beta$ -glucuronida (um metabólito com atividade agonista do receptor  $\mu$ ) foi administrada concomitantemente com o antagonista do receptor de opioide naloxona, ele leva à HIO por um mecanismo independente do receptor opioide <sup>19</sup>. Apesar das evidências crescentes de HIO, os

resultados são heterogêneos, revelando assim uma lacuna persistente para estudar se as abordagens moduladoras descendentes podem melhorar a função inibitória das vias corticoespinhais descendentes, pois sua disfunção medeia esse efeito paradoxal.

Conforme mencionado anteriormente, a HIO envolve uma disfunção nas vias corticotalâmicas, bem como no sistema modulador da dor descendente. Por isso, a estimulação transcraniana de corrente contínua (ETCC) é uma abordagem promissora para a contra-regulação da HIO, pois modula as sinapses talamocorticais de maneira descendente<sup>20</sup>. A sua eficácia clínica em relação ao alívio da dor aguda e crônica foi demonstrada em várias condições, isto é, neuralgia do nervo trigêmeo, dor fantasma, etc<sup>21</sup>. Embora o efeito sobre a dor não seja completamente compreendido, a ETCC ameniza o componente afetivo motivacional da experiência dolorosa enquanto alivia a dor por meio da ativação do sistema descendente de supressão da dor<sup>22</sup>. De fato, as mudanças neuroplásticas induzidas pela ETCC envolvem a regulação de uma ampla variedade de diferentes interneurônios e neurotransmissores, como o opioidérgico<sup>23,24</sup>, gabaérgico<sup>25</sup>, glutamatérgico<sup>23</sup>, colinérgico<sup>26</sup>, serotoninérgico<sup>27</sup> e dopaminérgico<sup>28</sup>.

Nesse sentido, um modelo para investigar estratégias terapêuticas visando estruturas cerebrais envolvidas no processamento da dor, que podem induzir HIO e facilitar seu tratamento, deve usar testes precisos para provocar HIO, bem como o uso de abordagens adequadas para detectar e medir a sua presença. Assim, para fornecer medidas quantitativas de respostas psicofísicas, comportamentais e neurofisiológicas, utilizamos um modelo que fornece condições para controlar a dor induzida experimentalmente (natureza, localização, intensidade, frequência e duração do estímulo). De acordo com estudos anteriores, a HIO é dependente da natureza do modelo de dor utilizado e o teste de dor ao frio demonstrou ser o mais sensível dos métodos testados na detecção de hiperalgesia relacionada a opioides<sup>29</sup>. Assim, devido aos complexos mecanismos da dor, as intervenções inovadoras devem ser testadas em um paradigma experimental que nos permita caracterizar os componentes etiológicos da dor. Além disso, os estímulos utilizados

para evocar a dor devem ser adequados para ativar as vias da dor, ao mesmo tempo que não devem ser invasivos e permitir sua aplicação repetida <sup>30</sup>.

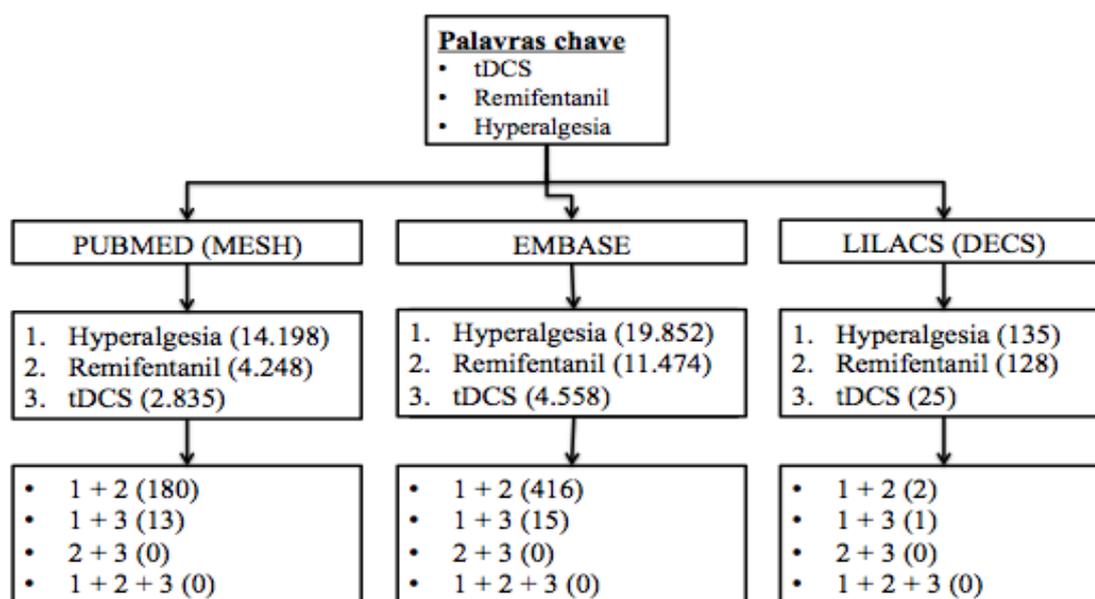
Considerando esse contexto, testamos a hipótese de que os efeitos analgésicos da ETCC poderiam impedir a hiperalgesia induzida pelo remifentanil usando um paradigma experimental baseado no teste ao frio. Os desfechos primários foram o escore de dor na escala numérica (END 0-10) durante o teste repetitivo ao frio (rCOLDT) e a alteração na END (0-10) durante as tarefas de modulação condicionada de dor (CPM). Os desfechos secundários foram os limiares de dor ao calor (HPT) e o tempo de reação durante o teste de dor induzido pela água gelada (IPT).

Esta tese foi apresentada de acordo com o modelo preconizado pelo PPGCM da FAMED UFRGS. O artigo resultante desta tese está apresentado de acordo com as normas do periódico de publicação (*Frontiers in Pharmacology*, fator de impacto 4,2).

## 2 Revisão sistematizada da literatura

### 2.1 Estratégias para localizar e selecionar informações

Na revisão da literatura, buscamos ressaltar os principais aspectos relacionados à hiperalgesia induzida pelo remifentanil e sua relação com a disfunção do sistema inibitório descendente de dor, assim como dos efeitos da estimulação transcraniana por corrente contínua (ETCC). A estratégia de busca envolveu as bases de dados MEDLINE (PubMed - MeSH), LILACS (DECS) e EMBASE de 1990 a 2017. As referências selecionadas serviram de base para localizar outros estudos não contemplados nesta busca. Os seguintes termos de busca foram utilizados: *Hyperalgesia*, *Remifentanil*, *Transcranial direct current stimulation (tDCS)*. A **figura 1** mostra o fluxograma da pesquisa e o cruzamento das palavras-chave nas principais base de dados.



**Figura 1:** Fluxograma da pesquisa sistematizada nas principais bases de dados.

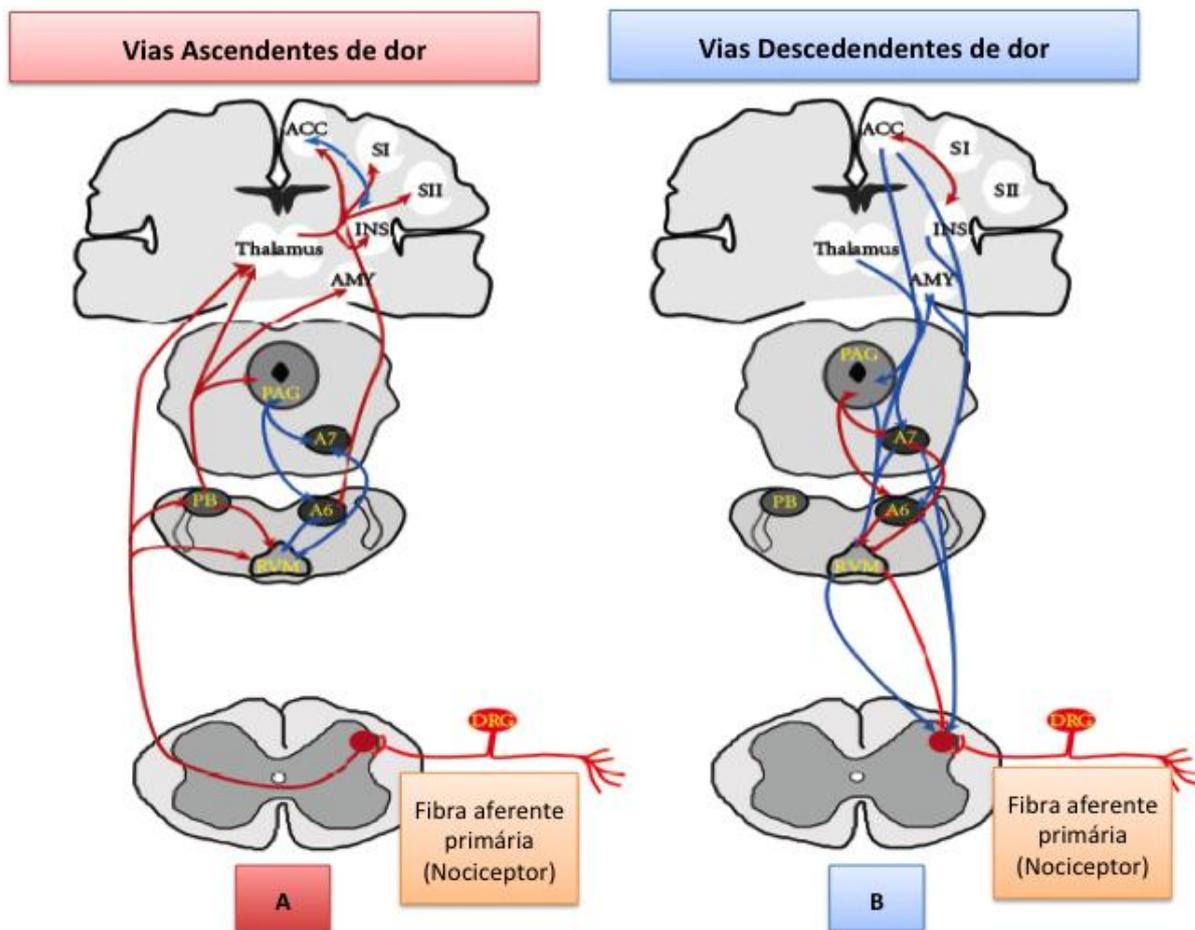
tDCS: Estimulação transcraniana de corrente contínua; Hyperalgesia: Hiperalgesia.

## **2.2 Processamento e modulação da dor**

A nociceção é o processo que envolve a detecção, a transmissão e a percepção dos estímulos dolorosos. Nesse processo, uma grande rede neural é ativada, incluindo o sistema nervoso periférico (SNP), o corno posterior da medula, o tronco, o tálamo, o sistema límbico e o córtex somatossensorial. A lesão tecidual periférica inicia um ciclo de eventos que vão ativar vias que interligam a periferia aos centros superiores. Os nociceptores são terminações nervosas livres das vias aferentes, que estão distribuídas amplamente nos tecidos superficiais, profundos e vísceras, compostas por fibras mielinizadas A Delta e fibras não mielinizadas do tipo C. Os nociceptores A Delta são subdivididos em Tipo I (que responde mais a estímulos mecânicos e químicos agressivos) e Tipo II (estímulos térmicos). Enquanto que as fibras C são polimodais, respondendo a estímulos térmicos, mecânicos e químicos. Essas terminações nervosas enviam projeções axonais para dentro do corno dorsal da medula espinhal, onde ocorre sinapse com neurônios aferentes de segunda ordem. Estes cruzam para o lado contralateral da medula espinhal e formam as vias ascendentes até o tálamo. Neste, os neurônios de segunda ordem fazem sinapse com neurônios de terceira ordem, que enviam projeções axonais para o córtex sensorial. Dentre os tratos ascendentes na medula espinhal, existem duas vias principais que conduzem os sinais nociceptivos para centros superiores. O trato espinotalâmico é onde os neurônios aferentes secundários cruzam dentro de alguns segmentos no nível de entrada na medula espinhal e ascendem no trato espinotalâmico contralateral aos núcleos do tálamo. Os neurônios de terceira ordem, então, ascendem para terminar no córtex somatossensorial. Existem também projeções para a substância cinzenta periaquedutal (PAG).

Além disso, existe o trato espinoreticular, onde fibras também cruzam e ascendem pelo trato contralateral para atingir a formação reticular do tronco encefálico, antes de se projetar para o tálamo e hipotálamo, além de outras projeções para o córtex. Esta via está envolvida nos aspectos emocionais da dor. O córtex somatossensorial (trato espinotalâmico) é importante para a localização da dor. No entanto, técnicas de imagem como a ressonância magnética funcional (fMRI)

demonstraram que uma grande rede cerebral é ativada durante a experiência da dor aguda. Isso geralmente é chamado de "matriz de dor". As áreas mais comumente ativadas incluem o córtex somatossensorial primário e secundário (S1 e S2), o córtex cingulado anterior insular, o córtex pré-frontal e o tálamo, demonstrando que essas áreas são importantes na percepção da dor (Figura 2).



**Figura 2:** Esquema ilustrando as vias ascendentes e descendentes de dor. O estímulo nociceptivo entra no SNC pelo corno dorsal da medula, onde fibras aferentes primárias fazem sinapse com projeções de neurônios de segunda ordem. **A:** Os tratos ascendentes estão representados em vermelho, e as setas azuis indicam comunicações bilaterais. **B:** As projeções descendentes são mostradas em azul, e as setas em vermelho indicam comunicações bilaterais. As projeções vermelha e azul do RVM para a medula espinhal sugerem a inibição e a facilitação descendentes.<sup>31</sup>

A6 e A7: Núcleos noradrenérgicos, ACC: córtex cingulado anterior, AMY: amígdala, DRG: gânglio da raiz dorsal, INS: córtex insular, PAG: substância cinza periaquedutal, PB: núcleos parabraquiais, RVM: medula rostral ventral medial, SI: córtex somatossensorial primário, e SII: córtex somatossensorial secundário.

O fenômeno de ativação dos nociceptores denomina-se transdução, no qual o estímulo

agressor periférico é convertido em potencial de ação pelos nociceptores. Nesse momento, os canais TRP (*Transient receptor potential*) apresentam um papel crucial na ativação dos nociceptores. O *Transient receptor potential* do tipo 1 (TRPV1) foi o primeiro e o mais estudado, sendo encontrado na maioria das fibras C e A delta termossensíveis<sup>32</sup>. O dano tecidual leva à ativação de terminações nervosas nociceptivas e de células inflamatórias (macrófagos, linfócitos, mastócitos, plaquetas) na periferia. A liberação de substância P e glutamato resulta em vasodilatação, extravasamento de proteínas plasmáticas e acaba por estimular as células inflamatórias a liberarem diversas substâncias que causam dor. A transmissão é a condução deste potencial de ação do SNP até o córtex cerebral. A teoria do portão descrita por Melzack and Wall introduziu o conceito dos mecanismos de modulação, pelos quais o sistema nervoso central filtra, seleciona e modula aferências nociceptivas<sup>33</sup>. A teoria aceitou a existência de nociceptores que fazem sinapse em duas regiões diferentes no corno dorsal da medula espinal: substância gelatinosa e células de transmissão. Os sinais produzidos na periferia seriam transmitidos para três regiões da medula espinal: substância gelatinosa, corno dorsal e um grupo de células de transmissão. Foi proposto que o mecanismo de portão no nível da medula é exercido pela substância gelatinosa no corno dorsal, que modula a transmissão das informações sensoriais dos neurônios aferentes primários. Esse mecanismo do portão é composto pela atividade de fibras mielinizadas grossas (fecha ou inibe) e mielinizadas finas e amielínicas (abre ou facilita). A atividade das fibras descendentes que se originam em regiões supraespinhais e se projetam para a medula espinal também modulam o sinal doloroso. Quando a informação nociceptiva atinge um limiar que excede a inibição provocada, o “portão se abre e ativa as vias que levam à experiência de dolorosa”. Esta teoria demonstrou que a medula espinal é um sítio importante de modulação dinâmica.

Como mostrado na (*Figura 2A*), o estímulo doloroso chega no corno dorsal da medula espinal através de fibras aferentes primárias que fazem sinapses nos neurônios de transmissão. As fibras de projeção ascendem através do trato espinotalâmico contralateral. As projeções ascendentes

visam o tálamo, e as projeções colaterais visam os núcleos mesencefálicos (medula ventromedial rostral, substância cinza periaqueductal e outros) (Ossipov, 2012). A modulação consiste na alteração, seja ampliação ou inibição, da transmissão neural aferente ao longo da via da dor, por influências locais ou superiores. O corno dorsal da medula é o sítio mais comum de modulação da dor, onde diversos neurotransmissores, aminoácidos e neuropeptídeos são liberados pelos terminais dos aferentes primários. A partir dos mecanismos endógenos de modulação, podemos citar a existência de um sistema endógeno inibitório de dor. A modulação da dor provavelmente existe na forma de um complexo circuito descendente que surge em múltiplas áreas, incluindo o hipotálamo, a amígdala e o córtex cingulado anterior rostral (rACC), alimentando a substância cinza periaqueductal (PAG), com projeções da PAG para a medula. Os neurônios incluídos na medula ventromedial rostral (RVM) apresentam projeções para a medula espinhal e o corno dorsal da medula para aumentar ou diminuir a condução nociceptiva, alterando a experiência da dor. (*Figura 2B*)<sup>31,34</sup>. Estudos de neuroimagem não invasivos identificaram regiões corticais e subcorticais atuantes no processamento nociceptivo, dentre eles: córtex somatossensorial primário (S1) e secundário (S2), córtex insular, córtex cingulado anterior, córtex pré-frontal, hipocampo, tálamo, haste do cérebro, amígdalas, substância cinzenta periaqueductal, núcleos da base e cerebelo<sup>35-38</sup>. A ativação das áreas cerebrais são dependentes de diversos fatores que interagem para fornecer a percepção individual de dor<sup>38</sup>. Através dessas estruturas, são formados os sistemas de dor medial e lateral, o sistema núcleo submedius (Sm)-VLO-PAG e o sistema de córtex motor<sup>35-37</sup>. A comunicação ente as diferente estruturas envolve vários neurotransmissores, tais como os opioides, glutamato, GABA, dopamina e serotonina com papel na modulação da dor através dessas estruturas corticas<sup>2,39</sup>. As alterações no sistema nervoso central e periférico, induzidas pela dor aguda ou crônica, são mediadas por processos de plasticidade neuronal. Esse processo é definido como a capacidade do sistema nervoso de mudar e se adaptar estrutural e funcionalmente ao longo do seu desenvolvimento, bem como quando sujeito a novas experiências. A sensibilização periférica e

central são expressões deste processo.

### **2.2.1 Modulação condicionada de dor (CPM)**

A modulação condicionada de dor (CPM), originalmente chamado de DNIC (Controle inibitório difuso nociceptivo), é o fenômeno no qual um estímulo nocivo inibe a percepção de dor promovida por outro estímulo nocivo <sup>19</sup>. A CPM é uma medida psicofísica experimental de avaliação dos mecanismos supra-espinhais inibitórios descendentes de modulação da dor <sup>40,41</sup>. O sistema descendente inibitório de dor envolve um circuito espino-bulbo-espinhal com influências descendentes atingindo os neurônios do corno dorsal da medula <sup>41</sup>. Em outras palavras, a atividade dos neurônios sinalizadores de dor é atenuada em resposta a um estímulo nocivo aplicado em uma área distante do corpo <sup>41</sup>. As vias descendentes inibitórias que estão envolvidas nesse processo são: serotoninérgica, GABAérgica, adenosinérgica, opioidérgica e noradrenérgica <sup>42,43,42-44</sup>. As projeções noradrenérgicas descendentes para o corno dorsal da medula espinal (DHSC) surgem dos grupos celulares adrenérgicos A5, A6 (*locus coeruleus*) e A7, e essas regiões se comunicam com a RVM e PAG <sup>45</sup>. Assim, essas projeções noradrenérgicas formam um importante componente da modulação da dor descendente por inibir a transmissão nociceptiva <sup>45,46</sup>. Logo, todas essas vias modulam a entrada sensorial de fibras ascendentes e dos neurônios de projeção do DHSC e ativam comportamentos reflexos protetivos que influenciam a percepção da dor <sup>47</sup>. Estes sistemas fazem parte dos processos neurobiológicos de inibição das vias descendentes da dor. Seu papel nos mecanismos endógenos de controle de dor iniciou com estudos em animais anestesiados e foi denominado de controle inibitório difuso nociceptivo (*Diffuse Noxious Inhibitory Controls - DNIC*) <sup>48,48</sup>. No entanto, estudos subsequentes mostraram que em humanos conscientes, quando são aplicados estímulos dolorosos, ocorre a ativação de outros mecanismos de modulação da dor, como

a distração. Então, a partir do ano de 2010, foi proposta a inclusão de um novo termo - *conditioned pain modulation* (CPM) <sup>49</sup>. Na verdade, o CPM incluiu o DNIC e também outros processos envolvidos na modulação da dor. O DNIC é um fenômeno fisiológico que foi descrito em animais no final da década de 70. Ele propõe que estímulos dolorosos podem desempenhar efeitos inibitórios sobre outros estímulos, sejam eles dolorosos ou não dolorosos <sup>48</sup>. Já a CPM avalia a resposta das vias endógenas descendentes inibitórias da dor. A CPM-task engloba testes psicofísicos da dor em humanos, e envolve o fenômeno DNIC. Esse fenômeno é também conhecido como contrairritação (um dor inibe outra dor) <sup>50</sup>. O teste se resume na aplicação de um estímulo nocivo constante (estímulo condicionante) em uma parte remota do corpo (heterotópico) e de um estímulo fásico (estímulo a ser testado) em outra parte do corpo. O estímulo teste é avaliado antes e após o estímulo condicionante. O CPM é avaliado através da redução que ocorre na percepção de dor do estímulo teste. Ele promove inibição generalizada através de neurônios de amplo alcance dinâmico (WDR) <sup>51</sup>. Não há um teste padrão para avaliá-lo; estudos já realizados utilizaram uma variedade de estímulos, tais como frio, calor e isquemia <sup>40,41,51</sup>. Na figura 3, temos uma explicação do CPM utilizado no nosso estudo, com a avaliação do estímulo teste através do calor, e como estímulo condicionante o *cold pressor task*. O estímulo teste é definido a priori como suficiente para desencadear um escore de dor 6/10 na escala numérica verbal de dor (NPS 0-10). Na sequência, aplica-se este estímulo que produziu o escore 6/10 na NPS, concomitantemente a um estímulo nociceptivo intenso aplicado em uma área remota do corpo, denominado de estímulo condicionante <sup>52</sup>. O resultado da CPM é estimado pelo delta dos estímulos teste (valor final menos valor inicial no escore NPS). O resultado final esperado do teste será negativo se houver ativação do CPM, ou seja, um resultado que demonstra adequado funcionamento de vias descendentes inibitórias <sup>52</sup>.

## CONDITIONED PAIN MODULATION (CPM-TASK)



Estímulo teste



Cold pressor test ( 0 a 1°C)

Estímulo  
condicionante

**Figura 3:** Explicação esquemática da avaliação do CPM. Estímulo teste avaliado através do calor (thermodo à direita) e o estímulo condicionante utilizando o *cold pressor task* (imersão da mão em água entre zero e 1°C à esquerda). Avalia-se o limiar de dor com calor-thermodo (estímulo teste), antes e após 30 segundos do *cold pressor test*. O delta dos escores no estímulo teste (valor final menos o inicial) será negativo se houver ativação do CPM.

### 2.3 Opioides como moduladores do sistema nociceptivo

Há pouco mais de 200 anos, o alemão Friedrich Sertürner isolou um cristal de alcaloide do ópio, que é extraído da papoula, e chamou-o de morfina. Após a determinação da estrutura da morfina na década de 1920, iniciou-se a síntese de novos compostos opioides de morfina baseado em sua estrutura química<sup>53</sup>. Em 1939, surgiu a meperidina, o primeiro opioide inteiramente sintético. O fentanil tornou-se disponível a partir de 1960. Entre 1974 e 1976, foram desenvolvidos os seguintes análogos do fentanil: carfentanil (1974), sufentanil (1974), lofentanil (1975), alfentanil

(1976)<sup>54</sup>. Nos primeiros anos da década de 90, foi disponibilizado para uso clínico o remifentanil, que difere dos demais por ser um éster, o que possibilita a biotransformação por clivagem enzimática, gerando metabólitos inativos. Todos esses novos derivados da fenilpiperidina são agonistas de receptores  $\mu$ , destinados para a anestesiologia e analgesia e sedação de pacientes em terapia intensiva. Os conhecimentos adquiridos sobre os receptores opioides representaram um grande progresso e induziram à descoberta dos ligantes endógenos, representados por três famílias de peptídeos, cada uma originada de um gene diferente: as encefalinas, as endorfinas e as dinorfinas<sup>55</sup>. O papel fisiológico dos ligantes endógenos ainda não está inteiramente esclarecido. Eles parecem exercer funções de neuromediadores, de neurotransmissores e, em alguns casos, de neurohormônios. Um outro progresso foi a possibilidade de administrar opioides por outras vias além da oral, da subcutânea e da muscular. Destacam-se a via espinal, a transdérmica, as submucosas, tanto nasal quanto sublingual. A administração de opioides por via espinal, seja espaço subaracnoideo ou espaço peridural, demonstrou intensa analgesia e permitiu a identificação de receptores opioides na substância gelatinosa da medula espinal, principalmente nas lâminas 1, 2 e 5 de Rexed.

