



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ  
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ-ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ  
ΤΟΜΕΑΣ ΚΟΙΝΩΝΙΚΗΣ ΙΑΤΡΙΚΗΣ ΚΑΙ ΨΥΧΙΚΗΣ ΥΓΕΙΑΣ  
ΨΥΧΙΑΤΡΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ-ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΙΑΤΡΙΚΗΣ ΨΥΧΟΛΟΓΙΑΣ

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ ΓΙΑ ΤΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ  
«ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗ ΤΟΥ ΠΟΝΟΥ»  
ΕΠΙΣΤ. ΥΠΕΥΘΥΝΟΣ: Δ. ΔΑΜΙΓΟΣ, ΕΠΙΚΟΥΡΟΣ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ

## Σχέση γονιδιακού πολυμορφισμού με εξατομικευμένη ευαισθησία στα οπιοειδή

### Σπουδαστής:

Ράπτης Νικόλαος, Οδοντίατρος (Α.Μ. 21)

### Επιβλέπων καθηγητής:

Δαμίγος Δημήτριος, Επίκουρος Καθηγητής Ιατρικής Ψυχολογίας, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων

### Τριμελής Επιτροπή Αξιολόγησης:

Δαμίγος Δημήτριος, Επίκουρος Καθηγητής Ιατρικής Ψυχολογίας, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων

Ευαγγέλου Άγγελος, Ομότιμος Καθηγητής Φυσιολογίας, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων  
Καλφακάκου Βασιλική, Καθηγήτρια Φυσιολογίας, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων

Ιωάννινα, 2008

## **Περίληψη**

Τα οπιοειδή χρησιμοποιούνται ευρέως ως αναλγητικά για τον έλεγχο του μέτριου έως ισχυρού πόνου. Η δράση τους παρουσιάζει μεταβλητότητα μεταξύ διαφόρων ατόμων. Στην εργασία αυτή γίνεται προσπάθεια ανίχνευσης της σχέσης μεταξύ γονιδιακού πολυμορφισμού και εξατομικευμένης ευαισθησίας στα οπιοειδή. Η αναζήτηση συσχετισμών έγινε με επιλογή δεδομένων από τη δημοσιευμένη βιβλιογραφία που παρουσιάζει ισχυρά μεθοδολογικά πρωτόκολλα. Στα αποτελέσματα, αφού προσδιορίζεται ο μηχανισμός δράσης των οπιοειδών και οι γενετικές τεχνικές για την μελέτη του πόνου φαίνεται ότι ο πολυμορφισμός μπορεί να επιδράσει σε επίπεδο υποδοχέων, στο μεταβολισμό των οπιοειδών, στη διαπερατότητα του αιματοεγκεφαλικού φραγμού, στο μεταβολισμό των ενδογενών νευροδιαβιβαστών και σε άλλες λιγότερο μελετημένες διαδικασίες.

Η εύρεση συσχετισμού μεταξύ γενετικού υποστρώματος και δράσης οπιοειδών σύντομα θα οδηγήσει στην ανάπτυξη εξατομικευμένων θεραπευτικών πρωτοκόλλων και με την εξέλιξη της μεθοδολογίας των γενετικών μελετών η γονιδιακή θεραπεία κοινών καταστάσεων πόνου θα προστεθεί στα εργαλεία των κλινικών για βελτίωση της ποιότητας ζωής.

## Πίνακας περιεχομένων

<b>Περίληψη</b>	<b>2</b>
<b>Εισαγωγή</b>	<b>4</b>
<b>Μεθοδολογία</b>	<b>6</b>
<b>Αποτελέσματα-δεδομένα που προκύπτουν</b>	<b>8</b>
Μηχανισμός δράσης των οπιοειδών	8
Γενετικές τεχνικές μοριακής γενετικής για την μελέτη του πόνου	10
Γενετικό υπόστρωμα και δράση οπιοειδών	11
<b>Συζήτηση – συμπεράσματα που προκύπτουν</b>	<b>24</b>
Ανάλυση των γενετικών μελετών στις εκδηλώσεις πόνου	28
Γονιδιακή θεραπεία-πρακτικές εφαρμογές στον πόνο	29
<b>Βιβλιογραφία</b>	<b>32</b>

## **Εισαγωγή**

Σύμφωνα με το ορισμό της IASP (International Assosiation of Study of Pain – διεθνής ομοσπονδία μελέτης του πόνου) ο πόνος είναι μια υποκειμενική και συναισθηματική εμπειρία που σχετίζεται με πραγματική ή δυνητική βλάβη των ιστών ή εκφράζεται με τους όρους τέτοιας βλάβης<sup>1</sup>. Ο οξύς πόνος, όπως ο πόνος που συνδέεται με τραυματισμό ή χειρουργική επέμβαση, έχει σημαντική αξία στην διατήρηση της ζωής. Όταν ένα άτομο νιώθει πόνο τότε προσπαθεί να απομακρύνει τον κατεστραμμένο ιστό από το επώδυνο-καταστροφικό ερέθισμα. Ο χρόνιος πόνος, όπως ο πονοκέφαλος, διαβητική νευροπάθεια, μεθερπητική νευροπάθεια, δεν έχει άμεση αξία για την επιβίωση, μπορεί να γίνει παθολογικός και να προκαλέσει δυσλειτουργία<sup>2</sup>. Έτσι είναι σημαντικό να γίνεται επαρκής έλεγχος του ισχυρού πόνου.

Τα οπιοειδή, που συμπεριλαμβάνουν τη μορφίνη και την φαιντανύλη, χρησιμοποιούνται ευρέως ως αναλγητικά για τον έλεγχο του μέτριου έως ισχυρού πόνου. Ανασκοπήσεις στον καρκινικό πόνο αναφέρουν ότι στο 80% των ασθενών επιτυγχάνεται ικανοποιητικό επίπεδο αναλγησίας με τη χρήση οπιοειδών και άλλων φαρμάκων, βάσει των πρωτοκόλλων του Παγκόσμιου Οργανισμού Υγείας(ΠΟΥ)<sup>3</sup>. Δυστυχώς όμως τα οπιοειδή προκαλούν και σημαντικές ανεπιθύμητες ενέργειες όπως ψυχολογική εξάρτηση, αντοχή, καταστολή του αναπνευστικού συστήματος, ναυτία, εμετούς και δυσκοιλιότητα<sup>4</sup>. Η ισορροπία ανάμεσα στην αναλγητική δράση και τις ανεπιθύμητες ενέργειες πρέπει να λαμβάνεται υπόψη όταν καθορίζεται η δοσολογία των οπιοειδών<sup>5</sup>. Επίσης παρουσιάζονται σημαντικές διαφορές στην αναλγητική αποτελεσματικότητα και στην ένταση των παρενεργειών μεταξύ διαφορετικών ατόμων η οποία εμποδίζει την αποτελεσματική χρήση των οπιοειδών για τον έλεγχο του πόνου<sup>5-7</sup>. Για παράδειγμα η ελάχιστη δραστική αναλγητική συγκέντρωση της

φαιτανύλης που απαιτείται για αποτελεσματική αναλγησία είναι μεταξύ 0,2 έως 2ng/ml σε διάφορα άτομα<sup>8</sup>. Η μεταβλητότητα αυτή στην ευαισθησία στα οπιοειδή έχει αποδοθεί σε περιβαλλοντικούς, ψυχολογικούς και γενετικούς παράγοντες. Αν και οι περιβαλλοντικοί και ψυχολογικοί παράγοντες μπορούν να μεταβάλουν την αντίδραση στον πόνο και την ευαισθησία στα οπιοειδή μέσω νοητικών και συναισθηματικών διεργασιών όπως ο φόβος και η αγωνία, πολλοί γενετικοί παράγοντες, όπως οι γονιδιακές παραλλαγές και ο αριθμός των γονιδιακών αντιγράφων, επηρεάζουν την φαρμακοκινητική και φαρμακοδυναμική των οπιοειδών. Η εξατομικευμένη πρόβλεψη της θεραπευτικής δράσης των οπιοειδών βασιζόμενη στην μεταβλητότητα της φαρμακολογίας τους είναι προαπαιτούμενη για την επαρκή και εξατομικευμένη διαχείριση του πόνου με τα οπιοειδή. Για το λόγο αυτό η διερεύνηση γενετικών παραγόντων που επιδρούν στην φαρμακολογία των οπιοειδών έχει ιδιαίτερη αξία.

Στην εργασία αυτή θα γίνει προσπάθεια διερεύνησης της σχέσης ή όχι μεταξύ γονιδιακού πολυμορφισμού και εξατομικευμένης ευαισθησίας στα οπιοειδή στον άνθρωπο.

## **Μεθοδολογία**

Για την εύρεση των δεδομένων που έχουν δημοσιευτεί σχετικά με τη διερεύνηση της σχέσης ή όχι μεταξύ γονιδιακού πολυμορφισμού και εξατομικευμένης ευαισθησίας στα οπιοειδή γίνεται αναζήτηση σε αγγλόφωνη βιβλιογραφία που έχει αποδελτιωθεί στη βάση MEDLINE από το 1955 έως σήμερα με λέξεις κλειδιά pain, opioids, gene, genes, genetics με όλους τους δυνατούς συνδυασμούς αυτών. Από τις δημοσιεύσεις αυτές επιλέχθηκαν οι μετα-αναλύσεις, οι τυχαιοποιημένες ελεγχόμενες έρευνες(διπλά τυφλές ή όχι) και οι ανασκοπήσεις(συστηματικές ή όχι). Ακολούθως έγινε ανάγνωση των τίτλων και των περιλήψεων όλων των σχετικών δημοσιεύσεων για να ελεγχτεί η συνάφεια με το εξεταζόμενο θέμα και τελικά καταρτίστηκε κατάλογος με 110 δημοσιεύσεις. Από αυτές οι 103 αφορούσαν ανασκοπήσεις, οι υπόλοιπες 7 κλινικές και εργαστηριακές μελέτες. Εξαιτίας του μικρού αριθμού των πρωτογενών εργασιών που αφορούσαν αποκλειστικά στο θέμα, μέσα από προσωπική επιλογή μελετών και των παραπομπών αυτών προσδιορίστηκαν τα δεδομένα στα οποία βασίστηκε η συγγραφή της παρούσας εργασίας. Η εύρεση δεδομένων με όχι συστηματική μεθοδολογία υπαγορεύτηκε και από διάφορες ιδιαιτερότητες που παρουσιάζουν οι μελέτες πάνω στον πόνο. Συχνά η ενασχόληση με τις καταστάσεις πόνου δεν είναι το κύριο ερώτημα στις εργασίες άλλα διάσπαρτα στοιχεία βρίσκονται παράλληλα με κάποιο κεντρικό ζήτημα. Έτσι, η αναζήτηση στοιχείων δεν διευκολύνεται από τις βάσεις δεδομένων και για το λόγο αυτό παρουσιάζονται φαινομενικά λίγα στοιχεία. Οι αναφορές σε στοιχεία επώδυνων καταστάσεων πολλές φορές ακολουθούν εξατομικευμένη για κάθε μελέτη μεθοδολογία(πολλές φορές δεν υπάρχει μεθοδολογία αφού δεν είναι το κύριο ερώτημα των συγγραφέων) κάνοντας έτσι την συγκέντρωση και ομαδοποίηση των στοιχείων αυτών, από διαφορετικές

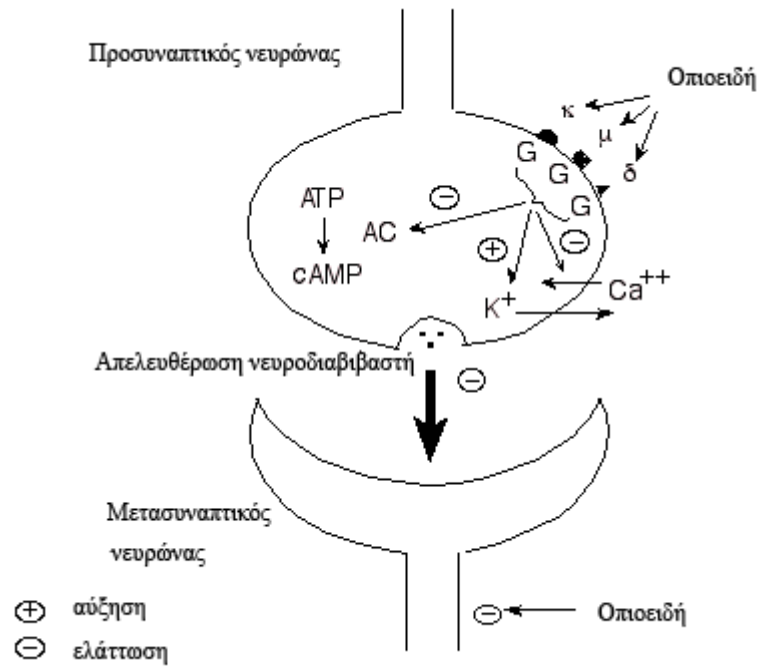
μελέτες, δύσκολη έως αδύνατη για εξαγωγή στατιστικώς σημαντικών συμπερασμάτων. Η ανασκόπηση αυτή δεν μπορεί να χαρακτηριστεί συστηματική με αυστηρά επιστημονικά(evidence based) κριτήρια αλλά καταβλήθηκε ιδιαίτερη προσπάθεια να διαχωριστούν τα υπάρχοντα δεδομένα από προκαταλήψεις ή προσδοκίες

## **Αποτελέσματα-δεδομένα που προκύπτουν**

### **Μηχανισμός δράσης των οπιοειδών**

Τα οπιοειδή ασκούν τις δράσεις τους αλληλεπιδρώντας με τους υποδοχείς τους στο κεντρικό και περιφερικό νευρικό σύστημα καθώς επίσης και σε θέσεις εκτός νευρώνων όπως σε κύτταρα του πεπτικού επιθηλίου και σε κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος. Τα οπιοειδή μεταβολίζονται και εξουδετερώνονται από τον οργανισμό. Η δράση τους εξαρτάται από μεταβολικά ένζυμα, μεταφορείς και μόρια που συμμετέχουν στις βιοχημικές οδούς μεταφοράς σημάτων. Τα τελευταία είναι ένζυμα που μεταβολίζουν τα λιποδιαλυτά οπιοειδή σε πιο υδατοδιαλυτούς μεταβολίτες για να διευκολύνουν την εξουδετέρωσή τους. Στοιχεία σε πειραματόζωα και ανθρώπους υποδεικνύουν ότι κάποια ένζυμα-μεταβολίτες και μεταφορείς των οπιοειδών όπως το κυτόχρωμα P450 (CYP), η 5-διφωσφορική ουριδίνη (UDP) και μεταφορείς που συνδέονται με την τριφωσφορική αδενοσίνη (ATP) σχετίζονται με το μεταβολισμό των οπιοειδών, την αποδέσμευσή τους από τις θέσεις δράσης τους και τις διαφορές στη συγκέντρωση στον οργανισμό διαφορετικών ατόμων. Η δράση των οπιοειδών βασίζεται στη σύνδεσή τους με τρεις, κυρίως, τύπους υποδοχέων, τους  $\mu$  ( $\mu$ ),  $\kappa$  ( $\kappa$ ) και τους  $\delta$  ( $\delta$ )<sup>9, 10</sup> (εικ. 1). Μεταξύ των τριών αυτών υποδοχέων οπιοειδών η μορφίνη και η φαιντανύλη συνδέονται περισσότερο στους  $\mu$  υποδοχείς οπιοειδών (MOP) και μέσω αυτών διεγείρονται συγκεκριμένοι βιοχημικοί μηχανισμοί.





