

Rad je saopšten na 9. Beogradskom internacionalnom simpozijumu o bolu (BISOP), maj 2014. god.

BOL I GENI

Dušica Stamenković¹, Nebojša Lađević^{2,3}

¹Klinika za anesteziologiju i intenzivnu terapiju, Vojnomedicinska akademija, Beograd

²Centar za anesteziologiju i reanimatologiju, Klinički centar Srbije, Beograd

³Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu, Beograd

PAIN AND GENES

Dušica Stamenković¹, Nebojša Lađević^{2,3}

¹Department of anesthesiology and intensive care, Military Medical Academy, Belgrade, Serbia

²Center for Anesthesiology and Resuscitation, Clinical Center of Serbia, Belgrade

³School of Medicine, University of Belgrade

Sažetak. Brojni geni se povezuju sa bolom i analgezijom, zbog toga je formirana elektronska baza gena za bol i posebna elektronska mreža povezivanja gena i fenotipa. Bol je složen fenomen, te pored jednostavnog efekta jednog gena podrazumeva postojanje interakcije gena, uticaja okoline, postojanje kratkih ribonukleinskih kiselina i epigenetike. Geni kodiraju proteine različitih funkcionalnih klasa kao što su jonski kanali, enzimi, transkripcioni faktori i trofički faktori. Fenotip koji se manifestuje kroz opioidni odgovor, podrazumeva analgetski efekat, gastrointestinalne neželjene efekte (muka i povraćanje) i centralne neželjene efekte (pospanost, konfuzija i halucinacije). Osnovna ideja vodilja genetičkih ispitivanja vezanih za bol je da individualni genotip može poslužiti za predviđanje odgovora na određene analgetike. Personalizovani pristup terapiji bola se bazira na individualnoj genomskoj informaciji i omogućio bi planiranje analgetskog režima za određenog pacijenta. U eri galopirajućeg razvoja genetika vezane za bol, ovaj revijalni rad je usmeren na prikaz uticaja do sada poznatih gena na percepciju i terapiju bola.

Ključne reči: bol, genetska predispozicija za bolest, analgezija, farmakogenetika

Summary. Pain gene database and network for gene phenotype were constructed in order to systematize knowledge of identified pain genes. Pain as complex phenomenon, is result of gene interaction, environmental influence, micro RNA and epigenetics. Genes are responsible for different protein synthesis including ion channels, enzymes, transcriptional factors and trophic factors. Different phenotypes are presented as response to opioids, analgesia effects, opioid gastrointestinal and central side effects. The basic idea is to develop pain management strategy based on result of opioid pharmacogenomic data, and prediction of individual response to opioids. This will lead to planned personalized analgesia, with increased analgesia effects and minimized incidence of side effects. In the era of pain genetic knowledge rapid growth, the current review is focusing specifically on genetic determinants of pain and pain management.

Key words: pain, genetic predisposition to disease; analgesia, pharmacogenetics

Uvod

Svakodnevna praksa i literatura ukazuju na varijabilnost doživljavanja intenziteta bola, analgetskog efekta opioda i učestalosti neželjenih efekata opioda. Studije koje su uključivale blizance i porodice sa bolestima koje se manifestuju abnormalnim reakcijama na bol, ukazale su na gene koji su odgovorni za nasledne poremećaje vezane za odgovor na bol¹.

Brojni gena se povezuju sa bolom i analgezijom, prema LaCroix i sar., 358 gena, ali se ta cifra menja i zbog toga je formirana elektronska baza podataka gena za bol i posebna elektronska mreža povezivanja gena i fenotipa^{2,3}. Bol je složen fenomen, te pored jednostavnog efekta jednog gena podrazumeva interakciju gena (gen x gen), uticaj okoline (gen x okolina), postojanje kratkih ribonukleinskih kiselina (RNA) i epigenetike⁴. Studije sugerišu da 30 do 60% različitih hroničnih bolnih sindroma (bol u vratu, sindrom karpalnog tunela, hronični pelvični bol) je genetski determinisano¹.

