

Rev. Soc. Esp. Dolor
11: 444-451, 2004

Bases genéticas del dolor

P. Armero^{1,2,4}, C. Muriel^{1,4}, J. Santos^{1,4}, F. J. Sánchez-Montero^{1,4}, R. E. Rodríguez^{3,4} y R. González-Sarmiento^{2,4}

Armero P, Muriel C, Santos J, Sánchez-Montero FJ, Rodríguez RE, González-Sarmiento R. Genetic foundations of pain. *Rev Soc Esp Dolor* 2004; 11: 444-451.

SUMMARY

Perception of pain is a complex process which implies multiple biochemical pathways together with unknown processes of cortical integration. The existence of individual differences in the response to painful stimuli suggests that genetic factors can be involved in its modulation. Two different experimental approaches have been developed to study the implication of genotype in the response to pain: linkage studies and the association studies. Up to now linkage studies have allowed the association of TRKA gene mutations with the syndrome of congenital insensitivity to pain with anhidrosis (CIPA) and CACNL1A4 gene mutations with the familial hemiplegic migraine (FHM). Few association studies have been performed until now, and have been focused on the study of patients with migraine. Here we review the studies carried out up to now in different laboratories and suggest new perspectives for the future. © 2004 Sociedad Española del Dolor. Published by Arán Ediciones, S.L.

Key words: Pain. Genes. Polymorphism. Mutation.

RESUMEN

La percepción de la sensación dolorosa es un proceso complejo en el que intervienen múltiples procesos bioquími-

cos bien conocidos junto con otros de integración cortical desconocidos hasta el momento. La existencia de diferencias individuales en la respuesta al estímulo doloroso es una observación bien conocida que sugiere qué factores genéticos pueden estar implicados en la modulación de la respuesta a estímulos dolorosos. Existen dos aproximaciones experimentales para estudiar la implicación del genotipo en la respuesta al estímulo doloroso, los estudios de ligamiento y los estudios de asociación. Hasta el momento los estudios de ligamiento han permitido asociar mutaciones en el gen TRKA con el síndrome de insensibilidad congénita al dolor con anhidrosis (CIPA) y el gen CACNL1A4 y la migraña hemipléjica familiar (FHM). Los estudios de asociación son escasos y se han centrado principalmente en el estudio de pacientes con migraña. En este trabajo revisamos los estudios llevados a cabo hasta el momento en diferentes laboratorios y planteamos nuevas perspectivas de futuro. © 2004 Sociedad Española del Dolor. Publicado por Arán Ediciones, S.L.

Palabras clave: Dolor. Genes. Polimorfismo. Mutación.

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN
2. NEUROFISIOLOGÍA DEL DOLOR
3. ESTUDIOS GENÉTICOS RELACIONADOS CON EL DOLOR
 - 3.1. Estudios de ligamiento genético
 - 3.2. Estudios de asociación genética
4. AGRADECIMIENTOS

¹Cátedra Extraordinaria del Dolor. Fundación Grünenthal. Universidad de Salamanca

²Unidad de Medicina Molecular-Departamento de Medicina

³Departamento de Bioquímica y Biología Molecular

⁴Instituto de Neurociencias de Castilla y León. Universidad de Salamanca

Recibido: 06-05-04.

Aceptado: 10-05-04.

1. INTRODUCCIÓN

El dolor es una percepción que puede definirse como una experiencia desagradable asociada a un daño tisular actual o potencial (1). No obstante, muchas personas refieren dolor en ausencia de daño tisular u otra causa conocida, y esta experiencia debe ser considerada también como dolor ya que no puede distinguirse de la producida por un daño tisular real. Por lo tanto, el dolor debe ser considerado una experiencia altamente subjetiva que se completa con experiencias físicas, psicológicas y sociales del individuo, siendo importante diferenciar entre la sensación dolorosa y los mecanismos nerviosos de la nocicepción, ya que la activación de estos últimos no conduce necesariamente a la percepción de dolor. En definitiva, la percepción del dolor tiene un componente individual y subjetivo que dificulta su definición y su estudio.