Os opioides desempenham papel fundamental na prática médica, sendo um pilar fundamental no tratamento da dor moderada a intensa. Embora produzam analgesia satisfatória, podem apresentar efeitos colaterais importantes, como depressão respiratória e dependência. Embora os opioides não apresentem efeito teto, a eficácia dos opioides é limitada pelo desenvolvimento de efeitos colaterais. O uso desses fármacos tem aumentado em todo o mundo, e com isso a preocupação quanto aos seus efeitos indesejados. Os opioides são subdivididos em opioides naturais (morfina), semissintéticos e sintéticos. Os opioides semissintéticos são derivados da molécula de morfina e incluem buprenorfina, codeína, etorfina, heroína, hidromorfona, oxycodona e oximorfona. Os opioides sintéticos compreendem as piperidinas (por exemplo, loperamida, meperidina, alfentanil, fentanil, sufentanil, remifentanil) e as metadonas (por exemplo,

metadona, dextro-propoxifeno). Os opioides com maior potência são agonistas de receptores  $\mu$ , cuja ativação também é responsável pela depressão respiratória. A potência de opioides varia de opioides fracos, como codeína, dextro-propoxifeno, tramadol e hidrocodona, para opioides fortes, que incluem etorfina, fentanil, sufentanil, alfentanil e remifentanil. Os opioides de média potência incluem morfina, metadona, oxycodona, hidromorfona e buprenorfina.

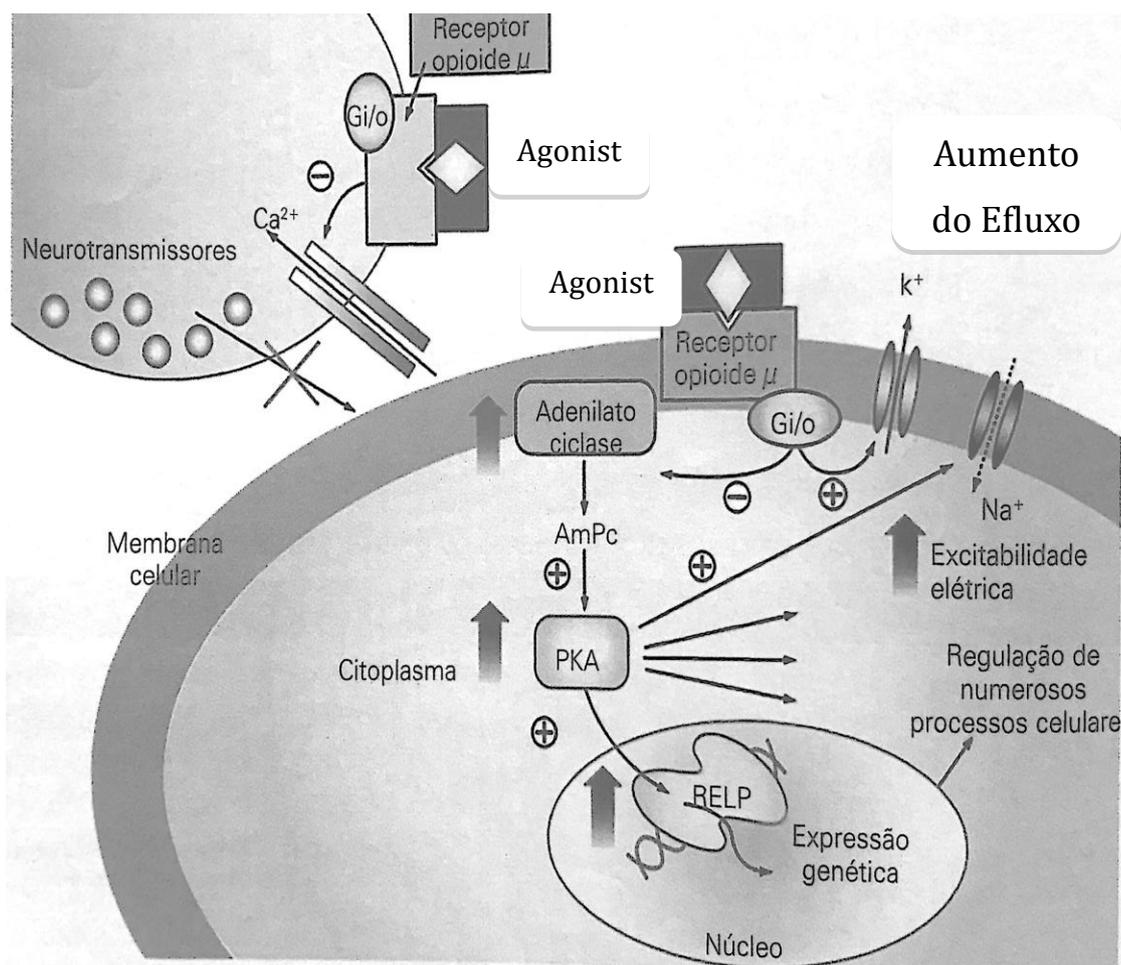
### **2.3.1 Farmacodinâmica dos opioides**

Os opioides promovem analgesia através de um efeito inibitório na nocicepção. Esses fármacos possuem três tipos clássicos de receptores: mu ( $\mu$ ), kappa ( $\kappa$ ) e Delta ( $\delta$ ). Outro tipo de receptor é o ORL-1, considerado receptor relacionado ao opioide. Os opioides atuam em nível celular ligando-se aos receptores opioides presentes em todo o SNC, especialmente no núcleo do trato solitário, substância cinzenta periaquedutal, córtex cerebral, tálamo e substância gelatinosa da medula espinhal. Os receptores opioides são acoplados a proteínas G inibitórias<sup>56</sup>. Formam um complexo molecular essencial para o reconhecimento do agonista e a transdução do sinal inicial. A ativação do receptor tem muitas consequências, levando a uma cascata de eventos. A inibição da adenilato ciclase reduz o conteúdo de adenosina monofosfato cíclico intracelular (AMPC) e outros segundos mensageiros. Com isso, a redução do AMPC permite a abertura de canais de potássio e a promoção de hiperpolarização celular pós-sináptica. A ativação concomitante de receptores opioides pré-sinápticos de fibras C e A delta inibe indiretamente os canais de cálcio voltagem-dependentes (influxo de cálcio), diminuindo os níveis de AMPC e bloqueando a liberação de neurotransmissores das fibras nociceptivas, como o glutamato, substância P e peptídeo relacionado ao gene da calcitonina (CGRP). O conjunto dessas ações leva à redução da excitabilidade neuronal, diminuição da propagação do impulso pós-sináptico e analgesia (figura 4).

O efeito analgésico dos opioides é o resultado de uma série complexa de interações

neurônios. No nível supraspinal, os analgésicos opioides se ligam ao receptor  $\mu$ , localizado nos neurônios GABAérgicos. O mecanismo fisiológico é a inativação de interneurônios GABAérgicos na PAG e a consequente desinibição do sistema inibitório descendente, cujos neurotransmissores (noradrenalina e serotonina), reduzem o influxo de informações nociceptivas na medula espinhal <sup>57</sup>. A inibição desses neurônios GABAérgicos induzida pela ligação de analgésicos opioides ao receptor transmembrana opioide, permite a ativação de neurônios serotoninérgicos inibitórios descendentes, produzindo analgesia <sup>57</sup>. Na medula espinhal, o efeito analgésico é produzido pela inibição da liberação de mediadores nas vias da dor, como a substância P, glutamato e óxido nítrico de neurônios aferentes nociceptivos, aumentando o limiar neuronal <sup>58</sup>. Em geral, a analgesia opioide depende da inibição GABAérgica de interneurônios da PAG e outras regiões cerebrais e a redução da liberação de neurotransmissores pré-sinápticos. No entanto, o principal efeito analgésico dos opioides não é apenas o aumento no limiar da dor, mas também uma atenuação da avaliação subjetiva da dor, explicado pela abundância de receptores opioides em estruturas superiores como o sistema límbico <sup>59</sup>.

Os receptores opioides são ativados por três peptídeos endógenos, conhecidos como encefalinas, endorfinas e dinorfinas. Além dos receptores opioides clássicos, outros sítios efetores para os peptídeos opioides podem ser demonstrados: a dinorfina pode modular receptores NMDA por ligação ao sítio glicina do receptor <sup>60</sup>. Os receptores  $\mu$  e alguns delta situam-se nos neurônios que emergem na PAG ou na RVM e descendem até a medula dorsal, onde realizam a inibição do estímulo doloroso <sup>56,61</sup>. A ação dos opioides no tronco modula a transmissão nociceptiva do corno dorsal através de vias inibitórias descendentes.



**Figura 4:** Mecanismos celulares da ação dos opioides. No neurônio pré-sináptico, temos a inibição do influxo de cálcio intracelular e a diminuição na liberação de neurotransmissores. No neurônio pós-sináptico, a cascata de eventos leva a um estado de hiperpolarização. Adaptado do livro Tratado de anestesiologia 7a Edição <sup>62</sup>.

AMPC: ácido monofosfato cíclico; RELP: resposta do AMPC ao elemento de ligação proteico; Ca: cálcio; Na: sódio; K: potássio. + = estimula; - = inibe.

## 2.4 Hiperalgesia induzida por opioides

A hiperalgesia é definida pela Associação Internacional do estudo da dor como “uma resposta dolorosa aumentada a um estímulo que normalmente provoca dor”. A hiperalgesia pode ser dividida em primária e secundária. Na sensibilização periférica, ocorre a amplificação da dor pelos

mediadores inflamatórios liberados no sítio da lesão, que reduzem o limiar excitatório das terminações nervosas, levando à hiperalgesia primária, definida como resposta exagerada à dor no sítio da lesão. Na sensibilização central, ocorre hiperexcitabilidade do corno dorsal da medula, levando à hiperalgesia secundária, definida por um aumento da resposta dolorosa distante da área de lesão<sup>63</sup>. O quadro de hiperalgesia no período pós-operatório possui uma importante relevância na prática clínica, visto que mais de 40% dos pacientes cirúrgicos apresentam dor pós-operatória moderada a intensa, e mais da metade recebe tratamento inadequado durante a hospitalização<sup>64</sup>. Dor aguda pós-operatória não controlada pode levar ao desenvolvimento de dor crônica. Da mesma forma, existe correlação entre a redução da hiperalgesia na ferida operatória e a redução da incidência de dor persistente 6 meses após a cirurgia<sup>65,66</sup>.

A HIO foi descrita primeiramente em 1943 (Andrews, 1943), mas nas duas últimas décadas tornou-se um assunto mais frequentemente debatido na literatura. Evidências clínicas e pré-clínicas demonstraram que o opioide pode induzir hiperalgesia tanto com o uso agudo como com o uso crônico. Uma revisão sistemática evidenciou o desenvolvimento de HIO em voluntários saudáveis com a infusão venosa contínua de opioides<sup>8</sup>. A HIO corresponde a um aumento da sensação dolorosa promovido pela sensibilização do processo nociceptivo como um todo, diante da exposição ao opioide (S. Silverman, 2009). Esse fenômeno constitui um efeito paradoxal desses analgésicos, que pode se apresentar clinicamente como: piora da dor mesmo com o aumento das doses do opioide; agravamento da dor que não pode ser explicado pela progressão da condição original; dor difusa ou em locais anatomicamente não relacionados ao insulto inicial; ou dor excessiva após procedimentos cirúrgicos. Além disso, a HIO é frequentemente confundida com tolerância. Essas condições podem se manifestar com sintomas similares, mas precisam ser diferenciadas, pois a abordagem terapêutica é distinta. A tolerância ao opioide é o principal diagnóstico diferencial sendo diagnosticada quando quantidades crescentes de opioides tornam-se

necessárias para produzir o mesmo efeito desejado. Nesse caso, o aumento da dose de opioide seria o tratamento indicado.

Ao longo das últimas décadas, a HIO tem se apresentado como redução dos limiares de dor e aumento da dor atípica não relacionada com a dor percebida originalmente. Evidências crescentes mostram que os opioides podem provocar mudanças na sensibilidade à dor, resultando em hiperalgesia tanto em animais <sup>69-73</sup>, como em humanos <sup>71</sup>. Estudos pré-clínicos demonstraram que animais podem ser sensibilizados à dor com a administração de opioides, tanto em bolus intermitente quanto em infusão contínua <sup>74</sup>. Estudos em ratos demonstraram aumento da dor observado através do teste de retirada da pata com infusões de opioides <sup>75</sup>. Achados similares foram encontrados com opioides intratecais <sup>76</sup> e com diferentes tipos de opioides, como fentanil e heroína <sup>69,70</sup>. Em estudos com animais, as alterações nos limiares nociceptivos podem ser medidas diante de um ambiente controlado. Contudo, essas avaliações são difíceis de se realizar num ambiente clínico com exposição a opioides <sup>77</sup>. Embora estudos clínicos tenham demonstrado a presença de HIO, a sua quantificação e os múltiplos fatores confundidores tornam o diagnóstico difícil. Nos seres humanos, grande parte das evidências da HIO provém de estudos sobre infusões intra-operatórias de opioides de curta duração, como por exemplo, o fentanil e remifentanil. <sup>17,78,79</sup>. Guignard B e autores mostraram que pacientes com infusão intraoperatória de remifentanil tiveram aumento da dor pós-operatória e aumento no consumo de analgésicos <sup>78</sup>. Pacientes adictos a opioides que receberam metadona apresentaram resposta dolorosa aumentada ao frio <sup>80</sup>. Um estudo prospectivo com utilização da morfina de ação prolongada em pacientes com dor lombar crônica demonstrou hiperalgesia mensurável através de testes experimentais (teste ao frio), dentro de 1 mês do início da terapia <sup>81</sup>. Em outro estudo com 1620 pacientes em que o remifentanil foi utilizado para anestesia geral, a incidência de hiperalgesia no pós-operatório foi de 16,1%. Este estudo demonstrou que idade menor de 16 anos, sexo masculino, transoperatório maior de 2 horas e uso de remifentanil em

doses mais altas estão associados a taxas mais elevadas de HIO <sup>82</sup>. Além disso, pacientes dependentes de opioides não só demonstraram HIO, mas também apresentaram sintomas prolongados de sensibilização após a desintoxicação de opioides por pelo menos 1 mês <sup>81</sup>. Existem algumas evidências que suportam a hipótese de que a HIO pode ser mediada por mecanismos neurais e moleculares semelhantes aos da dor neuropática <sup>74,76</sup>, o que pode sugerir implicações da HIO na terapia clínica com opioides <sup>4,75,81</sup>. Diversas evidências clínicas indicam que a HIO pode desempenhar um papel importante na terapia com opioides. Pacientes que recebem altas doses de opioide espinhal ou intravenoso podem desenvolver a resposta hiperalgésica <sup>83-87</sup>, além de apresentarem redução do efeito analgésico do opioide após um curso de tratamento. <sup>17,78,84,88</sup>. Nos pacientes dependentes de opioides, quando comparados com os indivíduos normais, identifica-se aumento da sensibilidade à dor <sup>89-91</sup> <sup>80</sup>. A HIO deve ser suspeitada em pacientes que recebem doses crescentes de analgésicos opioides, não justificada por outros fatores clínicos e outros diagnósticos diferentes como a tolerância <sup>92</sup>.

#### **2.4.1 Mecanismos neurobiológicos da HIO**

A fisiopatologia e os mecanismos neurobiológicos da HIO ainda não estão totalmente compreendidos. Mecanismos moleculares, periféricos e do sistema nervoso central contribuem para o fenômeno. Uma boa parcela da literatura defende que a genética e outros fatores possuem papel na sensibilidade à dor e sua resposta analgésica. Devemos citar que evidência experimental sugeriu que o sistema opioide endógeno não afetou significativamente a HIO <sup>93</sup>. Com isso, surgem mecanismos alternativos tais como estimulação pronociceptiva e alterações neuroplásticas como responsáveis pela expressão de HIO. Existem diversos mecanismos postulados para explicar a HIO, dentre eles, podemos citar: sistema glutamatérgico central, facilitação do sistema descendente inibitório, regulação de dinorfina espinhas, mecanismos genéticos e outros. Quando os

mecanismos são estudados de acordo com o local das alterações plásticas, podemos citar: sensibilização de neurônios aferentes primários; o aumento da produção e liberação de neurotransmissores excitatórios e diminuição da recaptação de neurotransmissores; sensibilização de neurônios de segunda ordem aos neurotransmissores excitatórios; e alterações neuroplásticas na RVM que podem aumentar a facilitação descendente através de neurônios on cells, levando a uma regulação de dinorfinas espinhais e ao aumento dos estímulos nociceptivos<sup>94</sup>.

A plasticidade da medula espinal associada à HIO foi demonstrada após a administração intra-espinhal e sistêmica de opioides. Fatores ao nível da medula espinal foram associados a HIO, como o aumento de dinorfina espinhal<sup>60</sup>, a liberação de prostaglandinas pela ciclooxigenase espinhal (COX)<sup>95</sup>, e a liberação de citocinas pró-inflamatórias espinhais (a interleucina-1)<sup>96</sup>. Assim, as evidências sugerem que o corno dorsal da medula espinal é essencial para muitos dos mecanismos que convergem para explicar a HIO<sup>7</sup>. Os níveis de dinorfinas espinhais aumentam após infusões contínuas de agonistas de receptores u-opioide<sup>60</sup>. Esse aumento leva a liberação de neuropeptídeos excitatórios espinhais como o peptídeo relacionado ao gene da calcitonina (CGRP), facilitando o estado pró-nociceptivo da HIO. O aumento da atividade do peptídeo excitatório colecistoquinina (CCK) na medula rostral ventral (RVM) ativa vias espinhais que regulam os níveis de dinorfinas, levando a um aumento de estímulos nociceptivos ao nível medular<sup>60,97,98</sup>. Sabe-se que a dinorfina pode modular receptores N-metil-D-aspartato (NMDA) por ligação ao sítio glicina do receptor<sup>60</sup>. Estudos com animais demonstraram que o uso de antisoro de dinorfina bloqueia a alodinia e a hiperalgesia induzida por opioides<sup>60</sup>. A dinorfina espinhal é pró-nociceptiva e há evidência de que provoca liberação de neurotransmissores excitatórios de neurônios aferentes primários, o que amplifica a aferência sensitiva<sup>60,74</sup>. Há uma crescente apreciação de que centros superiores do SNC podem participar da HIO através de uma facilitação descendente aumentada para o corno dorsal da medula espinal. O foco desse mecanismo é a RVM. Microinjeção do

anestésico local nesta estrutura ou lesão do funiculus dorsolateral, que possui fibras nervosas descendentes do RVM, evita ou previne a HIO.<sup>99</sup>.

Dentre todos os mecanismos propostos para explicar os da HIO, a ativação do receptor N-metil D- Aspartato (NMDA) é o mais atraente, sendo este o mais pesquisado para este fim. Os receptores NMDA são ativados pelo glutamato e apresentam papel crucial na sinalização da dor, inclusive na neuroplasticidade<sup>76</sup>. Alguns opioides e seus metabolitos possuem efeitos agonistas de receptores NMDA, que ativam o sistema glutamatérgico central. Essa ativação causa um influxo de íons cálcio nos neurônios levando ao aumento da excitabilidade neuronal, resultando na transmissão facilitada dos impulsos nociceptivos originados por qualquer estímulo doloroso. A administração prolongada de opioides leva a estado de inibição (down-regulation) dos transportadores de glutamato na medula espinal, aumentando os níveis de glutamato disponíveis para os receptores de NMDA. O aumento da atividade NMDA tem sido demonstrado nos neurônios espinhais após a exposição ao remifentanil. Além disso, a administração prolongada de morfina induziu neurotoxicidade via receptor NMDA, levando a apoptose celular no corno dorsal<sup>72</sup>. A sensibilização dos neurônios espinhais por conta da exposição aos opioides pode ser revertida por antagonistas do receptor NMDA, como a MK801 e a cetamina, o que corrobora com o mecanismo proposto.<sup>17</sup>.

#### **2.4.2 Função do sistema modulador descendente da dor e HIO**

A ativação de vias descendentes facilitatórias com origem na RVM é um dos principais mecanismos associados a HIO<sup>98</sup>. Consiste numa mudança do equilíbrio entre o controle inibitório descendente e a pró-nocicepção. Normalmente, o estímulo doloroso é recebido pela pele ou vísceras e é enviado para a coluna dorsal e, em seguida, transmitido para centros superiores no cérebro. Esta transmissão do sinal doloroso pode ser afetada por uma rede de vias descendentes do cérebro que

pode tanto aumentar essa transferência do sinal de dor (facilitação descendente) ou inibi-la (inibição descendente). Através desses mecanismos, é que podemos citar o sistema inibitório endógeno de dor, que parece estar alterado num estado de hiperalgesia. Vários mecanismos podem estar associados a esse processo facilitatório. A atividade aumentada do CCK no RVM ativa vias espinhais que regulam a dinorfina espinhal e conseqüentemente aumenta os estímulos nociceptivos no nível espinhal. Neurônios *on* e *off cells* integram o RVM e possuem uma resposta única aos opioides, podendo levar a facilitação do processo nociceptivo ao nível medular<sup>100</sup>. As primeiras células (*on cells*) são estimuladas por opioides e aumentam a transmissão do sinal doloroso no corno dorsal da medula espinhal, sendo implicadas na promoção da nocicepção e no desenvolvimento da hiperalgesia induzida por opioides<sup>97,100,101</sup>. E as segundas (*off cells*) são responsáveis por inibir os sinais de dor. Atualmente, há uma crescente valorização da hipótese de estruturas supraespinhais estarem associadas a sensibilidade anormal ao estímulo doloroso através do aumento da facilitação descendente no corno dorsal da medula espinhal, com foco no RVM. Estudos com microinjeção de anestésico local nesta estrutura ou lesão do funículo dorsolateral, que transporta fibras nervosas descendentes da RVM, previne ou reverte a HIO<sup>98,102</sup>. Além disso, o CPM, citado anteriormente em outro capítulo, avalia as vias descendentes citadas acima, sendo um teste ideal para a avaliação experimental desses mecanismos inibitórios descendentes de modulação da dor.

Entre os muitos mecanismos propostos para explicar a HIO, podemos citar que a diminuição da recaptação de neurotransmissores das fibras aferentes primárias tem sido considerada, juntamente com uma maior responsividade dos neurônios espinhais a neurotransmissores nociceptivos como a substância P e o glutamato<sup>93</sup>. A sensibilidade à dor é uma interação complexa, modulada em todos os níveis do eixo neural. Várias redes cerebrais atuam como potentes moduladores da dor. Uma via comum sugerida para estes mecanismos é o recrutamento do sistema

descendente de dor, que é parcialmente modulado pelo sistema catecolaminérgico central (i.e., noradrenalina e dopamina)<sup>103</sup>. A função desses sistemas é geneticamente influenciada pela atividade da enzima COMT<sup>104</sup>. A literatura tem descrito que a genética influencia a sensibilidade à dor e as respostas analgésicas e, com isso, possivelmente a HIO<sup>100</sup>. Jensen et al descreveram a influência genética na atividade da catecol-O-metiltransferase (COMT)<sup>104</sup>. A COMT é uma enzima envolvida na depuração de catecolaminas, incluindo dopamina e noradrenalina. Eles descreveram três genótipos possíveis deste polimorfismo. Os indivíduos homozigotos para o alelo met158 têm sensibilidade aumentada à dor após a administração de opioides. Em indivíduos com um polimorfismo met-met, mais dor é experimentada se um estímulo doloroso é dado após a administração prévia de opioides. Estes mecanismos indicam que a COMT influencia a modulação da dor central.<sup>12,104-106</sup>. Além disso, experimentos em ratos mostraram que certas variantes do gene receptor b2-adrenérgico estão associadas com HIO, sendo aumentada pelo agonista b2-adrenérgico selectivo isoproterenol e bloqueada por antagonistas b2-adrenérgicos.<sup>12</sup>

### **2.4.3 Prevenção da Hiperalgesia induzida pelo opioide**

Na literatura, encontra-se diversos estudos que investigam a prevenção da HIO. Em um estudo com sujeitos voluntários, foi avaliado se a retirada gradual da infusão de remifentanil poderia prevenir a HIO, quando comparada com a retirada abrupta da infusão. Nesse estudo, não foi encontrado o desenvolvimento de HIO no teste de dor ao calor após a retirada gradual da infusão de remifentanil, estando presente somente na retirada abrupta. No teste de dor ao frio, houve desenvolvimento de HIO em ambos os grupos, retirada gradual e abrupta da infusão<sup>107</sup>. Em outro estudo, a infusão de propofol com remifentanil retardou e atenuou a hiperalgesia induzida por remifentanil<sup>108</sup>. A infusão intra-operatória contínua de cetamina, um antagonista do receptor de NMDA, obteve uma diminuição significativa da escala análogo-visual (EAV) de dor no pós-

operatório e diminuição do uso de morfina em pacientes com cirurgia ginecológica laparoscópica<sup>109</sup>. Em 2015, um grupo estudou a incidência de HIO em 75 pacientes submetidas a laparoscopia ginecológica sob anestesia geral baseada em remifentanil, dividindo em 3 grupos: (1) o que recebeu remifentanil em baixa dose (remifentanil 0,05  $\mu$ g / kg / min), (2) o que recebeu remifentanil em alta dose (remifentanil 0,3  $\mu$ g / kg / min), (3) o que recebeu remifentanil em alta dose associado a cetamina (remifentanil 0,3  $\mu$ g / kg / min + cetamina 0,5 mg / kg de bolus com infusão de 5  $\mu$ g / kg / min intraoperatório). O consumo analgésico adicional, os escores na END às 6h e 24 h, e a dose cumulativa de fentanil foram significativamente maiores no grupo remifentanil dose alta comparada ao grupo remifentanil dose baixa e remifentanil dose alta associado a cetamina<sup>110</sup>.