Nasledne senzorne i autonomne neuropatije predstavljaju sindrome kod kojih su značajno sniženi ili odsutni percepcija bola i odgovor na bolni stimulus. Dobro proučeni poremećaji u smislu nasleđivanja po Mendelovim pravilima to jest mutacije u jednom genu su: hereditarne senzorne i autonomne neuropatije-kongenitalna neosetljivost na bol (HSANs), familijarna hemiplegična migrena (FHM) i neurološke kanalopatije (primarna eritemalgia, paroksizmalni ekstremni bolni poremećaj, familijarni epizodični bolni sindrom).

Geni kodiraju proteine različitih funkcionalnih klasa kao što su jonski kanali, enzimi, transkripcioni faktori i trofički faktori. Veliki broj gena se povezuje sa eksperimentalnim i kliničkim bolnim stanjima kao i endofenotipima bola (kortikalna aktivacija („pain matrix“), fenomen vihora i modulacija bola)⁴.

Geni odgovorni za funkciju kanala koji utiču na osetljivost na bolne draži

SCN9A gen

Gen SCN9A kodira sintezu napon zavisnog Na_v1.7 kanala, i trenutno je „meta“ u razvoju lekova jer se dovodi u vezu sa individualnom sklonošću za razvoj hroničnih bolnih stanja i raznolikog odgovora na bolni stimulus u populaciji^{5,6}. Varijanta

R1150W (rs6746030) ovog gena je zabeležena kod: osteoartritis, išijadičnog bola, post-amputacionog bola i multiplog regionalnog bola^{7,8}.

Mutacija ovog gena prouzrokuje pojavu klinički različitih oblika eritromelalgije i poremećaja poznatog kao paroksizmalni ekstremni bol⁹. Mutacija na SCN9A koji kodira Na_v1.7 napon zavisni kanal je odgovorna za poremećaj poznat kao kongenitalna neosetljivost na bol¹⁰.

Takođe se radi na determinisanju genetskih mutacija kalijumskih i kalcijumskih kanala^{Young¹}.

Farmakogenomika

Farmakogenomika proučava uticaj varijacija gena na farmakodinamske i farmakokinetičke karakteristike leka i time individualni odgovor svakog organizma na lek¹¹. Farmakogenomika predstavlja centralnu metodu u dostizanju cilja personalizovane medicine. Farmakodinamika proučava mehanizam aktivnosti leka, ulogu receptora, sekundarnih „mesindžera“ i efekta leka od momenta aktivacije receptora. Jednostavno, farmakodinamika opisuje efekte leka na telo. Farmakokinetika proučava šta se dešava sa lekom od trenutka njegovog unošenja u organizam, mehanizam apsorpcije, distribucije, metabolizam i eliminaciju.

Fenotip koji se manifestuje kroz opioidni odgovor, podrazumeva analgetski efekat, gastrointestinalne neželjene efekte (muka i povraćanje) i centralne neželjene efekte (pospanost, konfuzija i halucinacije).

Geni koji utiču na farmakokinetiku

U farmakokinetici značajnu ulogu imaju, geni odgovorni za sintezu citohroma P450 (podtipa cytochrom P450 2D6 (CYP2D6) i citohroma P450 3A-(CYP 3A)) kao i UDP-glucuronosyltransferase 2B7 (UGT 2B7) sistemi. Polimorfizam gena koji kodiraju CYP, produkuje četiri fenotipa na osnovu funkcije CYP-a. U humanoju populaciji, postoje spori metabolajzeri, osrednji metabolajzeri (IMs), ekstenzivni metabolajzeri (EMs) i ultra-brzi metabolajzeri.