Clásicamente se distinguen tres tipos de dolor de acuerdo con la evolución del mismo. El dolor fisiológico es el producido por la estimulación breve de los nociceptores de la piel u otros tejidos en ausencia de daño tisular; se considera una sensación protectora que es necesaria para la supervivencia y el bienestar del individuo. El dolor agudo es el producido por un daño tisular importante y su duración depende del tiempo que puedan tardar los tejidos en sanar; los factores psicológicos tienen una influencia importante en la manera en que se experimenta este tipo de dolor, que puede desencadenar una serie de acontecimientos que lo perpetúan y favorecen su evolución a dolor crónico. El dolor crónico es consecuencia de la estimulación constante de los nociceptores en zonas en las que se ha producido un daño tisular y tiene grandes efectos psicológicos sobre el paciente. Podría decirse que mientras el dolor agudo es un síntoma de una enfermedad, el dolor crónico constituye una enfermedad por sí mismo (2).

Por otra parte, de acuerdo con su origen, el dolor puede dividirse en: dolor somático, inflamatorio o nociceptivo, que aparece cuando un estímulo potencialmente dañino estimula los receptores nociceptivos, y en el que se incluye el dolor originado en cualquier parte del cuerpo que no pertenezca al sistema nervioso central (SNC); y dolor neuropático, que es el resultado de lesiones o alteraciones crónicas en vías nerviosas periféricas o centrales. La etiología del dolor neuropático incluye traumas en nervios periféricos (p. ej. amputaciones), infecciones (p. ej. neuralgias post-herpéticas), presión debida a crecimientos anómalos (p. ej. neoplasias), infartos, alteraciones metabólicas (p. ej. neuralgia diabética), etc. (1).

Independientemente de su evolución o de su origen, en las últimas dos décadas se ha progresado en el conocimiento de los mecanismos a través de los cuales la sensación dolorosa es transmitida y procesada tanto en un estado normal como patológico. Este mejor conocimiento de los mecanismos implicados en la nocicepción se ha debido en gran parte a aproximaciones multidisciplinarias que han hecho posible el estudio simultáneo de sistemas neurobiológicos, análisis comportamentales, genéticos, celulares y moleculares.

2. NEUROFISIOLOGÍA DEL DOLOR

Para que se perciba la sensación dolorosa es necesaria la existencia de receptores (nociceptores) y de unas vías que permitan la transmisión hasta el sistema nervioso central. Los nociceptores pueden dividirse en dos grupos: los que responden a estímulos térmicos y mecánicos, que transmiten la señal a través de fibras mielínicas A δ ; y los receptores polimodales, que responden a la presión, temperatura, estímulos químicos u otro tipo de estímulos y transmiten la señal a través de fibras amielínicas C. Hasta el momento se desconoce el mecanismo por el que los estímulos inducen la despolarización de las terminaciones sensitivas desnudas, pero se piensa que el receptor de la capsaicina (VR1) puede estar implicado en este proceso. Por otra parte, las sustancias químicas liberadas por el proceso inflamatorio como la bradicinina, histamina, prostaglandinas, leucotrienos, acetilcolina, serotonina y sustancia P actúan sobre los nociceptores y modulan la transmisión de la sensación dolorosa. Las enzimas implicadas en la regulación de la síntesis de estas sustancias también desempeñan un papel indirecto en la regulación de la sensación dolorosa.

Una vez activados, los nociceptores transmiten la información hasta las neuronas del asta posterior de la médula espinal, donde se liberan neurotransmisores, principalmente el glutamato, que actúa a nivel local sobre receptores de tipo AMPA y NMDA, y diferentes neuropéptidos que no sólo actúan a nivel local sino que pueden activar neuronas alejadas de su lugar de liberación. Además, otros neurotransmisores como la sustancia P, serotonina, catecolaminas y, sobre todo, los péptidos opiáceos endógenos intervienen en la modulación de la señal a este nivel.

Desde la médula espinal el estímulo es transmitido a través de vías ascendentes a diferentes regiones del SNC, principalmente al tálamo a través de los haces espinotalámico, espinorreticular y cervicotalámico; al

mesencéfalo, sustancia gris periacueductal y núcleos parabraquiales a través del haz espinomesencefálico, y al hipotálamo a través del haz espinohipotálamico. La estimulación de los núcleos parabraquiales se proyecta al núcleo amigdalino implicado en el control de las emociones y se piensa que interviene en el componente afectivo del dolor. Desde el tálamo, la información nociceptiva es transmitida a la corteza cerebral, donde se produce el procesamiento definitivo de la sensación dolorosa. En el procesamiento de la señal dolorosa a través de todas estas vías desempeñan un papel fundamental los diferentes tipos de neurotransmisores, sus receptores y por extensión las proteínas encargadas de regular su síntesis y transporte.

