

Experimental pre-emptive analgesia: what value for the clinician?

Pierre Beaulieu MD PhD FRCA

ONE could question the pertinence of writing yet another editorial on pre-emptive analgesia when extensive editorials and reviews¹⁻⁴ have been published within less than a year, and even in this Journal.⁵ In fact, pre-emptive analgesia is such a complex and controversial topic that it can be viewed from many different aspects. I would like to consider the significance of experimental results, like the ones reported by Nakamura and Takasaki in this issue,⁶ which are overall very encouraging, and the clinical application of pre-emptive analgesia which seems less glorious. What does it mean to the clinical anesthesiologist?

There has been considerable interest in pre-emptive analgesia since Wall⁷ raised the possibility that pain after surgery might be reduced by preventing intra-operative nociceptive impulses from reaching the spinal cord. Such an approach, in addition to the obvious immediate benefit of protecting the patient at the time of surgical trauma, will also prevent the development of specific central neural changes, i.e., central sensitization which is a more general phenomenon whereby sensory neurons lower their response thresholds, expand their receptive fields and fire spontaneously after noxious peripheral stimulation.⁸ The discovery of the changes associated with the phenomenon of central sensitization has led to attempts to prevent these changes from occurring. It has been demonstrated that early postoperative pain is a significant predictor of long-term pain.⁹ It was hoped that steps which would reduce or abolish noxious input to the spinal cord during surgery would reduce or minimize spinal cord changes and thereby lead to reduced pain postoperatively and in the long term. It would be expected that an intervention which pre-empts central sensitization and seeks to prevent it from occurring, rather than attempts to treat it after it has occurred, would be more successful.¹⁰

In this issue of the Journal, Nakamura and Takasaki⁶ have investigated the expression of Fos, the protein product of the immediate early gene *c-fos* (cel-

lular-fos), following intrathecal administration of fentanyl at different concentrations and times, using the formalin test in the rat. They show that fentanyl in pre-treatment and early post-treatment groups suppresses Fos activity compared to vehicle. Furthermore, they show that Fos activity suppression in these groups is different between superficial and deep laminae of the spinal cord. The authors conclude that intrathecal fentanyl is likely to be an effective pre-emptive analgesic. Before discussing their results, let us first consider the significance of Fos expression in the spinal cord and, subsequently, the value of the formalin test in this context.

Immediate early genes such as *v-fos* (viral-fos) were the first shown to be capable of inducing cell proliferation and became known as proto-oncogenes. When the same gene was then described in cells it was termed *c-fos* (cellular-fos).¹¹ More than 100 immediate early genes are now known and have fundamental roles in cell proliferation, differentiation and programmed cell death. The protein products of proto-oncogenes are generated in the cell membrane, cytosol and, importantly, in the nucleus; thus they are ideally located for the regulation of gene expression. *c-fos* form a heterodimer and bind to the activating protein-1 site of DNA and transactivate gene transcription.¹² At the level of the spinal cord the basal expression of *c-fos* is negligible and animal handling or injection of saline does not induce the expression of *c-fos* protein.¹³ Hunt *et al.* were the first to demonstrate that a variety of noxious stimuli result in induction of Fos-like proteins in the dorsal horn of the spinal cord.¹⁴ *c-fos* is one of the first immediate early genes to be induced, the half-life of which is relatively short, and the level of *c-fos* follows closely the intensity/duration of the noxious stimulation. Indeed, analgesic drugs, such as opioids, given before the injury reduce the extent of *c-fos* expression in a dose-dependent manner.¹⁵ Histochemical studies in the rat central nervous system suggest that expression of the *c-fos* proto-oncogene, as measured by Fos protein

From the Département d'anesthésiologie, CHUM - Hôtel-Dieu, Montreal, Quebec, Canada.