Em 2016, foi comparado os efeitos da infusão intravenosa de nefopam e cetamina (ambos antagonistas do receptor NMDA) sobre o manejo da dor pós-operatória após a colecistectomia laparoscópica com remifentanil. Tanto o nefopam como a cetamina reduziram significativamente a quantidade total de remifentanil usada no intraoperatório, a morfina suplementar e os escores de dor no pós-operatório. O grupo nefopam apresentou propriedades superiores ao grupo da cetamina no índice de recuperação (sedação)<sup>111</sup>. Outro estudo investigou o efeito da administração intraoperatória de sulfato de magnésio em pacientes submetidos à prostatectomia laparoscópica assistida por robô. A administração de sulfato de magnésio reduziu o consumo de opioides no pós-operatório e a HIO em indivíduos que receberam anestesia intra-operatória baseada em remifentanil<sup>112,113</sup>. Além disso, em um estudo randomizado, duplo-cego, controlado por placebo, com 90 pacientes submetidos à histerectomia abdominal total, o consumo cumulativo de morfina foi significativamente maior em indivíduos que fizeram uso apenas de fentanil quando comparado com aqueles que fizeram uso de solução salina (grupo placebo), cetamina sozinha, cetamina em associação com fentanil ou fentanil associado a Lornoxicam (AINE) às 3, 6 e 12 horas pós-operatório<sup>114</sup>. Em outro estudo, a administração intra-operatória de óxido nitroso (N<sub>2</sub>O) a 70%

pareceu reduzir a HIO pós-operatória após anestesia com remifentanil e propofol <sup>115</sup>. Em um estudo com 15 voluntários saudáveis do sexo masculino, a administração preventiva de parecoxib, um inibidor seletivo da enzima COX-2, diminuiu significativamente a HIO após a suspensão do remifentanil. Em contraste, o parecoxib administrado em conjunto com o remifentanil não impediu a HIO, sugerindo que um tratamento prévio e não concomitante com opioide pode ser necessário para prevenir a HIO <sup>116</sup>. Outros AINEs administrados preventivamente também parecem prevenir a hiperalgesia induzida por remifentanil <sup>117</sup>. A infusão intra-operatória de adenosina também evitou a tolerância aguda aos opioides e a hiperalgesia induzida pelo remifentanil <sup>118</sup>. Dentre os agentes  $\alpha_2$  agonistas, um estudo duplo-cego, randomizado, com placebo controlado, com 40 pacientes submetidos à cirurgia eletiva no ombro, a clonidina foi administrada no intraoperatório em uma anestesia baseada em remifentanil e propofol. Os resultados mostraram que a clonidina não reduziu o consumo de morfina no pós-operatório e nem o escore de dor nesses pacientes <sup>119</sup>. Contudo, a dexmedetomidina reduziu substancialmente as doses de opioides utilizadas em pacientes hospitalizados com HIO<sup>120</sup>. Os efeitos anti-hiperalgésicos da dexmedetomidina associados ao uso de remifentanil em altas doses foram avaliados com 90 pacientes submetidas a histerectomia vaginal laparoscópica. Demonstrou-se que a dexmedetomidina aliviou eficientemente os sintomas da hiperalgesia induzida pelo remifentanil. Houve aumento do limiar de dor, redução da intensidade da dor pós-operatória, aumento do tempo até o primeiro uso de analgésico pós-operatório e o menor consumo de morfina <sup>121</sup>. Em outro estudo, o objetivo foi investigar o efeito do tratamento combinado de dexmedetomidina e flurbiprofeno axetil (AINE) sobre a hiperalgesia induzida por remifentanil. Pacientes submetidos a histerectomia vaginal laparoscópica (n=86) foram divididos aleatoriamente em três grupos. O limiar de dor no local da incisão, a área de hiperalgesia secundária, os escores na EAV e o consumo total de sufentanil foram significativamente maiores no

grupo remifentanil sozinho comparado com os outros dois grupos e significativamente menores no grupo da dexmedetomidina associada ao flurbiprofeno <sup>122</sup>.

## **2.5 Estimulação transcraniana por corrente contínua: mecanismos neurobiológicos**

Técnicas neuromodulatórias, incluindo a estimulação transcraniana magnética (TMS) e estimulação transcraniana por corrente contínua (ETCC), estão surgindo como opções terapêuticas para diversas condições de dor. Esses métodos de neuroestimulação têm um perfil promissor na terapêutica da dor, visto que são intervenções não invasivas e não-farmacológicas que podem integrar uma abordagem terapêutica multimodal em diversas situações clínicas. A ETCC é uma forma de neuroestimulação que utiliza corrente elétrica baixa (1-2 mA) e contínua emitida diretamente no couro cabeludo, na área cerebral de interesse, através de eletrodos-esponja embebidos com solução salina ou eletrodos de borracha com gel condutor <sup>123</sup>. A ETCC aplicada a uma intensidade de corrente de 2 mA demonstrou ser segura e eficiente para o uso em voluntários saudáveis <sup>123,124</sup>. A ETCC é um método não-invasivo, simples, indolor e de baixo custo. A ETCC tem sido utilizada para a modulação da excitabilidade cortical, que ocorre em áreas próximas aos eletrodos <sup>125</sup>.

No caso da dor, a área cortical a ser estimulada é o córtex motor primário (M1) <sup>126,127</sup>. Um mecanismo importante e provavelmente primário da ETCC é a modulação do potencial de repouso da membrana neuronal (*Figura 5*). Em contraste com outras técnicas não-invasivas de estimulação cerebral, a ETCC não gera o potencial de ação neuronal por despolarização da membrana neuronal, mas, sim, modula a atividade da rede neuronal espontânea <sup>125</sup>. Os efeitos da ETCC na excitabilidade cortical são dependentes da polaridade dos eletrodos. O estímulo anódico aumenta a excitabilidade, enquanto o estímulo catódico reduz a excitabilidade da membrana neuronal <sup>125-128</sup>. Estimulações mais longas ou mais intensas podem ter efeitos opostos sobre a excitabilidade cortical. Em geral,

ambas as correntes elétricas são capazes de modificar o limiar de repouso da membrana neuronal, onde a estimulação anódica resulta em despolarização neuronal e aumento da excitabilidade cortical, enquanto que a estimulação catódica faz o oposto. Além disso, o ânodo contribui para a hiperpolarização de interneurônios inibitórios de camadas superficiais, e a estimulação catódica tem uma contribuição reversa nesses neurônios <sup>127</sup>. Os efeitos da ETCC dependem de vários fatores: posicionamento e tamanho dos eletrodos, duração e intensidade do estímulo elétrico, gradiente de corrente, orientação axonal pré-sináptica, orientação dendrítica pós-sináptica e a morfologia neuronal. O posicionamento do eletrodo é crítico para a determinação do fluxo de corrente e, com isso, essencial para a eficácia do tratamento <sup>129</sup>. O efeito tende a ser cumulativo e induzido por sessões repetidas, estando vinculado à neuroplasticidade da transmissão sináptica, tais como a potenciação de longa duração (*long-term potentiation* — LTP), com aumento do processo de facilitação ou depressão de longa duração (*long-term depression*, LTD), com decréscimo no potencial de transmissão sináptica.

A LTP e a LTD expressam o envolvimento dos sistemas glutamatérgico e gabaérgico, respectivamente. Estimulação com vários minutos de duração resulta em uma indução da neuroplasticidade glutamatérgica dependente do cálcio, que compartilha alguns aspectos a LTP e a LTD. A liberação de neurotransmissores facilita a abertura de canais AMPA e indiretamente NMDA, com respostas de potenciação de longa duração (LTP), ocorrendo o oposto com a estimulação catódica. A ETCC anodal no córtex cerebral e no hipocampo aumentou a concentração intracelular de  $Ca^{2+}$  <sup>130,131</sup>. Um aumento na concentração intracelular de  $Ca^{2+}$  leva a uma plasticidade no curto e no longo prazo <sup>132</sup>. O mecanismo subjacente ao aumento do  $Ca^{2+}$  intracelular permanece sob investigação e é possível que a ETCC regule os canais de  $Ca^{2+}$  voltagem-dependentes (VGCC). Christie et al. mostraram que a despolarização foi suficiente para ativar VGCCs axonais e provocar influxo de  $Ca^{2+}$  <sup>133</sup>. Estudos indicam que a ETCC anódica abre canais  $Ca^{2+}$  aumentando o potencial transmembranar. Além disso, quanto maior intensidade e

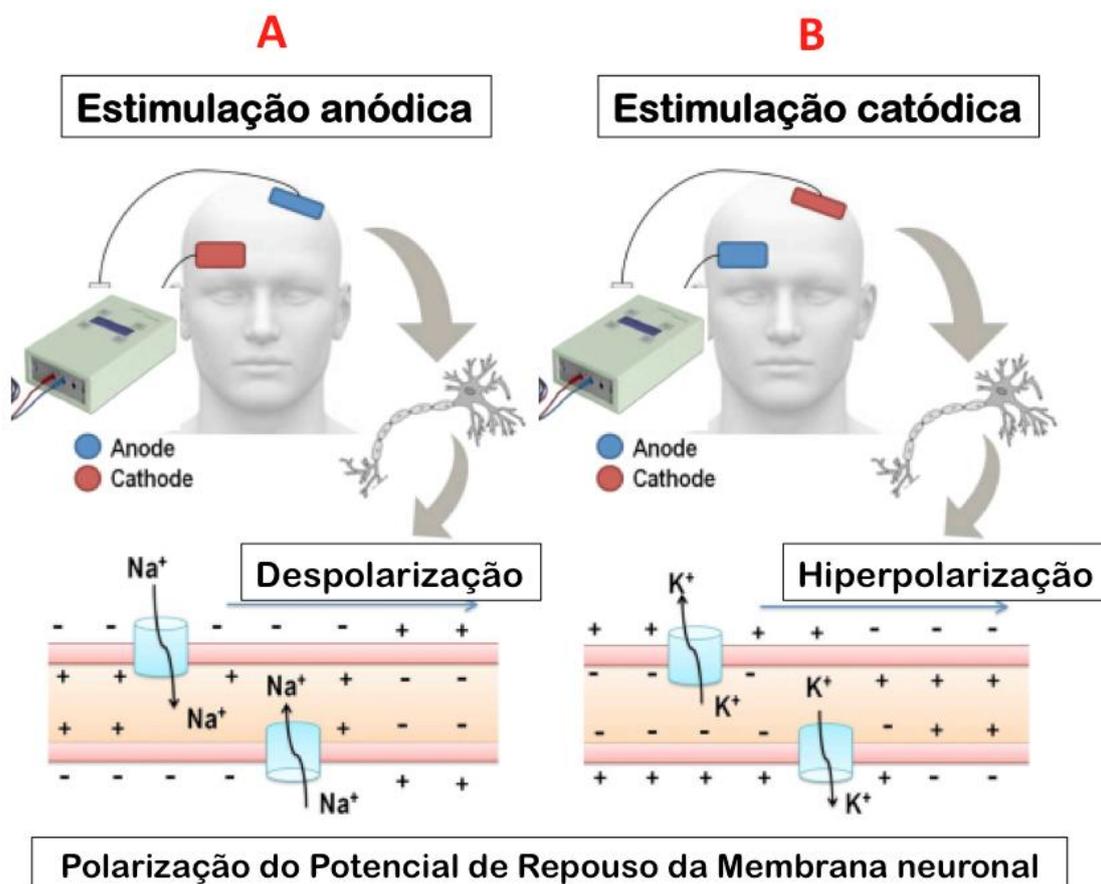
maior duração da ETCC, maiores efeitos sobre a acumulação de  $\text{Ca}^{2+}$  intracelular.<sup>130</sup> A ETCC causa mudanças fisiológicas que resultam em alterações plásticas locais e distantes<sup>129</sup>, o que mostra a extensão espacial dos efeitos da estimulação. Além dos efeitos regionais sob os eletrodos, foram descritas alterações de áreas corticais e subcorticais interconectadas. Com isso, a ETCC se torna uma técnica potencialmente promissora para a modulação de síndromes dolorosas, que incluem alterações patológicas em uma infinidade de áreas interligadas. Os efeitos do ETCC parecem ser multifatoriais e capaz de induzir mudanças em diferentes sistemas, através de diferentes mecanismos. A ETCC é uma técnica neuromodulatória que busca a homeostase<sup>134</sup>.

Como visto na *Figura 6A*, a estimulação modifica o microambiente sináptico, alterando a força sináptica através dos receptores NMDA ou através da atividade gabaérgica (GABA)<sup>135,136</sup>; muda a excitabilidade de inputs sinápticos e a frequência de disparos espontâneos (*Figura 6B*); modula neurônios intracorticais e corticoespinhais e possui efeitos não sinápticos por mudanças transitórias na densidade dos canais de proteína<sup>135,136</sup>. ETCC induz alterações da excitabilidade cortical promovendo efeitos duradouros por aumentar a atividade espontânea e o aumento da regulação do tônus sináptico mediado pelo NMDA, dependentes da síntese de proteína e acompanhados por modificações no AMP cíclico intracelular e nos níveis de cálcio<sup>136</sup>. Outro mecanismo pelo qual ocorreria melhora da dor através da estimulação anódica da ETCC seria sua capacidade de restaurar o sistema inibitório endógeno<sup>136</sup>. Há evidências de que a ETCC atinja estruturas mais profundas como núcleo rubro e fascículo longitudinal medial. As evidências têm sugerido que a ETCC interage com diversos sistemas neurotransmissores, mediados principalmente pela dopamina, acetilcolina, serotonina e GABA. A ETCC pode alterar a liberação de neurotransmissores através de efeitos na propagação do potencial de ação ou na liberação da vesícula na fenda sináptica (*Figura 6A*). Podemos considerar que a ETCC pode aumentar os níveis de Glutamato e de GABA, através de despolarização sublimiar ou oscilações de redes neuronais. Isso pode proporcionar um mecanismo para a sincronização neuronal dependente da estimulação

anódica da ETCC. Além disso, a ETCC mostrou facilitar mudanças no fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF), que é um marcador de plasticidade neuronal notavelmente associado ao processamento da dor <sup>137</sup>.

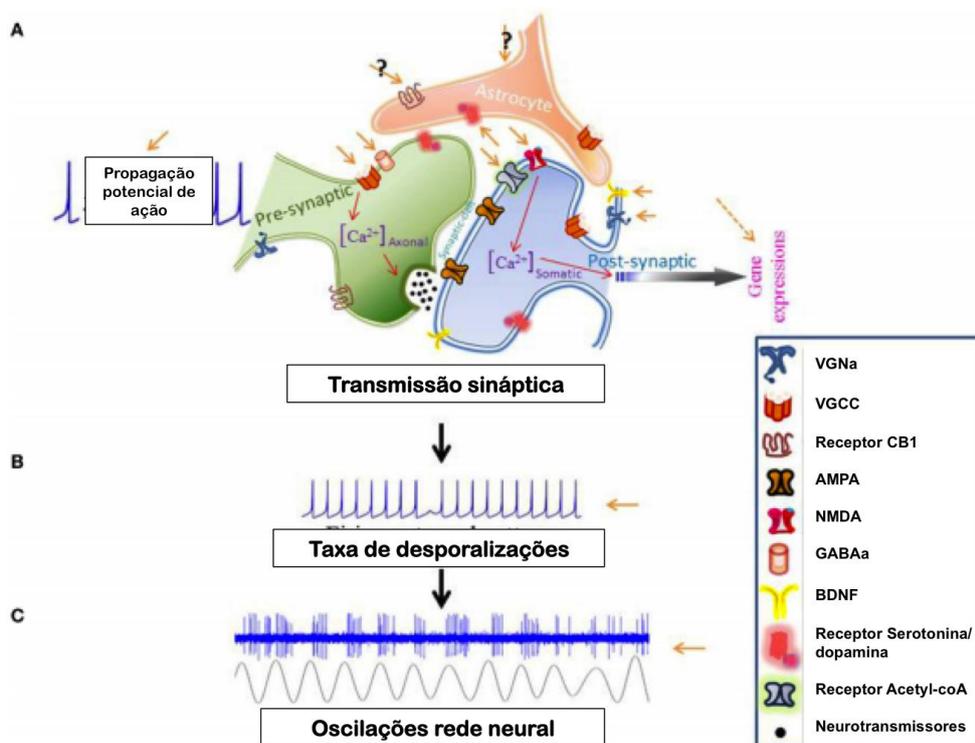
A aplicação da ETCC sobre uma região específica do cérebro induz modulação neuronal não apenas naquela região, mas também para suas estruturas adjacentes <sup>138</sup>. A expectativa é de que a ETCC possa apresentar efeitos clínicos ao fortalecer ou enfraquecer as atividades oscilantes dentro das regiões cerebrais (*Figura 6C*). A ETCC induz efeitos transitórios e reversíveis nas oscilações beta e gama de alta frequência. Ela pode modular a sincronização e a organização funcional topológica do cérebro alterando bandas de frequência específicas. Em redes neuronais ativas, a ETCC induz efeitos facilitatórios duradouros em oscilações de alta frequência. Enfim, existe uma multiplicidade de mecanismos através dos quais a ETCC pode afetar as regiões cerebrais; possui mecanismos de plasticidade intracelulares, efeitos sobre a neurotransmissão, modulação de oscilações cerebrais, efeitos sobre concentração de neuromoduladores nas sinapses; possui extensão espacial com efeitos locais e distantes da estimulação, bem como efeitos temporais em que ocorrem efeitos persistentes após o término da estimulação, associado a mecanismos celulares como a concentração intracelular de  $Ca^{2+}$  <sup>130,131</sup> e expressões iniciais de genes <sup>139</sup>.

A sua eficácia clínica em relação ao alívio da dor aguda e crônica foi demonstrada em várias condições, isto é, neuralgia do nervo trigêmeo, dor fantasma, etc <sup>21</sup>. Embora o efeito sobre a dor não seja completamente compreendido, a ETCC ameniza o componente afetivo motivacional da experiência dolorosa enquanto alivia a dor por meio da ativação do sistema descendente de supressão da dor <sup>22</sup>. De fato, as mudanças neuroplásticas induzidas pela ETCC envolvem a regulação de uma ampla variedade de diferentes interneurônios e neurotransmissores, como o opioide <sup>23,24</sup>, gabaérgico <sup>25</sup>, glutamatérgico <sup>23</sup>, colinérgico <sup>26</sup>, serotoninérgico <sup>27</sup> e dopaminérgico <sup>28</sup>.



**Figura 5:** Efeitos da ETCC na polarização da membrana neuronal. O lado A representa a estimulação anódica do córtex motor primário (M1), com o cátodo colocado sobre a área supraorbitária contralateral. Essa configuração foi a utilizada no nosso estudo. A estimulação anodal despolariza a membrana neuronal e aumenta a excitabilidade na região de M1. O lado B ilustra o eletrodo catódico sobre M1 e o ânodo sobre a área supraorbitária contralateral. A estimulação catódica hiperpolariza a membrana neuronal e diminui a excitabilidade na região de M1. Em geral, o tipo de estimulação determina o efeito modulador da ETCC <sup>140</sup>.

Anode: eletrodo anódico; Cathode: eletrodo catódico.



**Figura 6:** Os efeitos modulatórios da ETCC do nível celular à comunicação de rede neuronais <sup>141</sup>.

VGNa: Canal de sódio voltagem dependente; VGCC: Canal de cálcio voltagem dependente; Receptor CB1: receptor canabinoide do tipo 1; AMPA: receptor alfa-amino-3-hidroxi-metil-5-4-isoxazolpropionico; NMDA: receptor N-metil-D-aspartato; BDNF: Fator Neurotrófico Derivado do Cérebro; Receptor acetyl-coA: Receptor acetil-coenzima A.

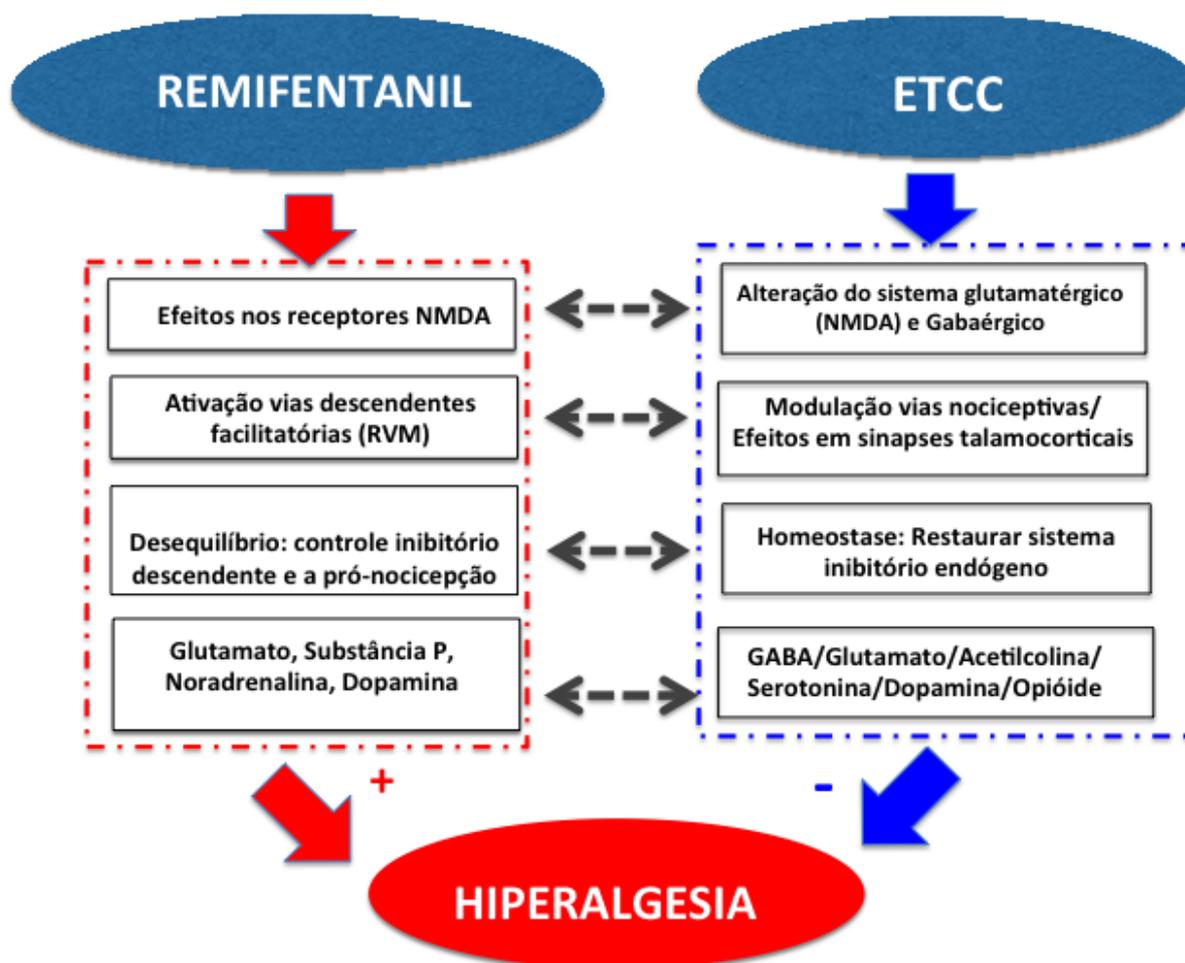
## 2.6 Modelo de dor experimental

Os modelos de dor experimental são frequentemente utilizados para medir os efeitos de medicamentos analgésicos, sendo uma potente ferramenta para comparar potência analgésica, efeitos adversos e interações medicamentosas. Entretanto, a neurobiologia dos sistemas nociceptivos difere entre as espécies, o que limita a extrapolação dos achados de estudos em animais para os humanos <sup>142</sup>. No cenário clínico, os efeitos analgésicos são difíceis de se avaliar devido a uma série de fatores de confusão como sedação, náusea, mal-estar geral, etc <sup>143</sup>. No tratamento de doenças associadas com a dor, os diferentes sintomas das doenças subjacentes podem confundir a caracterização da dor (aspectos psicológicos, cognitivos e sociais, bem como reações

sistêmicas tais como febre e mal-estar geral)<sup>143</sup>. Além disso, o tratamento com analgésicos, muitas vezes, provoca outros efeitos (efeito sobre a ansiedade e depressão), que podem levar os pacientes a interpretá-los como um alívio da dor<sup>143</sup>. Diante dessas limitações, surge a necessidade de modelos experimentais de dor humana em estudos pré-clínicos. Um modelo experimental de dor pode ser vantajoso em investigações pré-clínicas de analgésicos, pois o investigador pode controlar a dor induzida experimentalmente (natureza, localização, duração, intensidade), promovendo medidas quantitativas da resposta dolorosa<sup>144</sup>. Esses modelos têm funcionado como uma vantajosa ponte entre os estudos em animais e os ensaios clínicos.