Cytochrome P450

CYP modulira efekat brojnih analgetika jer je odgovoran za njihov metabolizam. CYP2D6 su enzimi uključeni u metabolizam kodeina, tramadola i

oksikodona. Kada je u pitanju kodein zna se da su 10% pripadnika bele populacije spori metabolajzeri što se iskazuje kroz njegov slab analgetski efekat¹². 3% pripadnika bele populacije su ultra-brzi metabolajzeri kodeina što se manifestuje kroz visoku incidencu neželjenih efekata¹³.

CYP3A je enzimska superfamilija uključena u metabolizam 50% poznatih lekova. Učestalost CYP3A polimorfizma je visoka među etničkim grupama. CYP3A4*1G polimorfizam je povezan sa sniženom potrebom za fentanilom u kontroli postoperativnog bola¹⁴. Enzimi CYP3A4 and CYP3A5, podjednako učestvuju u metabolisanju fentanila, a interakcija između njih je aditivna i utiče na postoperativnu analgeziju¹⁵.

UDP-glucuronosyltransferase 2B7

UGT 2B7 je hepatični izoenzim primarno odgovoran za metabolizam morfina. Ekspresija gena za UGT 2B7 varira u populaciji¹⁶. Funkcionalna genetska varijanta gena za UGT 2B7 je povezana za izmenjenim nivoima ekspresije mRNA i enzimske aktivnosti koja se manifestuje sa zastupljenošću različitih metabolita. Kliničke studije su pokazale da se genetska varijacija manifestuje kroz odnos količine morfina i njegovih metabolita.

Gen multimedikamentozne rezistencije (Multidrug resistance gene-MDR)

Gen multimedikamentozne rezistencije (Multidrug resistance gene-MDR) ili ATP-vezujuća subfamilija B, član 1 (MDR1 or ABCB1) kodira P glikoprotein¹⁷. P glikoprotein je membranski transporter koji omogućava prolazak lekova kroz membrane, uključujući i prolazak morfina kroz krvno-moždanu membranu.

Nosioce MDR ABCB1 3435 T alela karakteriše značajno sniženje bola nakon primene morfina kod kancerskog bola i snižena morfinu ekvivalentna dnevna doza (morphine equivalent daily dose (MEDD))¹⁸.

Nosioci A alela na poziciji 2677A i 3453T su zaštićeni od pojave muke i povraćanja nakon primene oksikodona. Aleli na položaju 2677 of ABCB1, štite nosioce od centralnih efekata morfina¹⁹.

Funkcionalne varijante MDR gena utiču na transport lekova, a time na njihovu koncentraciju i odnos leka i metabolita u centralnom nervnom sistemu i pojavu centralnih neželjenih efekata.

Farmakodinamika

U farmakodinamskom smislu značajni su geni koji kodiraju sintezu opioidnih receptora, STAT6 i β -Arrestin 2.

Opioidni receptori (μ -, κ -, δ -opioidni receptor) su bitni za ostvarivanje efekta opioida i raspoređeni su u celom centralnom nervnom sistemu. μ -opioidni receptor je značajan za ostvarivanje analgetskih efekata morfina. Svi opioidni receptori su G protein receptori sa intracelularnim C terminusom i ektracelularnim N terminusom.

Opioidni receptori

μ opioidni receptor je osnovni opioidni receptor za egzogene opioide, naročito morfin i endogeni beta endorphin²⁰. Gen OPRM1 je odgovoran za sintezu μ opioidnog receptora. Polimorfizam OPRM1 dovodi do varijabilnosti odgovora na opioide kod akutnog postoperativnog bola, hroničnog ne-kancerskog bola i kancerskog bola^{21, 22, 23, 24}.

Gen OPRM1 ima dve varijante. Nosioce G alela gena OPRM1 karakteriše potreba za povećanom dozom morfina za kontrolu postoperativnog i kancerskog bola, a nosioce A alela, efikasnije analgetsko dejstvo morfina u terapiji kancerskog bola^{23, 24}.

STAT6

STAT6 je transkripcioni faktor koji se aktivira pod uticajem IL-4. IL-4 povećava ekspresiju μ -opioidnog receptora. Polimorfizam STAT6 se povezuje sa odgovorom na analgetski efekat morfina i rotaciju opioida¹⁰.