**Εικόνα 1**

*Τα οποειδή αποκλείουν την απελευθέρωση του νευροδιαβιβαστή αποκλείοντας την είσοδο ασβεστίου, προάγοντας την έξοδο ιόντων καλίου και αποκλείοντας την δράση της αδευλικής κυκλάσης (AC), το ένζυμο που μετατρέπει το ATP σε cAMP*

## **Γενετικές τεχνικές μοριακής γενετικής για την μελέτη του πόνου**

Για πολλές δεκαετίες, η βασική έρευνα για τους μηχανισμούς που προκαλούνται ή αποκλείονται τα επώδυνα ερεθίσματα, πραγματοποιούνταν με συνδυασμό τεχνικών της βιοχημείας, της φαρμακολογίας, της ηλεκτροφυσιολογίας και της συμπεριφοράς. Πρόσφατα, οι εξελίξεις στις τεχνικές της μοριακής βιολογίας, ιδιαίτερα της αντίδρασης αλυσίδας πολυμεράσης (PCR), οδήγησαν στη δυνατότητα μελέτης των βιολογικών συστημάτων σε επίπεδο γονιδίων. Προσεγγίσεις που ευνοήθηκαν από την μοριακή «επανάσταση» περιλαμβάνουν : (α) την κλωνοποίηση, τον προσδιορισμό της αλληλουχίας νουκλεοτιδίων και τη χαρτογράφηση γονιδίων που μεσολαβούν στα βιολογικά φαινόμενα, (β) τη μελέτη της έκφρασης των γονιδίων αυτών και (γ) την τροποποίηση της γονιδιακής έκφρασης με ένεση κατάλληλου mRNA ή τη δημιουργία γενετικά τροποποιημένων πειραματόζωων.

Η δημιουργία γενετικά τροποποιημένων πειραματόζωων είναι ιδιαίτερα δημοφιλής για την διερεύνηση πολύπλοκων ψυχοσωματικών χαρακτηριστικών όπως είναι ο πόνος. Δύο συμπληρωματικοί οδοί ακολουθούνται για την δημιουργία γενετικά τροποποιημένων πειραματόζωων : εξωγενές γενετικό υλικό μπορεί να προστεθεί στο γονιδίωμα ή ενδογενή γονίδια μπορούν να απενεργοποιηθούν ή να κατασταλεί η λειτουργικότητά τους. Οι τεχνικές αυτές περιλαμβάνουν γονιδιακή μεταφορά. Το εξωγενές γενετικό υλικό θα πρέπει να ενσωματωθεί στο χρωμοσωμικό DNA του ξενιστή. Για την δημιουργία γενετικά τροποποιημένων ποντικών το μόριο του εξωγενούς DNA (vector) φέρεται στο πυρήνα του μονοκύτταρου γονιμοποιημένου ωαρίου με μικροέγχυση ή με ηλεκτροδιαβίβαση. Η εποχή της γενετικής τροποποίησης ξεκίνησε με την απόδειξη ότι το εξωγενές DNA πραγματικά ενσωματώνεται στο γενετικό υλικό του ξενιστή<sup>11</sup>. Αρχικά η τεχνική αυτή στην απλή

της μορφή είχε σημαντικούς περιορισμούς όμως καινούργιες στρατηγικές επιτρέπουν την ελεγχόμενη γονιδιακή αντιγραφή στην αρχική περιοχή , επιτρέποντας την δημιουργία καμπύλων αριθμός γονιδίων-αποτέλεσμα<sup>12</sup> και ενσωμάτωση του τμήματος DNA σε επιλεγμένες περιοχές στο γενετικό υλικό του ξενιστή<sup>13</sup>.

## **Γενετικό υπόστρωμα και δράση οπιοειδών**

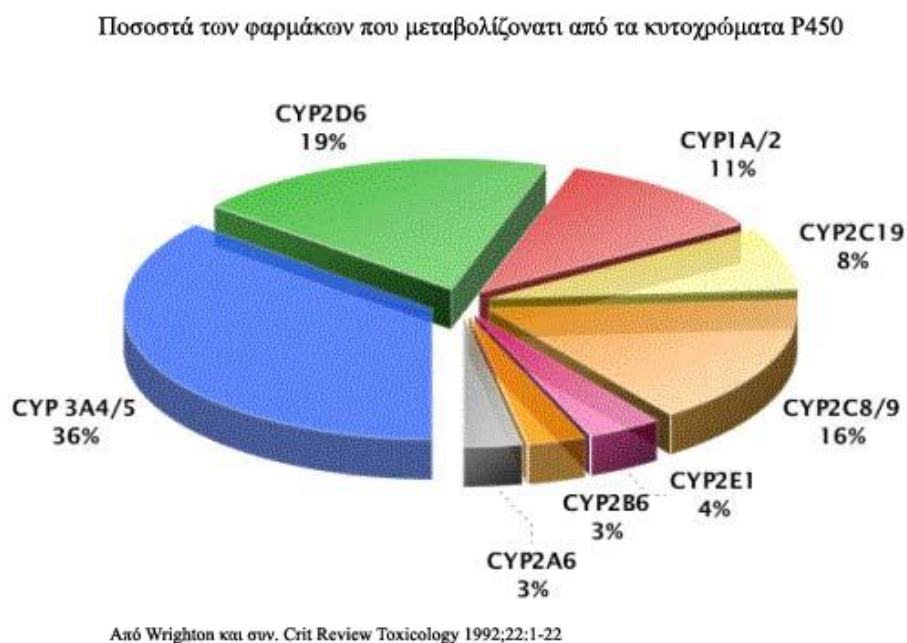
Η φαρμακοθεραπεία, περιστασιακά, φέρνει αντιμέτωπο τον κλινικό με απροσδόκητες καταστάσεις όπου κάποιο φάρμακο δεν έχει καμία δραστηριότητα ή παρουσιάζει σοβαρές ανεπιθύμητες ενέργειες. Το γεγονός αυτό μπορεί να απειλήσει ακόμα και τη ζωή κάποιων ασθενών. Μια μετα-ανάλυση 39 προοπτικών μελετών προσδιορίζει τις σοβαρές φαρμακευτικές παρενέργειες σε 6,7%. Ως σοβαρές θεωρήθηκαν οι παρενέργειες για τις οποίες απαιτούνταν εισαγωγή σε νοσοκομείο ή είχαν αποτέλεσμα μόνιμη αναπηρία ή το θάνατο<sup>14</sup>. Πιθανοί παράγοντες κινδύνου για τέτοιου είδους παρενέργειες περιλαμβάνουν την ηλικία του ασθενούς, το φύλο, την ύπαρξη άλλων νόσων, την λειτουργία των οργάνων – ιδιαίτερα του ήπατος και των νεφρών, τη διατροφή και κάποιες συνήθειες του τρόπου ζωής όπως το κάπνισμα και η κατανάλωση αλκοόλ. Περαιτέρω, γενετικές μεταβλητές μπορούν να τροποποιήσουν την φαρμακοκινητική και φαρμακοδυναμική των θεραπευτικών σκευασμάτων και να αυξήσουν την τάση για ανεπιθύμητες ενέργειες. Οι μεταβολές στην αλληλουχία του DNA μπορούν να εξηγήσουν, ως ένα βαθμό, την ποικιλία στην δραστηριότητα κάποιων μεταβολικών ενζύμων, γεγονός που σχετίζεται με την ανταπόκριση του ασθενή στη φαρμακοθεραπεία. Γονίδια που αφορούν ένζυμα, υποδοχείς, μεταφορείς ουσιών και άλλα βιομόρια έχουν συσχετιστεί με εξατομικευμένη απόκριση στη φαρμακοθεραπεία. Ο κλάδος της φαρμοκογενετικής ασχολείται με την γενετικά καθοριζόμενη ποικιλομορφία στον μεταβολισμό των φαρμάκων.

Παρακάτω αναλύονται σημαντικά γονίδια και βιοχημικοί οδοί που σχετίζονται με την γενετικά καθοριζόμενη ευαισθησία στα οπιοειδή.

Το *κυτόχρωμα P450 (CYP)* και οι σχετιζόμενες με αυτό μονοοξυγενάσες αποτελεί τη βασική κατηγορία ενζύμων μεταβολισμού των φαρμάκων (*εικ.2*). Περισσότεροι από 72 τύποι CYP με διακριτή δομή έχουν αναγνωριστεί στον άνθρωπο. Η μορφίνη απομεθυλιώνεται από το CYP2C8 ή το CYP3A4<sup>15</sup>. Η κωδεΐνη μετατρέπεται (*εικ.3*) σε νορ- κωδεΐνη από το CYP3A4 και μετατρέπεται σε μορφίνη από το CYP2D6 η οποία ευθύνεται για σχεδόν όλη την αναλγητική δράση της κωδεΐνης<sup>16-18</sup>. Η CYP2D6 είναι κάτω από πολυμορφικό γενετικό έλεγχο η οποία οδηγεί σε μεγάλη ποικιλία μεταβολικών δραστηριοτήτων<sup>19</sup>. Τα άτομα μπορούν να διακριθούν σε «κακούς» μεταβολιστές ή «καλούς» μεταβολιστές της κωδεΐνης με βάση τη δραστηριότητα του CYP2D6. Στους «κακούς» μεταβολιστές η κωδεΐνη μετατρέπεται ελάχιστα σε μορφίνη και εκκρίνεται ελάχιστα στα ούρα ενώ στους «καλούς» η συγκέντρωση της μορφίνης είναι σημαντικά μεγαλύτερη και στον οργανισμό<sup>20</sup> και στα ούρα<sup>21</sup>. Η ουδός του πόνου αυξάνει στους «καλούς» μεταβολιστές ( $p < 0,05$ ) ενώ μένει σχεδόν σταθερή στους «κακούς» μεταβολιστές<sup>22</sup>. Περίπου το 10% του Καυκάσιου πληθυσμού της Ευρώπης και της βορείου Αμερικής δεν διαθέτουν τη λειτουργική δράση του ενζύμου CYP2D6 λόγω μετάλλαξης και στις δύο θέσεις του αντίστοιχου γονιδίου<sup>23, 24</sup>. Το CYP2D6 καταλύει επίσης την μετατροπή της δι-υδροκωδεΐνης, της υδροκωδόνης, της οξυκωδόνης και τραμαδόλης σε δι-υδρομορφίνη, υδρομορφίνη, οξυμορφίνη και στον M1 μεταβολίτη της τραμαδόλης αντίστοιχα<sup>25-28</sup>.

Από τα παραπάνω φαίνεται ότι η δραστηριότητα της CYP2D6 προάγει τον σχηματισμό περισσότερο δραστικών αγωνιστών και καταδεικνύεται η σαφής

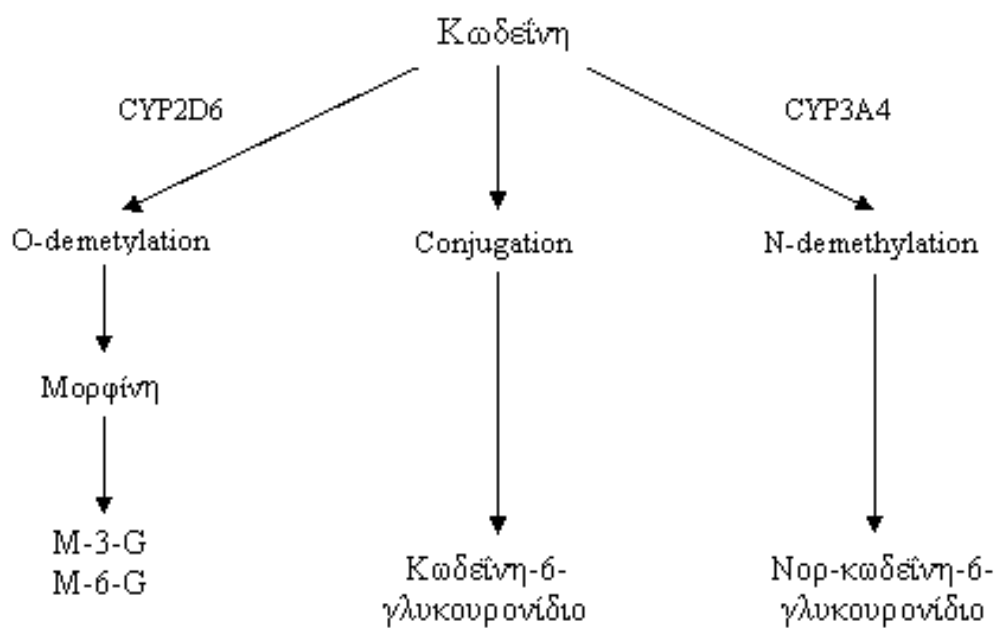
επίδραση του πολυμορφισμού του γονιδίου για το CYP2D6 στις ατομικές διαφορές της δράσης των οπιοειδών. Επίσης και άλλοι τύποι του CYP συμμετέχουν στον μεταβολισμό των τελευταίων. Έτσι οι γενετικές διαφορές στα κυτοχρώματα μπορούν εξηγήσουν διαφορές στη συγκέντρωση οπιοειδών στο πλάσμα. Επιπροσθέτως, άλλα φάρμακα που μπορεί να επηρεάσουν τη δραστηριότητα των κυτοχρωμάτων μπορούν να επιδράσουν στην αποτελεσματικότητα των δράσεων των οπιοειδών.