Además, no debemos olvidar que en la regulación de la sensación dolorosa intervienen fibras aferentes no nociceptivas primarias, principalmente fibras de tipo A β de gran tamaño, y que la sustancia gris periacueductal inhibe neuronas nociceptivas de la médula espinal principalmente a través de conexiones excitatorias con neuronas de la parte rostroventral del bulbo raquídeo, sobre todo con neuronas serotoninérgicas del núcleo magno del rafe. Desde el locus cerúleo noradrenérgico y diferentes núcleos del bulbo y la protuberancia, parten sistemas inhibidores descendentes que modulan la actividad de las neuronas nociceptoras del asta posterior de la médula. En estos sistemas desempeña una función central el sistema opioide junto con otros neurotransmisores como GABA, noradrenalina, serotonina, acetilcolina, dopamina, somatostatina, calcitonina, etc.

3. ESTUDIOS GENÉTICOS RELACIONADOS CON EL DOLOR

Estudios realizados en los últimos 50 años han confirmado la observación de que existen grandes diferencias individuales en la sensibilidad y tolerancia a la sensación dolorosa, así como en la respuesta, tolerancia y efectos secundarios de los fármacos analgésicos (2-6). Hoy sabemos que estas variaciones fenotípicas son el reflejo de diferencias a nivel genético. Los gemelos uni y bivitelinos representan un grupo de población muy empleado en estudios de asociación genotipo-fenotipo. En 1997, MacGregor y cols. (7) analizaron la modificación en la percepción del dolor observando una ligera diferencia en las respuestas entre dos grupos de gemelos, lo que sugería que factores genéticos podrían estar implicados en las diferencias a la sensibilidad al dolor. No obstante, estos resultados no han sido confirmados en estudios posteriores (8).

La caracterización de genes asociados con procesos funcionales o patológicos se lleva a cabo habitualmente mediante dos aproximaciones complementarias: a) estudios de ligamiento, en los que se analizan los patrones de herencia de cada uno de los genes candidatos. Para poder realizar este tipo de estudios se requiere un fenotipo muy definido y la existencia de familias con muchos integrantes, motivo por el que la mayoría de los estudios de ligamiento relacionados con el dolor se han realizado en síndromes con componente doloroso y sobre todo en pacientes con migraña; b) estudios de asociación, en los que se comparan las frecuencias alélicas de los genes candidatos en poblaciones con diferentes fenotipos. Estos estudios son posibles debido a la gran variabilidad del genoma humano, como pone de manifiesto el elevado número de variaciones de un nucleótido (SNP) que se han descrito en los últimos años. Estas variaciones pueden localizarse tanto en regiones no codificantes como codificantes; en el primer caso permiten asociar regiones genómicas con determinados fenotipos y, a partir de esta observación inicial, definir posibles genes candidatos con los que realizar estudios de ligamiento. En el caso de las variaciones en zonas codificantes muchas son silenciosas y no modifican la secuencia de aminoácidos de la proteína pero en otros casos se modifica cuantitativa o cualitativamente la proteína codificada por el gen, lo que permite en una etapa posterior realizar estudios funcionales que confirmen el papel de la proteína en el proceso.

3.1. Estudios de ligamiento genético

Durante las dos últimas décadas, los estudios de ligamiento han permitido caracterizar de manera definitiva algunos genes implicados directamente en el desarrollo de síndromes que se asocian con trastornos de la sensación dolorosa.

3.1.1. El gen *TRKA* y el síndrome de insensibilidad congénita al dolor con anhidrosis (*CIPA*)

Las neuronas nociceptivas que se estimulan tras producirse un daño tisular son dependientes del factor de crecimiento nervioso (NGF). El receptor de este factor neurotrófico es una proteína transmembrana codificada por el gen *TRKA* (9), localizado en el cromosoma 1 (1q21-q22) y que consta de 17 exones. Estudios de asociación en pacientes con una rara enfermedad, la insensibilidad congénita al dolor con

anhidrosis (CIPA), reveló que el proceso estaba ligado a un gen del cromosoma 1 y el estudio refinado de la región ligada reveló que el gen implicado en el desarrollo de esta enfermedad era el que codificaba el receptor TRKA (10). Hasta el momento se han descrito 37 mutaciones y 22 polimorfismos diferentes en familias afectadas (11).

3.1.2. El gen CACNL1A4 y la migraña hemipléjica familiar (FHM)

En 1996, Ophoff y cols. (12) describieron la asociación entre cuatro mutaciones puntuales localizadas en el gen que codifica la subunidad α del canal de calcio (CACNL1A4) y un grupo de pacientes con migraña hemipléjica familiar (FHM). El gen CACNL1A4 se localiza en el cromosoma 19 (19p13) y consta de 47 exones (12); está implicado en un 50% de los casos de FHM que van acompañados de ataxia cerebral progresiva (PCA) (13).