Address correspondence to: Dr. Pierre Beaulieu, Département d'anesthésiologie, CHUM - Hôtel-Dieu, 3840, rue St-Urbain, Montreal, Quebec H2W 1T8, Canada. Phone: 514-890-8000, ext. 14570; Fax: 514-412-7222; E-mail: pierre.beaulieu@umontreal.ca

immunocytochemistry, is a useful marker of neuronal activity that can be used to map functionally related neural pathways.¹⁵

Broadly speaking, there are two main types of tests of nociception and analgesia. In the first type of tests, the response to the stimulation is fixed and the test measures mainly the threshold of the stimulus required to elicit this response. Examples include the tail-flick and hot-plate tests. In the second type the stimulus is standardized, and the strength or duration of the response is measured. Examples include the formalin and writhing tests.¹⁶ Thus, the formalin test is a well-established rat model of persistent somatic pain first described by Dubuisson and Dennis¹⁷ (1977) and later refined by Tjølsen *et al.*¹⁸ and Watson *et al.*¹⁹ Two phases are observed during the formalin test: an early phase starting immediately after injection and lasting for five to ten minutes and a late phase 15–60 min after injection. While the stimulus for the early phase is a direct chemical stimulation of nociceptors, that for the late phase involves inflammation. In addition, the response in the late phase depends on changes in processing of the information in the spinal cord due to the afferent barrage during the early phase.¹⁶ The nociceptive response to formalin is matched by a corresponding biphasic increase in the activity of dorsal horn neurons after such injection.²⁰ Furthermore, Henry *et al.*²¹ have shown that the diminution that normally occurs after the first phase of the formalin test is due to an active inhibitory process, as opposed to a lack of excitation during this interphase. An interesting aspect of the formalin test is that two different types of stimulus are employed in the same test to study possibly varying analgesic effects of a drug in the two phases of the test. It may also be claimed that this test is a better model of clinical pain than the hot-plate and tail-flick tests.¹⁶

The measure of noxious stimulus-induced Fos expression in the dorsal horn of the spinal cord of laboratory animals may provide an estimate of the potential of specific treatments to produce pre-emptive analgesia. Nakamura and Takasaki⁶ have examined this hypothesis with fentanyl given before and after formalin and they have investigated Fos expression in the spinal cord. Unfortunately, there was no attempt in their report to measure behavioural responses in the rats. In fact, although experimental evidence indicates that pre-emptive intrathecal treatment reduces postinjury neuronal hyperexcitability, clinical evidence indicates that pre-emptive treatments do not consistently reduce postoperative pain. There is evidence in the literature of an uncoupling of the behavioural and Fos protein responses to formalin. This suggests that

changes in Fos expression may not be a good predictor of the ability of agents to produce pre-emptive analgesia. For example, the intrathecal injection of lidocaine after formalin treatment reduced Fos expression but not nociceptive responses, indicating also an uncoupling of the behavioural and Fos protein responses to formalin.²² Further evidence that Fos inhibition is not always predictive of behavioural analgesia is given in a recent study where ketamine and alfentanil were investigated.²³ In this study, *iv* alfentanil failed to demonstrate a selective pre-emptive analgesia in behavioural experiments, but did produce pre-emptive suppression of spinal Fos-like immunoreactivity. The same authors had already suggested, using GABAergic anesthetics again in the formalin test, that Fos inhibition does not always correlate with behavioural analgesia.²⁴ An explanation for that uncoupling could be that studies of Fos-like immunoreactivity reflect a two-hour period after formalin injection, whereas the behavioural studies only investigated the first hour postformalin.²³ Therefore, the lack of assessment of pain behaviours in the paper by Nakamura and Takasaki⁶ does not allow the authors to conclude or to extrapolate on the role of fentanyl in this model.

Interestingly, on the contrary Hammond *et al.*²⁵ have shown that the intrathecal administration of the δ_2 opioid receptor agonist deltorphin suppressed formalin-induced pain behaviour, yet failed to suppress spinal Fos-like immunoreactivity. The authors explained this finding by suggesting that, because opioid agonists inhibit synaptic transmission primarily through pre-synaptic mechanisms (and thus do not act to hyperpolarize second-order neurons), other excitatory inputs may go unchecked and thus continue to induce Fos in the presence of this drug.