## Εικόνα 2

*Ποσοστά φαρμάκων που μεταβολίζονται από διάφορους τύπους κυτοχρωμάτων P450*

## Μεταβολικοί οδοί κωδεΐνης



### **Εικόνα 3**

*Μεταβολικοί οδοί κωδεΐνης*

Οι *UDP-γλυκουρονιδιοστρανφεράσες* (UGTs), καταλύουν τη γλυκουρονιδίωση. Έχει αναφερθεί ότι 60-80% μιας συγκεκριμένης δόσης μορφίνης απεκκρίνεται στα ούρα ως γλυκουρονίδια<sup>29</sup>. Περίπου 28 μορφές UGT έχουν ανακαλυφθεί στον άνθρωπο. Ο τύπος UGT2B7 υπάρχει στον εγκέφαλο, το ήπαρ και τους νεφρούς και συμμετέχει στη γλυκουρονιδίωση σχεδόν όλων των οπιοειδών<sup>30</sup>. Η μορφίνη καταλύεται από το UGT2B7 και σχηματίζεται η μορφίνη-3-γλυκουρονίδιο (M-3-G) και η μορφίνη-6-γλυκουρονίδιο (M-6-G)<sup>31</sup>. Ο κύριος μεταβολίτης M-3-G δεν έχει καθόλου αναλγητικές ιδιότητες και εμπλέκεται σαν ανταγωνιστής των υποδοχέων οπιοειδών<sup>32, 33</sup>. Ο μεταβολίτης M-6-G είναι 50 φορές πιο δραστικός από την μορφίνη ως αναλγητικό<sup>34, 35</sup> αν και η συνεισφορά του στην αναλγητική δράση κατά την χορήγηση μορφίνης δεν είναι καθόλου σταθερή<sup>36</sup>. Τα παραπάνω δείχνουν την εμπλοκή της UGT2B7 στην αναλγητική δράση της μορφίνης. Υπάρχει ένας γνωστός πολυμορφισμός<sup>37</sup> της UGT2B7 που έχει σαν αποτέλεσμα τη μείωση των επιπέδων M-3-G και M-6-G αλλά δεν μπορεί να συσχετιστεί ισχυρά με την μεταβαλλόμενη δραστηριότητα των οπιοειδών<sup>38-40</sup>.

Η οικογένεια βιοχημικών μεταφορέων ABC περιλαμβάνει πρωτεΐνες που μεταφέρουν μια ευρεία ποικιλία ουσιών σε εξωκυττάρια και ενδοκυττάρια μεμβράνες. Η γλυκοπρωτεΐνη P που σχηματίζεται από το γονίδιο της «ανθρώπινης αντοχής σε πολλαπλά φάρμακα» (human multidrug resistance MDR1), υπάρχει διάσπαρτη στο ενδοθήλιο του εγκεφάλου και στο επιθήλιο των νεφρών και αποτελεί σημαντικό στοιχείο του αιματοεγκεφαλικού φραγμού. Το MDR1 φαίνεται να επηρεάζει την ενδοκυττάρια διαπερατότητα της μορφίνης *in Vitro*<sup>41</sup>. Μελέτες σε ποντίκια με τροποποιημένο το MDR1a γονίδιο δείχνουν ότι βοηθά στη μεταφορά μορφίνης στον εγκέφαλο<sup>42</sup>. Επίσης το MDR1 ρυθμίζει τα επίπεδα και της

φαιντανύλης και της μεθαδόνης στον εγκέφαλο<sup>43</sup> αλλά δεν μεταφέρει άλλα οπιοειδή όπως οι μεταβολίτες M-3-G, M-6-G και η οξυκωδόνη<sup>44</sup>. Άλλες μορφές του MDR ευνοούν τις μεταφορές αυτών<sup>45</sup>. Οι πολυμορφισμοί του γονιδίου MDR1 έχουν αρχίσει να διερευνούνται<sup>46, 47</sup> αλλά δεν διαφαίνονται απλοί συσχετισμοί με την αναλγητική δράση καθώς υπάρχουν πολλές άλλες ουσίες που αλληλεπιδρούν με τις γλυκοπρωτεΐνες.

Πολλά φαρμακολογικά δεδομένα που προκύπτουν από γενετικά τροποποιημένα ποντίκια δείχνουν ότι οι *μ υποδοχείς των οπιοειδών* (MOP) είναι ο προτεινόμενος στόχος της μορφίνης και μεσολαβούν στις κλινικές δράσεις της όπως η αναλγησία, η αντοχή και εξάρτηση<sup>48, 49</sup>. Για παράδειγμα σε ποντίκια που έχουν αποκλειστεί γενετικά πλήρως οι MOP δεν υπάρχει αναλγησία με την μορφίνη<sup>50-52</sup>. Επίσης σε ποντίκια που έχουν αποκλεισμένους MOP σε ετερόζυγη κατάσταση έχουν περίπου το μισό αριθμό MOP από ότι τα κοινά ποντίκια και η αναλγητική δράση της μορφίνης είναι μεταξύ της δράσης στα κοινά ποντίκια και της δράσης στα πλήρως αποκλεισμένα<sup>50, 52</sup>, γεγονός που δείχνει ότι υπάρχει συσχέτιση ποσοτική μεταξύ MOP και δραστηριότητας της μορφίνης. Γενετικές παραλλαγές στο ανθρώπινο γονίδιο των MOP (OPRM1) που επηρεάζουν την έκφραση μπορεί να επηρεάζουν και την ευαισθησία στα οπιοειδή. Περισσότερες από 100 παραλλαγές του γονιδίου OPRM1 έχουν βρεθεί<sup>53</sup>. Η παραλλαγή A118G είναι η πιο μελετημένη όσο αφορά τη δράση των οπιοειδών και την κατάχρηση ουσιών. Σε αρκετές μελέτες το αλληλόμορφο αυτό συσχετίζεται με τη μειωμένη αποτελεσματικότητα της μορφίνης τόσο σε υγιή άτομα<sup>54</sup> όσο και σε ασθενείς με καρκίνο<sup>55, 56</sup>. Αναφέρθηκε επίσης σαν παράγοντας κινδύνου για κατάχρηση ουσιών όπως αλκοόλ και ηρωίνη<sup>57-61</sup>. Σε αντιδιαστολή με τις έρευνες αυτές υπάρχουν και άλλες που δεν δείχνουν καμία συσχέτιση του A118G με τη



δραστηριότητα των οπιοειδών ή την εξάρτηση σε αλκοόλ και ηρωίνη<sup>62-65</sup>. Επίσης κάποιες μετα-αναλύσεις δεν δείχνουν συσχέτιση με την κατάχρηση ουσιών<sup>66, 67</sup>. Είναι συχνό φαινόμενο μελέτες σε πολυγονιδιακές διαταραχές οι οποίες προσπαθούν δείξουν συσχετισμούς μεταξύ γενετικής ταυτότητας και κλινικών συμπτωμάτων να δείχνουν αντικρουόμενες, ίσως λόγω τις επίδρασης πολλαπλών παραγόντων σε διαφορετικούς πληθυσμούς. Το γεγονός αυτό δείχνει ότι απαιτούνται περισσότερες και πιο στοχευμένες μελέτες για την απόδειξη της δράσης των διαφόρων αλληλομόρφων στους υποδοχείς μ των οπιοειδών.

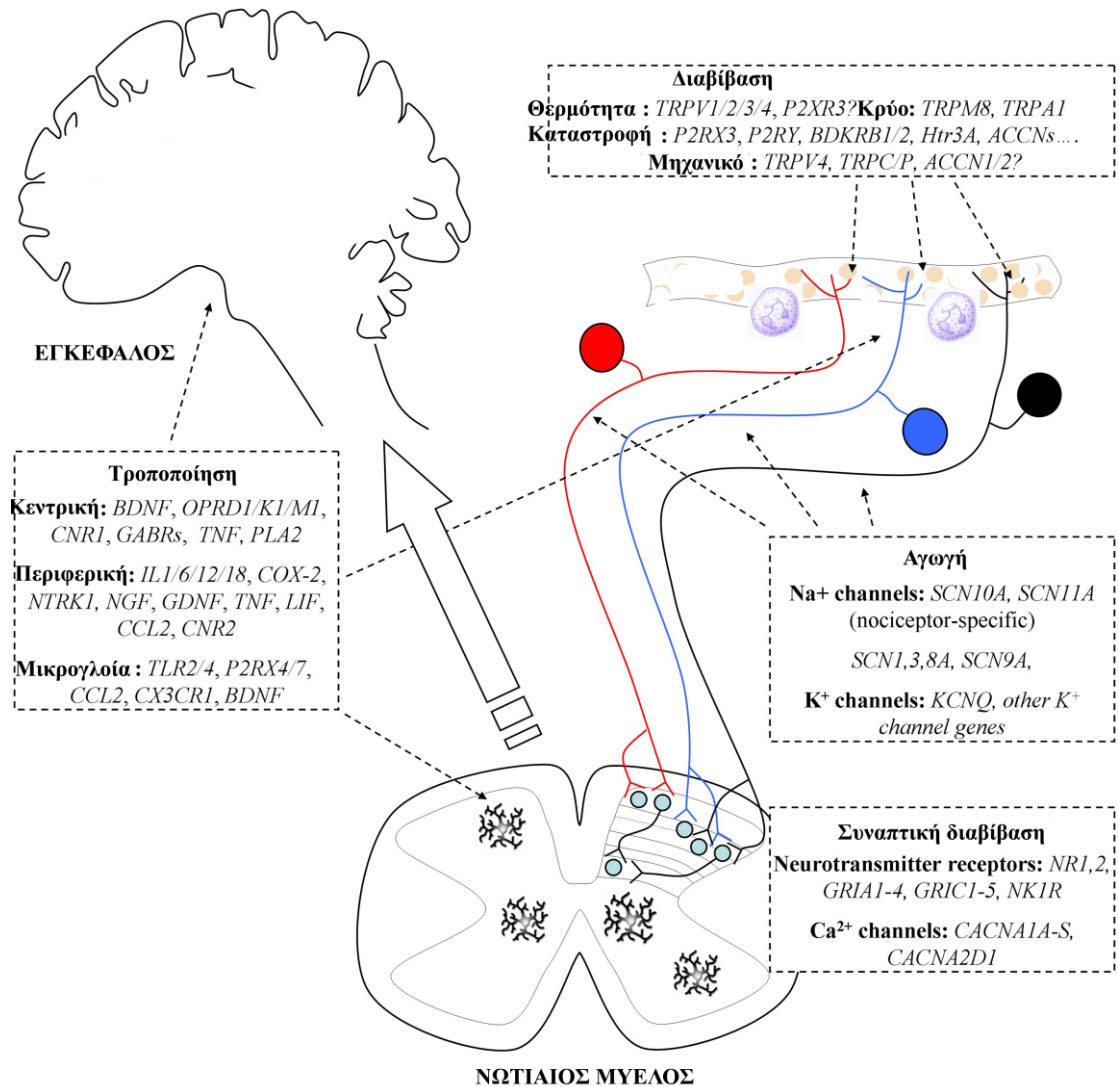
Η αναλγησία που επιτυγχάνεται με τα οπιοειδή επηρεάζεται από διάφορα βιολογικά τροποποιητικά συστήματα όπως είναι οι φυγόκεντροι ανασταλτικοί αδρενεργικοί και σεροτονινεργικοί νευρώνες. Κλινικό παράδειγμα που δείχνει την αλληλεπίδραση μη οπιοειδών ουσιών με την οπιοειδή αναλγησία είναι η προσθήκη κατεχολαμινών για την ενίσχυση της δραστηριότητας των οπιοειδών<sup>68</sup>. Η δράση των οπιοειδών θα μπορούσε να συσχετιστεί με τη δράση πολλών ενδογενών ουσιών όπως οι αδρενεργικοί νευροδιαβιβαστές. Η κατεχολ-Ο-μεθυλοτρανσφεράση (COMT) μεταβολίζει κατεχολαμίνες όπως η ντοπαμίνη, αδρεναλίνη, νορ-αδρεναλίνη. Ένας συχνός πολυμορφισμός του γονιδίου COMT που περιλαμβάνει αντικατάσταση της βαλίνης(Val) με μεθιονίνη(Met) έχει ως αποτέλεσμα τον υποτριπλασιασμό της δράσης του ενζύμου<sup>69</sup>. Ασθενείς με τον Met/Met γονότυπο έχουν μικρότερη συγκέντρωση εγκεφαλίνης(ενδογενές οπιοειδές) και εξαιτίας αυτού μπορεί να χρειάζονται περισσότερη μορφίνη. Αυξημένη πυκνότητα των υποδοχέων μ έχει επίσης βρεθεί σε ασθενείς με τον Met/Met γονότυπο<sup>70</sup> και αυτό μπορεί να δείχνει αυξημένη ευαισθησία στη μορφίνη-ίσως στην πραγματικότητα χρειάζονται λιγότερη μορφίνη<sup>71</sup>.

Άλλο βιολογικό σύστημα το οποίο μπορεί να μεταβάλει την δραστηριότητα των οπιοειδών αποτελεί η ενεργοποίηση των υποδοχέων *μελανοκορτίνης-1* (MC1R). Η αναλγητική δράση της μορφίνης και του μεταβολίτη της M-6-G ενισχύονταν σε άτομα με μη ενεργά αλληλόμορφα του MC1R γονιδίου πιθανότατα λόγω της μειωμένης αντιοπιοειδούς δράσης<sup>72</sup>. Ενδιαφέρουσα παρατήρηση είναι ότι για τους κ υποδοχείς, στους οποίους κυρίως δρα η πενταζοκίνη, η επίδραση του γονιδίου MC1R παρατηρήθηκε μόνο σε γυναίκες<sup>73</sup>.

Στην *εικόνα 4* παρουσιάζεται η θέση δράσης γονιδίων που εμπλέκονται στην αντίληψη και τροποποίηση του πόνου.

Στον *πίνακα 1* έχουν συγκεντρωθεί γονίδια που έχουν μελετηθεί σε γενετικά τροποποιημένα ποντίκια και μεταβάλουν με οποιοδήποτε τρόπο την δράση οπιοειδών ουσιών.

Στον *Πίνακα 2* παρουσιάζονται γονίδια που συμμετέχουν σε κληρονομικές καταστάσεις πόνου.