Recientemente, se han descrito dos mutaciones, que inactivan los canales Na^+/K^+ , en el gen ATP1A2, localizado en el en el cromosoma 1q23 (14). Estas alteraciones inhiben la actividad de la bomba Na^+/K^+ y los desequilibrios en las concentraciones iónicas intracelulares y extracelulares podrían contribuir a la fisiopatología de la migraña familiar. Sin embargo, estudios de asociación realizados entre estas mutaciones y un grupo de pacientes con migraña de tipo familiar son contradictorios (13,15,16).

3.2. Estudios de asociación genética

Como ya hemos señalado, los estudios de asociación analizan la posible relación entre variantes genéticas presentes en la población (polimorfismos genéticos) y diferentes entidades nosológicas. Hasta el momento son escasos los estudios de asociación entre genes y percepción del dolor, siendo la mayoría de ellos relacionados con la migraña. Los genes candidatos a este tipo de estudios son los implicados en la síntesis, transporte y función de las proteínas implicadas en las diferentes etapas de la transmisión de la sensación dolorosa.

3.2.1. Interleucinas

Las citocinas son proteínas producidas principalmente por células linfomonocitarias que intervienen

en la regulación de los procesos inflamatorios, por lo que se han estudiado principalmente en relación con el dolor de tipo inflamatorio. Se sabe que las citocinas proinflamatorias, como los factores de necrosis tumoral ($\text{TNF}\alpha$) y las interleucinas $\text{IL1}\beta$, IL6 e IL8 , aumentan la actividad de las vías nociceptivas (17). Además, estas sustancias pueden causar sensibilización indirecta por la liberación de otras citocinas y mediadores de hiperalgesia como el glutamato o la ciclooxigenasa tipo 2 (COX2). El gen de la IL6 presenta un polimorfismo en la posición -174G/C que se ha asociado con variaciones en los niveles de dicha citosina (18). En el estudio de la distribución de los alelos de este polimorfismo en un grupo de pacientes con migraña y en individuos sanos no se ha encontrado ninguna diferencia (19). No se han realizado estudios de asociación entre las otras citocinas proinflamatorias y el dolor.

Las citocinas antiinflamatorias IL4 , IL10 e IL13 son liberadas durante la inflamación y pueden inhibir la liberación de las citocinas proinflamatorias y disminuir la expresión de la ciclooxigenasa tipo 2 (COX2) (20). Aunque se han descrito polimorfismos en los genes que codifican estas interleucinas, no se ha realizado hasta el momento ningún estudio para analizar su posible asociación con el dolor.

3.2.2. Receptor de capsaicina (VR1)

Una de las primeras proteínas implicadas en la transmisión de la sensación dolorosa es el receptor de la capsaicina. Recientemente se ha caracterizado el gen humano (21) y se están llevando a cabo los primeros análisis para determinar variaciones alélicas que permitan realizar estudios de asociación.

3.2.3. Sistema opioide

Como ya hemos señalado, el sistema opioide desempeña un papel central en el control de la sensación dolorosa. En el gen MOR (receptor opioide μ) se han descrito cinco polimorfismos diferentes, el más estudiado es una sustitución A/G en la posición 118 que codifica un receptor tres veces más activo (22). En los genes KOR (receptor opioide κ) y DOR (receptor opioide δ) también se han descrito variaciones en la secuencia que pueden ser empleadas en estudios de asociación (22).

El estudio de las variaciones alélicas en estos genes, así como las del gen ORL y sus ligandos endógenos (β -endorfina, encefalinas, dinorfina, orfanina,

etc.) permitirá definir posibles variantes poblacionales que se asocien con diferentes respuestas al estímulo doloroso.

3.2.4. Sistema catecolaminérgico

Se conocen cinco receptores de dopamina diferentes DRD1, DRD2, DRD3, DRD4 y DRD5. El estudio de un polimorfismo de la región no codificante del gen DRD2 (23), ha mostrado que el alelo DRD2-A1, aunque no produce modificaciones en la proteína, se asocia con una menor disponibilidad de los receptores de dopamina mientras que el alelo DRD2-A2 se asocia con niveles normales de receptores de dopamina (24). Se han encontrado asociaciones entre este polimorfismo y el desarrollo de migraña (25). Sin embargo, estudios realizados con los genes que codifican DRD1, DRD3 y DRD5 no han revelado ninguna asociación significativa con la susceptibilidad a padecer migraña (26).