Several reasons could be proposed to explain the disparity between animal studies and results from clinical trials on pre-emptive analgesia. As already mentioned, authors have extensively used the formalin test to study pre-emptive analgesia. The usefulness of the formalin test as an animal model for assessing pre-emptive analgesia needs to be further examined. Indeed, a surgical incision and tissue damage in humans produces tissue injury that is likely different from chemical irritation or inflammation in animal studies. The time course of persistent pain behaviours in this animal model compared with pain and mechanical hyperalgesia in postoperative patients is also different. To address these issues, several authors have designed different animal models to assess pre-emptive analgesia. Lascelles *et al.*²⁶ have studied pre-emptive analgesia after ovariectomy in the rat,

whereas Yashpal *et al.*²⁷ have used a knee joint injection of formalin to produce a condition that more closely resembles postsurgical pain. In that later model, the injury is predominantly in deep rather than cutaneous tissue. Brennan *et al.*²⁸ have developed and characterized a rat model for postoperative pain (incision at the plantar hind paw) that is distinguished by persistent, quantifiable, mechanical hyperalgesia. However, even when using these other models instead of the formalin test, the results of these studies still provide different conclusions. Furthermore, the non-description of pain by animals compared with humans may also explain the differences between experimental and clinical studies and should question us on the pertinence of the indicators of pain used in the literature (behavioural signs, humoral markers, changes in mechanical thresholds or responses to pressure, expression of *c-fos*). Do we measure the right thing?

Considering now the clinical data, pre-emptive analgesia has been explored in many, more or less well-designed studies. Reasons for negative findings in clinical studies may be the comparison either with the same treatment given after surgery or with control groups not given such treatment. Unfortunately when opioids were used, in many clinical studies, they were administered to both groups before or during anaesthesia, which may possibly have reduced the difference between the two groups.²⁹ Another possible reason is the use of morphine consumption during patient-controlled analgesia as a measure of pain after surgery. Such morphine consumption varies enormously between patients after the same type of surgery, therefore the lack of difference between groups and the negative findings of such clinical studies are of little value.

There will always be a discrepancy between the results obtained from experimental models of pain and clinical trials on pre-emptive analgesia, given the insurmountable differences that exist between the two. Therefore, animal models of pre-emptive analgesia seeking to reproduce more closely a surgical injury will still be useful to study the prevention of postoperative pain. The formalin test remains interesting in pain research but may not provide the best model in this context. The use of biological markers of neuronal circuitry, such as *c-fos* expression in the spinal cord, is attractive but should always be associated with the measurement of pain behaviour, knowing that a decrease in the number of Fos-like immunoreactivity neurons in the superficial laminae of the spinal cord has been observed in the absence of behavioural antinociception. Conversely, complete behavioural antinociception can be produced without complete suppression of Fos-like immunoreactivity. This para-

dox is not well understood. Thus, although the expression of *c-fos* is a measure of nociception, it is not sure that the suppression of *c-fos* expression will be a measure of antinociception.²⁵ In addition, one can also see the complexity of extrapolating animal results to clinical pain management when pain is entirely subjective in humans and inferred from presumed nocifensive and recuperative behaviours in laboratory animals. Overall, the concept of pre-emptive analgesia remains valid but should be considered in the broad definition given by Kissin⁴ where it involves a treatment that prevents the establishment of central sensitization caused by incisional and inflammatory injuries. The optimal form of pain prevention must be one that is applied both pre-, intra- and postoperatively to pre-empt the establishment of pain hypersensitivity during and after surgery.³⁰

L'analgésie préventive expérimentale, quelle est sa valeur clinique?