Estudos em humanos são frequentemente conduzidos com voluntários saudáveis para permitir condições maximamente padronizadas. A sensibilidade do teste ao efeito do medicamento pode ser reduzida por efeitos colaterais e placebo concomitantes, bem como por variabilidade interindividual e intraindividual. A utilização de testes padronizados para avaliar a dor busca ativar diferentes nociceptores e vias específicas de condução sensitiva e evocar dor em diferentes tecidos. Com isso, o modelo ideal em humanos deve evocar dor em diferentes tecidos para ativar diferentes nociceptores. Como nem sempre isso é possível, a escolha do modelo deve ser baseada nos objetivos do estudo para acessar as vias em questão.

## 2.7: Marco conceitual



**Figura 7:** Mecanismos do remifentanil na indução de hiperalgesia e os mecanismos contrarregulatórios da ETCC sobre a hiperalgesia.

NMDA: receptor N-metil-D-aspartato. RVM: medula rostral ventral. GABA: Ácido gama-aminobutírico. ETCC: estimulação transcraniana de corrente contínua

## 3. Justificativa

Diante do conceito que o cérebro configura a estrutura na qual a percepção subjetiva da dor surge e que ela está intimamente ligada a outros processos cognitivos, torna-se importante a investigação de intervenções terapêuticas a nível cortical, tão pouco conhecidas atualmente. O efeito da ETCC foi demonstrado na percepção sensorial, na diminuição do limiar de dor aguda em voluntários saudáveis e em várias condições dolorosas crônicas. Existe um conjunto de evidências

quanto ao uso da ETCC e sua participação através de diversos mecanismos na modulação cortical, incluindo a regulação de vários neurotransmissores e vias nociceptivas associadas ao uso de opioides. Assim, os mecanismos de ação do ETCC e do sistema opioidérgico podem estar interligados, justificando a investigação de possíveis interações pela associação da ETCC e o uso de opioides. Diante do conjunto de evidências na área da neuroestimulação, no sistema opioidérgico e na modulação cortical da dor, delimitou-se uma interessante área de pesquisa para a investigação de um possível efeito da aplicação clínica do ETCC sobre o uso de opioide, que ainda não foi estabelecido. Ao se tratar de uma técnica de baixo custo, fácil execução, portátil e com potencial mínimo de efeitos adversos, a utilização da ETCC associada ao uso dos opioides pode tornar mais eficaz o manejo da síndrome dolorosa. Com isso, justifica-se o estudo para explorar a interação ETCC-Opioide com o objetivo de proporcionar uma via alternativa e custo-efetiva para agregar às estratégias multimodais de tratamento da dor.

## **4. Objetivos**

### **4.1 Objetivo geral**

Avaliar o potencial efeito da ETCC na hiperalgesia induzida pelo remifentanil através dos limiares de dor em modelo experimental nociceptivo em voluntários saudáveis.

### **4.2 Objetivos específicos**

- Avaliar a resposta dolorosa na escala numérica durante o teste repetitivo de dor ao frio (RCOLDT)
- Avaliar a função do modulatório descendente de dor através da aplicação do CPM-Task.
- Avaliar os limiares de dor ao calor com uso do Quantitative sensory test.
- Avaliar a área sob a curva da escala visual de dor eletrônica (AUECVAS) com o teste ao frio.

## **5. Referências bibliográficas da revisão**

1. Melzack R. Pain--an overview. *Acta Anaesthesiol Scand.* 1999;43(9):880-884.  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10522733>.
2. Xie Y, Huo F, Tang J. Cerebral cortex modulation of pain. *Acta Pharmacol Sin.* 2009;30(1):31-41. doi:10.1038/aps.2008.14.
3. Kim SH, Stoicea N, Soghomonyan S, Bergese SD. Intraoperative use of remifentanil and opioid induced hyperalgesia/acute opioid tolerance: Systematic review. *Front Pharmacol.* 2014;5 MAY(May):1-9. doi:10.3389/fphar.2014.00108.
4. Angst MS, Clark JD. Opioid-induced hyperalgesia: a qualitative systematic review. *Anesthesiology.* 2006;104(3):570-587. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16508405>.
5. Simonnet G, Rivat C. Opioid-induced hyperalgesia: abnormal or normal pain? *Neuroreport.* 2003;14(1):1-7. doi:10.1097/01.wnr.0000051540.96524.e7.
6. Koppert W, Schmelz M. The impact of opioid-induced hyperalgesia for postoperative pain. *Best Pract Res Clin Anaesthesiol.* 2007;21(1):65-83.  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17489220>.
7. Chu LF, Angst MS, Clark D. Opioid-induced hyperalgesia in humans: molecular mechanisms and clinical considerations. *Clin J Pain.* 24(6):479-496.  
doi:10.1097/AJP.0b013e31816b2f43.

8. Fishbain DA, Cole B, Lewis JE, Gao J, Rosomoff RS. Do opioids induce hyperalgesia in humans? An evidence-based structured review. *Pain Med.* 2009;10(5):829-839. doi:10.1111/j.1526-4637.2009.00653.x.
9. Salengros J-C, Huybrechts I, Ducart A, et al. 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. *J Cardiothorac Vasc Anesth.* 2010;24(4):608-616. doi:10.1053/j.jvca.2009.10.006.
10. Fletcher D, Martinez V. Opioid-induced hyperalgesia in patients after surgery: a systematic review and a meta-analysis. *Br J Anaesth.* 2014;112(6):991-1004. doi:10.1093/bja/aeu137.
11. Stoicea N, Russell D, Weidner G, et al. Opioid-induced hyperalgesia in chronic pain patients and the mitigating effects of gabapentin. *Front Pharmacol.* 2015;6. doi:10.3389/fphar.2015.00104.
12. Yu EHY, Tran DHD, Lam SW, Irwin MG. Remifentanil tolerance and hyperalgesia: short-term gain, long-term pain? *Anaesthesia.* 2016;71(11):1347-1362. doi:10.1111/anae.13602.
13. Bouhassira D, Villanueva L, Le Bars D. Effects of systemic morphine on diffuse noxious inhibitory controls: role of the periaqueductal grey. *Eur J Pharmacol.* 1992;216(2):149-156. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1397003>.
14. Bouhassira D, Chitour D, Villanueva L, Le Bars D. Morphine and diffuse noxious inhibitory controls in the rat: effects of lesions of the rostral ventromedial medulla. *Eur J Pharmacol.* 1993;232(2-3):207-215. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8467858>.
15. Le Bars D, Willer JC, De Broucker T. Morphine blocks descending pain inhibitory controls in humans. *Pain.* 1992;48(1):13-20. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1738569>.

16. Hahnenkamp K, Nollet J, Van Aken HK, et al. Remifentanil directly activates human N-methyl-D-aspartate receptors expressed in *Xenopus laevis* oocytes. *Anesthesiology*. 2004;100(6):1531-1537. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15166575>.
17. Joly V, Richebe P, Guignard B, Fletcher D, Maurette P, Sessler DI CM. Remifentanil-induced postoperative hyperalgesia and its prevention with small-dose ketamine. *Anesthesiology*. 2005;103(1):147-155.
18. Célèrier E, Laulin JP, Corcuff JB, Le Moal M, Simonnet G. Progressive enhancement of delayed hyperalgesia induced by repeated heroin administration: a sensitization process. *J Neurosci*. 2001;21(11):4074-4080. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11356895>.
19. van Dorp ELA, Kest B, Kowalczyk WJ, et al. Morphine-6beta-glucuronide rapidly increases pain sensitivity independently of opioid receptor activity in mice and humans. *Anesthesiology*. 2009;110(6):1356-1363. doi:10.1097/ALN.0b013e3181a105de.
20. Stagg CJ, Best JG, Stephenson MC, et al. Polarity-sensitive modulation of cortical neurotransmitters by transcranial stimulation. *J Neurosci*. 2009;29(16):5202-5206. doi:10.1523/JNEUROSCI.4432-08.2009.
21. Bolognini N, Olgiati E, Maravita A, Ferraro F, Fregni F. Motor and parietal cortex stimulation for phantom limb pain and sensations. *Pain*. 2013;154(8):1274-1280. doi:10.1016/j.pain.2013.03.040.
22. Hadjipavlou G, Dunckley P, Behrens TE, Tracey I. Determining anatomical connectivities between cortical and brainstem pain processing regions in humans: A diffusion tensor imaging study in healthy controls. *Pain*. 2006;123(1):169-178. doi:10.1016/j.pain.2006.02.027.
23. Nitsche MA, Fricke K, Henschke U, et al. Pharmacological modulation of cortical

excitability shifts induced by transcranial direct current stimulation in humans. *J Physiol*.

2003;553(Pt 1):293-301. doi:10.1113/jphysiol.2003.049916.

24. Filmer HL, Dux PE, Mattingley JB. Applications of transcranial direct current stimulation for understanding brain function. *Trends Neurosci*. 2014;37(12):742-753.  
doi:10.1016/j.tins.2014.08.003.
25. Nitsche MA, Liebetanz D, Schlitterlau A, et al. GABAergic modulation of DC stimulation-induced motor cortex excitability shifts in humans. *Eur J Neurosci*. 2004;19(10):2720-2726.  
doi:10.1111/j.0953-816X.2004.03398.x.
26. Kuo M-F, Grosch J, Fregni F, Paulus W, Nitsche MA. Focusing effect of acetylcholine on neuroplasticity in the human motor cortex. *J Neurosci*. 2007;27(52):14442-14447.  
doi:10.1523/JNEUROSCI.4104-07.2007.
27. Nitsche MA, Kuo M-F, Karrasch R, Wächter B, Liebetanz D, Paulus W. Serotonin affects transcranial direct current-induced neuroplasticity in humans. *Biol Psychiatry*.  
2009;66(5):503-508. doi:10.1016/j.biopsych.2009.03.022.
28. Nitsche MA, Lampe C, Antal A, et al. Dopaminergic modulation of long-lasting direct current-induced cortical excitability changes in the human motor cortex. *Eur J Neurosci*.  
2006;23(6):1651-1657. doi:10.1111/j.1460-9568.2006.04676.x.
29. Rolan P, Krishnan, Salter, Sullivan, White, Gentgall. Comparison of pain models to detect opioid-induced hyperalgesia. *J Pain Res*. April 2012:99. doi:10.2147/JPR.S27738.
30. Olesen AE, Andresen T, Stahl C, Drewes AM. Human experimental pain models for assessing the therapeutic efficacy of analgesic drugs. *Pharmacol Rev*. 2012;64(3):722-779.  
doi:10.1124/pr.111.005447.

31. Ossipov MH. The Perception and Endogenous Modulation of Pain. *Scientifica (Cairo)*. 2012;2012:1-25. doi:10.6064/2012/561761.
32. Dubin AE, Patapoutian A. Nociceptors: the sensors of the pain pathway. *J Clin Invest*. 2010;120(11):3760-3772. doi:10.1172/JCI42843.
33. Melzack R, Wall PD. Pain mechanisms: a new theory. *Science*. 1965;150(3699):971-979. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/5320816>.
34. Ossipov MH, Dussor GO, Porreca F. Central modulation of pain. *J Clin Invest*. 2010;120(11):3779-3787. doi:10.1172/JCI43766.
35. Casey KL. Forebrain mechanisms of nociception and pain: Analysis through imaging. *Proc Natl Acad Sci*. 1999;96(14):7668-7674. doi:10.1073/pnas.96.14.7668.
36. Talbot JD, Marrett S, Evans AC, Meyer E, Bushnell MC, Duncan GH. Multiple representations of pain in human cerebral cortex. *Science*. 1991;251(4999):1355-1358. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2003220>.
37. Ploner M, Schnitzler A. [Cortical representation of pain]. *Nervenarzt*. 2004;75(10):962-969. doi:10.1007/s00115-004-1739-y.
38. Bingel U, Tracey I. Imaging CNS modulation of pain in humans. *Physiology (Bethesda)*. 2008;23:371-380. doi:10.1152/physiol.00024.2008.
39. Tang J-S, Qu C-L, Huo F-Q. The thalamic nucleus submedius and ventrolateral orbital cortex are involved in nociceptive modulation: a novel pain modulation pathway. *Prog Neurobiol*. 2009;89(4):383-389. doi:10.1016/j.pneurobio.2009.10.002.
40. Kennedy DL, Kemp HI, Ridout D, Yarnitsky D, Rice ASC. Reliability of conditioned pain modulation. *Pain*. 2016;157(11):2410-2419. doi:10.1097/j.pain.0000000000000689.

41. Moont R, Crispel Y, Lev R, Pud D, Yarnitsky D. Temporal changes in cortical activation during conditioned pain modulation (CPM), a LORETA study. *Pain*. 2011;152(7):1469-1477. doi:10.1016/j.pain.2011.01.036.
42. Camarata PJ, Yaksh TL. Characterization of the spinal adrenergic receptors mediating the spinal effects produced by the microinjection of morphine into the periaqueductal gray. *Brain Res*. 1985;336(1):133-142. doi:10.1016/0006-8993(85)90424-X.
43. Yaksh TL. Direct evidence that spinal serotonin and noradrenaline terminals mediate the spinal antinociceptive effects of morphine in the periaqueductal gray. *Brain Res*. 1979;160(1):180-185. doi:10.1016/0006-8993(79)90616-4.
44. Yaksh TL, Tyce GM. Microinjection of morphine into the periaqueductal gray evokes the release of serotonin from spinal cord. *Brain Res*. 1979;171(1):176-181. doi:10.1016/0006-8993(79)90747-9.
45. Ossipov MH, Morimura K, Porreca F. Descending pain modulation and chronification of pain. *Curr Opin Support Palliat Care*. 2014;8(2):143-151. doi:10.1097/SPC.0000000000000055.
46. Pertovaara A. Noradrenergic pain modulation. *Prog Neurobiol*. 2006;80(2):53-83. doi:10.1016/j.pneurobio.2006.08.001.
47. Millan MJ. Descending control of pain. *Prog Neurobiol*. 2002;66(6):355-474. doi:10.1016/S0301-0082(02)00009-6.
48. Le Bars D, Dickenson AH, Besson J-M. Diffuse Noxious Inhibitory Controls. I. Effects on Dorsal Horn Convergent Neurones in the Rat. *Pain*. 1979;6(August 2014):283-304. doi:10.1016/0304-3959(79)90049-6.

49. Yarnitsky D. Conditioned pain modulation (the diffuse noxious inhibitory control-like effect): its relevance for acute and chronic pain states. *Curr Opin Anaesthesiol.* 2010;23(5):611-615. doi:10.1097/ACO.0b013e32833c348b.
50. Schweinhardt P. The many faces of counter-irritation. *Pain.* 2011;152(7):1445-1446. doi:10.1016/j.pain.2011.02.036.
51. Moont R, Pud D, Sprecher E, Sharvit G, Yarnitsky D. "Pain inhibits pain" mechanisms: Is pain modulation simply due to distraction? *Pain.* 2010;150(1):113-120. doi:10.1016/j.pain.2010.04.009.
52. Yarnitsky D, Arendt-Nielsen L, Bouhassira D, et al. Recommendations on terminology and practice of psychophysical DNIC testing. *Eur J Pain.* 2010;14(4):339. doi:10.1016/j.ejpain.2010.02.004.
53. Huxtable RJ, Schwarz SK. The isolation of morphine--first principles in science and ethics. *Mol Interv.* 2001;1(4):189-191. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14993340>.
54. Janssen PA. Potent, new analgesics, tailor-made for different purposes. *Acta Anaesthesiol Scand.* 1982;26(3):262-268. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7113634>.
55. Simon EJ, Hiller JM, Edelman I. Stereospecific binding of the potent narcotic analgesic (3H) Etorphine to rat-brain homogenate. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1973;70(7):1947-1949. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/4516196>.
56. Waldhoer M, Bartlett SE, Whistler JL. Opioid receptors. *Annu Rev Biochem.* 2004;73:953-990. doi:10.1146/annurev.biochem.73.011303.073940.
57. Vaughan CW, Ingram SL, Connor MA, Christie MJ. How opioids inhibit GABA-mediated neurotransmission. *Nature.* 1997;390(6660):611-614. doi:10.1038/37610.

58. Yaksh TL, Jessell TM, Gamse R, Mudge AW, Leeman SE. Intrathecal morphine inhibits substance P release from mammalian spinal cord in vivo. *Nature*. 1980;286(5769):155-157. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6157098>.
59. Nandigama P, Borszcz GS. Affective analgesia following the administration of morphine into the amygdala of rats. *Brain Res*. 2003;959(2):343-354. doi:10.1016/S0006-8993(02)03884-2.
60. Vanderah TW, Gardell LR, Burgess SE, et al. Dynorphin promotes abnormal pain and spinal opioid antinociceptive tolerance. *J Neurosci*. 2000;20(18):7074-7079. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10995854>.
61. Kieffer BL, Gavériaux-Ruff C. Exploring the opioid system by gene knockout. *Prog Neurobiol*. 2002;66(5):285-306. doi:10.1016/S0301-0082(02)00008-4.
62. Luiz M. Cangiani, Maria José C. Carmona, Marcelo Luis A. Torres COB. *Tratado de Anestesiologia 7a Edição.*; 2011.
63. Watson CPN. Bonica's Management of Pain, 4th Edition. *J Pain Symptom Manage*. 2010;40(2):315-319. doi:10.1016/j.jpainsymman.2010.06.003.
64. Wilder-Smith OHG, Arendt-Nielsen L. Postoperative hyperalgesia: its clinical importance and relevance. *Anesthesiology*. 2006;104(3):601-607. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16508408>.
65. Lavand'homme P, De Kock M, Waterloos H. Intraoperative epidural analgesia combined with ketamine provides effective preventive analgesia in patients undergoing major digestive surgery. *Anesthesiology*. 2005;103(4):813-820. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16192774>.

66. De Kock M, Lavand'homme P, Waterloos H. The short-lasting analgesia and long-term antihyperalgesic effect of intrathecal clonidine in patients undergoing colonic surgery. *Anesth Analg.* 2005;101(2):566-72, table of contents. doi:10.1213/01.ANE.0000157121.71808.04.
67. Andrews HL. THE EFFECT OF OPIATES ON THE PAIN THRESHOLD IN POST-ADDICTS. *J Clin Invest.* 1943;22(4):511-516. doi:10.1172/JCI101420.
68. Silverman SM. Opioid induced hyperalgesia: clinical implications for the pain practitioner. *Pain Physician.* 12(3):679-684. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19461836>.
69. Celerier E, Laulin J, Corcuff J, Le Moa G, Simonnet G. Progressive enhancement of delayed hyperalgesia induced by repeated heroin administration: A sensitization process. *J Neurosci.* 2001;21(11):4074-4080. doi:21/11/4074 [pii].
70. Célèrier E, Rivat C, Jun Y, et al. Long-lasting hyperalgesia induced by fentanyl in rats: preventive effect of ketamine. *Anesthesiology.* 2000;92(2):465-472. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10691234>.
71. Mao J, Price DD, Mayer DJ. Thermal hyperalgesia in association with the development of morphine tolerance in rats: roles of excitatory amino acid receptors and protein kinase C. *J Neurosci.* 1994;14(4):2301-2312. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7908958>.
72. Mao J, Sung B, Ji R-R, Lim G. Chronic morphine induces downregulation of spinal glutamate transporters: implications in morphine tolerance and abnormal pain sensitivity. *J Neurosci.* 2002;22(18):8312-8323. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12223586>.
73. Woolf CJ. Intrathecal high dose morphine produces hyperalgesia in the rat. *Brain Res.* 1981;209(2):491-495. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6261872>.
74. Vanderah TW, Ossipov MH, Lai J, Malan TP, Porreca F. Mechanisms of opioid-induced

pain and antinociceptive tolerance: descending facilitation and spinal dynorphin. *Pain*.

2001;92(1-2):5-9. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11323121>.

75. Mao J. Opioid-induced abnormal pain sensitivity: implications in clinical opioid therapy. *Pain*. 2002;100(3):213-217. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12467992>.
76. Mao J, Price DD, Mayer DJ. Mechanisms of hyperalgesia and morphine tolerance: a current view of their possible interactions. *Pain*. 1995;62(3):259-274. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8657426>.
77. Mao J. Opioid-induced abnormal pain sensitivity. *Curr Pain Headache Rep*. 2006;10(1):67-70. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16499832>.
78. Guignard B, Bossard AE, Coste C, et al. Acute opioid tolerance: intraoperative remifentanil increases postoperative pain and morphine requirement. *Anesthesiology*. 2000;93(2):409-417. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10910490>.
79. Laulin J-P, Maurette P, Corcuff J-B, Rivat C, Chauvin M, Simonnet G. The role of ketamine in preventing fentanyl-induced hyperalgesia and subsequent acute morphine tolerance. *Anesth Analg*. 2002;94(5):1263-9, table of contents. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11973202>.
80. Compton P, Charuvastra VC, Ling W. Pain intolerance in opioid-maintained former opiate addicts: effect of long-acting maintenance agent. *Drug Alcohol Depend*. 2001;63(2):139-146. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11376918>.
81. Chu LF, Clark DJ, Angst MS. Opioid tolerance and hyperalgesia in chronic pain patients after one month of oral morphine therapy: a preliminary prospective study. *J Pain*. 2006;7(1):43-48. doi:10.1016/j.jpain.2005.08.001.

82. Ma J, Huang Z, Li J, Hu S, Lian Q. [Cohort study of remifentanil-induced hyperalgesia in postoperative patients]. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi*. 2011;91(14):977-979.  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21609550>.
83. Sjøgren P, Jonsson T, Jensen NH, Drenck NE, Jensen TS. Hyperalgesia and myoclonus in terminal cancer patients treated with continuous intravenous morphine. *Pain*. 1993;55(1):93-97. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8278214>.
84. Singla A, Stojanovic MP, Chen L, Mao J. A differential diagnosis of hyperalgesia, toxicity, and withdrawal from intrathecal morphine infusion. *Anesth Analg*. 2007;105(6):1816-9, table of contents. doi:10.1213/01.ane.0000290338.39037.38.
85. Devulder J. Hyperalgesia induced by high-dose intrathecal sufentanil in neuropathic pain. *J Neurosurg Anesthesiol*. 1997;9(2):146-148. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9100184>.
86. De Conno F, Caraceni A, Martini C, Spoldi E, Salvetti M, Ventafridda V. Hyperalgesia and myoclonus with intrathecal infusion of high-dose morphine. *Pain*. 1991;47(3):337-339.  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1784504>.
87. Ali NM. Hyperalgesic response in a patient receiving high concentrations of spinal morphine. *Anesthesiology*. 1986;65(4):449. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3767054>.
88. Vinik HR, Kissin I. Rapid development of tolerance to analgesia during remifentanil infusion in humans. *Anesth Analg*. 1998;86(6):1307-1311.  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9620525>.
89. Martin JE, Inglis J. Pain tolerance and narcotic addiction. *Br J Soc Clin Psychol*. 1965;4(3):224-229. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/5872680>.
90. Ho A, Dole VP. Pain perception in drug-free and in methadone-maintained human ex-

addicts. *Proc Soc Exp Biol Med.* 1979;162(3):392-395.

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/515020>.

91. Doverty M, White JM, Somogyi AA, Bochner F, Ali R, Ling W. Hyperalgesic responses in methadone maintenance patients. *Pain.* 2001;90(1-2):91-96.  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11166974>.
92. Heger S, Maier C, Otter K, Helwig U, Suttorp M. Morphine induced allodynia in a child with brain tumour. *BMJ.* 1999;319(7210):627-629.  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10473483>.
93. Chu LF, Dairmont J, Zamora AK, Young CA, Angst MS. The endogenous opioid system is not involved in modulation of opioid-induced hyperalgesia. *J Pain.* 2011;12(1):108-115.  
doi:10.1016/j.jpain.2010.05.006.
94. Chu LF, Angst MS, Clark D. Opioid-induced Hyperalgesia in Humans. *Clin J Pain.* 2008;24(6):479-496. doi:10.1097/AJP.0b013e31816b2f43.
95. Dunbar SA, Karamov IG, Buerkle H. The effect of spinal ibuprofen on opioid withdrawal in the rat. *Anesth Analg.* 2000;91(2):417-422. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10910860>.
96. Johnston IN, Milligan ED, Wieseler-Frank J, et al. A role for proinflammatory cytokines and fractalkine in analgesia, tolerance, and subsequent pain facilitation induced by chronic intrathecal morphine. *J Neurosci.* 2004;24(33):7353-7365. doi:10.1523/JNEUROSCI.1850-04.2004.
97. Gardell LR, Wang R, Burgess SE, et al. Sustained morphine exposure induces a spinal dynorphin-dependent enhancement of excitatory transmitter release from primary afferent fibers. *J Neurosci.* 2002;22(15):6747-6755. doi:20026648.