#### Εικόνα 4

Γονίδια που εμπλέκονται στην αντίληψη και τροποποίηση του πόνου

**Πίνακας 1** Γονίδια σε γενετικά τροποποιημένα ποντίκια στα οποία μεταβάλλεται η δράση των οπιοειδών

Γονίδια σε γενετικά τροποποιημένα ποντίκια	Αναλγησία(οπιοειδή)	Άλλες εκδηλώσεις στις δράσεις των οπιοειδών	Βιβλιογραφική αναφορά
<b>Οπιοειδή πεπτίδια και υποδοχείς</b>			
Penk1 (Enkephalin)		Καταργείται η αντοχή στη μορφίνη	74
Oprm1 (μ Opioid receptor)	Καταργείται		50-52
CXB7/ByJ (CXBK) mice	Ελαττώνεται		75
Oprk1 (κ Opioid receptor)	Καταργείται		76
Oprd1 (δ Opioid receptor)	Καταργείται		77
<b>Υποδοχείς, δίαυλοι και μεταφορείς</b>			
Adora1 (Adenosine A1 receptor)	Διατηρείται/ελαττώνεται(μορφίνη)		78, 79
Adra1b (Adrenergic receptor α1B)		Μειωμένη υπερδραστηριότητα προκαλείται από τη μορφίνη	80
Adra2a (Adrenergic receptor α2A)	Αυξάνεται(μορφίνη, τραμαδόλη)		81
Adrb2 (Adrenergic receptor β2)		Μειωμένη αντοχή και εξάρτηση στη μορφίνη	82
Ca <sub>v</sub> 1e (R-type calcium channel)	Αυξάνεται(μορφίνη)	Μειωμένη αντοχή στη μορφίνη	83
Cckbr (Cholecystokinin B receptor)	Ελαττώνεται(μορφίνη)	Αυξημένη υπερδραστηριότητα προκαλείται από τη μορφίνη	84
Chrm1 (Muscarinic acetylcholine receptor 1)	Αυξάνεται(μορφίνη)	Μειώνεται η δράση ανταμοιβής της μορφίνης	85
Chrm5 (Muscarinic acetylcholine receptor 5)		Μειώνεται η δράση ανταμοιβής της μορφίνης	86, 87
Cnr1 (Cannabinoid receptor 1)	Διατηρείται(μορφίνη)	Μειώνεται η δράση ανταμοιβής της μορφίνης	88-90
Drd2 (Dopamine receptor 2)	Αυξάνεται(μορφίνη, ναλοξόνη)	M-6-G, Μειώνεται η δράση ανταμοιβής της μορφίνης	91, 92
Drd3 (Dopamine receptor 3)		Αυξάνεται η δράση ανταμοιβής της μορφίνης	93
Grin2a (NMDA receptor 2A)		Μειωμένη αντοχή στη μορφίνη	94
Gria1 (AMPA1 receptor)		Μειωμένη αντοχή στη μορφίνη	95
Hrh1 (Histamine H1 receptor)	Αυξάνεται(μορφίνη)		96
Hrh2 (Histamine H2 receptor)	Αυξάνεται(μορφίνη)		97
Kcna1 (Voltage-gated potassium channel)	Ελαττώνεται(μορφίνη)		98
Kcnj3 (Inwardly-rectifying potassium channel 1)	Ελαττώνεται(μορφίνη)		99

## Πίνακας 1(συνέχεια)

Γονίδια σε γενετικά τροποποιημένα ποντίκια	Αναλγησία(οπιοειδή)	Άλλες εκδηλώσεις στις δράσεις των οπιοειδών	Βιβλιογραφική αναφορά
Kcnj6 (Inwardly-rectifying potassium channel 2)	Ελαττώνεται(μορφίνη)		99, 100
Weaver mutant mice	Ελαττώνεται(μορφίνη)		101
Kcnj9 (Inwardly-rectifying potassium channel 3)	Ελαττώνεται(μορφίνη)	Μειωμένη αντοχή στη μορφίνη και την φαιτανύλη	99, 102
Mc1r (e/e) spontaneous mutant mice	Αυξάνεται(M-6-G, πενταζοκίνη)		72, 73
Opr1 (Nociceptin receptor)	Καταργείται(ναλοζόνη, benzoylhydrazone)		103
Prlhr (Prolactin-releasing peptide receptor)	Αυξάνεται(μορφίνη)	Μειωμένη αντοχή στη μορφίνη	104
Slc6a2 (Norepinephrine transporter)	Αυξάνεται(μορφίνη)		105, 106
Slc6a3 (Dopamine transporter)		Αυξάνεται η δράση ανταμοιβής της μορφίνης	107
Tacr1 (Tachykinin receptor 1)		Μειωμένη υπερδραστηριότητα προκαλείται από τη μορφίνη Μειώνεται η δράση ανταμοιβής της μορφίνης	108
<b>Νευροδιαβιβαστές και μεσολαβητές</b>			
Pnoc (Orphanin FQ/nociceptin)		Αυξημένη αντοχή και εξάρτηση στη μορφίνη	109, 110
Dopamine deficient mice	Ελαττώνεται(μορφίνη)	Διατηρείται η δράση ανταμοιβής της μορφίνης	111
Dbh (Dopamine β-hydroxylase)	Ελαττώνεται(μορφίνη)	Μειώνεται η δράση ανταμοιβής της μορφίνης	112, 113
Ntf5 (Neurotrophin 5)		Μειωμένη αντοχή στη μορφίνη	114
Tac1 (Tachykinin)		Καταργείται η δράση ανταμοιβής της μορφίνης	115
Μόρια ενδοκυττάριας δράσης			
Adcy5 (Adenylate cyclase 5)	Ελαττώνεται(μορφίνη)	Μειώνεται η αντοχή, ανταμοιβή και εξάρτηση της μορφίνης	116
Adcy8 (Adenylate cyclase 8)		Μειωμένη αντοχή στη μορφίνη	117
Alox12 (Arachidonate 12-lipoxygenase)	Αυξάνεται(μορφίνη)		118
Arrb2 (β2 Arrestin)	Αυξάνεται(μορφίνη)	Μειωμένη αντοχή στη μορφίνη	105, 106, 119-121
Camk4 (Calmodulin-dependent protein kinase IV)		Μειωμένη αντοχή στη μορφίνη	122

## Πίνακας 1(συνέχεια)

Γονίδια σε γενετικά τροποποιημένα ποντίκια	Αναλγησία(οπιοειδή)	Άλλες εκδηλώσεις στις δράσεις των οπιοειδών	Βιβλιογραφική αναφορά
Cdk5 (Cyclin-dependent kinase 5)		Μειώνεται η δράση ανταμοιβής της μορφίνης	123
Gnaz (Gz protein $\alpha$ subunit)		Αυξάνεται η αντοχή στη μορφίνη	124, 125
Gnb5 (Guanine nucleotide binding protein $\beta$ 5)		Μειωμένη αντοχή στη μορφίνη	126
Grasp (GRP1-associated scaffold protein)	Ελαττώνεται(μορφίνη)	Μειώνεται η δράση ανταμοιβής της μορφίνης	127
Plcb1 (Phospholipase C $\beta$ 1)	Ελαττώνεται(μορφίνη)	Μειωμένη αντοχή στη μορφίνη	128
Plcb3 (Phospholipase C $\beta$ 3)	Αυξάνεται(μορφίνη)		129
Prkce (Protein kinase C $\epsilon$ )		Αυξάνεται η δράση ανταμοιβής της μορφίνης	130
Rgs9 (Regulator of G-protein signaling 9)	Αυξάνεται(μορφίνη)	Αυξάνεται η δράση ανταμοιβής της μορφίνης Μειωμένη αντοχή στη μορφίνη	126, 131
<b>Διάφορα</b>			
Creb1 (cAMP response element binding protein 1)		Αυξάνεται ή ελαττώνεται η δράση ανταμοιβής της μορφίνης	118
Hmox2 (Heme oxygenase 2)		Καταργείται η αντοχή στη μορφίνη	132
Il6 (Interleukin 6)	Ελαττώνεται(μορφίνη)		133
Lmx1b (LIM homeobox transcription factor 1 $\beta$ )	Ελαττώνεται(μορφίνη)		134
Nrcam (Neuron-glia-CAM-related cell adhesion molecule)		Μειώνεται η δράση ανταμοιβής της μορφίνης	135
Plat (Tissue plasminogen activator)		Μειώνεται η δράση ανταμοιβής και η υπερδραστηριότητα της μορφίνης	136

## Πίνακας 2

### *Κληρονομικές καταστάσεις πόνου*

*Παρά το γεγονός ότι τα περισσότερα από αυτά τα σύνδρομα περιλαμβάνουν κυτταρικό θάνατο κάνοντας μη ενδιαφέροντα από πλευράς ανάπτυξης φαρμάκων, ανοίγουν νέους δρόμους στο κομμάτι της μελέτης της διαβίβασης των ερεθισμάτων πόνου. Για παράδειγμα το HSAN-3 παρουσιάζει το σημαντικό ρόλο του NGF(Nerve Growth Factor) σε αισθητικούς νευρώνες ενώ και η ανακάλυψη του γονιδίου SCN9A για την κατασκευή των διαύλων  $Na_v1.7$  είναι εξαιρετικός στόχος για την έρευνα.*

<b>Σύνδρομο</b>	<b>Γονίδιο</b>	<b>Κυτταρική απώλεια</b>	<b>Φαινότυπος</b>	<b>Βιβλιογρ. αναφορά</b>
HSAN-1	Αυτοσωμικό επικρατές SPTLC1	Απόπτωση αισθητικών και άλλων νευρώνων	Πόνος και απώλεια της αίσθησης του θερμού	137
HSAN-2	PRKWNK1	Σταδιακή απώλεια αισθητικών κυττάρων	Σταδιακή απώλεια όλων των αισθήσεων	138
HSAN-3	Ελάττωμα στην IkbKAP πρωτεΐνη	Αποτυχία στην ανάπτυξη των νευρικών κυττάρων	Ολική έλλειψη πόνου	139
HSAN-4 (CIPA)	Μη λειτουργικός υποδοχέας TrkA του NGF	Απώλεια των περισσότερων νευρώνων μικρής διαμέτρου	Συγγενής αναισθησία στον πόνο	140
Mutilated foot rat	δ υποτομήμα του γονιδίου Cct4	Απώλεια ελεύθερων νευρικών απολήξεων	Έλκη και απώλεια της αίσθησης πόνου	141
Erythralgia	Σημειακή μετάλλαξη στους διαύλους $Na_v1.7$	Δεν παρατηρείται κυτταρική απώλεια	Χρόνια φλεγμονή	142
Παροξυσμικός ισχυρός πόνος	Σημειακή μετάλλαξη στους διαύλους $Na_v1.7$	Δεν παρατηρείται κυτταρική απώλεια	Πολύ ισχυρός πόνος που ξεκινά με μηχανικά ερεθίσματα	143
Αναισθησία στον πόνο	Μετάλλαξη στους διαύλους $Na_v1.7$	Δεν παρατηρείται κυτταρική απώλεια	Πλήρης αναισθησία σε οξύ πόνο	144

## **Συζήτηση – συμπεράσματα που προκύπτουν**

Στο κεντρικό ζητούμενο της μελέτης αυτής που ήταν η διερεύνηση της σχέσης ή όχι μεταξύ γονιδιακού πολυμορφισμού και εξατομικευμένης ευαισθησίας στα οπιοειδή η απάντηση είναι σαφέστατη· υπάρχει ισχυρή συσχέτιση. Η δραστηριότητα των οπιοειδών όταν χορηγούνται είτε σε υγιή άτομα είτε σε άτομα που νοσούν παρουσιάζει μεταβλητότητα που εξαρτάται και από την γενετική ταυτότητα του καθενός. Σε μελέτες αναζητήθηκαν οι συσχετίσεις μεταξύ συγκεκριμένων υποψήφιων γονιδίων και των ενεργειών ή παρενεργειών των οπιοειδών και βρέθηκαν στατιστικά σημαντικοί συσχετισμοί. Βασικό πειραματικό μοντέλο για την εξακρίβωση στοιχείων αποτελεί, στις περισσότερες μελέτες, η χρήση γενετικά τροποποιημένων ποντικών στα οποία είτε αποκλείονται γενετικές θέσεις είτε τοποθετείται αλλογενές ή εξωγενές γενετικό υλικό (knock out και transgenic ποντίκια) με αποτέλεσμα φαινοτυπικές διαφοροποιήσεις.

Οι μηχανισμοί μέσω των οποίων τα προϊόντα της έκφρασης των γονιδίων επιδρούν και μεταβάλλουν την δράση των οπιοειδών δεν είναι σε καμία περίπτωση απλοί, μονοσήμαντοι και πλήρως ξεκαθαρισμένοι. Φαίνεται όμως ότι ο πολυμορφισμός μπορεί να επιδράσει (i) σε επίπεδο υποδοχέων π.χ. στους MOP το γονίδιο OPRM1 με σημαντικό αλληλόμορφο το A118G, (ii) στο μεταβολισμό των οπιοειδών π.χ. μέσω των κυτοχρωμάτων και με τρανσφεράσες γλυκουρονιδίωσης, (iii) στη διαπερατότητα του αιματοεγκεφαλικού φραγμού πχ μέσω του γονιδίου MDR1, (iv) στο μεταβολισμό των ενδογενών νευροδιαβιβαστών πχ το γονίδιο της κατεχολ-Ο-μεθυλοτρανσφεράση (COMT). Οι παραπάνω τρόποι αλληλεπίδρασης γονιδίων-οπιοειδών είναι από τους περισσότερο μελετημένους, στον Πίνακα 1 καταγράφονται περίπου 50 άλλα γονίδια που οι μεταβολές τους σχετίζονται με



μεταβολές της δραστηριότητας της κατηγορίας αυτής αναλγητικών ουσιών. Η εύρεση όμως του ακριβούς βιοχημικού μηχανισμού είναι αυτή τη στιγμή στα αρχικά στάδια. Τόσο λόγω του όχι σημαντικού αριθμού ερευνών σε ανθρώπους, όσο και ότι, στις περισσότερες από αυτές, η διερευνούμενη παράμετρος δεν είναι η αναλγητική δράση των οπιοειδών αλλά η κατάχρηση αυτών, μέσω των παρενεργειών αντοχής και εξάρτησης.

Η ποσοτικοποίηση των αποτελεσμάτων είναι εξαιρετικά παρακινδυνευμένη, παρόλο που κάποιοι συγγραφείς την επιχειρούν<sup>145</sup>.

Στον *πίνακα 3* που ακολουθεί παρουσιάζονται συγκεντρωμένα στοιχεία για στατιστικά σημαντική φαρμακογενετική μετατροπή των θεραπευτικών αποτελεσμάτων των αναλγητικών φαρμάκων και οι συνέπειες τους.