La dopamina liberada en las sinapsis es recaptada por una proteína denominada DAT (27) que es codificada por el gen SLC6A3. El alelo SCL6A3-9 está relacionado con una mayor producción endógena de dopamina (28) mientras que el alelo SCL6A3-10 se ha relacionado con menores niveles de dopamina en las sinapsis (29). Este gen, junto con otros genes implicados en el metabolismo de las catecolaminas como la monoaminoxidasa (MAO-A y MAO-B), la catecol-O-metiltransferasa (COMT) y la dopamina β -hidroxilasa (DBH) podrían estar asociados con diferencias en la percepción de la sensación dolorosa.

En este sentido, recientemente se ha estudiado un polimorfismo localizado en la posición 158 del gen COMT, que supone una diferencia de actividad del enzima de 3-4 veces menor de lo normal, y se ha encontrado una asociación entre este polimorfismo y los niveles de receptores OPRM (30) así como con la susceptibilidad a padecer migrañas (31).

3.2.5. Sistema serotoninérgico

Existen varios subtipos de receptores, presinápticos y postsinápticos, que interactúan con la serotonina mientras que sólo una proteína, el transportador de la serotonina (5-HTT), es responsable de la recaptación del neurotransmisor y determina la magnitud y duración de las respuestas serotoninérgicas (32). El análisis de la región promotora del gen que codifica el transportador de la serotonina permitió

describir un polimorfismo que da lugar a un alelo largo (L) y otro corto (S). El alelo S codifica para una proteína 5-HTTLPR que es dos veces menos activa. En un estudio reciente se ha encontrado asociación entre este polimorfismo del 5-HTTLPR y la susceptibilidad a desarrollar migraña (33). El estudio de las variaciones alélicas en estos genes podría aportar nueva información sobre su posible implicación en la variabilidad de la respuesta al estímulo doloroso.

3.2.6. Sistema aminoacidérgico

El ácido γ -aminobutírico (GABA) es el principal neurotransmisor inhibitor del SNC. Actúa a nivel postsináptico sobre los receptores GABA_A, GABA_B y GABA_C y la inhibición del estímulo nervioso es posible gracias a los transportadores GABA que se encargan de recaptar, desde las terminales presinápticas, al neurotransmisor (34). Teniendo en cuenta que la rapidez de la propagación del impulso nervioso es fundamental en estos procesos de transmisión sináptica, el transportador GABA es el principal regulador de la duración e intensidad de la acción GABAérgica (35). Se han descrito cuatro transportadores GABA (GAT1, GAT2, GAT3 y GAT4) y, en estudios con animales, se les ha relacionado con el desarrollo de hiperalgesia (36). Se ha observado que las alteraciones de los receptores GABA_A y GABA_B afectan a la sensibilidad al dolor (37,38). El receptor GABA_B presenta varios polimorfismos, uno de ellos localizado en el exón 7 que afecta a la unión del receptor con el ligando y por lo tanto a la transmisión del impulso nervioso (39). Sin embargo, hasta el momento no se han realizado estudios de asociación en pacientes con dolor.

3.2.7. Factores de transcripción

La proteína DREAM actúa suprimiendo la expresión de la prodinorfina en las neuronas de la médula espinal (40). Al controlar de este modo los niveles de activación de los receptores opioides κ , DREAM podría estar regulando la transmisión del dolor. Algunos estudios realizados en animales atribuyen un papel importante en la nocicepción a este supresor, ya que la ausencia de este gen provoca una disminución en las respuestas al dolor en modelos animales de dolor neuropático e inflamatorio (41). Es necesario caracterizar variantes alélicas de este gen antes de poder realizar estudios de asociación.

3.2.8. Sintasa de óxido nítrico

El óxido nítrico (NO) es uno de los neurotransmisores más abundantes en los procesos de regulación del estímulo nociceptivo (42,43). La estimulación de las neuronas nociceptivas aferentes produce la activación de los receptores N-metil-D-aspartato (NMDA) y desencadena la producción de NO a nivel de la médula espinal (44). La enzima encargada de sintetizar el NO es la óxido nítrico sintasa (NOS) de la que se han descrito tres isoformas distintas (nNOS, eNOS e iNOS). Algunos estudios animales han demostrado que el tratamiento con inhibidores selectivos de la NOS producen analgesia en modelos de dolor neuropático e inflamatorio (45,46). Los genes que codifican estas enzimas presentan variantes alélicas, pero hasta el momento no se han realizado estudios de asociación en poblaciones con diferente sensibilidad al dolor.