98. Vanderah TW, Suenaga NM, Ossipov MH, Malan TP, Lai J, Porreca F. Tonic descending facilitation from the rostral ventromedial medulla mediates opioid-induced abnormal pain and antinociceptive tolerance. *J Neurosci*. 2001;21(1):279-286.  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11150345>.
99. Xie JY. Cholecystokinin in the Rostral Ventromedial Medulla Mediates Opioid-Induced Hyperalgesia and Antinociceptive Tolerance. *J Neurosci*. 2005;25(2):409-416.  
doi:10.1523/JNEUROSCI.4054-04.2005.
100. Lee M, Silverman SM, Hansen H, Patel VB, Manchikanti L. A comprehensive review of opioid-induced hyperalgesia. *Pain Physician*. 2011;14(2):145-161.
101. Morgan MM, Heinricher MM, Fields HL. Circuitry linking opioid-sensitive nociceptive modulatory systems in periaqueductal gray and spinal cord with rostral ventromedial medulla. *Neuroscience*. 1992;47(4):863-871. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1579215>.
102. Ossipov MH, Lai J, King T, et al. Antinociceptive and nociceptive actions of opioids. *J Neurobiol*. 2004;61(1):126-148. doi:10.1002/neu.20091.
103. Youssef F, Pater A SM. Opioid-Induced Hyperalgesia. *J Pain Reli*. 2015;4(3).  
doi:10.4172/2167-0846.1000183.
104. Jensen KB, Lonsdorf TB, Schalling M, Kosek E, Ingvar M. Increased sensitivity to thermal pain following a single opiate dose is influenced by the COMT val158 met polymorphism. *PLoS One*. 2009;4(6):2-6. doi:10.1371/journal.pone.0006016.
105. Zubieta J-K, Heitzeg MM, Smith YR, et al. COMT val 158 met Genotype Affects m -Opioid Neurotransmitter Responses to a Pain Stressor. *Science*. 2003;299(5610):1240-1243.  
doi:10.1126/science.1078546.

106. Rakvåg TT, Klepstad P, Baar C, et al. The Val158Met polymorphism of the human catechol-O-methyltransferase (COMT) gene may influence morphine requirements in cancer pain patients. *Pain*. 2005;116(1-2):73-78. doi:10.1016/j.pain.2005.03.032.
107. Comelon M, Raeder J, Stubhaug A, Nielsen CS, Draegni T, Lenz H. Gradual withdrawal of remifentanil infusion may prevent opioid-induced hyperalgesia. *Br J Anaesth*. 2016;116(4):524-530. doi:10.1093/bja/aev547.
108. Singler B, Tröster A, Manering N, Schüttler J, Koppert W. Modulation of remifentanil-induced postinfusion hyperalgesia by propofol. *Anesth Analg*. 2007;104(6):1397-1403. doi:10.1213/01.ane.0000261305.22324.f3.
109. Hong BH, Lee WY, Kim YH, Yoon SH, Lee WH. Effects of intraoperative low dose ketamine on remifentanil-induced hyperalgesia in gynecologic surgery with sevoflurane anesthesia. *Korean J Anesthesiol*. 2011;61(3):238. doi:10.4097/kjae.2011.61.3.238.
110. Choi E, Lee H, Park HS, Lee GY, Kim YJ, Baik H-J. Effect of intraoperative infusion of ketamine on remifentanil-induced hyperalgesia. *Korean J Anesthesiol*. 2015;68(5):476-480. doi:10.4097/kjae.2015.68.5.476.
111. Choi SK, Yoon MH, Choi J II, et al. Comparison of effects of intraoperative nefopam and ketamine infusion on managing postoperative pain after laparoscopic cholecystectomy administered remifentanil. *Korean J Anesthesiol*. 2016;69(5):480. doi:10.4097/kjae.2016.69.5.480.
112. Song JW, Lee Y-W, Yoon KB, Park SJ, Shim YH. Magnesium sulfate prevents remifentanil-induced postoperative hyperalgesia in patients undergoing thyroidectomy. *Anesth Analg*. 2011;113(2):390-397. doi:10.1213/ANE.0b013e31821d72bc.
113. Lee C, Song Y-K, Jeong H-M, Park S-N. The effects of magnesium sulfate infiltration on

perioperative opioid consumption and opioid-induced hyperalgesia in patients undergoing robot-assisted laparoscopic prostatectomy with remifentanil-based anesthesia. *Korean J Anesthesiol.* 2011;61(3):244-250. doi:10.4097/kjae.2011.61.3.244.

114. Xuerong Y, Yuguang H, Xia J, Hailan W. Ketamine and lornoxicam for preventing a fentanyl-induced increase in postoperative morphine requirement. *Anesth Analg.* 2008;107(6):2032-2037. doi:10.1213/ane.0b013e3181888061.
115. Echevarría G, Elgueta F, Fierro C, et al. Nitrous oxide (N<sub>2</sub>O) reduces postoperative opioid-induced hyperalgesia after remifentanil-propofol anaesthesia in humans. *Br J Anaesth.* 2011;107(6):959-965. doi:10.1093/bja/aer323.
116. Tröster A, Sittl R, Singler B, Schmelz M, Schüttler J, Koppert W. Modulation of remifentanil-induced analgesia and postinfusion hyperalgesia by parecoxib in humans. *Anesthesiology.* 2006;105(5):1016-1023. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17065897>.
117. Tuncer S, Yalçın N, Reisli R, Alper Y. [The effects of lornoxicam in preventing remifentanil-induced postoperative hyperalgesia]. *Agri.* 2009;21(4):161-167. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20127537>.
118. Lee C, Song YK, Lee JH, Ha SM. The effects of intraoperative adenosine infusion on acute opioid tolerance and opioid induced hyperalgesia induced by remifentanil in adult patients undergoing tonsillectomy. *Korean J Pain.* 2011;24(1):7-12. doi:10.3344/kjp.2011.24.1.7.
119. Schlimp CJ, Pipam W, Wolrab C, Ohner C, Kager HI, Likar R. [Clonidine for remifentanil-induced hyperalgesia: a double-blind randomized, placebo-controlled study of clonidine under intra-operative use of remifentanil in elective surgery of the shoulder]. *Schmerz.* 2011;25(3):290-295. doi:10.1007/s00482-011-1058-8.
120. Belgrade M, Hall S. Dexmedetomidine infusion for the management of opioid-induced

hiperalgesia. *Pain Med.* 2010;11(12):1819-1826. doi:10.1111/j.1526-4637.2010.00973.x.

121. Lee C, Kim YD, Kim JN. Antihyperalgesic effects of dexmedetomidine on high-dose remifentanil-induced hyperalgesia. *Korean J Anesthesiol.* 2013;64(4):301-307. doi:10.4097/kjae.2013.64.4.301.
122. Yu Z, Wu W, Wu X, Lei H, Gong C, Xu S. Protective effects of dexmedetomidine combined with flurbiprofen axetil on remifentanil-induced hyperalgesia: A randomized controlled trial. *Exp Ther Med.* 2016;12(4):2622-2628. doi:10.3892/etm.2016.3687.
123. DaSilva AF, Volz MS, Bikson M, Fregni F. Electrode positioning and montage in transcranial direct current stimulation. *J Vis Exp.* 2011;(51). doi:10.3791/2744.
124. Bikson M, Grossman P, Thomas C, et al. Safety of Transcranial Direct Current Stimulation: Evidence Based Update 2016. *Brain Stimul.* 2016;9(5):641-661. doi:10.1016/j.brs.2016.06.004.
125. Nitsche MA, Cohen LG, Wassermann EM, et al. Transcranial direct current stimulation: State of the art 2008. *Brain Stimul.* 2008;1(3):206-223. doi:10.1016/j.brs.2008.06.004.
126. Priori A. Brain polarization in humans: a reappraisal of an old tool for prolonged non-invasive modulation of brain excitability. *Clin Neurophysiol.* 2003;114(4):589-595. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12686266>.
127. Nitsche MA, Paulus W. Excitability changes induced in the human motor cortex by weak transcranial direct current stimulation. *J Physiol.* 2000;527 Pt 3:633-639. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10990547>.
128. Lang N, Siebner HR, Ward NS, et al. How does transcranial DC stimulation of the primary motor cortex alter regional neuronal activity in the human brain? *Eur J Neurosci.*

2005;22(2):495-504. doi:10.1111/j.1460-9568.2005.04233.x.

129. Utz KS, Dimova V, Oppenländer K, Kerkhoff G. Electrified minds: transcranial direct current stimulation (tDCS) and galvanic vestibular stimulation (GVS) as methods of non-invasive brain stimulation in neuropsychology--a review of current data and future implications. *Neuropsychologia*. 2010;48(10):2789-2810. doi:10.1016/j.neuropsychologia.2010.06.002.
130. Islam N, Aftabuddin M, Moriwaki A, Hattori Y, Hori Y. Increase in the calcium level following anodal polarization in the rat brain. *Brain Res*. 1995;684(2):206-208. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7583224>.
131. Bikson M, Inoue M, Akiyama H, et al. Effects of uniform extracellular DC electric fields on excitability in rat hippocampal slices in vitro. *J Physiol*. 2004;557(1):175-190. doi:10.1113/jphysiol.2003.055772.
132. Greer PL, Greenberg ME. From Synapse to Nucleus: Calcium-Dependent Gene Transcription in the Control of Synapse Development and Function. *Neuron*. 2008;59(6):846-860. doi:10.1016/j.neuron.2008.09.002.
133. Christie JM, Chiu DN, Jahr CE. Ca<sup>2+</sup>-dependent enhancement of release by subthreshold somatic depolarization. *Nat Neurosci*. 2011;14(1):62-68. doi:10.1038/nn.2718.
134. Pelletier SJ, Cicchetti F. Cellular and molecular mechanisms of action of transcranial direct current stimulation: evidence from in vitro and in vivo models. *Int J Neuropsychopharmacol*. 2014;18(2). doi:10.1093/ijnp/pyu047.
135. Brunoni AR, Nitsche MA, Bolognini N, et al. Clinical research with transcranial direct current stimulation (tDCS): challenges and future directions. *Brain Stimul*. 2012;5(3):175-195. doi:10.1016/j.brs.2011.03.002.

136. Mylius V, Borckardt JJ, Lefaucheur J-P. Noninvasive cortical modulation of experimental pain. *Pain*. 2012;153(7):1350-1363. doi:10.1016/j.pain.2012.04.009.
137. Stefani LC, Torres IL da S, de Souza ICC, Rozisky JR, Fregni F, Caumo W. BDNF as an effect modifier for gender effects on pain thresholds in healthy subjects. *Neurosci Lett*. 2012;514(1):62-66. doi:10.1016/j.neulet.2012.02.057.
138. Li H, Lei X, Yan T, et al. The temporary and accumulated effects of transcranial direct current stimulation for the treatment of advanced Parkinson's disease monkeys. *Sci Rep*. 2015;5(1):12178. doi:10.1038/srep12178.
139. Moriwaki A, Islam N, Hattori Y, Hori Y. Induction of Fos expression following anodal polarization in rat brain. *Psychiatry Clin Neurosci*. 1995;49(5-6):295-298.  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8726117>.
140. Antunes L. *TRANSCRANIAL DIRECT CURRENT STIMULATION AND NEUROPLASTICITY*.; 2015.
141. Das S, Holland P, Frens MA, Donchin O. Impact of transcranial direct current stimulation (tDCS) on neuronal functions. *Front Neurosci*. 2016;10(NOV):1-7.  
doi:10.3389/fnins.2016.00550.
142. Le Bars D, Gozariu M, Cadden SW. Animal models of nociception. *Pharmacol Rev*. 2001;53(4):597-652. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11734620>.
143. Drewes AM, Gregersen H, Arendt-Nielsen L. Experimental pain in gastroenterology: a reappraisal of human studies. *Scand J Gastroenterol*. 2003;38(11):1115-1130.  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14686714>.
144. Graven-Nielsen T, Sergerdahl M, Svensson P, Arendt-Nielsen L. Methods for Induction and

*Estudo do efeito da estimulação trancraniana de corrente contínua na hiperalgesia induzida pelo remifentanil: um ensaio clínico randomizado em homens saudáveis*

Assessment of Pain in Humans with Clinical and Pharmacological Examples. In: ; 2001.

doi:10.1201/9781420042566-c14.

## **6. Artigo em inglês (publicado na *frontiers in pharmacology*)**

### **Effects of Transcranial Direct Current Stimulation Block Remifentanil-Induced Hyperalgesia: a randomized, double-blind clinical trial**

Gilberto Braulio M.D.<sup>1,2</sup>, Savio Cavalcante Passos M.D.<sup>1</sup>, Fabricio Leite M.D.<sup>1</sup>, Andre Schwertner M.D.<sup>1</sup>, Luciana Cadore Stefani, MD, PhD.,<sup>1,5</sup>, Ana Claudia Souza Palmer MsH<sup>4</sup>, Iraci L.S. Torres, PharmD, PhD<sup>1,3,4</sup>, Felipe Fregni, MD, PhD<sup>6</sup>, Wolnei Caumo, MD, PhD<sup>1,2,5,\*</sup>

<sup>1</sup>*Post-graduate Program in Medical Sciences, School of Medicine, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, Brazil*

<sup>2</sup>*Anesthetist, Pain and Palliative Care Service at Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), Laboratory of Pain and Neuromodulation at HCPA, Porto Alegre, Brazil*

<sup>3</sup>*Associate Professor, Pharmacology Department, Instituto de Ciências Básicas da Saúde, UFRGS, Porto Alegre, Brazil*

<sup>4</sup>*Post-graduate Program in Pharmacology and Therapeutic Instituto de Ciências Básicas da Saúde, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, Brazil*

<sup>5</sup>*Associate Professor of Pain and Anesthesia in Surgery Department, School of Medicine*

<sup>6</sup>*Associate Professor of Physical Medicine & Rehabilitation, Associate Professor of Neurology Harvard Medical School. Berenson-Allen Center for Noninvasive Brain Stimulation, Department of Neurology, Beth Israel Deaconess Medical Center, Harvard Medical School, Boston, USA*

**Running title:** tDCS effect blunt remifentanil-induced hyperalgesia

\*Corresponding Author: Wolnei Caumo MD, PhD

Laboratory of Pain and Neuromodulation at Hospital de Clínicas de Porto Alegre

Rua Ramiro Barcelos, 2350 - CEP 90035-003

Bairro Rio Branco - Porto Alegre – RS.

Phone: (55) 51- 3359.8083 Fax: (55) 51- 3359.8083

E-mail: wcaumo@hcpa.edu.br

### **E-mail address of each author, institution of employment at this time and his/her role in the manuscript**

**AB** participated in the sequence alignment and drafted the manuscript.

**MT** participated in the sequence alignment.

**ES** participated in the design of the study and performed the statistical analysis.

**FG** conceived the study, participated in its design and coordination and helped drafting the manuscript.

Gilberto Braulio: [gbraulio@hcpa.edu.br](mailto:gbraulio@hcpa.edu.br); **ES;FG**

Savio Cavalcante Passos: [saviocapas@yahoo.com.br](mailto:saviocapas@yahoo.com.br); **MT**

Fabricio Leite: [leite.fabricio@hotmail.com](mailto:leite.fabricio@hotmail.com); **MT**

Andre Schwertner: [andre.schwertner@gmail.com](mailto:andre.schwertner@gmail.com); **MT**

Luciana Stefani: [lustefani@terra.com.br](mailto:lustefani@terra.com.br); (UFRGS); **FG**

Ana Claudia Souza Palmer: [anaclaudiasz@gmail.com](mailto:anaclaudiasz@gmail.com); **FG**

Iraci Torres: [iracitorres@gmail.com](mailto:iracitorres@gmail.com); (UFRGS); **AB**

Felipe Fregni: [Fregni.Felipe@mgh.harvard.edu](mailto:Fregni.Felipe@mgh.harvard.edu); (Harvard Medical School); **ES; FG**

Wolnei Caumo [wcaumo@hcpa.edu.br](mailto:wcaumo@hcpa.edu.br). (UFRGS). Responsible for maintaining the study records; **ES; FG**

**Abstract: 343 words**

**Body text: 4887 words**

**Background:** Remifentanil-induced hyperalgesia (r-IH) involves an imbalance in the inhibitory and excitatory systems. As the transcranial Direct Current Stimulation (tDCS) modulates the thalamocortical synapses in a top-down manner, we hypothesized that the active (a)-t-DCS would be more effective than sham(s)-tDCS to prevent r-IH. We used an experimental paradigm to induce temporal summation of pain utilizing a repetitive cold test (r-COLDT) assessed by the Numerical Pain Score (NPS 0-10) and we evaluated the function of the descending pain modulatory system (DPMS) by the change on the NPS (0-10) during the conditioned pain modulation (CPM)-task (primary outcomes). We tested whether a-tDCS would be more effective than s-tDCS to improve pain perception assessed by the heat pain threshold (HPT) and the reaction time during the Ice-Water Pain Test (IPT) (secondary outcomes).

**Methods:** This double-blinded, factorial randomized trial included 48 healthy males, ages ranging 19 to 40 years. They were randomized into four equal groups: a-tDCS/saline, s-tDCS/saline, a-tDCS/remifentanil and s-tDCS/remifentanil. tDCS was applied over the primary motor cortex, during 20 min at 2mA, which was introduced 10 min after starting remifentanil infusion at 0.06ug.kg-1.min-1 or saline.

**Results:** An ANCOVA mixed model revealed that during the r-COLDT, there was a significant main effect on the NPS scores [F =3.81; P=0.01]. The s-tDCS/remifentanil group presented larger pain scores during r-COLDT, [mean (SD) 5.49 (1.04)] and a-tDCS/remifentanil group had relative lower pain scores [4.15 (1.62)]; showing its blocking effect on r-IH. a-tDCS/saline and s-tDCS/saline groups showed lowest pain scores during r-COLDT, [3.11(1.2)] and [3.15(1.62)], respectively. The effect of sedation induced by remifentanil during the r-COLDT was not

significant ( $F=0.76$ ;  $P=0.38$ ). Remifentanil groups showed positive scores in the NPS (0-10) during the CPM-task, that is, it produced a disengagement of the DPMS. Also, s-tDCS/Remifentanil compared to a-tDCS showed lower HPT and larger reaction-time during the IPT.

**Conclusion:** These findings suggest that effects of a-tDCS prevent the summation response induced by r-IH during r-COLDT and the a-tDCS blocked the disengagement of DPMS. Thereby, tDCS could be considered as a new approach to contra-regulate paradoxical mechanisms involved in the r-IH.

**Key words:** tDCS, hyperalgesia, remifentanil, pain threshold, CPM

Clinical trials identification: NCT02432677. URL:<https://clinicaltrials.gov/>

## **Introduction**

Opioids are the most effective analgesics to treat moderate to severe acute and chronic pain. However, growing evidence shows that opioids can elicit unexpected changes in pain sensitivity. This hyperalgesia induced by opioids (OIH) may extend beyond the postoperative period and can lead to the development of chronic pain persisting for months (Salengros et al., 2010). Considering that OIH is a paradoxical response, a better comprehension about its mechanism could help the clinician plan preventive approaches to reduce acute postoperative pain, and possibly to reduce the incidence of persistent post-surgical pain potentially related to the OIH, which ranges 16 to 70% (Salengros et al., 2010). A recent systematic review that involved 27 studies and 1494 patients add evidence of OIH in humans (Fletcher and Martinez, 2014), which cause a significant increase in postoperative pain intensity at rest persisting 24h after surgery. Another study found that patients undergoing thoracotomy who received high-dose remifentanil without epidural analgesia experienced a three times larger area of allodynia compared to low-dose infusion of remifentanil (Salengros et al., 2010). At six months followed-up, a higher incidence of chronic pain resembling neuropathic pain was observed in those receiving high doses of remifentanil (Salengros et al., 2010). Although there is a mixed result, pre-clinical and clinical evidence has demonstrated that remifentanil might induce hyperalgesia (r-IH) either with acute or chronic use (Kim et al., 2014; Stoicea et al., 2015; Yu et al., 2016). The most reliable proof of opioids producing hyperalgesia (OIH) in humans comes from opioid infusions in healthy volunteers (Fishbain et al., 2009).

According to previous reports, morphine blocks the diffuse noxious inhibitory control (DNIC) effects in rats (Bouhassira et al., 1992, 1993) and healthy humans (Le Bars et al., 1992) (Le Bars et al., 1992) in a naloxone-reversible fashion (Le Bars et al., 1981; Willer et al., 1990). Another study showed that patients with chronic pain treated with oral opioids exhibited less

capacity to inhibit pain signals compared to non-treated patients (Chu et al., 2006). Specifically related to remifentanil, an attractive hypothesis is that its effects involve the N-methyl-D-aspartate (NMDA) receptors (NR1A/2A and NR1A/2B), and hence, it induces a dysfunction of the descending pain modulatory system (DPMS), which is rich in both inhibitory mu-opioid and excitatory NMDA receptors (Hahnenkamp et al., 2004). In fact, in one experimental study in humans, S-ketamine abolished the r-IH (Joly V, Richebe P, Guignard B, Fletcher D, Maurette P, Sessler DI, 2005). Also, knockout mice without  $\mu$ -,  $\delta$ -, or  $\kappa$ -opioid receptors develop thermal hyperalgesia when exposed to acute or chronic fentanyl use (Celerier et al., 2001). Finally, when morphine-6 $\beta$ -glucuronide (a metabolite with  $\mu$ -receptor agonist activity) was administered concurrently with the opioid receptor antagonist naloxone, it leads to OIH by an opioid receptor-independent mechanism (Dorp et al., 2009). Despite the growing evidence of OIH, the results are heterogeneous, thus revealing a persistent gap to study whether top-down modulatory approaches can improve the inhibitory function of the descending corticospinal pathways since their dysfunction mediate this paradoxical effect.

As aforementioned, OIH involves a dysfunction in the thalamus cortical pathways as well as in the descending pain modulatory system. Thereby, transcranial direct current stimulation (tDCS) is a promising approach to contra-regulate OIH, because it modulates the thalamocortical synapses in a top-down manner within pain pathways (Stagg et al., 2009). The tDCS effect depends on the polarity, positioning, and size of electrodes, as well as the duration and intensity of the current flow (DaSilva et al., 2011). It has been effective either in acute postoperative pain (Ribeiro et al., 2017) and chronic pain (i.e., trigeminal neuralgia, phantom pain, fibromyalgia, etc.) (Bolognini et al., 2013; Fregni et al., 2006). Although its effect on pain is not completely understood, it downregulates the emotional component of the pain experience while alleviating pain via activation of the descending pain suppression system (Hadjipavlou et al., 2006). Indeed, the majority of trials has rationalized that the tDCS effect involves changes in “brain function” induced by excitatory or

inhibitory boosts. According to studies of rodent brain slices in vitro, tDCS can affect long-term-potential (LTP) dependent on N-methyl D-aspartate (Giordano et al., 2017). Also, its neuroplastic changes involve a regulation of a broad variety of different interneurons and neurotransmitters, such as opioidergic (Filmer et al., 2014; Nitsche et al., 2003), GABAergic (Nitsche et al., 2004), glutaminergic (Nitsche et al., 2003), cholinergic (Kuo et al., 2007), serotonergic (Nitsche et al., 2009) and dopaminergic (Nitsche et al., 2006).

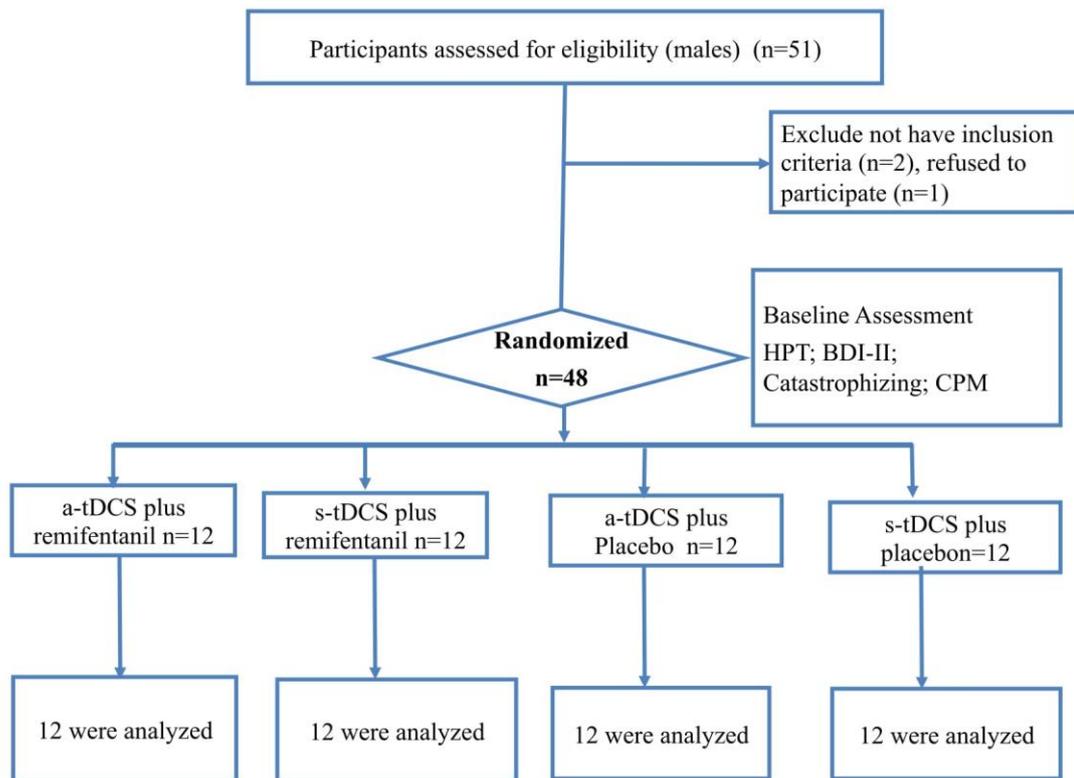
In this sense, to investigate the therapeutic effect of tDCS in OIH, we used accurate tests to evoke OIH, as well appropriate approaches to detect and measure its presence. According to previous studies, OIH is dependent on the nature of the pain model used, and the cold pain test has demonstrated to be the most sensitive of the methods tested in detecting opioid-related hyperalgesia (Rolan et al., 2012). Thus, due to the complex mechanisms of pain, innovative interventions should be tested in an experimental paradigm that allows us to characterize the etiological components of pain (nature, localization, intensity, frequency, and duration of the trigger to evoke pain). Hence, stimuli to elicit pain should be suitable to activate the pain pathways, while it being noninvasive and permit its repeated application (Olesen et al., 2012).