Γονίδιο	Αλληλόμορφο	Συχνότητα εμφάνισης (%) <sup>(1)</sup>	Αναλγητικό που επηρεάζεται(θετικές διαθέσιμες ενδείξεις)	Παράγοντας με τον οποίο η συνήθης δόση μπορεί να πολλαπλασιαστεί για παρόμοια δραστηριότητα <sup>(2)</sup>
<i>PPRM1</i> (μ-opioid receptor)	118A>G	17,2	Alfentanil <sup>146</sup> Morphine <sup>54</sup> M6G <sup>54, 147-149</sup> Levomethadone <sup>150</sup>	2
<i>COMT</i> (catechol-O-methyltransferase)	472G>A	46.2	Morphine <sup>71</sup>	0.67
<i>MC1R</i> (melanocortin-1 receptor)	29insA	2	Morphine <sup>72</sup>	
	451C>T	4,5	M6G <sup>72</sup>	
	478C>T	4,3	Pentazocine (μόνο σε γυναίκες) <sup>73</sup>	
<i>CYP2D6</i> (cytochrome P450 2D6)	880G>C	3		
	2549A>del	2	Codeine <sup>16, 22</sup>	>>1 σχεδόν μη δραστικό-χρησιμοποιήστε άλλο αναλγητικό
	1846G>A	20,7	Tramadol <sup>151</sup>	1,3
	Gene deleted	2		
	1707>del	0,9		
	2935A>C	0,1		
	1758G>T	0		
	Gene duplication/amplification	2	Codeine <sup>17, 152</sup>	<<1 άγνωστη προσαρμογή δόσης
<i>ABCB1</i> (P-γλυκοπρωτεΐνη)	3435C>T	47.6	Morphine <sup>153</sup>	Δεν καθορίζεται

### **Πίνακας 3**

Στοιχεία για στατιστικά σημαντική φαρμακογενετική μετατροπή των θεραπευτικών αποτελεσμάτων των αναλγητικών φαρμάκων και οι συνέπειες τους.

(1) Συχνότητες σύμφωνα με την βάση δεδομένων dbSNP (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP/>) όπου υπάρχουν διαθέσιμες και αν δεν αναφέρεται κάτι άλλο

(2) αδρή και προκαταρκτική εκτίμηση της πιθανής προσαρμογής της δόσης σε φορείς της συγκεκριμένης παραλλαγής, βασισμένη σε ποσοτικά στοιχεία, κάποιες φορές μόνο από μία μελέτη.

Παρόλο που τα μοντέλα μελέτης του πόνου σε ζώα είναι εξαιρετικά χρήσιμα στη διασαφήνιση των βιολογικών διεργασιών και βιοχημικών μονοπατιών που αφορούν στην αντίληψη του πόνου, δεν μπορούν να αναπαράγουν τις ανθρώπινες καταστάσεις πόνου με όλη τους την πολυπλοκότητα.<sup>154</sup> Επειδή οι μελέτες σε ζώα αφορούν μία ή πολύ λίγες γονιδιακές «ποικιλίες» τα αποτελέσματα δεν μπορούν να εφαρμοστούν σε ανθρώπινες καταστάσεις. Πρόσφατα έγινε εμφανές ότι η γονιδιακή δομή που προκύπτει με τις εναλλακτικές συνθέσεις του γενετικού υλικού είναι ουσιωδώς διαφορετική μεταξύ ανθρώπων και ποντικών<sup>155</sup>. Ως αποτέλεσμα αυτού, μελέτες συσχέτισμού των αποτελεσμάτων σε πειραματόζωα με ανθρώπινο πληθυσμό απαιτούνται για να γίνουν έγκυρα τα ευρήματα από τα γενετικά τροποποιημένα ποντίκια.

## Ανάλυση των γενετικών μελετών στις εκδηλώσεις πόνου

Βασική προϋπόθεση για την διερεύνηση συσχετίσεων μεταξύ γονοτύπου και φαινοτύπου (phenotype/genotype studies), αποτελεί η ανάπτυξη ιδιαίτερων μεθοδολογιών έρευνας στις γενετικές μελέτες. Η πληροφορική διευκολύνει την εύρεση τέτοιου τύπου αναζητήσεων, οι οποίες όμως για να έχουν κλινική σημασία απαιτούν καινοτόμες στρατηγικές έρευνας.

Όπως και σε άλλα πολύπλοκα χαρακτηριστικά<sup>156, 157</sup>, υπάρχουν αρκετά επίπεδα γενετικής πολυπλοκότητας που βρίσκονται πίσω από τις κλινικές εκδηλώσεις του πόνου, το φαινότυπο πόνου. Σε πρώτη φάση τέτοιες εκδηλώσεις αντιπροσωπεύουν ένα διαδραστικό σύνολο πολλαπλών, μη ανεξάρτητων ενδιαμέσων φαινοτύπων. Σε δεύτερη φάση αυτοί οι ενδιάμεσοι φαινότυποι μορφοποιούνται από αλληλεπιδρώντα γονίδια και εξωγενείς-περιβαλλοντικούς παράγοντες, οι περισσότεροι των οποίων έχουν μικρή ατομική επίδραση στη παράμετρο που εξετάζεται. Τέλος πολλές από τις γενετικές θέσεις που συμμετέχουν είναι πιθανό να αποτελούν σύνθετες γενοτυπικές δομές με λειτουργίες ελέγχου μέσα στην ίδια την γενετική περιοχή.

Ως αποτέλεσμα αυτών, η υιοθέτηση αρχών και μεθόδων που έχουν αποδειχθεί αποτελεσματικές σε απλούστερα, μεντελικά, χαρακτηριστικά που δείχνουν γραμμικές συσχετίσεις μεταξύ της διερευνώμενης παραμέτρου και της γονιδιακής σύστασης σε μία γενετική θέση, αποτυγχάνει να εξηγήσει κοινές εκδηλώσεις πόνου. Περαιτέρω, η μεθοδολογία ανάλυσης που συχνά χρησιμοποιείται σήμερα, κάνει την αυτονόητη υπόθεση, ότι τα οι ενεργές γονιδιακές θέσεις μπορούν να αναγνωριστούν από την ανεξάρτητη και οριοθετημένη συνεισφορά τους στην ποικιλομορφία του διερευνούμενου χαρακτηριστικού. Όμως, εάν η λειτουργία των γενετικών θέσεων που ενεργούν είναι συχνή και η δράση τους σημαντική, η αποτελεσματικότητα των

στατιστικών μεθόδων να αποκαλύψουν λειτουργικούς πολυμορφισμούς είναι περιορισμένη<sup>158</sup>. Η μικρή ανάπτυξη νέων μεθόδων ανάλυσης και υπολογισμών περιορίζει την αναγνώριση και κατανόηση των συνδυαστικών αλληλεπιδράσεων γονιδιακών θέσεων σε ποσοτικά χαρακτηριστικά του πόνου<sup>159-161</sup>.

## **Γονιδιακή θεραπεία-πρακτικές εφαρμογές στον πόνο**

Ο συχνά χρησιμοποιούμενος όρος γονιδιακή θεραπεία αρχικά είχε συσχετιστεί με την ιδέα της θεραπείας κληρονομικών νόσων με την αντικατάσταση ή διόρθωση γονιδίων άμεσα στο γενετικό υλικό των ατόμων. Η εφαρμογή αυτή της γονιδιακής θεραπείας δείχνει ακόμα μελλοντική. Πρόσφατα μόλις δημοσιεύτηκαν πειραματικά δεδομένα για *in situ* «επισκευή» γονιδίων με σημειακές μεταλλάξεις<sup>162-164</sup>. Σε αντιδιαστολή, οι γενετικές τεχνικές που περιλαμβάνουν την εισαγωγή και την τοπική έκφραση ξένων γονιδίων(ή τμήμα τους) στον οργανισμό και την χρήση τους σαν θεραπευτικές πρωτεΐνες αποτελεί πεδίο μελέτης με ραγδαία ανάπτυξη<sup>165-170</sup>. Είναι αξιοσημείωτο ότι οι προσεγγίσεις αυτές αφορούν και κληρονομούμενες και επίκτητες ασθένειες στις οποίες οι δημιουργούμενες θεραπευτικές πρωτεΐνες μπορεί να βελτιώσουν ή να αποτελέσουν μια επιπλέον επιλογή για θεραπεία. Παρόλο όμως το μεγάλο ερευνητικό ενδιαφέρον για τον τομέα αυτό, τα αποτελέσματα από κλινικές μελέτες που αξιολογούν τις τεχνικές αυτές είναι μάλλον απογοητευτικά. Κάποια βασικά προβλήματα δικαιολογούν, ως ένα βαθμό, την περιορισμένη επιτυχία : ασχέτως της μεθοδολογίας που χρησιμοποιείται η αποτελεσματικότητα της μεταφοράς γονιδίων είναι μικρή, γενικά η έκφραση των ξένων γονιδίων είναι παροδική εξαιτίας της καταστροφής του γενετικού αυτού υλικού και των τροποποιημένων κυττάρων, κάποια τμήματα γενετικού υλικού προκαλούν ισχυρή

ανοσολογική απάντηση. Αν και δεν υπάρχει μέχρι στιγμής κάποιο ιδανικό σύστημα μεταφορέα του γενετικού υλικού γίνεται σημαντική πρόοδος στον τομέα αυτό<sup>171-174</sup>.

Τα ευρύτερα χρησιμοποιούμενα συστήματα μεταφορέων γενετικού υλικού σε ξενιστές είναι συστήματα χωρίς ιούς και συστήματα με μεσολάβηση ιών. Τα μη ιικά συστήματα μεταφοράς έχουν περιορισμένη αποτελεσματικότητα<sup>175</sup>, τα συστήματα μεταφοράς με χρήση ιών όπως αδενοϊοί, ο απλός ερπητοϊός(HSV) και ρετροϊοί, με κατάλληλες τροποποιήσεις, αποτελούν πολλά υποσχόμενα γενετικά εργαλεία για γονιδιακές θεραπείες.

Η ιδέα για γονιδιακή θεραπεία του πόνου ίσως εκπλήσσει, αφού υπάρχουν αρκετές δραστικές ουσίες, όπως τα οπιοειδή, με δράσεις σε νευρικά και άλλα κύτταρα. Τα πλεονεκτήματα από θεραπευτικά πεπτιδία που θα παράγονται σε συγκεκριμένα κύτταρα ή όργανα είναι ότι μπορούν να λύσουν τα προβλήματα που σχετίζονται με το χρόνο ημίσειας ζωής των φαρμάκων και τις παρενέργειες τους. Η έρευνα στον τομέα αυτό είναι εντατική<sup>176-179</sup>.

Η χρήση μεταφορέα γονιδίων αντί για τη χορήγηση φαρμάκων για την επίτευξη συνεχούς απελευθέρωσης βιοενεργών πεπτιδίων με μικρό χρόνο ημίσειας ζωής κοντά στο νωτιαίο μυελό αποτελεί την πιο κοινή πρακτική για την γονιδιακή θεραπεία του πόνου. Υπάρχουν δύο βασικά μοντέλα. Το πρώτο περιλαμβάνει υποσκληρίδια ένεση τμημάτων γενετικού υλικού που έχουν προέλθει από τροποποιημένους αδενοϊούς ή πλασμίδια που περιβάλλονται από λιπίδια – και τα δύο έχουν παρουσιάσει ισχυρή αντι-αλλοδυνική και αντι-υπεραλγησιακή δράση<sup>180</sup>. Τα κύτταρα που διεγείρονται από το γενετικό υλικό που ενίεται στο εγκεφαλονωτιαίο υγρό περιλαμβάνουν κύτταρα των μηνίγγων, νευρικά και νευρογλοιακά κύτταρα. Με τη δεύτερη προσέγγιση νευρώνες διεγείρονται από τμήματα γενετικού υλικού που μεταφέρονται με τον απλό ιό του έρπητα που ενίεται στο δέρμα. Με την ανάδρομη

νευροαξονική μεταφορά του ιού αυτού μεταφέρεται το γενετικό υλικό σε κεντρικότερα σημεία του νευρικού συστήματος. Εκεί παράγουν πεπτίδια που προάγουν την παραγωγή αναστολέων των νευροδιαβιβαστών<sup>181</sup> ή πεπτίδια με αντιφλεγμονώδη δράση<sup>182</sup>. Ως αποτέλεσμα μειώνεται ο πόνος σε αρκετές καταστάσεις χρόνιου πόνου<sup>183</sup>.

Οι μοριακές μέθοδοι είναι ειδικές και μπορούν να αποκαλύψουν αλλαγές και μεταλλάξεις σε συγκεκριμένα γονίδια που ελέγχουμε σε κάθε περίπτωση αλλά όχι σε όλο το γονιδίωμα. Το ίδιο κλινικό χαρακτηριστικό μπορεί να οφείλεται σε μετάλλαξη σε άλλο γονίδιο. Τέτοιες περιπτώσεις δεν καλύπτονται από τις γενετικές μεθόδους που χρησιμοποιούνται για τον έλεγχο αλληλομόρφων που συνήθως υπάρχουν στον πληθυσμό. Μέχρι να δημιουργηθούν μέθοδοι προσιτού κόστους για ανάλυση της γενετικής ταυτότητας κάθε ασθενούς, η αναγνώριση μετρήσιμων κλινικών φαινοτυπικών χαρακτηριστικών μπορεί να αποτελέσει καλό σημείο για την διακρίβωση σπανίων μεταλλάξεων που έχουν ισχυρή επίδραση στο χαρακτηριστικό που εξετάζεται. Έτσι, η χρήση κλινικών χαρακτηριστικών και η ταυτοποίηση συνηθισμένων γονιδίων υψηλού κινδύνου μπορεί να βοηθήσει στην τοποθέτηση σε υποκατηγορίες ασθενών με χρόνια-επίμονο πόνο. Δεδομένης της ραγδαίας ανάπτυξης στο τομέα της γενετικής έρευνας πάνω στον πόνο τα τελευταία χρόνια, είναι ρεαλιστικό να υποτεθεί ότι σύντομα θα αναπτυχθούν γενετικές προσεγγίσεις βασισμένες σε αποδείξεις για την δημιουργία εξατομικευμένων αντιμετώπισεων και θεραπειών για κοινές καταστάσεις πόνου.

## **Βιβλιογραφία**

- [1] IASP. Pain terms: A list with definitions and notes on usage. Recommended by the IASP Subcommittee on Taxonomy. *Pain* 1979(6).
- [2] Diatchenko L, Nackley AG, Slade GD, Fillingim RB, Maixner W. Idiopathic pain disorders - Pathways of vulnerability. *Pain* 2006;123(3):226-30.
- [3] Jadad AR, Browman GP. The WHO analgesic ladder for cancer pain management: Stepping up the quality of its evaluation. *Journal of the American Medical Association* 1995;274(23):1870-3.
- [4] Ikeda K, Ide S, Han W, Hayashida M, Uhl GR, Sora I. How individual sensitivity to opiates can be predicted by gene analyses. *Trends in Pharmacological Sciences* 2005;26(6):311-7.
- [5] McQuay H. Opioids in pain management. *Lancet* 1999;353(9171):2229-32.
- [6] Kalso E, Vainio A. Morphine and oxycodone hydrochloride in the management of cancer pain. *Clinical Pharmacology and Therapeutics* 1990;47(5):639-46.
- [7] Klepstad P, Dale O, Kaasa S, Zahlsten K, Aamo T, Fayers P, et al. Influences on serum concentrations of morphine, M6G and M3G during routine clinical drug monitoring: A prospective survey in 300 adult cancer patients. *Acta Anaesthesiologica Scandinavica* 2003;47(6):725-31.
- [8] Glass PSA, Shafer SL, Reves JG. Intravenous drug delivery systems. *Anesthesia* 2000:377-411.
- [9] Kieffer BL. Recent advances in molecular recognition and signal transduction of active peptides: Receptors for opioid peptides. *Cellular and Molecular Neurobiology* 1995;15(6):615-35.
- [10] Mansour A, Khachaturian H, Lewis ME, Akil H, Watson SJ. Anatomy of CNS opioid receptors. *Trends in Neurosciences* 1988;11(7):308-14.