D'aucuns pourraient se demander pourquoi écrire encore un autre éditorial sur l'analgésie préventive après que des éditoriaux et des revues fouillées¹⁻⁴ ont été publiés il y a moins d'un an et ce, même dans le présent Journal.⁵ De fait, l'analgésie préventive est si complexe et controversée qu'on peut la voir sous de nombreux angles différents. Nous voulons examiner ici la signification de résultats expérimentaux, comme ceux de Nakamura et Takasaki rapportés dans le présent numéro,⁶ très encourageants dans l'ensemble, et l'application clinique qui, elle, semble moins glorieuse. Quel est le sens clinique de cette analyse pour l'anesthésiologiste?

Il y a un grand intérêt pour l'analgésie préventive depuis que Wall⁷ a évoqué la possibilité de réduire la douleur postopératoire en empêchant les stimuli nociceptifs peropératoires d'atteindre la moelle épinière. Cette démarche, outre l'avantage immédiat évident qu'elle procure en protégeant le patient au moment du traumatisme chirurgical, prévient aussi des changements spécifiques à l'intérieur du système nerveux central (SNC), à savoir la sensibilisation centrale qui est un phénomène plus général par lequel les neurones sensitifs abaissent leur seuil de réponse, augmentent leurs champs réceptifs et réagissent spontanément après la

stimulation nociceptive périphérique.⁸ Une fois ces changements connus, on a tenté de les empêcher de se produire. On sait que la douleur postopératoire précoce constitue un prédicteur significatif de la douleur prolongée.⁹ Aussi espérait-on que les mesures prises pour atténuer ou abolir la transmission postopératoire du stimulus nociceptif vers la moelle allaient diminuer les changements médullaires et, ainsi, réduire la douleur postopératoire et la douleur prolongée. On pensait donc réussir en empêchant la sensibilisation centrale et en cherchant à la prévenir plutôt qu'à la traiter après coup.¹⁰

Dans le présent numéro, Nakamura et Takasaki⁶ rapportent avoir examiné l'expression de Fos, produit protéique du gène précoce immédiat *c-fos* (cellular-fos), après l'administration intrathécale de fentanyl à différentes concentrations et à des moments différents en utilisant le test au formol chez le rat. Ils montrent que le fentanyl, comparé à l'excipient, donné en traitement préopératoire et postopératoire précoce, a réduit l'activité de Fos. Ils montrent aussi que la suppression de l'activité de Fos dans ces groupes est différente dans les couches superficielle et profonde de la moelle épinière. Ils concluent que le fentanyl intrathécal serait un analgésique préventif efficace. Avant de discuter de ces résultats, voyons ce que signifie l'expression de Fos dans la moelle, puis la valeur du test au formol dans ce contexte.

C'est d'abord les gènes précoces immédiats comme le *v-fos* (viral-fos) qui ont révélé leur capacité d'induire la prolifération cellulaire et, pour cette raison, se sont faits connaître comme des proto-oncogènes. Signalé ensuite dans les cellules, ce gène est devenu le *c-fos* (cellular-fos).¹¹ On connaît maintenant plus de 100 gènes précoces immédiats ayant des rôles fondamentaux dans la prolifération cellulaire, la différenciation et l'apoptose. Les produits protéiques des proto-oncogènes sont générés dans la membrane cellulaire, le cytosol et, de manière importante, dans le noyau où ils occupent une position idéale pour réguler l'expression génique. Le *c-fos* forme un hétérodimère et se fixe au site de la protéine-1 activante de l'ADN et transactive la transcription génique.¹² Dans la moelle, l'expression basale de *c-fos* est négligeable et la manipulation animale ou l'injection de solution salée n'induisent pas l'expression de la protéine *c-fos*.¹³ Hunt *et coll.* ont montré, les premiers, que divers stimuli induisent des protéines du genre Fos dans la corne supérieure de la moelle.¹⁴ Le *c-fos* est l'un des premiers gènes précoces immédiats à être induit et dont la demi-vie est relativement courte. La quantité produite suit étroitement l'intensité/la durée de la stimulation nociceptive. Les analgésiques, comme les opioïdes, donnés avant la lésion réduisent l'expression de *c-fos* en proportion de la

dose.¹⁵ Les études histochimiques du SNC du rat suggèrent que l'expression du proto-oncogène *c-fos*, mesurée par immunocytochimie de la protéine Fos, soit un marqueur utile de l'activité neuronale utilisable pour cartographier les voies nerveuses dont les fonctions sont reliées.¹⁵