3.2.9. Genes implicados en el metabolismo de fármacos

Además de la importancia que tiene el estudio de los genes que codifican proteínas implicadas en la transmisión de la sensación dolorosa, los estudios de genética permiten definir genotipos que puedan explicar la diferente respuesta al tratamiento analgésico.

Los estudios realizados en el gen que codifica para la enzima citocromo P450IID6 (CYP2D6) (47-49), encargada de convertir la codeína en morfina mediante un proceso de O-desmetilación (50), revelaron la existencia de dos tipos de individuos: los denominados "metabolizadores lentos" (PM) cuyos beneficios terapéuticos tras la administración de codeína son mínimos; y los llamados "metabolizadores rápidos" (EM). Un estudio realizado en 300 pacientes con cirugía abdominal reveló que un 46,7% de los pacientes del grupo de PM no respondió al tratamiento con un analgésico opiáceo frente a tan sólo un 21,6% de los pacientes del grupo de EM (51). Los pacientes del grupo PM requirieron mayor dosis de analgésico y mayor frecuencia de administración que los pacientes del grupo EM. En otros estudios, se han encontrado asociaciones con genes que codifican para algunas glutation-S-transferasas (GST) (52), es necesario estudiar otros genes implicados en el metabolismo de los fármacos empleados en analgesia para poder definir subgrupos de individuos con diferentes respuestas a los fármacos, lo que permitirá realizar un tratamiento más efectivo.

Aunque todos los estudios realizados hasta el momento sugieren una relación entre el genotipo y la

transmisión y control del dolor, los estudios genéticos publicados hasta el momento no son concluyentes ni abarcan todos los posibles genes que pueden estar implicados. Por otra parte, y como hemos señalado al principio, existe un componente de subjetividad en la percepción del dolor cuyos mecanismos bioquímicos son totalmente desconocidos y que dificultan la comprensión del fenómeno del dolor. Consideramos que es necesario ampliar los estudios genéticos realizados en el campo de la nocicepción y la analgesia, para poder acercarnos al desarrollo de nuevas estrategias analgésicas y mejoras en el tratamiento del dolor.

4. AGRADECIMIENTOS

Financiado por la Cátedra Extraordinaria del Dolor- Fundación Grünenthal.

Agradecemos a Nieves Mateos su asistencia técnica.

CORRESPONDENCIA:

Rogelio González-Sarmiento
Unidad de Medicina Molecular
Departamento de Medicina
Avda. de Alfonso X el Sabio, s/n
37007 Salamanca
Tfno.: 923 294 553
Fax: 923 294 593
e-mail: gonzalez@usal.es

BIBLIOGRAFÍA

1. MacFarlane BV, Wright A, O'Callaghan J, et al. Chronic neuropathic pain and its control by drugs. *Pharmacol Ther* 1997; 77: 1-19.
2. Clark JW, Bindra D. Individual differences in pain thresholds. *Can J Psychol* 1956; 10: 69-76.
3. Wolff BB, Jarvik ME. Relationship between superficial and deep somatic thresholds of pain with a note on handedness. *Am J Psychol* 1964; 77: 589-99.
4. Woodrow KM, Friedman GD, Siegelau AB, et al. Pain tolerance: differences according to age, sex and race. *Psychosom Med* 1972; 34: 548-56.
5. Portenoy RK, Foley KM, Inturrisi CE. The nature of opioid responsiveness and its implications for neuropathic pain: new hypotheses derived from studies of opioid infusions. *Pain* 1990; 43: 273-86.
6. Chapman CR, Hill HF, Saeger L, et al. Profiles of opioid analgesia in humans after intravenous bolus administration: alfentanil, fentanyl and morphine compared on experimental pain. *Pain* 1990; 43: 47-55.
7. MacGregor AJ, Griffiths GO, Baker J, et al. Determinants of pressure pain threshold in adult twins: evidence that shared environmental influences predominate. *Pain* 1997; 73: 253-7.