Taking this into account, and considering how transcranial Direct Current Stimulation (tDCS) modulates the thalamocortical synapses in a top-down manner, we hypothesized that the active (a)-t-DCS would be more effective than a sham(s)-tDCS to prevent r-IH. We used an experimental paradigm to induce temporal summation of pain utilizing a repetitive cold test (r-COLDT) assessed by the Numerical Pain Score (NPS 0-10) and we evaluated the function of the descending pain modulatory system (DPMS) by the change on the NPS (0-10) during the conditioned pain modulation (CPM)-task (primary outcomes). We tested whether a-tDCS would be more effective than s-tDCS to improve pain perception assessed by the heat pain threshold (HPT) and the reaction time during the Ice-Water Pain Test (IPT) (secondary outcomes).

## **Materials and Methods**

### **Design Overview, Settings, and Participants**

This is a randomized, double-blinded, parallel clinical trial, conducted by the CONSORT guidelines (Appendix 1). This study was registered at the ClinicalTrials.gov on April 6, 2015 (NCT02432677, investigator WC.). The Research Ethics Committee at the Hospital de Clinicas de Porto Alegre approved this protocol. All volunteers provided their written informed consent before participating in the study. The Experimental design, assessments, and interventions are presented in **figure 1**.



**Figure 1.** Randomization and follow-up of the study subject.

## Study Subjects

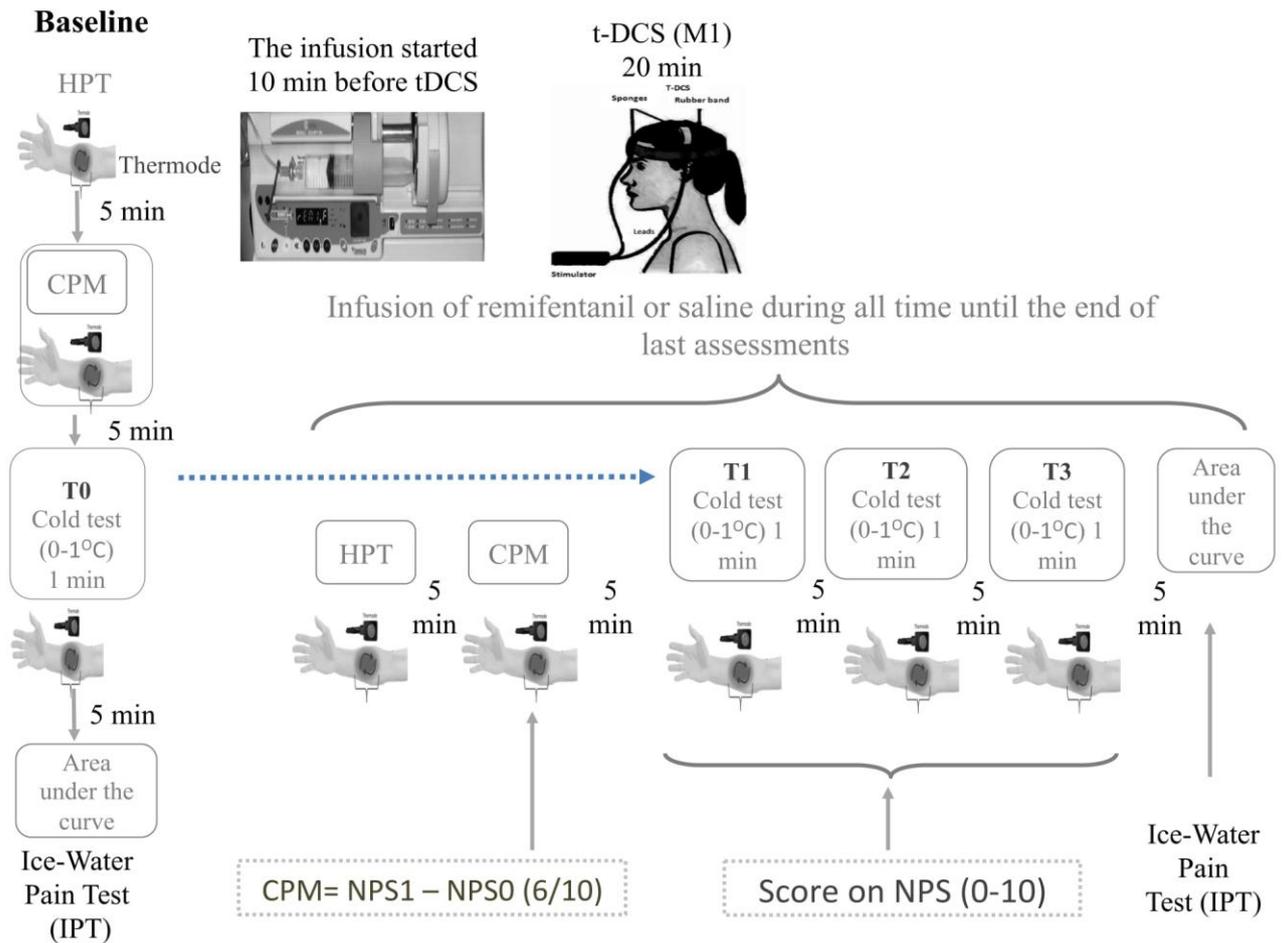
The volunteers were recruited from the general population by advertisement postings in public places in the Porto Alegre area. Participants were considered eligible to participate if they were male, right-handed, and between 19 and 40 years of age. They were screened for eligibility by phone to answer a structured questionnaire that assessed the following variables: sleep disorders, chronic diseases, substance abuse, or alcohol use in the past six months, use of psychotropic drugs,

history of brain surgery, tumor, stroke or implantation of intracranial metal. Individuals responding affirmatively to any of these questions, those with contraindications for tDCS (Fregni et al., 2015) or if they presented a score on the Beck Depression Inventory (BDI) higher than 13 were excluded (Warmenhoven et al., 2012). We include males only to exclude the influence of the cyclical fluctuation of gonadal steroids during the menstrual cycle on pain measures (Stefani et al., 2012).

## **Interventions**

Remifentanil and saline (NaCl 0.9%) placebo solutions were prepared in coded (indistinguishable) infusion syringes attached to a continuous syringe pump with a dose of  $0.06\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$  (Gustorff et al., 2001). Except for T0, all other pain stimuli in the experiment had a concomitant infusion of remifentanil or saline.

The tDCS anode, active or sham, was positioned over the primary motor cortex (M1), and the cathode was placed on the right supraorbital region. tDCS was introduced 10 min after the beginning of infusion (remifentanil or saline) to ensure adequate concentration at the effector site according to pharmacokinetic characteristics of the drug. Each tDCS session lasted for 20 min. The rubber electrodes were inserted into a  $35\text{-cm}^2$  sponge (moistened with NaCl). The current flow time and the intensity were set at 20 minutes and 2mA, respectively. In sham-tDCS, the current flow was applied only for 30 seconds and turned off, to prevent the subjects from recognizing it from active tDCS. The timeline of study is presented in **figure 2**.



**Figure 2.** Experimental design. Timeline of each assessment pre and post intervention. The Conditioned pain modulation (CPM) is determined by the score on Numerical Pain Scale (NPST1) during the test stimulus (T1) minus the score on NPST0 during the conditioned pain stimulus (T0). The T0 is defined by applying a heat stimulus to provoke a 6/10 in the NPS, which is determined individually before applying the heterotopic stimulus. To determine the T1, a heat pain stimulus is applied in the dominant arm to provoke a 6/10 in the NPS (0-10) when used simultaneously with a distant heterotopic nociceptive stimulus, generated by the immersion of the non-dominant hand in cold water (zero to 1°C) for 60 s. The area under the effect curve (AUEC) for reaction time (AUECVAS) is assessed during the Ice-Water Pain Test (IWPT), where the nociceptive stimuli were induced by the immersion of the hand in cold water (0 ± 1°C) for a maximum of 120 s. The Repetitive cold test (rCOLDT) was induced by the immersion of the non-dominant hand in cold water (zero to 1°C) for 60 s with a 5 min break between each trial.

## **Outcomes**

The primary outcome was the descending pain modulatory system function as assessed by the NPS (0-10) during the QST applied simultaneously with a painful heterotopic stimulus, the rCOLDT and the change on the NPS (0-10) during the CPM-task. The secondary outcomes were the ascendant pain pathway and cortical involvement which was assessed by the HPT and the reaction time evaluated by the area under the curve using a Visual Analogue Scale [AUCVAS].

### ***Primary Outcomes Assessment***

**i) CPM-task.** To measure the CPM-task, we assessed the pain intensity during two tonic HPT test stimuli separated by a CPM-task. To induce a prolonged pain sensation to trigger CPM we used the HPT. The CPM-task consisted of immersion of the non-dominant hand in cold water (zero to 1°C) for 60 sec. The QST procedure was introduced after 30 seconds of cold-water immersion over the right forearm (dominant forearm) using a temperature individually predetermined to produce a pain score of 6/10 in the NPS during the pretesting sessions. To determine the CPM, we used the difference between the pain score on the NPS (0-10) QST during cold-water immersion (QST+CPM) at the temperature of the point at which subjects felt 6/10 pain on the NPS scale [during the initial period (T0)].

**ii) rCOLDT.** To examine the temporal summation of the second pain, we used a trial of three identical nociceptive stimuli to elicit a pain score of 6/10 in the NPS (test stimulus). A 5min interval separated each trial. To produce a standard painful stimulus during each trial, they had to immerse their non-dominant hand in cold water (zero to 1°C) for 60-seconds. After 30-seconds of immersion, the test stimulus (QST) was applied, and they rated their pain on the NPS (0-10). The increase of 15% on the NPS (0-10) from the baseline was considered to present hyperalgesia. An

accepted criterion to define a minimally important change on the NPS (0-10) is a modification of 10–20% (Dworkin et al., 2009). Thus, we assumed that scores on the NPS (0-10) during the rCOLDT that present an increase of at least 15% or more from the baseline indicated a presence of hyperalgesia (Dworkin et al., 2009). For the subsequent analysis, they were categorized into two groups, according to scores on the NPS (0-10): presence of hyperalgesia (increase of 15% or more in their pain score from the baseline (T0)) or absence of hyperalgesia (a change lower than 15% in the NPS (0-10) during the three trials (T1 to T3)).

### ***Secondary Outcomes Assessment***

**iii) HPT** - The method of limits with a computer Peltier-based device thermode (30×30 mm) was used to assess the HPT (Schestatsky et al., 2011). The thermode was attached to the ventral aspect of the mid-forearm. The temperature was increased at a rate of 1°C/s, from 32°C to a maximum of 52°C. To determine the mean temperature of the HPT, we performed three assessments with an inter-stimuli interval of 40 seconds.

**iv) IWPT.** The non-dominant hand was immersed in ice water ( $0 \pm 1^\circ\text{C}$ ) for a maximum of 120s. The subjects were asked to continuously score their maximal pain intensity perceived on a 0–10 cm electronic visual analog scale (VAS), where 0 represents ‘no pain’ and 10 represents the ‘worst pain imaginable.’ Subjects were recorded as 120s if they did not withdraw their hand for the maximum time. For subsequent analysis of peak pain intensity, the area under the time curve was considered as well as the mean pain intensity. If a subject indicated 5cm pain (i.e. midpoint between no pain and maximum pain) for 120s, the AUEC value was 5cm \* 120s or 600cm \* sec. Higher values of

the area under the effect curve (AUEC) for reaction time (AUECVAS) indicates longer reaction time response.

### **Sample size**

The number of subjects in each study group was determined by the parameters of a previous survey (da Silva et al., 2015). To achieve 80% power at 1% significance, with a 0.5 variation coefficient, we need a total of 48 subjects divided into four equal groups (n=12) in 1:1:1:1 ratio to test 1 point [*Standard deviation* (SD= 2)] mean a difference between groups for the NPS (0-10). The NPS (0-10) was used to assess both primary outcomes (rCOLDT and CPM-task).

### **Randomization and Blinding**

The sequence of randomization was generated by a computer with a fixed block size of 6. Forty-eight subjects were randomly allocated to receive treatment (a-tDCS/saline, s-tDCS/saline, a-tDCS/remifentanil and s-tDCS/remifentanil). Before the recruitment phase, brown envelopes containing the protocol materials were prepared. Each envelope was sealed and numbered sequentially and contained an allocated treatment. Only the individuals responsible for administering the interventions were not blinded. All other participants were blinded to the allocated interventions.

### ***Other Instruments and Assessments***

Pain catastrophizing was assessed using the validated Brazilian-Pain Catastrophizing Scale (Sehn et al., 2012). Depression symptoms were screened using the BDI-II (Warmenhoven et al., 2012). We used the State-Trait Anxiety Inventory (STAI), adapted to Brazilian Portuguese, to measure the State-Trait Anxiety (Kaipper et al., 2010). The clinical assessment of sedation was determined by simultaneous recordings using a visual analog scale for sleepiness (VASS 0-100) ranging from zero 0 (completely awake) to 100 (sleepiness). To assess safety, we used the Systematic Assessment for Treatment with a-tDCS questionnaire based on previously reported adverse events.

---

### **Statistical Analyses**

The differences between groups were examined with the analysis of variance (ANOVA) for parametric variables or the Kruskal-Wallis tests for non-parametric distributions. Categorical variables were examined using chi-square or Fisher's exact and Kruskal-Wallis tests. The values are presented as the mean (standard deviation) or frequency. Continuous variables were tested for normality using the Shapiro-Wilks test.

A mixed ANCOVA model in which the independent variable was the time, the intervention (a-tDCS/saline, s-tDCS/saline, a-tDCS/remifentanil and s-tDCS/remifentanil), interaction time vs. the treatment group, and subject identification was used to analyze the score change on the NPS (0-10) during the rCOLDT test and the change on the NPS (0-10) during the CPM-task.

A multivariate covariance analysis (MANCOVA) model was used to explore effects between the intervention groups in the multiple outcomes [ $\Delta$ -AUECVAS and  $\Delta$ -HPT, the  $\Delta$  value (post-intervention minus pre-intervention)]. The effect of all intervention groups on the outcomes were adjusted by sleepiness. All analyses were corrected for multiple comparisons using the Bonferroni test. All analyses were performed with two-tailed tests. We accepted a type I error of 5%. Statistical analyses were performed assuming intention-to-treat. The analyses were performed with the SPSS version 22.0 (SPSS, Chicago, IL).

## **Results**

The characteristics were similar across the four groups as shown in Table 1 (all P values >0.1). The incidence of tDCS associated side effects was reported by <15% of subjects and it was similar between groups. Itching in several body regions was reported in 2 subjects (16.6%) and 4 subjects (33.3%) in the a-tDCS/Remifentanil and s-tDCS/Remifentanil, respectively. Nausea was reported in 4 subjects (33.3%) and in 5 subjects (41.6%) in the a-tDCS/remifentanil and s-tDCS/saline, respectively. Vomiting was reported in 1 subject (8.3%) in the s-tDCS/remifentanil group. However, the frequency of these adverse effects was not statistically different between groups. The scores on the VAS (0-100) showed that a-tDCS/remifentanil and s-tDCS/remifentanil-induced higher sleepiness than the other groups (P<0.01, for each comparison) (**Table 1**).

**Table 1.** Characteristics of the study sample. Values are given as the mean (SD) or as a frequency according to the group (n = 48).

	a-tDCS/ Remifentanil (n=12)	s-tDCS/ Remifentanil (n=12)	a-tDCS/ Saline (n=12)	s-tDCS/ Saline (n=12)	P
Age (years)	27.33(5.08)	26.08 (2.67)	26.09 (3.41)	26.09 (3.41)	0.78
Education (years)	16.33 (4.68)	16.56 (4.67)	16.56 (4.65)	19 (1.3)	0.19
Weight (Kg)	77(9.53)	73.62(9.27)	71.5 (7.9)	75.3(11.7)	0.45
State-anxiety	26.58 (2.34)	24. 0(8.1)	20.33 (12.6)	20.33 (12.6)	0.53
Trait-anxiety	31.08 (2.6)	30.4 (10.3)	22.08 (7.72)	25.16 (15.5)	0.32
Depressive symptoms on the Beck Inventory	4.0 (5.1)	2.6 (3.2)	3.70 (3.45)	3.7 (3.45)	0.84
Pain Catastrophizing Scale	5.84 (6.82)	7.67 (9.15)	6.44 (7.78)	4.46 (7.48)	0.31
Cumulative mean of sleepiness score on VAS throughout the trials (0-100)	60 (15.22) <sup>3,4</sup>	57.91 (27.17) <sup>3,4</sup>	1.25 (3.16) <sup>1,2</sup>	13.41 (15.92) <sup>1,2</sup>	0.00

***Treatment Effect on the Primary Outcome: NPS score during the rCOLDT and the change on NPS(0-10) during CPM-task.***

Mean  $\pm$  SD and median interquartile (Q25;75) of pain score on the NPS (0-10) during RCOLDT according to interventions at pre-intervention (T0), and post-intervention (T1 to T3) are presented in **Table 2**. The incidence of hyperalgesia was 22% in the group that received the a-tDCS/remifentanil compared to 8.3% in the group that received s-tDCS/placebo; the relative risk (RR) for the a-tDCS/remifentanil was 2.75 [confidence interval (CI) 95%, 1.26 to 5.88]. The incidence of hyperalgesia in the group that received the s-tDCS/remifentanil was 30.3% compared to s-tDCS/placebo, the RR for the s-tDCS/remifentanil was 3.87 (CI 95%, (1.87 to 8.01)). The incidence of hyperalgesia in the group that received the a-tDCS/saline was 11% compared to s-tDCS/saline, the RR for the s-tDCS/remifentanil was 1.38 (CI 95%, 0.58 to 3.27). We observed that the RR to show r-IH increased approximately four-fold when the s-tDCS/remifentanil was used. Although the a-tDCS combined with remifentanil reduced the incidence of r-IH in 8%, the RR to induce hyperalgesia was yet significantly greater than those not receiving remifentanil.

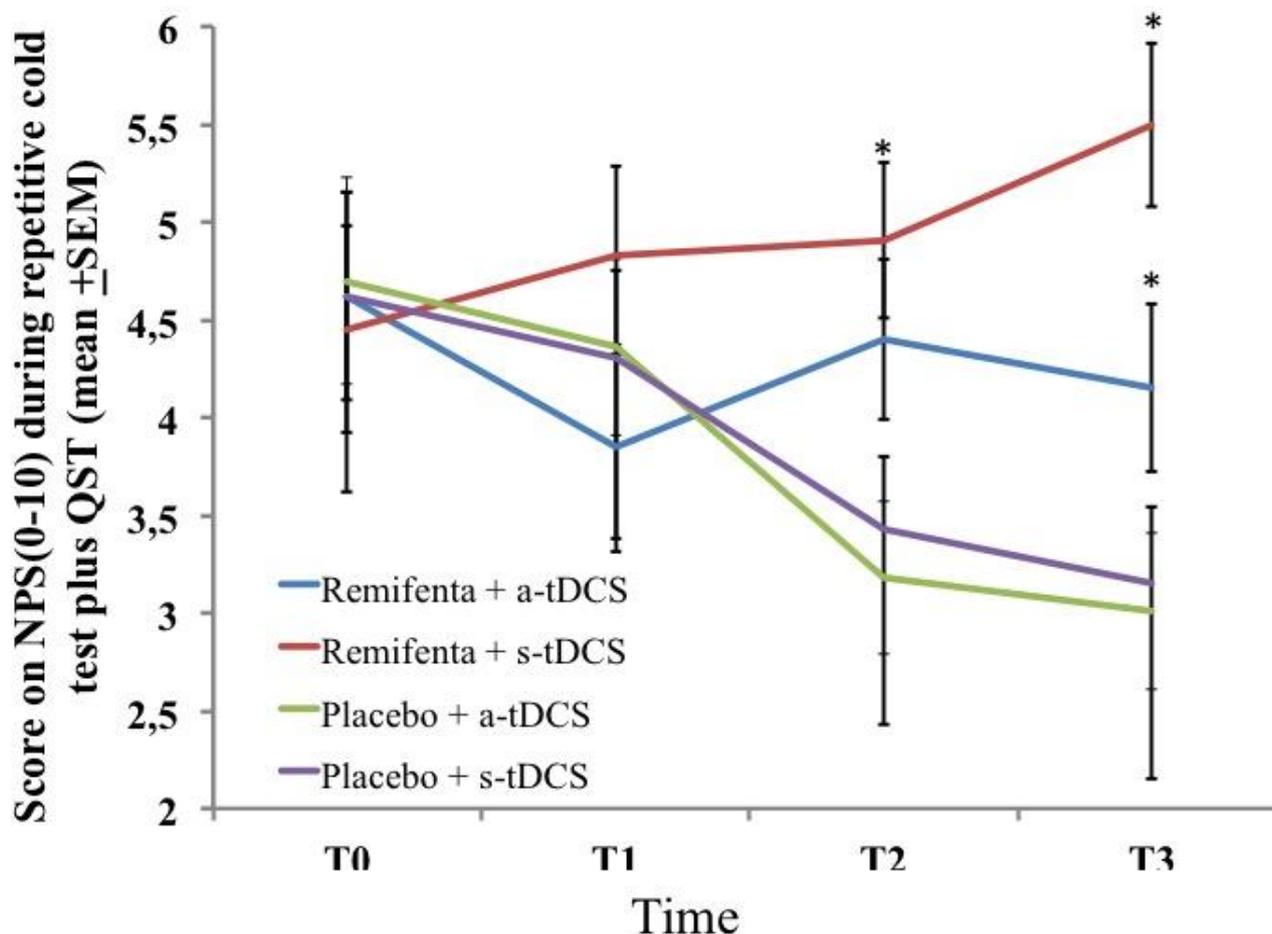
**Table 2.** Pain score on NPS (0-10) during rCOLDT according to groups: Mean  $\pm$  SD and median interquartile (Q<sub>25;75</sub>) pre-intervention (T0) and post-intervention (T1 to T3). OIH defined as an increase equal or higher than 15% on the NPS (0-10) from the T1 to T3 (n = 48.)

Pain Score on NPS (0-10) during rCOLDT (primary)								
Time	a-tDCS/Remifentanil		s-tDCS/Remifentanil		a-tDCS/Saline		s-tDCS/Saline	
	n=12		n=12		n=12		n=12	
	Mean (SD)	Median (Q <sub>25-75</sub> )	Mean (SD)	Median (Q <sub>25-75</sub> )	Mean (SD)	Median (Q <sub>25-75</sub> )	Mean (SD)	Median (Q <sub>25-75</sub> )
T0	4.5 (1.56)	4 (2 ; 7)	4.33 (2.10)	4 (1 ; 8)	4.58 (1.75)	4 (3 ; 8)	4.5 (1.62)	4.5 (2 ; 7)
T1	3.92 (1.74)	3.5 (1 ; 7)	4.95 (2.05)	4 (1 ; 7)	4.5 (1.5)	5 (2 ; 7)	4.25 (1.48)	4.5 (2 ; 6)
T2	4.35 (2.09)	4 (1 ; 6)	5.45 (1.92)	5 (1 ; 7)	3.83 (1.34)	3.5(2 ; 6)	3.5 (1.78)	3.5 (1 ; 7)
T3	4.20 (2.49)	4.5(0 ; 6)	5.85 (2.45)	5 (1 ; 8)	3.4 (1.24)	3 (2 ; 6)	2.92 (1.92)	3.72(0 ; 7)
OIH defined as an increase equal or higher than 15% on the NPS (0-10) from the T1 to T3								
	22% (8/36)		31% (11/36)		11% (4/36)		8.33% (3/36)	

*The incidence was calculated considering the number of measures after receiving the intervention (T1 to T3, that is three tests per each one of four interventions group, a total of 36 trials).*

A mixed ANCOVA model in which the independent variable was the time, the intervention (a-tDCS/saline, s-tDCS/saline, a-tDCS/remifentanil and s-tDCS/remifentanil), interaction time vs. the treatment group, and subject identification was used to analyze the score change on the NPS (0-10) during the rCOLDT test and the change on the NPS (0-10) during the CPM-task. The mean in the NPS (0-10) during the r-COLDT is presented in **Figure 3**. An ANCOVA mixed model revealed a significant main effect of interventions on the NPS (0-10) during the r-COLDT [F = 3.81; P = 0.01]. The analysis showed a significant interaction between the group of interventions and time [F= 2.04; P = 0.04]. The time effect was not observed (F=1.43; P = 0.23]. The effect of the sedation reported on the NPS (0-10) during the rCOLDT was not significant (F=0.76; P = 0.38).