De façon générale, il existe deux catégories principales de test de nociception et d'analgésie. Dans la première, la réponse à la stimulation est fixe et on mesure essentiellement le stimulus seuil requis pour déclencher cette réponse, comme pour les techniques de stimulation calorifique de la queue et de la plaque chauffante. Dans la seconde catégorie, le stimulus est normalisé et on mesure la puissance ou la durée de la réponse, comme dans le test au formol et le test de torsion.¹⁶ Ainsi, le test au formol est un modèle bien établi de douleur somatique persistante chez le rat, décrit pour la première fois par Dubuisson et Dennis¹⁷ (1977) et ensuite raffiné par Tjølsen *et coll.*¹⁸ et Watson *et coll.*¹⁹ Ce test comporte deux phases : l'une, précoce, qui commence immédiatement après l'injection et dure de 5 à 10 min et l'autre, tardive, qui commence de 15 à 60 min après l'injection. Une stimulation chimique directe des nocicepteurs est impliquée pendant la première phase, tandis que l'inflammation est impliquée dans la seconde. En outre, la réponse de la phase tardive dépend des modifications dans le traitement des informations dans la moelle causées par la stimulation afférente pendant la phase précoce.¹⁶ La réaction nociceptive au formol est associée à une augmentation biphasique correspondante de l'activité des neurones de la corne postérieure après l'injection.²⁰ Henry *et coll.*²¹ ont montré, par ailleurs, que la diminution qui survient normalement après la première phase du test au formol relève d'un processus inhibiteur actif, par opposition à une absence de stimulation pendant l'interphase. Aspect intéressant à signaler du test au formol, deux types de stimulus différents sont utilisés pendant le même test pour étudier divers effets analgésiques possibles d'un médicament pendant les deux phases du test. On peut dire aussi que ce test représente un meilleur modèle de douleur clinique que les techniques de stimulation calorifique de la queue et de la plaque chauffante.¹⁶

Mesurer l'expression de Fos, induite par un stimulus nociceptif dans la corne postérieure de la moelle d'animaux de laboratoire, peut permettre d'évaluer le potentiel analgésique préventif de médicaments spécifiques. Nakamura et Takasaki⁶ ont vérifié l'hypothèse avec du fentanyl administré avant et après le formol et ont recherché l'expression de Fos dans la moelle. Mais ils ne mentionnent pas avoir mesuré les réponses comportementales chez les rats. De fait, bien qu'on ait

prouvé que le traitement intrathécal préventif chez l'animal réduit l'hyperexcitabilité nerveuse après une lésion, le traitement préventif en clinique ne réduit pas la douleur postopératoire de façon régulière. Dans la littérature, on trouve la preuve du découplage des réponses comportementales et de celles de la protéine Fos au formol. Ce qui laisse croire que les modifications de l'expression de Fos ne sont peut-être pas un bon prédicteur de la capacité analgésique préventive des médicaments. Par exemple, l'injection intrathécale de lidocaïne après l'administration de formol a réduit l'expression de Fos mais pas les réponses nociceptives, ce qui indique aussi un découplage des réponses comportementales et de celles de la Fos au formol.²² Une étude récente, où la kétamine et l'alfentanil étaient à l'essai,²³ montre aussi que l'inhibition de Fos n'est pas toujours prédictive de l'analgésie observée. On y lit que l'administration *iv* d'alfentanil n'a pas permis de démontrer d'analgésie préventive sélective pendant les expériences comportementales, mais qu'elle a produit une suppression préventive de l'immunoréactivité rachidienne, du genre Fos. Les mêmes auteurs avaient déjà suggéré, en utilisant des anesthésiques GABAergiques pour le test au formol, que l'inhibition de Fos n'est pas toujours en corrélation avec l'analgésie observée.²⁴ On pourrait expliquer ce découplage par le fait que les études d'immunoréactivité, du genre Fos, sont le reflet d'une période de 2 h après l'injection de formol tandis que les études comportementales ne s'intéressent qu'à la première heure après l'injection.²³ Donc, l'absence d'évaluation des comportements douloureux ne permet pas à Nakamura et Takasaki⁶ de conclure ou d'extrapoler sur le rôle du fentanyl dans ce modèle.