8. Peroutka SJ. Genetic basis of migraine. *Clin Neurosci* 1998; 5: 34-7.
9. Kaplan DR, Hempstead BL, Martin-Zanca D, et al. The Trk proto-oncogene product: a signal transducing receptor for nerve growth factor. *Science* 1991; 252: 554-8.
10. Indo Y, Tsuruta M, Hayashida Y, et al. Mutations in the TRKA/NGF receptor gene in patients with congenital insensitivity to pain with anhidrosis. *Nat Genet* 1996; 13: 485-8.
11. Indo, Y. Molecular basis of congenital insensitivity to pain with anhidrosis (CIPA): Mutations and polymorphisms in TRKA (NTRK1) gene encoding the receptor tyrosine kinase for nerve growth factor. *Hum Mut* 2001;18: 462-71.
12. Orphoff RA, Terwindt GM, Vergouwe MN, et al. Familial hemiplegic migraine and episode ataxia type-2 are caused by mutations in the Ca²⁺ channel gene CACNL1A4. *Cell* 1996; 87: 543-52.
13. Ducros A, Denier C, Joutel A, et al. Recurrence of the T666M calcium channel CACNA1A gene mutation in familial hemiplegic migraine with progressive cerebellar ataxia. *Am J Hum Genet* 1999; 64: 89-98.
14. De Fusco M, Marconi R, Silvestre L, et al. Haploinsufficiency of ATP1A2 encoding the Na⁺/K⁺ pump alpha 2 subunit associated with familial hemiplegic migraine type 2. *Nat Genet* 2003; 33: 192-6.
15. May A, Ophoff RA, Terwindt GM, et al. Familial hemiplegic migraine locus on 19p13 is involved in the common forms of migraine with and without aura. *Hum Genet* 1995; 96: 604-8.
16. Noble-Topham SE, Dymont DA, Cader MZ, et al. Migraine with aura is not linked to the FHM gene CACNL1A4 or the chromosomal region, 19p13. *Neurology* 2002; 59: 1099-101.
17. Hori T, Oka T, Hosoi M, et al. Pain modulatory actions of cytokines and prostaglandin E2 in the brain. *Ann N Y Acad Sci* 1998; 840: 269-81.
18. Fishman D, Faulds G, Jeffery R, et al. The effect of novel polymorphisms in the interleukin-6 (IL-6) gene on IL-6 transcription and plasma IL-6 levels, and an association with systemic-onset juvenile chronic arthritis. *J Clin Invest* 1998; 102: 1369-76.
19. Rainero I, Salani G, Valfre W, et al. Absence of linkage between the interleukin-6 gene (-174 G/C) polymorphism and migraine. *Neurosci Lett* 2003; 343: 155-8.
20. Cunha FQ, Ferreira SH. Peripheral hyperalgesic cytokines. *Adv Exp Med Biol* 2003; 521: 22-39.
21. Hayes P, Meadows HJ, Gunthorpe MJ, et al. Cloning and functional expression of a human orthologue of rat vanilloid receptor-1. *Pain* 2000; 88: 205-15.
22. Mayer P, Hollt V. Allelic and somatic variations in the endogenous opioid system of humans. *Pharmacol Ther* 2001; 9: 167-77.
23. Bond C, LaForge KS, Tian M, et al. Single-nucleotide polymorphism in the human mu-opioid receptor gene alters beta-endorphin binding and activity: possible implications for opiate addiction. *Proc Nat Acad Sci* 1998; 95: 9608-13.
24. Grandy DK, Marchionni MA, Makam H, et al. Cloning of the cDNA and gene for a human D2 dopamine receptor. *Proc Nat Acad Sci* 1989; 86: 9762-6.
25. Jonsson EG, Nothen MM, Grunhage F, et al. Polymorphism in the dopamine D2 receptor gene and their relationships to strial dopamine receptor density of healthy volunteers. *Molec Psychiat* 1999; 4: 290-6.
26. Peroutka SJ, Wilhoit T, Jones K. Clinical susceptibility to migraine with aura is modified by dopamine D2 receptor (DRD2) NcoI alleles. *Neurology* 1997; 49: 201-6.
27. Sheperd G, Lea RA, Hutchins C, et al. Dopamine receptor genes and migraine with and without aura: an association study. *Headache* 2002; 42: 346-51.
28. Giros B, El Mestikawy S, Godinot N, et al. Cloning, pharmacological characterization, and chromosome assignment of the human dopamine transporter. *Molec Pharm* 1992; 42: 383-90.
29. Lerman C, Caporaso NE, Audrain J, et al. Evidence suggesting the role of specific genetic factors in cigarette smoking. *Health Psychol* 1999; 18: 14-20.
30. Cook EH Jr, Stein MA, Krasowski MD, et al. Association of attention-deficit disorder and the dopamine transporter gene. *Am J Hum Genet* 1995; 56: 993-8.
31. Zubieta JK, Heitzeg MM, Smith YR, et al. COMT val158met genotype affects mu-opioid neurotransmitter responses to a pain stressor. *Science* 2003; 299: 1240-3.
32. Emin Erdal M, Herken H, Yilmaz M, et al. Significance of the catechol-O-methyltransferase gene polymorphism in migraine. *Brain Res Mol Brain Res* 2001; 94: 193-6.
33. Lesch KP, Mössner R. Genetically driven variation in serotonin uptake: is there a link to affective spectrum, neurodevelopmental and neurodegenerative disorders? *Biol Psychiatry* 1998; 44: 179-92.
34. Yilmaz M, Erdal ME, Herke H, et al. Significance of serotonin transporter gene polymorphism in migraine. *J Neurol Sci* 2001; 186: 27-30.
35. Borden LA. GABA transporter heterogeneity: pharmacology and cellular localization. *Neurochem Int* 1996; 29: 335-56.
36. Isaacson JS, Solis JM, Nicoll RA. Local and diffuse synaptic actions of GABA in the hippocampus. *Neuron* 1993; 10: 165-75.
37. Ng CH, Ong WY. Increased expression of gamma-aminobutyric acid transporters GAT-1 and GAT-3 in the spinal trigeminal nucleus after facial carrageenan injections. *Pain* 2001; 92: 29-40.
38. McCarron KE, Enna SJ. Nociceptive regulation of GABA(B) receptor gene expression in rat spinal cord. *Neuropharmacology* 1999; 38: 1767-73.
39. Ugarte SD, Homanics GE, Firestone LL, Hammond DL. Sensory thresholds and the antinociceptive effects of GABA receptor agonists in mice lacking the beta3 subunit of GABA(A) receptor. *Neuroscience* 2000; 95: 795-806.
40. Peters HC, Kammer G, Volz A, et al. Mapping, genomic structure, and polymorphisms of the human GABABR1 receptor gene: evaluation of its involvement in idiopathic generalized epilepsy. *Neurogenetics* 1998; 2: 47-54.
41. Costigan M, Woolf CJ. No DREAM, no pain: closing the spinal gate. *Cell*, 2002; 108: 297-300.
42. Hai-Ying MC, Graham MP, Steven RL, et al. DREAM is a critical transcriptional repressor for pain modulation. *Cell* 2002; 108: 31-43.