β -Arrestin 2

β -Arrestin 2 je intercelularni protein odgovoran za inaktivaciju i internalizaciju μ opioidnog receptora. ARRB2 je β -Arrestin 2 gen odgovoran za produžen analgetski efekat morfina, dok je ARRB2 polimorfizam odgovoran za analgetski efekat morfina i opioidnu rotaciju²⁵.

Geni koji utiču na neurotransmitterske sisteme

Varijabilnost neurotransmitterskog sistema ima značajnu ulogu jer većina farmakoloških agenasa deluje na njih, bilo kao agonisti ili antagonisti. Modifikacioni sistemi su catechol-O-methyltransferase (COMT), HTR3B i citokini.

Catechol-O-methyltransferase

COMT je enzim odgovoran za metabolizam kateholamina čime modifikuje adrenergičku, noradrenergičku i dopaminergičku neurotransmisiju.

Polimorfizam gena Val158Met, rs4680 redukuje aktivnost COMT tri do četiri puta i utiče na povećanu osjetljivost na bol i visoku aktivnost mu opioidnog sistema²⁶. Gen Val158Met, rs4680 polimorfizam određuje povećanu potrebu za morfinom²⁷.

HTR3B

Gen 3B (HTR3B) određuje sintezu 5-HT (serotonin) receptora. Varijante ovog gena, rs1176744G, rs3782025T, rs1672717T su odgovorne za sniženu učestalost muke i povraćanja nakon primene opioida²⁸.

Citokini

Citokini su heterogena grupa malih rastvorljivih glikoproteina ili polipeptida, koje luče imunološke i ne-imunološke ćelije. Citokini imaju vitalni značaj za koordinaciju imunološkog sistema i inflamatornog odgovora. Citokini mogu biti pro-inflamatorni (TNF- α , IL6, IL8) i anti-inflamatorni (IL10, IL4, TGF β). Endogeni i egzogeni opiodi reaguju sa citokinima. Poremećen odnos pro-inflamatornih i anti-inflamatornih citokina zapažen je kod bolnih stanja kao što su bolne periferne neuropatije, fibromialgija i hronični regionalni bolni sindrom.

TNF- α je citokin odgovoran za simptomatologiju koja se javlja kod karcinoma kao što su zamor, kaheksija i bol. Varijanta A alela -308 (rs1800629) karakteriše se izraženom ekspresijom TNF- α . Takođe prisustvo rs1800629A je povezano sa povećanom jačinom bola i redukovanim odgovorom na opioide kod pacijenata sa karcinomom pluća²⁹.

IL-6 i IL-8 su pro-inflamatorni citokini. IL-6 igra ulogu u patofiziologiji inflamatornog bola, a rs1800795 (-174G/C) određuje MEDD kod karcinoma pluća³⁰. IL-8 luče makrofagi, endotelijum i epitelijalne ćelije. IL-8 ima ulogu hemoatraktanta koji privlači neutrofile na mesto povrede i inflamacije. Varijanta rs4073 se povezuje sa snažnim bolom kod karcinoma pankreasa³¹.

Epigenetika

Epigenetika podrazumeva modifikaciju DNK ili hromatina, koji utiče na ekspresiju gena³². Epigenetika daje nadu za dinamičniji pogled na regulaciju bola. Primeri epigenetike su metilacija DNK i

post-translaciona modifikacija histona koji utiču na gensku ekspresiju i ćelijske karakteristike³³.

Nukleozom je ponavljajuća subjedinična hromatina koja se sastoji od 147 bp DNK obmotane oko bazičnog histonskog oktamera. Histoni su mali proteini, koji se mogu post-translaciono modifikovati na više načina: acetilacija, metilacija i fosforilacija. Ovi procesi menjaju dinamiku hromatina i gensku ekspresiju na različite načine.