Hammond *et coll.*²⁵ ont, au contraire, montré que l'administration intrathécale de l'agoniste du récepteur opioïde δ_2 deltorphine, a supprimé le comportement douloureux induit par le formol, bien qu'il n'ait pas réussi à supprimer l'immunoréactivité rachidienne du genre Fos. Les auteurs croient que, comme les agonistes opioïdes inhibent la transmission synaptique principalement par des mécanismes pré-synaptiques et, donc, n'agissent pas pour hyperpolariser les neurones de deuxième ordre, d'autres stimuli excitateurs peuvent demeurer non contrôlés et ainsi continuer à induire Fos en présence de ces substances.

Certaines raisons peuvent expliquer la disparité entre les études animales et les résultats d'essais cliniques sur l'analgésie préventive. Comme on l'a vu, les auteurs ont largement employé le test au formol pour étudier cette analgésie. On doit évaluer plus attentivement son utilité comme modèle animal d'analgésie préventive. En effet, les incisions et dommages tissu-

lares chirurgicaux chez l'humain produisent une lésion tissulaire vraisemblablement différente de l'irritation chimique ou de l'inflammation chez les animaux. L'évolution des comportements douloureux persistants dans ce modèle animal, comparée à celle de la douleur et de l'hyperalgésie mécanique postopératoire chez les patients, est aussi différente. Devant ce problème, certains auteurs ont conçu différents modèles animaux évaluant l'analgésie préventive. Lascelles *et coll.*²⁶ en ont fait l'étude post-ovariohystérectomie chez la rate, tandis que Yashpal *et coll.*²⁷ ont utilisé une injection de formol dans l'articulation du genou pour produire un état plus proche de la douleur postopératoire. Dans ce dernier modèle, la lésion touche surtout le tissu profond plutôt que cutané. Brennan *et coll.*²⁸ ont développé et caractérisé un modèle de douleur postopératoire chez le rat (incision plantaire à la patte arrière) qui se distingue par une hyperalgésie mécanique persistante et quantifiable. Cependant, même avec ces autres modèles au lieu du test au formol, on retrouve des conclusions différentes. En outre, l'absence de description de la douleur par les animaux, comparés aux humains, peut aussi expliquer les différences entre les études expérimentales et cliniques et devrait soulever chez nous la question de la pertinence des indicateurs de douleur utilisés dans la littérature (signes comportementaux, marqueurs humoraux, modifications des seuils mécaniques ou des réponses à la pression, expression de *c-fos*). Mesurons-nous les bonnes choses?

Si l'on regarde maintenant les données cliniques, on découvre que l'analgésie préventive a été explorée dans de nombreuses études plus ou moins bien conçues. La cause des résultats négatifs auxquels on a abouti pourrait être la comparaison avec le même traitement administré après l'opération ou avec des groupes témoins qui n'ont pas reçu le traitement. Malheureusement, dans de nombreuses études cliniques où l'on a utilisé des opioïdes, on les a administrés aux deux groupes avant ou pendant l'anesthésie, ce qui a pu réduire la différence entre les deux groupes.²⁹ Une autre raison possible est l'utilisation de la consommation de morphine, pendant l'analgésie autocontrôlée, comme mesure de la douleur postopératoire. Cette consommation varie énormément entre les patients après le même type d'intervention. Par conséquent, l'absence de différence intergroupe et les constatations négatives de telles études cliniques sont donc de peu de valeur.