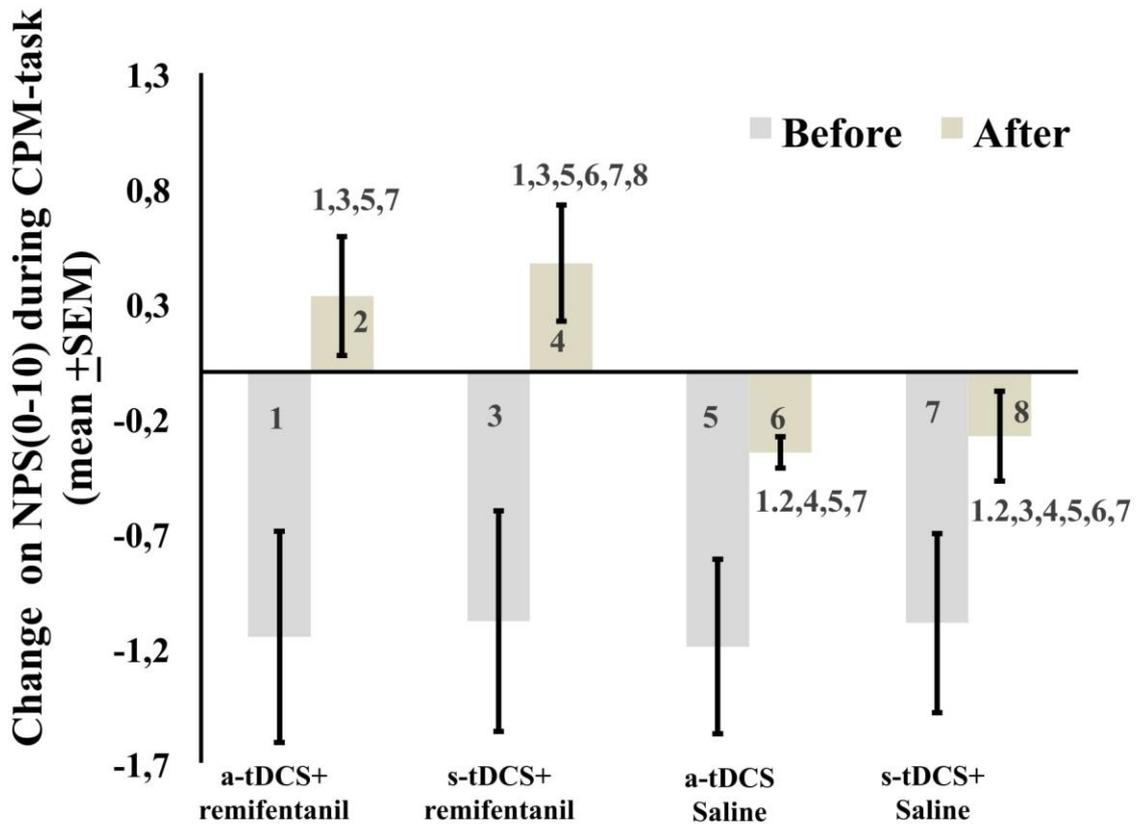
The change within the group was significant in all treatment groups ( $P < 0.001$ , for all comparisons). The mean (SD) on the NPS (0-10) during the r-COLDT pretreatment vs. the cumulative pain scores according to marginal means (T1 to T3) in the a-tDCS/remifentanil was 4.62 (1.56) vs. 4.15 (1.55) and for the s-tDCS/remifentanil group was 4.45 (2.10) vs. 5.49 (1.04), respectively. Whereas, for the a-tDCS/saline, these values were 4.7 (1.72) vs. 3.11 (1.2) and for the s-tDCS/saline group these values were 4.62 (1.62) vs. 3.15 (1.62), respectively. The difference in the mean [confidence interval (CI) 95%] within the a-tDCS/remifentanil group was 0.47 (CI, 95%, 0.04 to 0.90), a small effect size (Cohen's  $f=0.3$ ). The difference in the mean within the s-tDCS/remifentanil group was -1.04 (CI, 95%, -1.63 to -0.44), a medium effect size (Cohen's  $f^2=0.49$ ). Whereas in the a-tDCS/Saline, it was 1.59 (CI, 95%, 1.10 to 2.08), a large effect size (Cohen's  $f^2= 0.93$ ) and in the s-tDCS/saline it was 1.47 (CI, 95%, 1.01 to 1.93), a medium effect size (Cohen's  $f^2=0.72$ ). It is possible to see that the effect size in the groups receiving remifentanil was determined by the increase in pain scores in the cumulative pain scores during the treatment, whereas the effect size observed when they are receiving a-tDCS or s-tDCS with saline was determined by a decrease in the pain scores during the treatment.



**Figure 3.** The change in NPS (0–10) during rCOLDT, at baseline before intervention and in three trials after tDCS and continuous infusion of the remifentanil or placebo in the four experimental groups. The error bars indicate standard error of the mean. The asterisk (\*) indicates differences between the remifentanil combined to a-tDCS or sham groups. All comparisons were performed by a mixed analysis of variance model, followed by the Bonferroni test for post hoc multiple comparisons. Numerical Pain Scale (NPS 0–10).

The mean in the NPS (0-10) during the CPM-task is presented in **Figure 4**. An ANCOVA mixed model revealed a main effect of interventions on the CPM-task ( $P < 0.05$ ) [ $F = (7.95; 3) = P < 0.001$ ]. Also, there is a significant effect of time ( $F = 17.01; P < 0.001$ ) and a significant interaction between intervention and time ( $F = 3.75; P < 0.001$ ). The sleepiness level influenced the NPS during the CPM-task ( $F = 7.95, P < 0.001$ ). The change on the NPS (0-10) during the CPM-task

in groups receiving remifentanil showed positive values on the NPS scores, that is, it produced a disengagement of the descending pain modulatory system.



**Figure 4.** The change in NPS (0-10) during CPM-task, before intervention and immediately after in the four experimental groups. The error bars indicate standard error of the mean. Numbers show differences between four treatment groups. All comparisons were performed by a mixed analysis of variance model, followed by the Bonferroni test for post hoc multiple comparisons. Numerical Pain Scale (NPS0-10).

***Treatment Effects on the Time Reaction HPT and the AUECVAS for Pain (secondary outcomes)***

Patients receiving (a-tDCS/remifentanil), (s-tDCS/remifentanil) and (a-tDCS/ saline) showed a greater HPT compared to (s-tDCS/saline). Their effect size assessed by the SDM within the (a-tDCS/remifentanil) group was 0.85 while the (s-tDCS/remifentanil) was 0.37. That is, the s-tDCS/remifentanil showed lower HPT compared to a-tDCS combined with the remifentanil or saline (**Table 2**). A MANCOVA analysis revealed a significant relationship between the intervention groups and the HPT as well as in the AUECVAS (Hotelling's Trace = 0.78,  $F(9) = 3.41$ ,  $P < 0.001$ ). The power of this analysis was 98%.

Sleepiness was inversely correlated with the response to the ice-water pain test assessed by the AUECVAS, in the sense that more sleepiness was associated with greater reaction time. The sleepiness had a medium effect size (*Cohen's*  $f^2=0.31$ ) for the pain measured by AUECVAS ( $r$ -squared = 0.07, standard  $\beta$  coefficient =  $-2.72$ ,  $t = -0.58$ , both  $P < 0.001$ ). While the Sleepiness level had a small effect size for the HPT (*Cohen's*  $f^2=0.09$ ) ( $r$ -squared = 0.07, standard  $\beta$  coefficient = 0.02,  $t = 2.16$ , both  $P < 0.001$ ). The multivariate model is presented in **Table 3**.

**Table 3.** Treatment effect on HPT and AUECVAS between Groups: between Groups: Mean  $\pm$  SD, pre-intervention to post-intervention, mean difference with the confidence interval (95% CI) and standardize difference mean (SDM) (n = 48).

	Pre- intervention	Post- intervention	Mean difference (pre-intervention – post-intervention, 95% CI)	SDM
<b>Heat Pain Threshold (°C) (secondary)</b>				
a-tDCS/Remifentanil	43.54 (3.13)	46.20 (2.80)	- 2.66 (-1.35 to - 3.97) <sup>a</sup>	0.85
s-tDCS/Remifentanil	42.63 (1.95)	43.35 (2.04)	- 0.72 (-0.35 to -1.79) <sup>b</sup>	0.37
a-tDCS/Saline	43.44 (2.62)	45.17 (3.00)	- 1.73 (-0.90 to - 2.56) <sup>a</sup>	0.66
s-tDCS/Saline	43.72 (2.55)	43.50 (2.32)	0.22 (-1.15 to 0.70) <sup>c</sup>	0.09
P value <sup>¥</sup>	0.02			
<b>Ice-Water Pain Test (IPT) (area-under-the-time-response curve (AUC) (secondary)</b>				
a-tDCS/Remifentanil	952.85 (139.06)	777.66 (223.65)	-175.19 (- 284.18 to - 66.20) <sup>b,c</sup>	1.26
s-tDCS/Remifentanil	1036.43 (90.02)	802.88 (184.71)	-233.55 (- 315.38 to -151.72) <sup>b,c</sup>	2.59
a-tDCS/Saline	1020.10 (120.32)	1003.21 (127.54)	-16.89 (- 68.80 to 35.02) <sup>a</sup>	0.15
s-tDCS/Saline	1003.31 (84.15)	1005.33 (76.64)	2.03 (- 24.45 to 28.50) <sup>a</sup>	0.03
P value <sup>¥</sup>	0.02			

R2 = 0.39. Repetitive cold test (RCOLDT).

SD, standard deviation; CI, confidence interval; tDCS, transcranial direct current stimulation.

Standardized mean difference (SMD) [(post minus pre)/baseline standard deviation the baseline standard deviation (SD) of sham tDCS/saline].

The effect size was interpreted as follows: small, 0.20; moderate, 0.50–0.60 and large, 0.80.

Comparisons between the a-tDCSCremifentanil, s-tDCSCremifentanil, a-tDCSCsaline analgesia, s-tDCSCsaline analgesia groups performed using MANCOVA.

Different superscripts (a, b, c) indicate significant difference among treatment groups after post hoc analysis adjusted by Bonferroni (P < 0.05).

## **Discussion**

The main results of this study can be summarized by three major findings: (1) we showed that r-IH involves the dysfunction of the inhibitory pathways or up-regulation of the pain-facilitating pathways. This effect was demonstrated by the disengagement of the descending pain modulatory system (DPMS) measured by the change in the NPS (0-10) during the CPM-task and by the summation effect on pain scores during the rCOLDT; (2) a-tDCS blocks r-IH. (3) a-tDCS/saline (as compared with s-tDCS/saline) has no effect on pain modulation during the rCOLDT in healthy subjects (likely due to a floor effect). Finally, according to the AUECVAS measurements, adjusted by the sleepiness, the remifentanil group showed a longer reaction time during the IPT compared to the other groups while the a-tDCS improved the HPT.

a-tDCS induced a large size effect to prevent r-IH, an effect with a statistical significance and further clinical relevance, especially because opioids are a powerful tool in the treatment of pain. Also, because OIH has been described with acute and chronic exposure, even using different types of opioids at high and low doses (Chen, 2014). Thereby, r-IH may be explained by a hyperexcitability of the dorsal horn neurons leading to an enhanced pain perception (Porreca et al., 2002). Also, according to previous reports, an increase of  $\mu$ -opioid receptor binding may decrease the ability to recruit endogenous opioids (Zubieta et al., 2003) and paradoxically increase the pain intensity or sensitivity (Lee et al., 2011). Another study observed that a high-dose of remifentanil decreased the mechanical hyperalgesia threshold and enhanced pain intensity (Lee et al., 2013). Additionally, previous studies provided convincing evidence that the mechanisms of OIH are a consequence of NMDA receptor activation, an increase of spinal excitatory neuropeptides induced by an increase of spinal dynorphins such as calcitonin gene-related peptide (CGRP) leading to a reduction in the reuptake of neurotransmitters that mediate nociception such as glutamate and substance P (Youssef F, Pater A, 2015).

The effect of tDCS mitigates part of the dysfunction in pain pathways induced by remifentanil as displayed by its effect on the NPS during the rCOLDT. This result fits nicely with the putative effects of tDCS in chronic neuropathic pain (Maarrawi et al., 2013). In this condition, it is believed that a lack of afferent stimuli may over-activate thalamic centers resulting in over processing of any sensory stimulus (Bolognini et al., 2013). Primary motor cortex stimulation during a-tDCS can re-establish this deafferentation partially. Our findings suggest that r-IH has a similar effect of blocking afferent sensory processing (inducing similar mechanisms of central sensitization), which a-tDCS seems to block. According to anatomical and electrophysiological data, the caudal medulla sub nucleus reticular dorsal (SRD) in the spinal bulb spinal loops are preferentially or exclusively activated by nociceptive stimuli (Wei et al., 2012). Hence, the responses of SRD neurons to noxious stimuli depend on the intensity and spatiotemporal features of the noxious stimuli, and in rodents, the SRD establishes reciprocal connections with the periaqueductal gray (Morgan et al., 1992). Thus, this is a plausible mechanism that may be involved in r-IH as observed in the current study, which we can indirectly assess.

Also, the r-IH observed in our study are aligned with the previous study, which measured the diffuse noxious inhibitory control (DNIC), in which exogenous opioids suppressed the endogenous opioid system and led to an increased sensitivity to pain (Ram et al., 2008). However, it is pertinent to emphasize that the greater pain score observed when individuals received remifentanil, without an anodal stimulation of M1, may be explained by a lack of the counteracting effects as described in the previous study using fMRI (Borsook and Becerra, 2006). This indicates that anodal stimulation of the M1 activates the endogenous opioid system (DosSantos et al., 2014). Apparently, another factor may be involved in this response, such as genetic polymorphism as reported in an experiment with healthy subjects after a single opioid administration (Jensen et al., 2009) and in a group of cancer patients (Rakvåg et al., 2005), which showed that after a single

opioid administration, a repeated painful stimulus produced a hyperalgesic effect, which was associated with the COMT val158met polymorphism. The hypothesis of the involvement of the opioidergic system in tDCS is plausible if one considers that the endogenous opioid system is one important target of motor cortex stimulation to treat pain (Maarrawi, 2007). Accordingly, previous studies showed that the density of opioid receptors predicted pain relief when the motor cortex is stimulated either in those suffering chronic or acute postoperative pain (Maarrawi et al., 2013). Similarly, after a single session of anodal M1-tDCS a decreased binding of the selective  $\mu$ -opioid receptor agonist [11-C] Carfentanil in pain-related regions (e.g., thalamus, precuneus, PAG, prefrontal cortex and the anterior cingulate cortex) was observed in healthy subjects (DosSantos et al., 2014) as well as in the injured subjects (DosSantos et al., 2012). Therefore, the present results also indicate the contribution of the endogenous opioid system in the analgesic effects induced by M1-a-tDCS.

The central role of the glutamatergic system to induce OIH may be due to an increase of glutamate available to NMDA receptors by a decreased reuptake of glutamate (Lee et al., 2011). However, in the human, this effect can be assessed only indirectly by behavioral and psychophysical measures. Although the neurobiological processes involved in the effect of a-tDCS to modulate hyperalgesia induced by remifentanil is not clear, we can at least propose that there is an improvement in the dysfunction of the descending pain modulatory system with tDCS treatment. Even though this is a matter of intense debate, an antidromic modulation of thalamocortical pathways occurs when the motor cortex is stimulated, which plays a central role in the analgesia induced by M1 to decrease pain-induced thalamic hyperactivity (Tsubokawa et al., 1993). However, further studies are necessary to establish the clinical relevance for tDCS counteracting hyperalgesia induced by remifentanil.

It is important to address several issues concerning the design of our study: First, we include males only to exclude the influence of the cyclical fluctuation of gonadal steroids during the menstrual cycle on pain threshold in females (Smith et al., 2002). Second, when opioids are applied, the blinding can be troublesome due to their side effects. Sedation might mainly affect the pain scores and the reaction-time. These effects can explain the higher rate of individuals guessing the intervention correctly when they received remifentanil compared to subjects who did not. However, sedation is an intrinsic property of opioids. Thus, its effect was considered in the analysis to control its possible confounding effect. Thereby, it is improbable that unblinding changes the directions of our conclusions. Third, using this experimental design to induce sensitization, the RR of remifentanil induced hyperalgesia increased significantly, similarly to the incidence reported in previous studies run in clinical settings (Fletcher and Martinez, 2014). Thereby, these results enforce the theory that remifentanil can induce hyperalgesia and the a-tDCS can partially block this paradoxical effect. Fourth, it is important to take into account that we used a cutoff point in the percentage of increase NPS (0-10) to define hyperalgesia based on a clinical criteria to define a clinical effect with a minimal relevance (Dworkin et al., 2009). Fourth, tDCS is a low-cost technique with a low incidence of minor adverse effects. It is easy to apply and it is an efficient technical solution to conduct blinded studies of both the patients and experimenters (Gandiga et al., 2006). Finally, the greater reaction time in the groups that received remifentanil compared to the others that not received remifentanil can be explained by the sedation analgesia effect of opioids. However, in the groups s-tDCS/remifentanil and s-tDCS/saline, a lower HPT was observed compared to the groups that received a-tDCS, either combined with remifentanil or saline. In fact, this result is in agreement with previous studies which showed that a-tDCS improved the pain threshold (Vaseghi et al., 2015). On the other hand, the current results are in disagreement with previous studies that showed a higher sensitivity in the pain perception by the QST, either in patients managed with long-term opioid therapy (Compton et al., 2001) or after acute opioid

dependence in nonaddicted humans (Compton et al., 2003). A possible reason to explain these differences between our findings and previous studies is the type of opioids, dose and sample characteristics.

In conclusion, these findings suggest that effects of a-tDCS prevent the summation response induced by r-IH during r-COLDT, and also that a-tDCS blocked the disengagement of DPMS. Thereby, they revealed that tDCS could be a new approach at contra-regulating paradoxical mechanisms involved in r-IH. In fact, these results have physiological implications to support an understanding of the mechanisms involved in the pathophysiology of r-IH as well as supporting the development of new approaches to treat OIH.

#### **Disclosures:**

Dr. Gilberto reports no disclosures; Dr. Savio reports no disclosures; Dr. Fabricio reports no disclosures; Dr. Andre reports no disclosures; Dr. Luciana reports no disclosures; Ana reports no disclosures; Prof. Fregni reports no disclosures.

*The present research was supported by the following governmental Brazilian agencies:*

Research grant: National Council for Scientific and Technological Development-CNPq (I.L.S. 302345/2011-6 Torres and W. Caumo WC-301256/2013-6)

Brazilian Innovation Agency (FINEP) process number - 1245/13.

The Foundation of Support of Research at Rio Grande do Sul (FAPERGS) and Committee for the Development of Higher Education Personnel (W. Caumo).

## **Acknowledgments**

Assistance, medicines, equipment, and administrative support: Postgraduate Research Group at the Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Number: 13-0155.

### *Declaration of interests:*

We affirm that we did not have support from any other organization for the submitted work.

## REFERENCES

- Bolognini, N., Olgiati, E., Maravita, A., Ferraro, F., and Fregni, F. (2013). Motor and parietal cortex stimulation for phantom limb pain and sensations. *Pain* 154, 1274–80. doi:10.1016/j.pain.2013.03.040.
- Borsook, D., and Becerra, L. R. (2006). Breaking down the barriers: fMRI applications in pain, analgesia and analgesics. *Mol. Pain* 2, 30. doi:10.1186/1744-8069-2-30.
- Bouhassira, D., Chitour, D., Villanueva, L., and Le Bars, D. (1993). Morphine and diffuse noxious inhibitory controls in the rat: effects of lesions of the rostral ventromedial medulla. *Eur. J. Pharmacol.* 232, 207–15. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8467858>.
- Bouhassira, D., Villanueva, L., and Le Bars, D. (1992). Effects of systemic morphine on diffuse noxious inhibitory controls: role of the periaqueductal grey. *Eur. J. Pharmacol.* 216, 149–56. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1397003>.
- Celerier, E., Laulin, J., Corcuff, J., Le Moa, G., and Simonnet, G. (2001). Progressive enhancement of delayed hyperalgesia induced by repeated heroin administration: A sensitization process. *J. Neurosci.* 21, 4074–4080. doi:21/11/4074 [pii].
- Chen, L. (2014). What Do We Know about opioid induced hyperalgesia. *J. Clin. Outcomes Manag.* 21, 169–175. doi:<http://dx.doi.org/10.1108/17506200710779521>.
- Chu, L. F., Clark, D. J., and Angst, M. S. (2006). Opioid tolerance and hyperalgesia in chronic pain patients after one month of oral morphine therapy: a preliminary prospective study. *J. Pain* 7, 43–8. doi:10.1016/j.jpain.2005.08.001.
- Compton, P., Athanasos, P., and Elashoff, D. (2003). Withdrawal hyperalgesia after acute opioid physical dependence in nonaddicted humans: a preliminary study. *J. Pain* 4, 511–9. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14636819>.
- Compton, P., Charuvastra, V. C., and Ling, W. (2001). Pain intolerance in opioid-maintained former opiate addicts: effect of long-acting maintenance agent. *Drug Alcohol Depend.* 63, 139–46. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11376918>.
- da Silva, N. R. J., Laste, G., Deitos, A., Stefani, L. C., Cambraia-Canto, G., Torres, I. L. S., et al. (2015). Combined neuromodulatory interventions in acute experimental pain: assessment of melatonin and non-invasive brain stimulation. *Front. Behav. Neurosci.* 9, 77. doi:10.3389/fnbeh.2015.00077.
- DaSilva, A. F., Volz, M. S., Bikson, M., and Fregni, F. (2011). Electrode positioning and montage in transcranial direct current stimulation. *J. Vis. Exp.* doi:10.3791/2744.
- Dorp, E. L. A. Van, Kest, B., Ph, D., Kowalczyk, W. J., Sc, M., and Morariu, A. M. (2009). Morphine-6<sub>NL</sub>-glucuronide Rapidly Increases Pain Sensitivity Independently of Opioid Receptor Activity in. 1356–1363.
- DosSantos, M. F., Love, T. M., Martikainen, I. K., Nascimento, T. D., Fregni, F., Cummiford, C., et al. (2012). Immediate effects of tDCS on the  $\mu$ -opioid system of a chronic pain patient. *Front. psychiatry* 3, 93. doi:10.3389/fpsy.2012.00093.
- DosSantos, M. F., Martikainen, I. K., Nascimento, T. D., Love, T. M., DeBoer, M. D., Schambra, H. M., et al. (2014). Building up analgesia in humans via the endogenous  $\mu$ -opioid system by

combining placebo and active tDCS: A preliminary report. *PLoS One* 9, 1–10.  
doi:10.1371/journal.pone.0102350.

Dworkin, R. H., Turk, D. C., McDermott, M. P., Peirce-Sandner, S., Burke, L. B., Cowan, P., et al. (2009). Interpreting the clinical importance of group differences in chronic pain clinical trials: IMMPACT recommendations. *Pain* 146, 238–44. doi:10.1016/j.pain.2009.08.019.

Filmer, H. L., Dux, P. E., and Mattingley, J. B. (2014). Applications of transcranial direct current stimulation for understanding brain function. *Trends Neurosci.* 37, 742–53.  
doi:10.1016/j.tins.2014.08.003.

Fishbain, D. A., Cole, B., Lewis, J. E., Gao, J., and Rosomoff, R. S. (2009). Do opioids induce hyperalgesia in humans? An evidence-based structured review. *Pain Med.* 10, 829–839.  
doi:10.1111/j.1526-4637.2009.00653.x.

Fletcher, D., and Martinez, V. (2014). Opioid-induced hyperalgesia in patients after surgery: a systematic review and a meta-analysis. *Br. J. Anaesth.* 112, 991–1004.  
doi:10.1093/bja/aeu137.

Fregni, F., Boggio, P. S., Lima, M. C., Ferreira, M. J. L., Wagner, T., Rigonatti, S. P., et al. (2006). A sham-controlled, phase II trial of transcranial direct current stimulation for the treatment of central pain in traumatic spinal cord injury. *Pain* 122, 197–209.  
doi:10.1016/j.pain.2006.02.023.

Fregni, F., Nitsche, M. A., Loo, C. K., Brunoni, A. R., Marangolo, P., Leite, J., et al. (2015). Regulatory Considerations for the Clinical and Research Use of Transcranial Direct Current Stimulation (tDCS): review and recommendations from an expert panel. *Clin. Res. Regul. Aff.* 32, 22–35. doi:10.3109/10601333.2015.980944.

Gandiga, P. C., Hummel, F. C., and Cohen, L. G. (2006). Transcranial DC stimulation (tDCS): a tool for double-blind sham-controlled clinical studies in brain stimulation. *Clin. Neurophysiol.* 117, 845–850. doi: 10.1016/j.clinph.2005. 12.003

Giordano, J., Bikson, M., Kappenman, E. S., Clark, V. P., Coslett, H. B., Hamblin, M. R., et al. (2017). Mechanisms and Effects of Transcranial Direct Current Stimulation. *Dose-Response* 15, 155932581668546. doi:10.1177/1559325816685467.