Kada je u pitanju bol, pažnja je usmerena na acetilaciju histona jer trenutno postoje farmakološki inhibitori efektivnog proteina. Acetilacija histona se događa na reziduama lizina preko enzimske familije histon acetiltransferaze (HAT). Acetilacija je dinamičan proces i podrazumeva deacetilaciju, hromatinsku kompakciju, transkripcionu represiju i deacetilaciju histona uz pomoć histon deacetilaza-enzimske porodice (HDAC). HDACs uklanja acetilsku grupu iz lizinskih ostataka ciljnih proteina koji regulišu ćelijske procese. Danas postoje HDAC inhibitori sa različitim stepenima specifičnosti. Primena HDAC inhibitora u jednoj od studija je redukovala nociceptivni fenotip³⁴.

DNK metilacija je epigenetski mehanizam primarno udružen sa transkripcionom represijom. Lekovi koji modifikuju hromatin mogu biti značajni u terapiji naročito inflamatornog bola. Mali broj studija se bavio ulogom metilacije DNK u terapiji bola^{35,36}.

Mikro RNK (miRNAs) regulišu gensku ekspresiju i smatraju se medijatorima epigenetske promene. MiRNAs bi se mogle koristiti za povratak ćelija iz senzitivnog u osnovno stanje preko sniženja regulacije proalgezičkih transkripta³⁷.

Osteoartritis je najzastupljenija forma artritisa i vodeći uzrok invaliditeta. Primarni osteoartritis ima značajnu genetsku komponentu. Novija ispitivanja ukazuju na epigenetske promene preko miRNAs. Specifična miRNA se može naći u plazmi oslobođena oštećenjem hrskavice ili oslobađanjem iz oštećenih ćelija. Borgonio Cuadra i sar. su opisali 12 miRNA koje mogu da utiču na gene i pojavu osteoartritisa³⁸.

Fibromialgija je hronični muskuloskeletalni bolni poremećaj sa učestalošću od 2% do 5% u opštoj populaciji, a 85% pacijenata su ženskog pola. Fibromialgija podrazumeva hronični bol u mišićima i zglobovima što dovodi do umora, poremećaja sna, kognitivnih poremećaja, kognitivne disfunkcije i poremećaja raspoloženja. Četiri

gena uz inflamatornu komponentu se smatraju odgovornim za fibromialgiju³⁹.

Za degenerativne promene lumbalnog diska još uvek nije potvrđeno postojanje dovoljno snažne povezanosti sa određenim genima⁴⁰.

Značaj genetskih studija za kliničku praksu

Prevođenje saznanja genetskih istraživanja na klinički nivo podrazumeva tri fenotipa percepcije bola i gena: aleli povezani sa većom osteljivošću za bol, aleli sa sniženom osetljivošću na bol i aleli vezani za analgeziju¹.

Geni koji modifikuju naš odgovor na analgetike, polimorfizam gena za COMT, gena MC1R i OPRM1 su povezani sa većom rezistencom na analgetski efekat lekova. Polimorfizam gena za COMT i gena OPRM1 je vezan za snižen efekat morfina.

Primena savremenih saznanja

Današnja saznanja nam ukazuju da kod ultra-brzih metabolajzera izbegavamo kodein. Kod pacijenata koji uzimaju veliki broj lekova, preporuka je koristiti opioide koji se ne metabolišu pomoću P450 enzimskog sistema (morfina, hidromorfon). Kod sporih metabolajzera postoji visok rizik pojave neželjenih efekata. Promena opioida je preporučena kod pacijenata kod kojih se ne dobija očekivani analgetski efekat.

Šta možemo očekivati u budućnosti?

Individualni genotip može poslužiti za predviđanje odgovora na određene lekove. Personalizovani pristup terapiji bola se bazira na individualnoj genomskoj informaciji i omogućio bi planiranje analgetskog režima za određenog pacijenta.

Zaključak

Poznavanje doprinosa gena našem riziku od pojave hroničnog bola, jačeg postoperativnog bola i neočekivanog efekta analgetika doprinelo bi planiranju adekvatne terapije bola.