Il y aura toujours une divergence entre les résultats obtenus à partir des modèles de douleur expérimentaux et ceux qui proviennent des essais cliniques sur l'analgésie préventive, étant donné les différences

insurmontables qui existent entre les deux. Toutefois, les modèles animaux qui tentent de reproduire plus étroitement une lésion chirurgicale seront encore utiles pour étudier la prévention de la douleur postopératoire. Le test au formol demeure intéressant dans la recherche sur la douleur, mais pourrait ne pas fournir le meilleur modèle dans ce contexte. L'usage de marqueurs biologiques de circuit nerveux, comme l'expression de *c-fos* dans la moelle épinière, est attirant mais devrait être toujours associé à la mesure du comportement douloureux, sachant qu'une baisse du nombre de neurones d'immunoréactivité d'allure Fos dans la couche superficielle de la moelle a été observée en l'absence d'antinociception comportementale. Réciproquement, l'antinociception comportementale complète peut être produite sans suppression complète de l'immunoréactivité du genre Fos. Ce paradoxe n'est pas bien compris. Ainsi, même si l'expression de *c-fos* est une mesure de nociception, il n'est pas certain que la suppression de l'expression de *c-fos* soit une mesure d'antinociception.²⁵ De plus, on peut voir aussi la complexité d'extrapoler les résultats obtenus chez les animaux au traitement de la douleur clinique, car la douleur est entièrement subjective chez les humains tandis qu'elle est déduite des comportements présumés de défense nociceptifs et de récupération chez les animaux de laboratoire. Globalement, le concept d'analgésie préventive demeure valide, mais devrait être considéré selon la définition large donnée par Kissin⁴ et qui implique un traitement préventif de l'établissement de la sensibilisation centrale causée par les lésions incisionnelles et inflammatoires. La forme optimale de la prévention de la douleur doit être celle qui s'applique avant, pendant et après l'intervention chirurgicale pour prévenir l'installation d'une hypersensibilité à la douleur pendant et après l'opération.³⁰

References

- 1 Eisenach JC. Preemptive hyperalgesia, not analgesia? (Editorial). *Anesthesiology* 2000; 92: 308–9.
- 2 Katz J. Preemptive analgesia: where do we go from here? *J Pain* 2000; 1: 89–92.
- 3 Kissin I. Preemptive analgesia. *Anesthesiology* 2000; 93: 1138–43.
- 4 Taylor BK, Brennan TJ. Preemptive analgesia: moving beyond conventional strategies and confusing terminology. *J Pain* 2000; 1: 77–84.
- 5 Katz J. Pre-emptive analgesia: importance of timing. (Editorial). *Can J Anesth* 2001; 48: 105–14.
- 6 Nakamura T, Takasaki M. Intrathecal pre-administration of fentanyl is most effective in suppressing "formalin test" evoked c-Fos expression in spinal cord of rat. *Can J Anesth* 2001; 48: 993–99.
- 7 Wall PD. The prevention of postoperative pain. (Editorial). *Pain* 1988; 33: 289–90.
- 8 Coderre TJ, Katz J, Vaccarino AL, Melzack R. Contribution of central neuroplasticity to pathological pain: review of clinical and experimental evidence. *Pain* 1993; 52: 259–85.
- 9 Katz J, Jackson M, Kavanagh BP, Sandler AN. Acute pain after thoracic surgery predicts long-term post-thoracotomy pain. *Clin J Pain* 1996; 12: 50–5.
- 10 Cousins M, Power I. Acute and postoperative pain. In: Wall PD, Melzack R. (Eds). *Textbook of Pain*. London: Churchill Livingstone, 1999: 447–91.
- 11 Munglani R, Fleming BG, Hunt SP. Remembrance of times past: the significance of c-fos in pain. *Br J Anaesth* 1996; 76: 1–4.
- 12 Hughes P, Dragunow M. Induction of immediate-early genes and the control of neurotransmitter-regulated gene expression within the nervous system. *Pharmacol Rev* 1995; 47: 133–78.
- 13 Chapman V, Besson J-M. Pharmacological studies of nociceptive systems using the C-Fos immunohistochemical technique: an indicator of noxiously activated spinal neurones. In: Dickenson AH, Besson J-M. (Eds). *The Pharmacology of Pain*. Berlin: Springer-Verlag, 1997: 235–79.
- 14 Hunt SP, Pini A, Evan G. Induction of c-fos-like protein in spinal cord neurones following sensory stimulation. *Nature* 1987; 328: 632–4.
- 15 Presley RW, Menétrey D, Levine JD, Basbaum AI. Systemic morphine suppresses noxious stimulus-evoked Fos protein-like immunoreactivity in the rat spinal cord. *J Neurosci* 1990; 10: 323–35.
- 16 Tjølsen A, Hole K. Animal models of analgesia. In: Dickenson AH, Besson J-M. (Eds). *The Pharmacology of Pain*. Berlin: Springer-Verlag, 1997: 1–20.
- 17 Dubuisson D, Dennis SG. The formalin test: a quantitative study of the analgesic effects of morphine, meperidine, and brain stem stimulation in rats and cats. *Pain* 1977; 4: 161–74.
- 18 Tjølsen A, Berge O-G, Hunskaar S, Rosland JH, Hole K. The formalin test: an evaluation of the method. *Pain* 1992; 51: 5–17.
- 19 Watson GS, Sufka KJ, Coderre TJ. Optimal scoring strategies and weights for the formalin test in rats. *Pain* 1997; 70: 53–8.
- 20 Dickenson AH, Sullivan AF. Subcutaneous formalin-induced activity of dorsal horn neurones in the rat: differential response to an intrathecal opiate administered pre or post formalin. *Pain* 1987; 30: 349–60.
- 21 Henry JL, Yashpal K, Pitcher GM, Coderre TJ. Physiological evidence that the "interphase" in the formalin test is due to active inhibition. *Pain* 1999; 82: 57–63.
- 22 Yashpal K, Mason P, McKenna JE, Sharma SK, Henry