Gustorff, B., Felleiter, P., Nahlik, G., Brannath, W., Hoerauf, K. H., Spacek, A., et al. (2001). The effect of remifentanil on the heat pain threshold in volunteers. *Anesth. Analg.* 92, 369–74. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11159234>.

Hadjipavlou, G., Dunckley, P., Behrens, T. E., and Tracey, I. (2006). Determining anatomical connectivities between cortical and brainstem pain processing regions in humans: A diffusion tensor imaging study in healthy controls. *Pain* 123, 169–178. doi:10.1016/j.pain.2006.02.027.

Hahnenkamp, K., Nollet, J., Van Aken, H. K., Buerkle, H., Halene, T., Schauerte, S., et al. (2004). Remifentanil directly activates human N-methyl-D-aspartate receptors expressed in *Xenopus laevis* oocytes. *Anesthesiology* 100, 1531–7. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15166575>.

Jensen, K. B., Lonsdorf, T. B., Schalling, M., Kosek, E., and Ingvar, M. (2009). Increased sensitivity to thermal pain following a single opiate dose is influenced by the COMT val158 met polymorphism. *PLoS One* 4, 2–6. doi:10.1371/journal.pone.0006016.

- Joly V, Richebe P, Guignard B, Fletcher D, Maurette P, Sessler DI, C. M. (2005). Remifentanil-induced postoperative hyperalgesia and its prevention with small-dose ketamine. *Anesthesiology* 103, 147–55.
- Kaipper, M. B., Chachamovich, E., Hidalgo, M. P. L., Torres, I. L. da S., and Caumo, W. (2010). Evaluation of the structure of Brazilian State-Trait Anxiety Inventory using a Rasch psychometric approach. *J. Psychosom. Res.* 68, 223–33. doi:10.1016/j.jpsychores.2009.09.013.
- Kim, S. H., Stoicea, N., Soghomonyan, S., and Bergese, S. D. (2014). Intraoperative use of remifentanil and opioid induced hyperalgesia/acute opioid tolerance: Systematic review. *Front. Pharmacol.* 5 MAY, 1–9. doi:10.3389/fphar.2014.00108.
- Kuo, M.-F., Grosch, J., Fregni, F., Paulus, W., and Nitsche, M. A. (2007). Focusing effect of acetylcholine on neuroplasticity in the human motor cortex. *J. Neurosci.* 27, 14442–7. doi:10.1523/JNEUROSCI.4104-07.2007.
- Le Bars, D., Chitour, D., Kraus, E., Clot, A. M., Dickenson, A. H., and Besson, J. M. (1981). The effect of systemic morphine upon diffuse noxious inhibitory controls (DNIC) in the rat: evidence for a lifting of certain descending inhibitory controls of dorsal horn convergent neurones. *Brain Res.* 215, 257–74. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7260590>.
- Le Bars, D., Willer, J. C., and De Broucker, T. (1992). Morphine blocks descending pain inhibitory controls in humans. *Pain* 48, 13–20. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1738569>.
- Lee, C., Kim, Y. D., and Kim, J. N. (2013). Antihyperalgesic effects of dexmedetomidine on high-dose remifentanil-induced hyperalgesia. *Korean J. Anesthesiol.* 64, 301–307. doi:10.4097/kjae.2013.64.4.301.
- Lee, M., Silverman, S. M., Hansen, H., Patel, V. B., and Manchikanti, L. (2011). A comprehensive review of opioid-induced hyperalgesia. *Pain Physician* 14, 145–161.
- Maarrawi, J. (2007). Motor cortex stimulation for pain control induces changes in the endogenous opioid system. 827–834.
- Maarrawi, J., Peyron, R., Mertens, P., Costes, N., Magnin, M., Sindou, M., et al. (2013). Brain opioid receptor density predicts motor cortex stimulation efficacy for chronic pain. *Pain* 154, 2563–8. doi:10.1016/j.pain.2013.07.042.
- Morgan, M. M., Heinricher, M. M., and Fields, H. L. (1992). Circuitry linking opioid-sensitive nociceptive modulatory systems in periaqueductal gray and spinal cord with rostral ventromedial medulla. *Neuroscience* 47, 863–71. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1579215>.
- Nitsche, M. A., Fricke, K., Henschke, U., Schlitterlau, A., Liebetanz, D., Lang, N., et al. (2003). Pharmacological modulation of cortical excitability shifts induced by transcranial direct current stimulation in humans. *J. Physiol.* 553, 293–301. doi:10.1113/jphysiol.2003.049916.
- Nitsche, M. A., Kuo, M.-F., Karrasch, R., Wächter, B., Liebetanz, D., and Paulus, W. (2009). Serotonin affects transcranial direct current-induced neuroplasticity in humans. *Biol. Psychiatry* 66, 503–8. doi:10.1016/j.biopsych.2009.03.022.
- Nitsche, M. A., Lampe, C., Antal, A., Liebetanz, D., Lang, N., Tergau, F., et al. (2006).

Dopaminergic modulation of long-lasting direct current-induced cortical excitability changes in the human motor cortex. *Eur. J. Neurosci.* 23, 1651–7. doi:10.1111/j.1460-9568.2006.04676.x.

- Nitsche, M. A., Liebetanz, D., Schlitterlau, A., Henschke, U., Fricke, K., Frommann, K., et al. (2004). GABAergic modulation of DC stimulation-induced motor cortex excitability shifts in humans. *Eur. J. Neurosci.* 19, 2720–6. doi:10.1111/j.0953-816X.2004.03398.x.
- Olesen, A. E., Andresen, T., Staahl, C., and Drewes, A. M. (2012). Human experimental pain models for assessing the therapeutic efficacy of analgesic drugs. *Pharmacol. Rev.* 64, 722–79. doi:10.1124/pr.111.005447.
- Porreca, F., Ossipov, M. H., and Gebhart, G. F. (2002). Chronic pain and medullary descending facilitation. *Trends Neurosci.* 25, 319–325. doi:10.1016/S0166-2236(02)02157-4.
- Rakvåg, T. T., Klepstad, P., Baar, C., Kvam, T. M., Dale, O., Kaasa, S., et al. (2005). The Val158Met polymorphism of the human catechol-O-methyltransferase (COMT) gene may influence morphine requirements in cancer pain patients. *Pain* 116, 73–78. doi:10.1016/j.pain.2005.03.032.
- Ram, K. C., Eisenberg, E., Haddad, M., and Pud, D. (2008). Oral opioid use alters DNIC but not cold pain perception in patients with chronic pain - New perspective of opioid-induced hyperalgesia. *Pain* 139, 431–438. doi:10.1016/j.pain.2008.05.015.
- Ribeiro, H., Sesterhenn, R. B., Souza, A. de, Souza, A. C. de, Alves, M., Machado, J. C., et al. (2017). Preoperative transcranial direct current stimulation: Exploration of a novel strategy to enhance neuroplasticity before surgery to control postoperative pain. A randomized sham-controlled study. *PLoS One* 12, e0187013. doi:10.1371/journal.pone.0187013.
- Rolan, P., Krishnan, Salter, Sullivan, White, and Gentgall (2012). Comparison of pain models to detect opioid-induced hyperalgesia. *J. Pain Res.*, 99. doi:10.2147/JPR.S27738.
- Salengros, J.-C., Huybrechts, I., Ducart, A., Faraoni, D., Marsala, C., Barvais, L., et al. (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. *J. Cardiothorac. Vasc. Anesth.* 24, 608–16. doi:10.1053/j.jvca.2009.10.006.
- Schestatsky, P., Stefani, L. C., Sanches, P. R., Silva Júnior, D. P. da, Torres, I. L. S., Dall-Agnol, L., et al. (2011). Validation of a Brazilian quantitative sensory testing (QST) device for the diagnosis of small fiber neuropathies. *Arq. Neuropsiquiatr.* 69, 943–8. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22297885>.
- Sehn, F., Chachamovich, E., Vidor, L. P., Dall-Agnol, L., de Souza, I. C. C., Torres, I. L. S., et al. (2012). Cross-cultural adaptation and validation of the Brazilian Portuguese version of the pain catastrophizing scale. *Pain Med.* 13, 1425–35. doi:10.1111/j.1526-4637.2012.01492.x.
- Smith, M. J., Adams, L. F., Schmidt, P. J., Rubinow, D. R., and Wassermann, E. M. (2002). Effects of ovarian hormones on human cortical excitability. *Ann. Neurol.* 51, 599–603. doi:10.1002/ana.10180.
- Stagg, C. J., Best, J. G., Stephenson, M. C., O’Shea, J., Wylezinska, M., Kincses, Z. T., et al. (2009). Polarity-sensitive modulation of cortical neurotransmitters by transcranial stimulation. *J. Neurosci.* 29, 5202–6. doi:10.1523/JNEUROSCI.4432-08.2009.

- Stefani, L. C., Torres, I. L. da S., de Souza, I. C. C., Rozisky, J. R., Fregni, F., and Caumo, W. (2012). BDNF as an effect modifier for gender effects on pain thresholds in healthy subjects. *Neurosci. Lett.* 514, 62–66. doi:10.1016/j.neulet.2012.02.057.
- Stoicea, N., Russell, D., Weidner, G., Durda, M., Joseph, N. C., Yu, J., et al. (2015). Opioid-induced hyperalgesia in chronic pain patients and the mitigating effects of gabapentin. *Front. Pharmacol.* 6. doi:10.3389/fphar.2015.00104.
- Tsubokawa, T., Katayama, Y., Yamamoto, T., Hirayama, T., and Koyama, S. (1993). Chronic motor cortex stimulation in patients with thalamic pain. *J. Neurosurg.* 78, 393–401. doi:10.3171/jns.1993.78.3.0393.
- Vaseghi, B., Zoghi, M., and Jaberzadeh, S. (2015). How Does Anodal Transcranial Direct Current Stimulation of the Pain Neuromatrix Affect Brain Excitability and Pain Perception? A Randomised, Double-Blind, Sham-Control Study. *PLoS One* 10, e0118340. doi:10.1371/journal.pone.0118340.
- Warmenhoven, F., van Rijswijk, E., Engels, Y., Kan, C., Prins, J., van Weel, C., et al. (2012). The Beck Depression Inventory (BDI-II) and a single screening question as screening tools for depressive disorder in Dutch advanced cancer patients. *Support. Care Cancer* 20, 319–24. doi:10.1007/s00520-010-1082-8.
- Wei, F., Gu, M., and Chu, Y.-X. (2012). New tricks for an old slug: descending serotonergic system in pain. *Sheng Li Xue Bao* 64, 520–30. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23090493>.
- Willer, J. C., Le Bars, D., and De Broucker, T. (1990). Diffuse noxious inhibitory controls in man: involvement of an opioidergic link. *Eur. J. Pharmacol.* 182, 347–55. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2168836>.
- Youssef F, Pater A, S. M. (2015). Opioid-Induced Hyperalgesia. *J. Pain Reli.* 4. doi:10.4172/2167-0846.1000183.
- Yu, E. H. Y., Tran, D. H. D., Lam, S. W., and Irwin, M. G. (2016). Remifentanil tolerance and hyperalgesia: short-term gain, long-term pain? *Anaesthesia* 71, 1347–1362. doi:10.1111/anae.13602.
- Zubieta, J.-K., Heitzeg, M. M., Smith, Y. R., Bueller, J. a, Xu, K., Xu, Y., et al. (2003). COMT val 158 met Genotype Affects m -Opioid Neurotransmitter Responses to a Pain Stressor. *Science* 299, 1240–3. doi:10.1126/science.1078546.

## **7. Considerações finais**

### **7.1 Conclusões**

A principal conclusão que nosso estudo proporcionou foi a demonstração de que a hiperalgesia induzida pelo remifentanil envolve a disfunção de vias inibitórias ou um aumento na transmissão de vias facilitatórias pró-nociceptivas associado aos efeitos contrarregulatórios da ETCC sobre o estado hiperalgésico do remifentanil. Esses achados são críticos para o melhor entendimento sobre o mecanismo neurobiológico da hiperalgesia induzida pelo remifentanil e o papel da ETCC na homeostase e restauração do sistema inibitório endógeno de dor. Esses achados possuem uma grande importância no cenário clínico, para melhor compreensão de mecanismos neurobiológicos e potencial para o desenvolvimento do arsenal terapêutico.

### **7.2 Perspectivas**

O efeito da ETCC foi demonstrado na percepção sensorial, na diminuição do limiar de dor aguda em voluntários saudáveis e em várias condições dolorosas crônicas. O uso dos opioides é fundamental no período perioperatório. Entretanto, evidências têm demonstrado que o uso do remifentanil pode induzir a um estado de hiperalgesia. Os efeitos contrarregulatórios da ETCC sobre a hiperalgesia induzida pelo remifentanil foram demonstrados no nosso estudo, em voluntários saudáveis diante de condições experimentais. Ao mesmo tempo, nosso grupo de neuromodulação realizou um estudo sobre o efeito analgésico da aplicação pré-operatória da ETCC em pacientes com sensibilização central prévia ao procedimento cirúrgico de hálux valgo. Portanto, justifica-se o estudo para avaliar os potenciais efeitos anti-hiperalgésicos da ETCC no cenário perioperatório. É nesse contexto que se insere a temática sobre o meu projeto de pós-doutorado, no qual se estudará o efeito anti-hiperalgésico da ETCC em pacientes submetidos à artrodese de coluna com anestesia geral baseada em altas doses de remifentanil. Dentro desse estudo, temos como

objetivos específicos: avaliar o efeito da ETCC na incidência de hiperalgesia induzida pelo remifentanil; avaliar os efeitos da ETCC na incidência de dor e consumo de analgésicos no pós-operatório; avaliar o consumo de anestésicos no transoperatório; avaliar os limiares de dor a pressão e o CPM-task; avaliar os níveis de BDNF. Este projeto faz parte da linha de pesquisa multidisciplinar do que vem sendo desenvolvida pelo nosso grupo, voltada para o estudo de mecanismos de neuroplasticidade, com ênfase no tratamento da dor. O estudo dessa tese, assim como a linha de pesquisa apresentada focam nos aspectos neurobiológicos, diagnósticos e terapêuticos, visando novas técnicas no manejo da dor aguda e crônica. Desta forma, buscamos qualificar o sistema de saúde com terapêuticas eficazes, bem como contribuir no desenvolvimento da pesquisa científica.

## 8. CONSORT

Section/Topic	Item	Checklist item	Page No
<b>Title and abstract</b>			
	1a	Identification as a randomised trial in the title	1
	1b	Structured summary of trial design, methods, results, and conclusions (for specific guidance see CONSORT for abstracts)	05
<b>Introduction</b>			
Background and objectives	2a	Scientific background and explanation of rationale	17 - 21
	2b	Specific objectives or hypotheses	51
<b>Methods</b>			
Trial design	3a	Description of trial design (such as parallel, factorial) including allocation ratio	79-83
	3b	Important changes to methods after trial commencement (such as eligibility criteria), with reasons	-
Participants	4a	Eligibility criteria for participants	79-80
	4b	Settings and locations where the data were collected	79-80
Interventions	5	The interventions for each group with sufficient details to allow replication, including how and when they were actually administered	81-82
Outcomes	6a	Completely defined pre-specified primary and secondary outcome measures, including how and when they were assessed	83-85
	6b	Any changes to trial outcomes after the trial commenced, with reasons	-
Sample size	7a	How sample size was determined	80
	7b	When applicable, explanation of any interim analyses and stopping guidelines	-
Randomisation:			
Sequence generation	8a	Method used to generate the random allocation sequence	83
	8b	Type of randomisation; details of any restriction (such as blocking and block size)	83
Allocation concealment mechanism	9	Mechanism used to implement the random allocation sequence (such as sequentially numbered containers), describing any steps taken to conceal the sequence until interventions were assigned	83
	10	Who generated the random allocation sequence, who enrolled participants, and who assigned participants to interventions	83
Blinding	11a	If done, who was blinded after assignment to interventions (for example, participants, care providers, those assessing outcomes) and how	83
	11b	If relevant, description of the similarity of interventions	-
Statistical	12a	Statistical methods used to compare groups for primary and secondary outcomes	86

*Estudo do efeito da estimulação trancraniana de corrente contínua na hiperalgesia induzida pelo remifentanil: um ensaio clínico randomizado em homens saudáveis*

methods	12b	Methods for additional analyses, such as subgroup analyses and adjusted analyses	86
<b>Results</b>			
Participant flow (a diagram is strongly recommended)	13a	For each group, the numbers of participants who were randomly assigned, received intended treatment, and were analysed for the primary outcome	80
	13b	For each group, losses and exclusions after randomisation, together with reasons	80
Recruitment	14a	Dates defining the periods of recruitment and follow-up	-
	14b	Why the trial ended or was stopped	-
Baseline data	15	A table showing baseline demographic and clinical characteristics for each group	87
Numbers analysed	16	For each group, number of participants (denominator) included in each analysis and whether the analysis was by original assigned groups	87
Outcomes and estimation	17a	For each primary and secondary outcome, results for each group, and the estimated effect size and its precision (such as 95% confidence interval)	87-95
	17b	For binary outcomes, presentation of both absolute and relative effect sizes is recommended	87-95
Ancillary analyses	18	Results of any other analyses performed, including subgroup analyses and adjusted analyses, distinguishing pre-specified from exploratory	-
Harms	19	All important harms or unintended effects in each group (for specific guidance see CONSORT for harms)	-
<b>Discussion</b>			
Limitations	20	Trial limitations, addressing sources of potential bias, imprecision, and, if relevant, multiplicity of analyses	98-99
Generalisability	21	Generalisability (external validity, applicability) of the trial findings	97-99/109
Interpretation	22	Interpretation consistent with results, balancing benefits and harms, and considering other relevant evidence	96-99
<b>Other information</b>			
Registration	23	Registration number and name of trial registry	79
Protocol	24	Where the full trial protocol can be accessed, if available	79
Funding	25	Sources of funding and other support (such as supply of drugs), role of funders	100

## 9. Anexos

### 9.1 Consentimento informado

#### TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

**NOME DO ESTUDO:** Avaliação do efeito da Estimulação Transcraniana de Corrente Contínua (ETCC) em pacientes submetidos a artrodese de coluna com anestesia geral baseada em remifentanil: Ensaio clínico randomizado.

Número do protocolo: \_\_\_\_\_

Instituição: Hospital de Clínicas de Porto Alegre- HCPA

Pesquisador Responsável: Gilberto Braulio – (51)983008300

Comitê de Ética e Pesquisa do HCPA: 2º andar do HCPA, sala 2227 e o horário de funcionamento (de segunda à sexta, das 8h, às 17h)

Você está sendo convidado para participar, como paciente, em uma pesquisa. Após ser esclarecido sobre as informações a seguir e retirado todas as suas dúvidas sobre a pesquisa, no caso de aceitar fazer parte do estudo, assinie ao final deste documento, que está em duas vias. Uma delas é sua e a outra é do pesquisador responsável.

#### 1. OBJETIVO DO ESTUDO

Avaliar o efeito do tratamento da dor por meio da aplicação de corrente contínua de baixa intensidade sobre a cabeça (ETCC - figura 1) associado ao procedimento cirúrgico realizado. Os efeitos destas intervenções serão avaliados por meio de exames de sangue, percepção da dor por estímulos leves, escalas de avaliação de dor e consumo dos analgésicos. Haverá perguntas sobre os seus sentimentos, nível de dor e pensamentos que lhe aparece na cabeça durante o estudo.

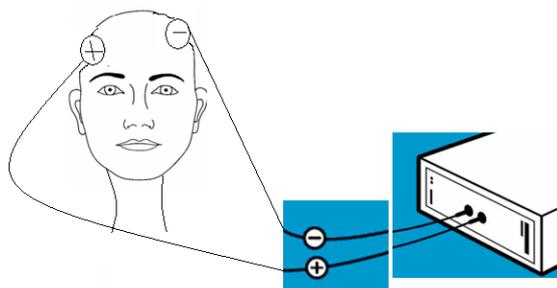


Figura 1.

#### 2. EXPLICAÇÃO DOS PROCEDIMENTOS

Para participar da pesquisa, será necessário que o senhor responda várias perguntas antes, durante e após os procedimentos. O estudo ocorrerá em várias etapas. Primeiro, será realizada uma consulta de avaliação médica, com aplicação de questionários e orientações quanto ao uso do aparelho de ETCC em casa. O tratamento vai ser realizado em duas etapas: 5 dias antes da cirurgia, com sessões em casa e 2 sessões após a cirurgia, realizada no hospital. Será necessário coletar 2 amostras de sangue ( uma amostra na avaliação inicial e uma amostra no término do estudo), que avaliam a produção de marcadores sanguíneos relacionados a sensação de dor. O volume de sangue será de 10 ml a cada coleta, o equivalente a duas colheres de sopa. Serão feitos testes para avaliar o quanto o senhor sente de dor ou desconforto ao aplicar uma estímulo de pressão no seu braço, cuja força é controlada eletronicamente para que não ocorra acidentes na pele. Serão realizadas sessões com a estimulação transcraniana de corrente contínua (ETCC), com aplicação de uma corrente elétrica contínua fraca na sua cabeça por 20min, como será explicado no item Sessões. A equipe vai acompanhar e manejar todo o período do procedimento cirúrgico e recuperação pós-operatória (toda a internação hospitalar). Vai ser aplicado escalas para avaliar a dor e outros sintomas ao longo da internação. A sua participação é voluntária. Se concordar, serão aplicados os questionários e daremos início ao estudo. Gostaríamos de lembrar que forneceremos vale-transporte para o seu deslocamento até o hospital nas avaliações necessárias.

#### 3. SESSÕES

Neste estudo, as sessões serão realizadas conforme o protocolo. Será composto por cinco sessões ante da cirurgia, aonde iremos utilizar um equipamento padronizado para uso em casa. Esse equipamento é composto por uma toca de neoprene, que você irá colocar na sua cabeça, através dos quais passarão uma corrente elétrica. Após a cirurgia, o aplicação será realizada por um

pesquisador com um equipamento semelhante, mas que não possui a toca de neoprene, que serve para o paciente utilizar sozinho em casa. No grupo placebo, a sessão será realizada com os mesmos equipamentos que não emitirão nenhum estímulo. Se concordar em participar do estudo, terá que cooperar em todas as etapas do mesmo. Nem o voluntário e nem os profissionais responsáveis pela condução das sessões saberão qual o grupo de intervenções o senhor está.

#### **4. POSSÍVEIS RISCOS E DESCONFORTOS**

Um possível desconforto poderá ser sentido, por algumas pessoas, na coleta de sangue. Durante a aplicação da estimulação poderá ocorrer vermelhidão, sensações de coceira, leve formigamento no local onde serão colocados os eletrodos. O senhor também poderá sentir sonolência, dor de cabeça, náuseas, vômitos ou tonturas. O senhor será monitorizado sobre os efeitos adversos ao longo de todo o processo.

#### **5. POSSÍVEIS BENEFÍCIOS DESTES ESTUDOS**

O tratamento que será realizado visa avaliar o tratamento da dor. Com os resultados deste estudo poderemos obter informações importantes sobre o quanto estes tratamentos poderão beneficiar outros pacientes com quadros de dor.

#### **6. DIREITO DE DESISTÊNCIA**

O Senhor poderá desistir de participar a qualquer momento da pesquisa. Sua decisão de não participar ou de deixar a pesquisa depois de iniciada não o prejudicará.

#### **7. PRIVACIDADE**

Todas as informações obtidas deste estudo poderão ser publicas com finalidades científicas, preservando os dados de identificação.

#### **8. CONTATO DOS PESQUISADORES**

Caso o Senhor tenha alguma dúvida poderá entrar em contato com os pesquisadores através dos telefones: Prof<sup>o</sup> **Dr. Wolnei Caumo** 99981-3977 (2º andar do HCPA Laboratório de Cronobiologia - sala 2201E – telefone 3359-8083), **Dr. Gilberto Braulio** 98300-8300, ainda com o Comitê de Ética e Pesquisa do Hospital de Clínicas. Este é um órgão composto por profissionais de diferentes áreas de conhecimento e por representantes da comunidade, são responsáveis pela avaliação ética e metodológica dos projetos de pesquisa que envolva seres humanos - telefone 3359-8304.

#### **9. RESSARCIMENTO DE DESPESAS**

O Senhor não terá despesas com a sua participação na pesquisa.

#### **10. ARMAZENAMENTO DE MATERIAIS BIOLÓGICOS**

O sangue coletado será avaliado no Laboratório de Pesquisa Clínica do Hospital de Clínicas de Porto Alegre. Este material não será armazenado nem utilizado em pesquisas futuras.

#### **11. CONSENTIMENTO**

Este termo de Consentimento Livre e Esclarecido será fornecido uma via para o sujeito da pesquisa e uma via será arquivada pelo pesquisador, sendo as duas vias assinadas e rubricadas todas as páginas por ambos.

Declaro ter lido – ou me foi lido – as informações acima antes de assinar este formulário. Foi-me dada ampla oportunidade de fazer perguntas, esclarecendo plenamente minhas dúvidas. Por este instrumento, torno-me parte, voluntariamente, do presente estudo.

\_\_\_\_\_  
Assinatura do paciente      Assinatura da testemunha      Assinatura do pesquisador responsável

Porto Alegre, \_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 20\_\_.

*Estudo do efeito da estimulação transcraniana de corrente contínua na hiperalgesia induzida pelo remifentanil: um ensaio clínico randomizado em homens saudáveis*