Literatura

- 1.Young EE, Lariviere WR, Belfer I. Genetic basis of pain variability: recent advances. *J Med Genet.* 2012;49:1-9.
- 2.LaCroix-Fralish, M.L., Ledoux, J.B. and Mogil, J.S. The Pain Genes Database: an interactive web browser of pain-related transgenic knockout studies. *Pain* 2007; 131:3.e1-3.e4.
- 3.Perkins JR, Lees J, Antunes-Martins A, Diboun I, McMahon SB, Bennett DL, Orenge C. PainNetworks: a web-based resource for the visualisation of pain-related genes in the context of their network associations. *Pain.* 2013;154:2586.e1-12.
- 4.Mogil JS. Pain genetics: past, present and future. *Trends Genet.* 2012;28:258-66.
- 5.Wood JN. Results in analgesia--Darwin 1, pharma 0. *N Engl J Med.* 2013;369:2558-60.
- 6.Cox JJ, Sheynin J, Shorer Z, Reimann F, Nicholas AK, Zubovic L, Baralle M, Wraige E, Manor E, Levy J, Woods CG, Parvari R. Congenital insensitivity to pain: novel SCN9A missense and in-frame deletion mutations. *Hum Mutat.* 2010;31:E1670-86.
- 7.Reimann F, Cox JJ, Belfer I, Diatchenko L, Zaykin DV, McHale DP, Drenth JP, Dai F, Wheeler J, Sanders F, Wood L, Wu TX, Karppinen J, Nikolajsen L, Männikkö M, Max MB, Kiselycznyk C, Poddar M, Te Morsche RH, Smith S, Gibson D, Kelempisioti A, Maixner W, Gribble FM, Woods CG. Pain perception is altered by a nucleotide polymorphism in SCN9A. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2010;107:5148-53.
- 8.Valdes AM, Arden NK, Vaughn FL, Doherty SA, Leaverton PE, Zhang W, Muir KR, Rampersaud E, Dennison EM, Edwards MH, Jameson KA, Javaid MK, Spector TD, Cooper C, Maciewicz RA, Doherty M. Role of the Nav1.7 R1150W amino acid change in susceptibility to symptomatic knee osteoarthritis and multiple regional pain. *Arthritis Care Res (Hoboken).* 2011;63:440-4.
- 9.Cregg R, Laguda B, Werdehausen R, Cox JJ, Linley JE, Ramirez JD, Bodi I, Markiewicz M, Howell KJ, Chen YC, Agnew K, Houlden H, Lunn MP, Bennett DL, Wood JN, Kinali M. Novel mutations mapping to the fourth sodium channel domain of Nav1.7 result in variable clinical manifestations of primary erythromelalgia. *Neuromolecular Med.* 2013;15:265-78.
- 10.Cox JJ, Wood JN. No pain, more gain. *Nat Genet.* 2013;45:1271-2.
- 11.Branford R, Droney J, Ross JR. Opioid genetics: the key to personalized pain control? *Clin Genet.* 2012 ;82:301-10.
- 12.Madadi P, Koren G, Cairns J, Chitayat D, Gaedigk A, Leeder JS, Teitelbaum R, Karaskov T, Aleksa K. Safety of codeine during breastfeeding: fatal morphine poisoning in the breastfed neonate of a mother prescribed codeine. *Can Fam Physician.* 2007;53:33-5.
- 13.Kirchheiner J, Schmidt H, Tzvetkov M, Keulen JT, Lötsch J, Roots I, Brockmüller J. Pharmacokinetics of codeine and its metabolite morphine in ultra-rapid metabolizers due to CYP2D6 duplication. *Pharmacogenomics J.*

2007;7:257-65.

14.Zhang W¹, Yuan JJ, Kan QC, Zhang LR, Chang YZ, Wang ZY, Li ZS. Influence of CYP3A5*3 polymorphism and interaction between CYP3A5*3 and CYP3A4*1G polymorphisms on post-operative fentanyl analgesia in Chinese patients undergoing gynaecological surgery. *Eur J Anaesthesiol.* 2011;28:245-50.