- JL, Coderre TJ.* Comparison of the effects of treatment with intrathecal lidocaine given before and after formalin on both nociception and Fos expression in the spinal cord dorsal horn. *Anesthesiology* 1998; 88: 157–64.
- 23 *Gilron I, Quirion R, Coderre TJ.* Pre- versus postformalin effects of ketamine or large-dose alfentanil in the rat: discordance between pain behavior and spinal Fos-like immunoreactivity. *Anesth Analg* 1999; 89: 128–35.
- 24 *Gilron I, Quirion R, Coderre TJ.* Pre- versus postinjury effects of intravenous GABAergic anesthetics on formalin-induced Fos immunoreactivity in the rat spinal cord. *Anesth Analg* 1999; 88: 414–20.
- 25 *Hammond DL, Wang H, Nakashima N, Basbaum AI.* Differential effects of intrathecally administered delta and mu opioid receptor agonists on formalin-evoked nociception and on the expression of Fos-like immunoreactivity in the spinal cord of the rat. *J Pharmacol Exp Ther* 1998; 284: 378–87.
- 26 *Lascelles BDX, Waterman AE, Cripps PJ, Livingston A, Henderson G.* Central sensitization as a result of surgical pain: investigation of the pre-emptive value of pethidine for ovariohysterectomy in the rat. *Pain* 1995; 62: 201–12.
- 27 *Yashpal K, Katz J, Coderre TJ.* Effects of preemptive or postinjury intrathecal local anesthesia on persistent nociceptive responses in rats. *Anesthesiology* 1996; 84: 1119–28.
- 28 *Brennan TJ, Vandermeulen EP, Gebhart GF.* Characterization of a rat model of incisional pain. *Pain* 1996; 64: 493–501.
- 29 *Breivik H.* Pre-emptive analgesia. *Curr Opin Anaesth* 1996; 7: 458–61.
- 30 *Woolf CJ, Chong M-S.* Preemptive analgesia—treating postoperative pain by preventing the establishment of central sensitization. *Anesth Analg* 1993; 77: 362–79.