- [11] Capecchi MR. High efficiency transformation by direct microinjection of DNA into cultured mammalian cells. *Cell* 1980;22(2 II):479-88.
- [12] Smithies O, Kim HS. Targeted gene duplication and disruption for analyzing quantitative genetic traits in mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 1994;91(9):3612-5.
- [13] Bronson SK, Plaehn EG, Kluckman KD, Hageman JR, Maeda N, Smithies O. Single-copy transgenic mice with chosen-site integration. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 1996;93(17):9067-72.
- [14] Lazarou J, Pomeranz BH, Corey PN. Incidence of adverse drug reactions in hospitalized patients: A meta- analysis of prospective studies. *Journal of the American Medical Association* 1998;279(15):1200-5.
- [15] Projean D, Morin PE, Tu TM, Ducharme J. Identification of CYP3A4 and CYP2C8 as the major cytochrome P450 s responsible for morphine N-demethylation in human liver microsomes. *Xenobiotica* 2003;33(8):841-54.
- [16] Caraco Y, Sheller J, Wood AJJ. Pharmacogenetic determination of the effects of codeine and prediction of drug interactions. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 1996;278(3):1165-74.
- [17] Gasche Y, Daali Y, Fathi M, Chiappe A, Cottini S, Dayer P, et al. Codeine intoxication associated with ultrarapid CYP2D6 metabolism. *New England Journal of Medicine* 2004;351(27):2827-31.
- [18] Poulsen L, Brasen K, Arendt-Nielsen L, Gram LF, Elbak K, Sindrup SH. Codeine and morphine in extensive and poor metabolizers of sparteine: Pharmacokinetics, analgesic effect and side effects. *European Journal of Clinical Pharmacology* 1996;51(3-4):289-95.
- [19] Zanger UM, Raimundo S, Eichelbaum M. Cytochrome P450 2D6: Overview and update on pharmacology, genetics, biochemistry. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology* 2004;369(1):23-37.

- [20] Dayer P, Desmeules J, Leemann T, Striberni R. Bioactivation of the narcotic drug codeine in human liver is mediated by the polymorphic monooxygenase catalyzing debrisoquine 4-hydroxylation (cytochrome P-450 dbI/buFI). *Biochemical and Biophysical Research Communications* 1988;152(1):411-6.
- [21] Hedenmalm K, Sundgren M, Granberg K, Spigset O, Dahlqvist R. Urinary excretion of codeine, ethylmorphine, and their metabolites: Relation to the CYP2D6 activity. *Therapeutic Drug Monitoring* 1997;19(6):643-9.
- [22] Sindrup SH, Brosen K, Bjerring P, Arendt-Nielsen L, Larsen U, Angelo HR, et al. Codeine increases pain thresholds to copper vapor laser stimuli in extensive but not poor metabolizers of sparteine. *Clinical Pharmacology and Therapeutics* 1990;48(6):686-93.
- [23] Eckhardt K, Li S, Ammon S, Scha?nzle G, Mikus G, Eichelbaum M. Same incidence of adverse drug events after codeine administration irrespective of the genetically determined differences in morphine formation. *Pain* 1998;76(1-2):27-33.
- [24] Sachse C, Brockmoller J, Bauer S, Roots I. Cytochrome P450 2D6 variants in a Caucasian population: Allele frequencies and phenotypic consequences. *American Journal of Human Genetics* 1997;60(2):284-95.
- [25] Kirkwood LC, Nation RL, Somogyi AA. Characterization of the human cytochrome P450 enzymes involved in the metabolism of dihydrocodeine. *British Journal of Clinical Pharmacology* 1997;44(6):549-55.
- [26] Lalovic B, Phillips B, Risler LL, Howald W, Shen DD. Quantitative contribution of CYP2D6 and CYP3A to oxycodone metabolism in human liver and intestinal microsomes. *Drug Metabolism and Disposition* 2004;32(4):447-54.
- [27] Otton SV, Schadel M, Cheung SW, Kaplan HL, Busto UE, Sellers EM. CYP2D6 phenotype determines the metabolic conversion of hydrocodone to hydromorphone. *Clinical Pharmacology and Therapeutics* 1993;54(5):463-72.
- [28] Subrahmanyam V, Renwick AB, Walters DG, Young PJ, Price RJ, Tonelli AP, et al. Identification of cytochrome P-450 isoforms responsible for cis-tramadol

metabolism in human liver microsomes. *Drug Metabolism and Disposition* 2001;29(8):1146-55.

[29] Mitchell JM, Paul BD, Welch P, Cone EJ. Forensic drug testing for opiates. II. Metabolism and excretion rate of morphine in humans after morphine administration. *Journal of Analytical Toxicology* 1991;15(2):49-53.

[30] King CD, Rios GR, Green MD, Tephly TR. UDP-Glucuronosyltransferases. *Current Drug Metabolism* 2000;1(2):143-61.

[31] Yeh SY, Gorodetzky CW, Krebs HA. Isolation and identification of morphine 3- and 6-glucuronides, morphine 3,6-diglucuronide, morphine 3-etheral sulfate, normorphine, and normorphine 6-glucuronide as morphine metabolites in humans. *Journal of Pharmaceutical Sciences* 1977;66(9):1288-93.

[32] Lipkowski AW, Carr DB, Langlade A, Osgood PF, Szyfelbein SK. Morphine-3-glucuronide: Silent regulator of morphine actions. *Life Sciences* 1994;55(2):149-54.

[33] Smith MT, Watt JA, Cramond T. Morphine-3-glucuronide - A potent antagonist of morphine analgesia. *Life Sciences* 1990;47(6):579-85.

[34] Abbott FV, Palmour RM. Morphine-6-glucuronide: Analgesic effects and receptor binding profile in rats. *Life Sciences* 1988;43(21):1685-95.

[35] Osborne R, Joel S, Trew D, Slevin M. Analgesic activity of morphine-6-glucuronide. *Lancet* 1988;1(8589):828.

[36] Murthy BP, Pollack GM, Brouwer KLR. Contribution of morphine-6-glucuronide to antinociception following intravenous administration of morphine to healthy volunteers. *Journal of Clinical Pharmacology* 2002;42(5):569-76.

[37] Sawyer MB, Innocenti F, Das S, Cheng C, Ramirez J, Pantle-Fisher FH, et al. A pharmacogenetic study of uridine diphosphate-glucuronosyltransferase 2B7 in patients receiving morphine. *Clinical Pharmacology and Therapeutics* 2003;73(6):566-74.

[38] Bhasker CR, McKinnon W, Stone A, Lo ACT, Kubota T, Ishizaki T, et al. Genetic polymorphism of UDP-glucuronosyltransferase 2B7 (UGT2B7) at amino acid

268: Ethnic diversity of alleles and potential clinical significance. *Pharmacogenetics* 2000;10(8):679-85.

[39] Holthe M, Klepstad P, Zahlens K, Borchgrevink PC, Hagen L, Dale O, et al. Morphine glucuronide-to-morphine plasma ratios are unaffected by the UGT2B7 H268Y and UGT1A1\*28 polymorphisms in cancer patients on chronic morphine therapy. *European Journal of Clinical Pharmacology* 2002;58(5):353-6.

[40] Holthe M, Rakvag TN, Klepstad P, Idle JR, Kaasa S, Krokan HE, et al. Sequence variations in the UDP - Glucuronosyltransferase 2B7 (UGT2B7) gene: Identification of 10 novel single nucleotide polymorphisms (SNPs) and analysis of their relevance to morphine glucoronidation in cancer patients. *Pharmacogenomics Journal* 2003;3(1):17-26.

[41] Callaghan R, Riordan JR. Synthetic and natural opiates interact with P-glycoprotein in multidrug-resistant cells. *Journal of Biological Chemistry* 1993;268(21):16059-64.

[42] Schinkel AH, Wagenaar E, Van Deemter L, Mol CAAM, Borst P. Absence of the mdr1a P-glycoprotein in mice affects tissue distribution and pharmacokinetics of dexamethasone, digoxin, and cyclosporin A. *Journal of Clinical Investigation* 1995;96(4):1698-705.

[43] Thompson SJ, Koszdin K, Bernards CM. Opiate-induced analgesia is increased and prolonged in mice lacking P-glycoprotein. *Anesthesiology* 2000;92(5):1392-9.

[44] Wandel C, Kim R, Wood M, Wood A. Interaction of morphine, fentanyl, sufentanil, alfentanil, and loperamide with the efflux drug transporter P-glycoprotein. *Anesthesiology* 2002;96(4):913-20.

[45] Zelcer N, Van De Wetering K, Hillebrand M, Sarton E, Kuil A, Wielinga PR, et al. Mice lacking multidrug resistance protein 3 show altered morphine pharmacokinetics and morphine-6-glucuronide antinociception. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 2005;102(20):7274-9.

- [46] Hoffmeyer S, Burk O, Von Richter O, Arnold HP, Brockmoeller J, Johne A, et al. Functional polymorphisms of the human multidrug-resistance gene: Multiple sequence variations and correlation of one allele with P-glycoprotein expression and activity in vivo. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 2000;97(7):3473-8.
- [47] Pauli-Magnus C, Feiner J, Brett C, Lin E, Kroetz DL. No effect of MDR1 C3435T variant on loperamide disposition and central nervous system effects. *Clinical Pharmacology and Therapeutics* 2003;74(5):487-98.
- [48] Kieffer BL, Gaveriaux-Ruff C. Exploring the opioid system by gene knockout. *Progress in Neurobiology* 2002;66(5):285-306.
- [49] Uhl GR, Sora I, Wang Z. The  $\mu$  opiate receptor as a candidate gene for pain: Polymorphisms, variations in expression, nociception, and opiate responses. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 1999;96(14):7752-5.
- [50] Loh HH, Liu HC, Cavalli A, Yang W, Chen YF, Wei LN.  $\mu$  opioid receptor knockout in mice: Effects on ligand-induced analgesia and morphine lethality. *Molecular Brain Research* 1998;54(2):321-6.
- [51] Matthes HWD, Maldonado R, Simonin F, Valverde O, Slowe S, Kitchen I, et al. Loss of morphine-induced analgesia, reward effect and withdrawal symptoms in mice lacking the  $\mu$ -opioid-receptor gene. *Nature* 1996;383(6603):822-3.
- [52] Sora I, Takahashi N, Funada M, Ujike H, Revay RS, Donovan DM, et al. Opiate receptor knockout mice define  $\mu$  receptor roles in endogenous nociceptive responses and morphine-induced analgesia. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 1997;94(4):1544-9.
- [53] Ide S, Kobayashi H, Ujike H, Ozaki N, Sekine Y, Inada T, et al. Linkage disequilibrium and association with methamphetamine dependence/psychosis of  $\mu$ -opioid receptor gene polymorphisms. *Pharmacogenomics Journal* 2006;6(3):179-88.

- [54] Skarke C, Darimont J, Schmidt H, Geisslinger G, Lo?tsch J. Analgesic effects of morphine and morphine-6-glucuronide in a transcutaneous electrical pain model in healthy volunteers. *Clinical Pharmacology and Therapeutics* 2003;73(1):107-21.
- [55] Chou WY, Wang CH, Liu PH, Liu CC, Tseng CC, Jawan B. Human opioid receptor A118G polymorphism affects intravenous patient-controlled analgesia morphine consumption after total abdominal hysterectomy. *Anesthesiology* 2006;105(2):334-7.
- [56] Klepstad P, Rakvag TT, Kaasa S, Holthe M, Dale O, Borchgrevink PC, et al. The 118 A > G polymorphism in the human  $\mu$ -opioid receptor gene may increase morphine requirements in patients with pain caused by malignant disease. *Acta Anaesthesiologica Scandinavica* 2004;48(10):1232-9.
- [57] Bart G, Heilig M, LaForge KS, Pollak L, Leal SM, Ott J, et al. Substantial attributable risk related to a functional mu-opioid receptor gene polymorphism in association with heroin addiction in central Sweden. *Molecular Psychiatry* 2004;9(6):547-9+2.
- [58] Bart G, Kreek MJ, Ott J, LaForge KS, Proudnikov D, Pollak L, et al. Increased attributable risk related to a functional  $\mu$ -opioid receptor gene polymorphism in association with alcohol dependence in Central Sweden. *Neuropsychopharmacology* 2005;30(2):417-22.
- [59] Schinka JA, Town T, Abdullah L, Crawford FC, Ordorica PI, Francis E, et al. A functional polymorphism within the  $\mu$ -opioid receptor gene and risk for abuse of alcohol and other substances. *Molecular Psychiatry* 2002;7(2):224-8.
- [60] Szeto CYK, Tang NLS, Lee DTS, Stadlin A. Association between mu opioid receptor gene polymorphisms and Chinese heroin addicts. *NeuroReport* 2001;12(6):1103-6.
- [61] Tan EC, Tan CH, Karupathivan U, Yap EPH. Mu opioid receptor gene polymorphisms and heroin dependence in Asian populations. *NeuroReport* 2003;14(4):569-72.