15.Zhang W¹, Chang YZ, Kan QC, Zhang LR, Li ZS, Lu H, Wang ZY, Chu QJ, Zhang J. CYP3A4*1G genetic polymorphism influences CYP3A activity and response to fentanyl in Chinese gynecologic patients.*Eur J Clin Pharmacol.* 2010;66:61-6.

16.Innocenti F¹, Liu W, Fackenthal D, Ramírez J, Chen P, Ye X, Wu X, Zhang W, Mirkov S, Das S, Cook E Jr, Ratain MJ. Single nucleotide polymorphism discovery and functional assessment of variation in the UDP-glucuronosyltransferase 2B7 gene. *Pharmacogenet Genomics.* 2008;18:683-97.

17.Campa D, Gioia A, Tomei A, Poli P, Barale R. Association of ABCB1/MDR1 and OPRM1 gene polymorphisms with morphine pain relief. *Clin Pharmacol Ther.* 2008;83:559-66.

18.Lötsch J, von Hentig N, Freynhagen R, Griessinger N, Zimmermann M, Doebling A, Rohrbacher M, Sittl R, Geisslinger G. Cross-sectional analysis of the influence of currently known pharmacogenetic modulators on opioid therapy in outpatient pain centers. *Pharmacogenet Genomics.* 2009;19:429-36.

19.Ross JR, Riley J, Taegtmeyer AB, Sato H, Gretton S, du Bois RM, Welsh KI. Genetic variation and response to morphine in cancer patients: catechol-O-methyltransferase and multidrug resistance-1 gene polymorphisms are associated with central side effects. *Cancer.* 2008;112:1390-403.

20. Edwards RR. Genetic predictors of acute and chronic pain. *Curr Rheumatol Rep.* 2006;8:411-7.

21.Sia AT, Lim Y, Lim EC, Goh RW, Law HY, Landau R, Teo YY, Tan EC. A118G single nucleotide polymorphism of human mu-opioid receptor gene influences pain perception and patient-controlled intravenous morphine consumption after intrathecal morphine for postcesarean analgesia. *Anesthesiology.* 2008;109:520-6.

22.Janicki PK, Schuler G, Francis D, Bohr A, Gordin V, Jarzembowski T, Ruiz-Velasco V, Mets B. A genetic association study of the functional A118G polymorphism of the human mu-opioid receptor gene in patients with acute and chronic pain. *Anesth Analg.* 2006;103:1011-7.

23.Klepstad P, Rakvåg TT, Kaasa S, Holthe M, Dale O, Borchgrevink PC, Baar C, Vikan T, Krokan HE, Skorpén F. 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 Anaesthesiol Scand.* 2004;48:1232-9.

24.Campa D, Gioia A, Tomei A, Poli P, Barale R. Association of ABCB1/MDR1 and OPRM1 gene polymorphisms with morphine pain relief. *Clin Pharmacol Ther.* 2008;83:559-66.

25.Zhang Y, Xiong W, Lin X, Ma X, Yu LC. Receptor

trafficking induced by mu-opioid-receptor phosphorylation. *Neurosci Biobehav Rev.* 2009; 33:1192-7.

26.Zubieta JK, Heitzeg MM, Smith YR, Bueller JA, Xu K, Xu Y, Koeppe RA, Stohler CS, Goldman D. COMT val158met genotype affects mu-opioid neurotransmitter responses to a pain stressor. *Science.* 2003 Feb 21;299(5610):1240-3.

27.Rakvåg TT, Klepstad P, Baar C, Kvam TM, Dale O, Kaasa S, Krokan HE, Skorpén F. The Val158Met polymorphism of the human catechol-O-methyltransferase (COMT) gene may influence morphine requirements in cancer pain patients. *Pain.* 2005;116:73-8.