43. Dawson TM, Dawson VL, Snyder SH. A novel neuronal messenger molecule in brain: the free radical, nitric oxide. *Ann Neurol* 1992; 32: 297-311.
44. Meller ST, Dykstra C, Gebhrat GF, et al. Production of endogenous nitric oxide and activation of soluble guanylate cyclase are required for N-methyl-D-aspartate produced facilitation of the nociceptive tail-flick. *Eur J Pharmacol* 1992; 214: 93-6.
45. Meller ST, Pechman PS, Gebhart TJ, et al. Nitric oxide mediates the thermal hyperalgesia produced in a model of neuropathic pain in rat. *Neuroscience* 1992; 50: 7:10.
46. Yamamoto T, Shimoyama N, Mizuguchi T. Nitric oxide synthase inhibitor blocks spinal sensitization induced by formalin injection into the rat paw. *Anesth Analg* 1993; 77: 886-90.
47. Mattson P, Bjelfman C, Lundberg PO, et al. Cytochrome P450 2D6 and glutathione-S-transferase M1 genotypes and migraine. *Eur J Clin Invest* 2000; 30: 367-71.
48. Caraco Y, Sheller J, Wood AJ. Pharmacogenetic determination of the effects of codeine and prediction of drug interactions. *J Pharmacol Exp Ther* 1996; 278: 1165-74.
49. Poulsen L, Brosen K, Arendt-Nielsen L, et al. Codeine and morphine in extensive and poor metabolizers of sparteine: pharmacokinetics, analgesic effect and side effects. *Eur J Clin Pharmacol* 1996; 51: 289-95.
50. Alvan G, Bechtel P, Iselius L, et al. Hydroxylation polymorphisms of debrisoquine and mephenytoin in European populations. *Eur J Clin Pharmacol* 1990; 39: 533-7.
51. Stamer UM, Lehnen K, Höthker F, et al. Impact of CYP2D6 genotype on postoperative tramadol analgesia. *Pain* 2003; 105: 231-8.
52. Kusumi M, Ishhizaki K, Kowa H, et al. Glutathione-S-transferase polymorphisms: susceptibility to migraine without aura. *Eur Neurol* 2003; 49: 218-22.