- [62] Gscheidel N, Sander T, Wendel B, Heere P, Schmidt LG, Rommelspacher H, et al. Five exon 1 variants of  $\mu$  opioid receptor and vulnerability to alcohol dependence. *Polish Journal of Pharmacology* 2000;52(1):27-31.
- [63] Ross JR, Rutter D, Welsh K, Joel SP, Goller K, Wells AU, et al. Clinical response to morphine in cancer patients and genetic variation in candidate genes. *Pharmacogenomics Journal* 2005;5(5):324-36.
- [64] Sander T, Gscheidel N, Wendel B, Samochowiec J, Smolka M, Rommelspacher H, et al. Human  $\mu$ -opioid receptor variation and alcohol dependence. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research* 1998;22(9):2108-10.
- [65] Xuei X, Flury-Wetherill L, Bierut L, Dick D, Nurnberger Jr J, Foroud T, et al. The opioid system in alcohol and drug dependence: Family-based association study. *American Journal of Medical Genetics, Part B: Neuropsychiatric Genetics* 2007;144(7):877-84.
- [66] Arias A, Feinn R, Kranzler HR. Association of an Asn40Asp (A118G) polymorphism in the  $\mu$ -opioid receptor gene with substance dependence: A meta-analysis. *Drug and Alcohol Dependence* 2006;83(3):262-8.
- [67] Glatt SJ, Bousman C, Wang RS, Murthy KK, Rana BK, Lasky-Su JA, et al. Evaluation of OPRM1 variants in heroin dependence by family-based association testing and meta-analysis. *Drug and Alcohol Dependence* 2007;90(2-3):159-65.
- [68] Niemi G, Breivik H. The minimally effective concentration of adrenaline in a low-concentration thoracic epidural analgesic infusion of bupivacaine, fentanyl and adrenaline after major surgery: A randomized, double-blind, dose-finding study. *Acta Anaesthesiologica Scandinavica* 2003;47(4):439-50.
- [69] Lotta T. Kinetics of human soluble and membrane-bound catechol o-methyltransferase: A revised mechanism and description of the thermolabile variant of the enzyme. *Biochemistry* 1995;34(13):4202-10.
- [70] Zubietta JK, Heitzeg MM, Smith YR, Bueller JA, Xu K, Xu Y, et al. COMT val158 genotype affects  $\mu$ -opioid neurotransmitter responses to a pain stressor. *Science* 2003;299(5610):1240-3.

- [71] Rakvag TT, Klepstad P, Baar C, Kvam TM, Dale O, Kaasa S, 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):73-8.
- [72] Mogil JS, Ritchie J, Smith SB, Strasburg K, Kaplan L, Wallace MR, et al. Melanocortin-1 receptor gene variants affect pain and  $\mu$ -opioid analgesia in mice and humans. *Journal of Medical Genetics* 2005;42(7):583-7.
- [73] Mogil JS, Wilson SG, Chesler EJ, Rankin AL, Nemmani KVS, Lariviere WR, et al. The melanocortin-1 receptor gene mediates female-specific mechanisms of analgesia in mice and humans. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 2003;100(8):4867-72.
- [74] Nitsche JF, Schuller AGP, King MA, Zengh M, Pasternak GW, Pintar JE. Genetic dissociation of opiate tolerance and physical dependence in  $\delta$ -opioid receptor-1 and preproenkephalin knock-out mice. *Journal of Neuroscience* 2002;22(24):10906-13.
- [75] Ikeda K, Ichikawa T, Kobayashi T, Kumanishi T, Oike S, Yano R. Unique behavioural phenotypes of recombinant-inbred CXBK mice: Partial deficiency of sensitivity to  $\mu$ - and  $\kappa$ -agonists. *Neuroscience Research* 1999;34(3):149-55.
- [76] Simonin F, Valverde O, Smadja C, Slowe S, Kitchen L, Dierich A, et al. Disruption of the  $\kappa$ -opioid receptor gene in mice enhances sensitivity to chemical visceral pain, impairs pharmacological actions of the selective  $\kappa$ -agonist U-50,488H and attenuates morphine withdrawal. *EMBO Journal* 1998;17(4):886-97.
- [77] Zhu Y, King MA, Schuller AGP, Nitsche JF, Reidl M, Elde RP, et al. Retention of supraspinal delta-like analgesia and loss of morphine tolerance in  $\delta$  opioid receptor knockout mice. *Neuron* 1999;24(1):243-52.
- [78] Johansson B, Halldner L, Dunwiddie TV, Masino SA, Poelchen W, Gimenez-Llort L, et al. Hyperalgesia, anxiety, and decreased hypoxic neuroprotection in mice lacking the adenosine A1 receptor. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 2001;98(16):9407-12.



- [79] Wu WP, Hao JX, Halldner L, Lovdahl C, DeLander GE, Wiesenfeld-Hallin Z, et al. Increased nociceptive response in mice lacking the adenosine A1 receptor. *Pain* 2005;113(3):395-404.
- [80] Drouin C, Darracq L, Trovero F, Blanc G, Glowinski J, Cotecchia S, et al.  $\alpha$ 1b-Adrenergic Receptors Control Locomotor and Rewarding Effects of Psychostimulants and Opiates. *Journal of Neuroscience* 2002;22(7):2873-84.
- [81] Ozdogan UK, La?hdesma?ki J, Scheinin M. The analgesic efficacy of partial opioid agonists is increased in mice with targeted inactivation of the  $\alpha$ 2A-adrenoceptor gene. *European Journal of Pharmacology* 2006;529(1-3):105-13.
- [82] Liang DY, Shi X, Li X, Li J, Clark JD. The  $\beta$ 2 adrenergic receptor regulates morphine tolerance and physical dependence. *Behavioural Brain Research* 2007;181(1):118-26.
- [83] Yokoyama K, Kurihara T, Saegusa H, Zong S, Makita K, Tanabe T. Blocking the R-type (Cav2.3) Ca<sup>2+</sup> channel enhanced morphine analgesia and reduced morphine tolerance. *European Journal of Neuroscience* 2004;20(12):3516-9.
- [84] Pommier B, Beslot F, Simon A, Pophillat M, Matsui T, Dauge V, et al. Deletion of CCK2 receptor in mice results in an upregulation of the endogenous opioid system. *Journal of Neuroscience* 2002;22(5):2005-11.
- [85] Carrigan KA, Dykstra LA. Behavioral effects of morphine and cocaine in M1 muscarinic acetylcholine receptor-deficient mice. *Psychopharmacology* 2007;191(4):985-93.
- [86] Basile AS, Fedorova I, Zapata A, Liu X, Shippenberg T, Duttaroy A, et al. Deletion of the M5 muscarinic acetylcholine receptor attenuates morphine reinforcement and withdrawal but not morphine analgesia. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 2002;99(17):11452-7.
- [87] Yamada M, Basile AS, Fedorova I, Zhang W, Duttaroy A, Cui Y, et al. Novel insights into M5 muscarinic acetylcholine receptor function by the use of gene targeting technology. *Life Sciences* 2003;74(2-3):345-53.

- [88] Cossu G, Ledent C, Fattore L, Imperato A, Boehme GA, Parmentier M, et al. Cannabinoid CB1 receptor knockout mice fail to self-administer morphine but not other drugs of abuse. *Behavioural Brain Research* 2001;118(1):61-5.
- [89] Ledent C, Valverde O, Cossu G, Petitet F, Aubert JF, Beslot F, et al. Unresponsiveness to cannabinoids and reduced addictive effects of opiates in CB1 receptor knockout mice. *Science* 1999;283(5400):401-4.
- [90] Martin M, Ledent C, Parmentier M, Maldonado R, Valverde O. Cocaine, but not morphine, induces conditioned place preference and sensitization to locomotor responses in CB1 knockout mice. *European Journal of Neuroscience* 2000;12(11):4038-46.
- [91] Elmer GI, Pieper JO, Levy J, Rubinstein M, Low MJ, Grandy DK, et al. Brain stimulation and morphine reward deficits in dopamine D2 receptor-deficient mice. *Psychopharmacology* 2005;182(1):33-44.
- [92] King MA, Bradshaw S, Chang AH, Pintar JE, Pasternak GW. Potentiation of opioid analgesia in dopamine2 receptor knock-out mice: Evidence for a tonically active anti-opioid system. *Journal of Neuroscience* 2001;21(19):7788-92.
- [93] Narita M, Mizuo K, Mizoguchi H, Sakata M, Tseng LF, Suzuki T. Molecular evidence for the functional role of dopamine D3 receptor in the morphine-induced rewarding effect and hyperlocomotion. *Journal of Neuroscience* 2003;23(3):1006-12.
- [94] Miyamoto Y, Yamada K, Nagai T, Mori H, Mishina M, Furukawa H, et al. Behavioural adaptations to addictive drugs in mice lacking the NMDA receptor  $\epsilon 1$  subunit. *European Journal of Neuroscience* 2004;19(1):151-8.
- [95] Vekovischeva OY, Zamanillo D, Echenko O, Seppälä T, Uusi-Oukari M, Honkanen A, et al. Morphine-induced dependence and sensitization are altered in mice deficient in AMPA-type glutamate receptor-A subunits. *Journal of Neuroscience* 2001;21(12):4451-9.
- [96] Mobarakeh JI, Sakurada S, Hayashi T, Orito T, Okuyama K, Sakurada T, et al. Enhanced antinociception by intrathecally-administered morphine in histamine H1 receptor gene knockout mice. *Neuropharmacology* 2002;42(8):1079-88.

- [97] Mobarakeh JI, Takahashi K, Sakurada S, Kuramasu A, Yanai K. Enhanced antinociceptive effects of morphine in histamine H<sub>2</sub> receptor gene knockout mice. *Neuropharmacology* 2006;51(3):612-22.
- [98] Clark JD, Tempel BL. Hyperalgesia in mice lacking the Kv1.1 potassium channel gene. *Neuroscience Letters* 1998;251(2):121-4.
- [99] Marker CL, Cintora SC, Roman MI, Stoffel M, Wickman K. Hyperalgesia and blunted morphine analgesia in G protein-gated potassium channel subunit knockout mice. *NeuroReport* 2002;13(18):2509-13.
- [100] Mitrovic I, Margeta-Mitrovic M, Bader S, Stoffel M, Jan LY, Basbaum AI. Contribution of GIRK2-mediated postsynaptic signaling to opiate and  $\alpha$ 2-adrenergic analgesia and analgesic sex differences. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 2003;100(1):271-6.
- [101] Ikeda K, Kobayashi T, Kumanishi T, Niki H, Yano R. Involvement of G-protein-activated inwardly rectifying K<sup>+</sup> (GIRK) channels in opioid-induced analgesia. *Neuroscience Research* 2000;38(1):113-6.
- [102] Terman GW, Jin W, Cheong YP, Lowe J, Caron MG, Lefkowitz RJ, et al. G-protein receptor kinase 3 (GRK3) influences opioid analgesic tolerance but not opioid withdrawal. *British Journal of Pharmacology* 2004;141(1):55-64.
- [103] Noda Y, Mamiya T, Nabeshima T, Nishi M, Higashioka M, Takeshima H. Loss of antinociception induced by naloxone benzoylhydrazone in nociceptin receptor-knockout mice. *Journal of Biological Chemistry* 1998;273(29):18047-51.
- [104] Laurent P, Becker JAJ, Valverde O, Ledent C, De Kerchove D'Exaerde A, Schiffmann SN, et al. The prolactin-releasing peptide antagonizes the opioid system through its receptor GPR10. *Nature Neuroscience* 2005;8(12):1735-41.
- [105] Bohn LM, Gainetdinov RR, Lin FT, Lefkowitz RJ, Caron MG.  $\mu$ -opioid receptor desensitization by  $\beta$ -arrestin-2 determines morphine tolerance but not dependence. *Nature* 2000;408(6813):720-3.

- [106] Bohn LM, Xu F, Gainetdinov RR, Caron MG. Potentiated opioid analgesia in norepinephrine transporter knock-out mice. *Journal of Neuroscience* 2000;20(24):9040-5.
- [107] Spielewoy C, Roubert C, Hamon M, Nosten-Bertrand M, Betancur C, Giros B. Behavioural disturbances associated with hyperdopaminergia in dopamine-transporter knockout mice. *Behavioural Pharmacology* 2000;11(3-4):279-90.
- [108] Ripley TL, Gadd CA, De Felipe C, Hunt SP, Stephens DN. Lack of self-administration and behavioural sensitisation to morphine, but not cocaine, in mice lacking NK1 receptors. *Neuropharmacology* 2002;43(8):1258-68.
- [109] Chung S, Pohl S, Zeng J, Civelli O, Reinscheid RK. Endogenous orphanin FQ/nociceptin is involved in the development of morphine tolerance. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 2006;318(1):262-7.
- [110] Kest B, Hopkins E, Palmese CA, Chen ZP, Mogil JS, Pintar JE. Morphine tolerance and dependence in nociceptin/orphanin FQ transgenic knock-out mice. *Neuroscience* 2001;104(1):217-22.
- [111] Hnasko TS, Sotak BN, Palmiter RD. Morphine reward in dopamine-deficient mice. *Nature* 2005;438(7069):854-7.
- [112] Jasmin L, Tien D, Weinshenker D, Palmiter RD, Green PG, Janni G, et al. The NK1 receptor mediates both the hyperalgesia and the resistance to morphine in mice lacking noradrenaline. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 2002;99(2):1029-34.
- [113] Olson VG, Heusner CL, Bland RJ, During MJ, Weinshenker D, Palmiter RD. Role of noradrenergic signaling by the nucleus tractus solitarius in mediating opiate reward. *Science* 2006;311(5763):1017-20.
- [114] Smith DJ, Leil TA, Liu X. Neurotrophin-4 is required for tolerance to morphine in the mouse. *Neuroscience Letters* 2003;340(2):103-6.
- [115] Murtra P, Sheasby AM, Hunt SP, De Felipe C. Rewarding effects of opiates are absent in mice lacking the receptor for substance P. *Nature* 2000;405(6783):180-3.

- [116] Kim KS, Lee KW, Im JY, Yoo JY, Kim SW, Lee JK, et al. Adenylyl cyclase type 5 (AC5) is an essential mediator of morphine action. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 2006;103(10):3908-13.
- [117] Li S, Lee ML, Bruchas MR, Chan GC, Storm DR, Chavkin C. Calmodulin-stimulated adenylyl cyclase gene deletion affects morphine responses. *Molecular Pharmacology* 2006;70(5):1742-9.
- [118] Walters CL, Wang BC, Godfrey M, Sun D, Funk CD, Blendy JA. Augmented responses to morphine and cocaine in mice with a 12-lipoxygenase gene disruption. *Psychopharmacology* 2003;170(2):124-31.
- [119] Bohn LM, Gainetdinov RR, Sotnikova TD, Medvedev IO, Lefkowitz RJ, Dykstra LA, et al. Enhanced Rewarding Properties of Morphine, but not Cocaine, in  $\beta$ arrestin-2 Knock-Out Mice. *Journal of Neuroscience* 2003;23(32):10265-73.
- [120] Bohn LM, Lefkowitz RJ, Caron MG. Differential mechanisms of morphine antinociceptive tolerance revealed in  $\beta$ arrestin-2 knock-out mice. *Journal of Neuroscience* 2002;22(23):10494-500.
- [121] Bohn LM, Lefkowitz RJ, Gainetdinov RR, Peppel K, Caron MG, Lin FT. Enhanced morphine analgesia in mice lacking  $\beta$ -arrestin 2. *Science* 1999;286(5449):2495-8.
- [122] Ko SW, Jia Y, Xu H, Yim SJ, Jang DH, Lee YS, et al. Evidence for a role of CaMKIV in the development of opioid analgesic tolerance. *European Journal of Neuroscience* 2006;23(8):2158-68.
- [123] Narita M, Shibasaki M, Nagumo Y, Yajima Y, Suzuki T. Implication of cyclin-dependent kinase 5 in the development of psychological dependence on and behavioral sensitization to morphine. *Journal of Neurochemistry* 2005;93(6):1463-8.
- [124] Hendry IA, Kelleher KL, Bartlett SE, Leck KJ, Reynolds AJ, Heydon K, et al. Hypertolerance to morphine in G( $\alpha$ )-deficient mice. *Brain Research* 2000;870(1-2):10-9.