28.Laugsand EA, Fladvad T, Skorpén F, Maltoni M, Kaasa S, Fayers P, Klepstad P. Clinical and genetic factors associated with nausea and vomiting in cancer patients receiving opioids. *Eur J Cancer.* 2011;47:1682-91.

29.Grutters JC, Sato H, Pantelidis P, Lagan AL, McGrath DS, Lammers JW, van den Bosch JM, Wells AU, du Bois RM, Welsh KI. Increased frequency of the uncommon tumor necrosis factor -857T allele in British and Dutch patients with sarcoidosis. *Am J Respir Crit Care Med.* 2002 ;165:1119-24.

30.Reyes-Gibby CC, El Osta B, Spitz MR, Parsons H, Kurzrock R, Wu X, Shete S, Bruera E. The influence of tumor necrosis factor-alpha -308 G/A and IL-6 -174 G/C on pain and analgesia response in lung cancer patients receiving supportive care. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2008;17:3262-7.

31.Reyes-Gibby CC, Shete S, Yennurajalingam S, Frazier M, Bruera E, Kurzrock R, Crane CH, Abbruzzese J, Evans D, Spitz MR. Genetic and nongenetic covariates of pain severity in patients with adenocarcinoma of the pancreas: assessing the influence of cytokine genes. *J Pain Symptom Manage.* 2009;38:894-902.

32.Sun Y, Sahbaie P, Liang DY, Li WW, Li XQ, Shi XY, Clark JD. Epigenetic regulation of spinal CXCR2 signaling in incisional hypersensitivity in mice. *Anesthesiology.* 2013;119:1198-208.

33.Crow M, Denk F, McMahon SB. Genes and epigenetic processes as prospective pain targets. *Genome Med.* 2013;5:12.

34.Shakespeare MR, Halili MA, Irvine KM, Fairlie DP, Sweet MJ. Histone deacetylases as regulators of inflammation and immunity. *Trends Immunol.* 2011;32:335-43.

35.Tochiki KK, Cunningham J, Hunt SP, Géranton SM. The expression of spinal methyl-CpG-binding protein 2, DNA methyltransferases and histone deacetylases is modulated in persistent pain states. *Mol Pain.* 2012;8:14.

36.Williams FM¹, Bansal AT, van Meurs JB, Bell JT, Meulenbelt I, Suri P, Rivadeneira F, Sambrook PN, Hofman A, Bierma-Zeinstra S, Menni C, Kloppenburg M, Slagboom PE, Hunter DJ, MacGregor AJ, Uitterlinden AG, Spector TD. Novel genetic variants associated with lumbar disc degeneration in northern Europeans: a meta-analysis of 4600 subjects. *Ann Rheum Dis.* 2013;72:1141-8.

37.Garzon R, Marcucci G, Croce CM. Targeting microRNAs in cancer: rationale, strategies and challenges. *Nat Rev Drug Discov.* 2010;9:775-89.

38.Borgonio Cuadra VM, González-Huerta NC, Romero-Córdoba S, Hidalgo-Miranda A, Miranda-Duarte A. Altered expression of circulating microRNA in plasma of patients with primary osteoarthritis and in silico analysis of their pathways.PLoS One. 2014;9:e97690.

39.Feng J, Zhang Z, Wu X, Mao A, Chang F, Deng X, Gao H, Ouyang C, Dery KJ, Le K, Longmate J, Marek C, St Amand RP, Kroutiris TG, Shively JE. Discovery of potential new gene variants and inflammatory cytokine associations with fibromyalgia syndrome by whole exome sequencing. PLoS One. 2013;8:e65033

40.Eskola PJ, Lemmelä S, Kjaer P, Solovieva S, Männikkö M, Tommerup N, Lind-Thomsen A, Husgafvel-Pursiainen K, Cheung KM, Chan D, Samartzis D, Karppinen J. Genetic association studies in lumbar disc degeneration: a systematic review.PLoS One. 2012;7:e49995.