- [125] Leck KJ, Bartlett SE, Smith MT, Megirian D, Holgate J, Powell KL, et al. Deletion of guanine nucleotide binding protein  $\alpha$  subunit in mice induces a gene dose dependent tolerance to morphine. *Neuropharmacology* 2004;46(6):836-46.
- [126] Sanchez-Blazquez P, Rodriguez-Diaz M, Lopez-Fando A, Rodriguez-Munoz M, Garzon J. The GBeta5 subunit that associates with the R7 subfamily of RGS proteins regulates mu-opioid effects. *Neuropharmacology* 2003;45(1):82-95.
- [127] Ogawa M, Miyakawa T, Nakamura K, Kitano J, Furushima K, Kiyonari H, et al. Altered sensitivities to morphine and cocaine in scaffold protein tamalin knockout mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 2007;104(37):14789-94.
- [128] Liu NJ, VonGizycki H, Gintzler AR. Phospholipase C $\beta$ 1 modulates pain sensitivity, opioid antinociception and opioid tolerance formation. *Brain Research* 2006;1069(1):47-53.
- [129] Xie W, Samoriski GM, McLaughlin JP, Romoser VA, Smrcka A, Hinkle PM, et al. Genetic alteration of phospholipase C  $\beta$ 3 expression modulates behavioral and cellular responses to  $\mu$  opioids. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 1999;96(18):10385-90.
- [130] Newton PM, Kim JA, McGeehan AJ, Paredes JP, Chu K, Wallace MJ, et al. Increased response to morphine in mice lacking protein kinase C epsilon. *Genes, Brain and Behavior* 2007;6(4):329-38.
- [131] Zachariou V, Georgescu D, Sanchez N, Rahman Z, DiLeone R, Berton O, et al. Essential role for RGS9 in opiate action. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 2003;100(23):13656-61.
- [132] Liang D, Li X, Lighthall G, Clark JD. Heme oxygenase type 2 modulates behavioral and molecular changes during chronic exposure to morphine. *Neuroscience* 2003;121(4):999-1005.
- [133] Bianchi M. Presence of a reduced opioid response in interleukin-6 knock out mice. *European Journal of Neuroscience* 1999;11(5):1501-7.

- [134] Zhao ZQ, Gao YJ, Sun YG, Zhao CS, Gereau Iv RW, Chen ZF. Central serotonergic neurons are differentially required for opioid analgesia but not for morphine tolerance or morphine reward. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 2007;104(36):14519-24.
- [135] Ishiguro H, Liu QR, Gong JP, Hall FS, Ujike H, Morales M, et al. NrCAM in addiction vulnerability: Positional cloning, drug-regulation, haplotype-specific expression, and altered drug reward in knockout mice. *Neuropsychopharmacology* 2006;31(3):572-84.
- [136] Yan Y, Yamada K, Mizoguchi H, Noda Y, Nagai T, Nitta A, et al. Reinforcing effects of morphine are reduced in tissue plasminogen activator-knockout mice. *Neuroscience* 2007;146(1):50-9.
- [137] Bejaoui K, Wu C, Scheffler MD, Haan G, Ashby P, Wu L, et al. SPTLC1 is mutated in hereditary sensory neuropathy, type 1. *Nature Genetics* 2001;27(3):261-2.
- [138] Lafreniere RG, MacDonald MLE, Dube MP, MacFarlane J, O'Driscoll M, Brais B, et al. Identification of a Novel Gene (HSN2) Causing Hereditary Sensory and Autonomic Neuropathy Type II through the Study of Canadian Genetic Isolates. *American Journal of Human Genetics* 2004;74(5):1064-73.
- [139] Slaugenhaupt SA, Blumenfeld A, Gill SP, Leyne M, Mull J, Cuajungco MP, et al. Tissue-specific expression of a splicing mutation in the IKBKAP gene causes familial dysautonomia. *American Journal of Human Genetics* 2001;68(3):598-605.
- [140] Indo Y, Tsuruta M, Hayashida Y, Karim MA, Ohta K, Kawano T, et al. Mutations in the TRKA/NGF receptor gene in patients with congenital insensitivity to pain with anhidrosis. *Nature Genetics* 1996;13(4):485-8.
- [141] Lee MJ, Stephenson DA, Groves MJ, Sweeney MG, Davis MB, An SF, et al. Hereditary sensory neuropathy is caused by a mutation in the delta subunit of the cytosolic chaperonin-containing t-complex peptide-1 (Cct4) gene. *Human Molecular Genetics* 2003;12(15):1917-25.

- [142] Yang Y, Wang Y, Li S, Xu Z, Li H, Ma L, et al. Mutations in SCN9A, encoding a sodium channel alpha subunit, in patients with primary erythralgia. *Journal of Medical Genetics* 2004;41(3):171-4.
- [143] Fertleman CR, Baker MD, Parker KA, Moffatt S, Elmslie FV, Abrahamsen B, et al. SCN9A Mutations in Paroxysmal Extreme Pain Disorder: Allelic Variants Underlie Distinct Channel Defects and Phenotypes. *Neuron* 2006;52(5):767-74.
- [144] Cox JJ, Reimann F, Nicholas AK, Thornton G, Roberts E, Springell K, et al. An SCN9A channelopathy causes congenital inability to experience pain. *Nature* 2006;444(7121):894-8.
- [145] Lotsch J, Geisslinger G. Current evidence for a genetic modulation of the response to analgesics. *Pain* 2006;121(1-2):1-5.
- [146] Caraco Y, Maroz Y, Davidson E. Variability in alfentanil analgesia may be attributed to polymorphism in the  $\mu$  opioid receptor. *Clinical Pharmacology and Therapeutics* 2001;69(2).
- [147] Lotsch J, Zimmermann M, Darimont J, Marx C, Dudziak R, Skarke C, et al. Does the A118G polymorphism at the  $\mu$ -opioid receptor gene protect against morphine-6-glucuronide toxicity? *Anesthesiology* 2002;97(4):814-9.
- [148] Romberg R, Olofsen E, Sarton E, Den Hartigh J, Taschner PEM, Dahan A. Pharmacokinetic-Pharmacodynamic Modeling of Morphine-6-glucuronide-induced Analgesia in Healthy Volunteers: Absence of Sex Differences. *Anesthesiology* 2004;100(1):120-33.
- [149] Romberg RR, Olofsen E, Bijl H, Taschner PEM, Teppema LJ, Sarton EY, et al. Polymorphism of  $\mu$ -opioid receptor gene (OPRM1:c.118A>G) does not protect against opioid-induced respiratory depression despite reduced analgesic response. *Anesthesiology* 2005;102(3):522-30.
- [150] Lotsch J, Skarke C, Wieting J, Oertel BG, Schmidt H, Brockmüller J, et al. Modulation of the central nervous effects of levomethadone by genetic polymorphisms potentially affecting its metabolism, distribution, and drug action. *Clinical Pharmacology and Therapeutics* 2006;79(1):72-89.



- [151] Stamer UM, Lehnen K, Ho?thker F, Bayerer B, Wolf S, Hoeft A, et al. Impact of CYP2D6 genotype on postoperative tramadol analgesia. *Pain* 2003;105(1-2):231-8.
- [152] Dalen P, Frengell C, Dahl ML, Sjoqvist F. Quick onset of severe abdominal pain after codeine in an ultrarapid metabolizer of debrisoquine. *Therapeutic Drug Monitoring* 1997;19(5):543-4.
- [153] Baar C, Laugsand E, Rakvag TN, Klepstad P, Dale O, Kaasa S. Genetic variation in the gene for P-glycoprotein: Implications for the clinical efficacy of morphine. Abstract 11th World Congress of Pain 2005.
- [154] Sultana SR, Roblin D, O'Connell D. Translational research in the pharmaceutical industry: from theory to reality. *Drug Discovery Today* 2007;12(9-10):419-25.
- [155] Ermakova EO, Nurtdinov RN, Gelfand MS. Fast rate of evolution in alternatively spliced coding regions of mammalian genes. *BMC Genomics* 2006;7.
- [156] Karenberg A, Leitz C. Headache in magical and medical papyri of Ancient Egypt. *Cephalalgia* 2001;21(9):911-6.
- [157] Loder E. What is the evolutionary advantage of migraine? *Cephalalgia* 2002;22(8):624-32.
- [158] Wright A, Charlesworth B, Rudan I, Carothers A, Campbell H. A polygenic basis for late-onset disease. *Trends in Genetics* 2003;19(2):97-106.
- [159] Hoh J, Wille A, Ott J. Trimming, weighting, and grouping SNPs in human case-control association studies. *Genome Research* 2001;11(12):2115-9.
- [160] Nelson MR, Kardina SLR, Ferrell RE, Sing CF. A combinatorial partitioning method to identify multilocus genotypic partitions that predict quantitative trait variation. *Genome Research* 2001;11(3):458-70.
- [161] Ott J, Hoh J. Statistical multilocus methods for disequilibrium analysis in complex traits. *Human Mutation* 2001;17(4):285-8.

- [162] Bandyopadhyay P, Ma X, Linehan-Stieers C, Kren BT, Steer CJ. Nucleotide exchange in genomic DNA of rat hepatocytes using RNA/DNA oligonucleotides: Targeted delivery of liposomes and polyethyleneimine to the asialoglycoprotein receptor. *Journal of Biological Chemistry* 1999;274(15):10163-72.
- [163] Kren BT, Banoyopaohyay P, Steer CJ. In vivo site-directed mutagenesis of the factor IX gene by chimetic RND/DNA oligonucleotides. *Nature Medicine* 1998;4(3):285-90.
- [164] Ye S, Cole-Strauss A, Frank B, Kmiec EB. Targeted gene correction: A new strategy for molecular medicine. *Molecular Medicine Today* 1998;4(10):431-7.
- [165] Audouy S, Mallet J, Privat A, Gime?nez Y Ribotta M. Adenovirus-mediated suicide gene therapy in an in vitro model of reactive gliosis. *GLIA* 1999;25(3):293-303.
- [166] Boviatsis EJ, Chase M, Wei MX, Tamiya T, Hurford Jr RK, Kowall NW, et al. Gene transfer into experimental brain tumors mediated by adenovirus, herpes simplex virus, and retrovirus vectors. *Human Gene Therapy* 1994;5(2):183-91.
- [167] During MJ, Ashenden LMA. Towards gene therapy for the central nervous system. *Molecular Medicine Today* 1998;4(11):485-93.
- [168] Isner JM, Walsh K, Symes J, Pieczek A, Takeshita S, Lowry J, et al. Arterial gene transfer for therapeutic angiogenesis in patients with peripheral artery disease. *Human Gene Therapy* 1996;7(8):959-88.
- [169] Kessler PD, Podsakoff GM, Chen X, McQuiston SA, Colosi PC, Matelis LA, et al. Gene delivery to skeletal muscle results in sustained expression and systemic delivery of a therapeutic protein. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 1996;93(24):14082-7.
- [170] Martuza RL, Malick A, Markert JM, Ruffner KL, Coen DM. Experimental therapy of human glioma by means of a genetically engineered virus mutant. *Science* 1991;252(5007):854-6.

- [171] Howard MK, Kershaw T, Gibb B, Storey N, MacLean AR, Zeng BY, et al. High efficiency gene transfer to the central nervous system of rodents and primates using herpes virus vectors lacking functional ICP27 and ICP34.5. *Gene Therapy* 1998;5(8):1137-47.
- [172] Jacobs A, Breakefield XO, Fraefel C. HSV-1-Based Vectors for Gene Therapy of Neurological Diseases and Brain Tumors: Part II. Vector Systems and Applications. *Neoplasia* 1999;1(5):402-16.
- [173] Simonato M, Manservigi R, Marconi P, Glorioso J. Gene transfer into neurones for the molecular analysis of behaviour: Focus on herpes simplex vectors. *Trends in Neurosciences* 2000;23(5):183-90.
- [174] Sundaresan P, Hunter WD, Martuza RL, Rabkin SD. Attenuated, replication-competent herpes simplex virus type 1 mutant G207: Safety evaluation in mice. *Journal of Virology* 2000;74(8):3832-41.
- [175] Remy JS, Kichler A, Mordvinov V, Schuber F, Behr JP. Targeted gene transfer into hepatoma cells with lipopolyamine-condensed DNA particles presenting galactose ligands: A stage toward artificial viruses. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 1995;92(5):1744-8.
- [176] Buchser E, Goddard M, Heyd B, Joseph JM, Favre J, De Tribolet N, et al. Immunoisolated xenogeneic chromaffin cell therapy for chronic pain: Initial clinical experience. *Anesthesiology* 1996;85(5):1005-12.
- [177] Eaton MJ. Emerging cell and molecular strategies for the study and treatment of painful peripheral neuropathies. *Journal of the Peripheral Nervous System* 2000;5(2):59-74.
- [178] Hama AT, Sagen J. Reduced pain-related behavior by adrenal medullary transplants in rats with experimental painful peripheral neuropathy. *Pain* 1993;52(2):223-31.
- [179] Lokensgard JR, Bloom DC, Dobson AT, Feldman LT. Long-term promoter activity during herpes simplex virus latency. *Journal of Virology* 1994;68(11):7148-58.

- [180] Milligan ED, Sloane EM, Langer SJ, Hughes TS, Jekich BM, Frank MG, et al. Repeated intrathecal injections of plasmid DNA encoding interleukin-10 produce prolonged reversal of neuropathic pain. *Pain* 2006;126(1-3):294-308.
- [181] Bras JMA, Epstein AL, Bourgoin S, Hamon M, Cesselin F, Pohl M. Herpes simplex virus 1-mediated transfer of preproenkephalin a in rat dorsal root ganglia. *Journal of Neurochemistry* 1998;70(3):1299-303.
- [182] Hao S, Mata M, Glorioso JC, Fink DJ. HSV-mediated expression of interleukin-4 in dorsal root ganglion neurons reduces neuropathic pain. *Molecular Pain* 2006;2.
- [183] Mata M, Hao S, Fink DJ. Applications of gene therapy to the treatment of chronic pain. *Current Gene Therapy* 2008;8(1):42-8.