

Pål Klepstad

Department of Circulation and Medical Imaging, Norwegian University of Science and Technology, Norway

Genetyka a opioidy. Nowe dane pozwalające na lepsze zrozumienie analgezji opioidowej

Genetics and opioids: new data gives insight into opioid analgesia

Streszczenie

Dawki opioidów niezbędne do złagodzenia bólu różnią się u poszczególnych osób. Ta indywidualna zmienność dotycząca skuteczności opioidów sugeruje, że na reakcje pacjentów na tę grupę leków wpływa ich genetycznie uwarunkowana podatność. Ze względu na złożony obraz farmakologii morfiny różnice mogą być wynikiem działania wielu genów, do których należą geny związane z farmakokinetyką morfiny, z receptorami opioidowymi μ oraz z transportem morfiny poprzez barierę krew-mózg za pośrednictwem transporterów oporności wielolekowej. Skuteczność morfiny mogą zmieniać także geny związane z działaniem biologicznych systemów modyfikujących analgezję opioidową. W niniejszej pracy krótko przedstawiono wyniki wybranych badań dotyczących związku między farmakologią opioidów a genetyką, ze szczególnym uwzględnieniem prób obejmujących ochotników lub pacjentów otrzymujących morfinę. Dotychczasowe rezultaty zdecydowanie wskazują, że skuteczność opioidów częściowo zależy od cech wrodzonych, u podłoża których leży zmienność genetyczna związana z metabolizmem opioidów, funkcją receptorów opioidowych oraz transporterów tej grupy leków.

Słowa kluczowe: opioidy, zmienność osobnicza, genetyka

Abstract

The doses of opioids needed for pain relief vary between individuals. This individual variability of opioid efficacy suggests that the patient's genetic disposition influences the response to opioids. Given the complexity of morphine pharmacology, variability may be caused by several genes. Candidate genes are those related to morphine pharmacokinetics, to μ -opioid receptors and to the BBB transport of morphine through multidrug resistance transporters. Genes related to biological systems modifying opioid analgesia may also alter the efficacy of morphine. This short review presents results from some selected studies which investigate the relationship between opioid pharmacology and genetics with the emphasis on studies in volunteers or patients receiving morphine. The results obtained so far strongly argue that opioid efficacy is partly related to inborn properties caused by genetic variability related to opioid metabolism, opioid receptors and opioid transporters.

Key words: opioid, inter-individual variability, genetic

Wstęp

Dawki opioidów niezbędne do złagodzenia bólu są odmienne u różnych osób [1]. Tradycyjnie tłumaczono te odmienności zróżnicowaną biodostępnością oraz zmienną intensywnością bodźców bólo-

Introduction

The doses of opioids needed for pain relief vary between individuals [1]. Traditionally, this variation has been explained by variable bioavailability and differences in the intensity of pain stimuli [2–4].

Adres do korespondencji (Address for correspondence): Pål Klepstad, MD, PhD

Department Anaesthesiology, St. Olavs University Hospital

7006 Trondheim, Norway; tel.: +47 73868108, faks: +47 73868117, e-mail: pal.klepstad@medisin.ntnu.no



Polska Medycyna Paliatywna 2004, 3, 2, 91–99
Copyright © 2004 Via Medica, ISSN 1644–115X

wych [2–4]. Na skuteczność działania leku mają również wpływ odmienności metabolizmu. W przypadku najczęściej stosowanego leku z grupy opioidów, morfiny, zagadnienie jest bardziej złożone. Ze względu na fakt, że metabolit morfiny — 6-glukuronian morfiny (M6G) — przyczynia się do złagodzenia bólu, podwyższony poziom metabolizmu morfiny z jej przemianą w M6G może spowodować wyraźniejszy efekt działania opioidu [5, 6]. Stwierdzono, że wspomniana różnica działania M6G ma szczególne znaczenie w przypadku chorych z niewydolnością nerek [7, 8]. Wykazano także, że stężenia morfiny i M6G w osoczu nie są ściśle związane z efektami klinicznymi, czyli działaniem przeciwbólowym i objawami ubocznymi [9]. Zatem indywidualna zmienność skuteczności działania morfiny musi wynikać z wpływu innych czynników. Takimi czynnikami mogą być różnice dotyczące farmakodynamiki na poziomie receptora opioidowego μ [10] albo różnice transportu opioidów poprzez barierę krew-mózg, skutkujące odmiennym zewnątrzkomórkowym stężeniem leków w obrębie mózgu [11]. Ponadto zaobserwowane zmiany dotyczące zewnątrzkomórkowych stężeń morfiny i M6G w obrębie mózgu po przebytu urazie lub zapaleniu mózgu wskazują, że farmakologia opioidów nie jest stała nawet u tego samego chorego [12, 13].

Indywidualna zmienność dotycząca farmakologii opioidów sugeruje, że na reakcje pacjentów na tę grupę leków wpływa ich genetycznie uwarunkowana podatność. Istotnym argumentem wskazującym na słuszność powyższego poglądu jest fakt wpływu przynależności do określonej grupy etnicznej na reakcję na opioidy. Cepeda i wsp. zaobserwowali, że u rdzennych Indian występowała silniejsza depresja oddechowa w odpowiedzi na zastosowanie morfiny w porównaniu z przedstawicielami rasy kaukaskiej [14]. Natomiast Zhou i wsp. wykazali, że u ludzi rasy kaukaskiej działanie uspokajające i depresja oddechowa są silniejsze niż u Azjatów [15].

Zanim będzie można prześledzić związek między predyspozycją genetyczną a efektami działania opioidów należy zdać sobie sprawę z tego, że zmienność genetyczna wpływa również na percepcję bólu. Wykazano, że wpływ dziedziczenia na nocycepcję udaje się ustalić w 30–70% testów prowadzonych na zwierzętach [16]. Panuje przekonanie, że dziedziczność bólu wynika z wpływu tych obszarów chromosomów, w których kodują się cechy ilościowe. Oznacza to, że zmienność jest rezultatem działania wielu genów, a ich połączony wpływ przyczynia się do kształtowania percepcji bólu [16]. Odczuwanie bólu może się także zmienić w wyniku pojedynczej mutacji określonego genu. Przykładem dramatycznej zmia-

Variations in metabolism will also influence drug efficacy. For opioids with biologically active metabolites reduced metabolism will result in decreased opioid efficacy. For the most widely used opioid, morphine, a more complicated picture evolves. Because the morphine metabolite morphine-6-glucuronide (M6G) contributes to pain relief, increased metabolism of morphine to M6G may result in a more pronounced opioid effect [5, 6]. This variability, caused by M6G opioid effects, is shown to be of particular importance in patients suffering from renal failure [7, 8]. It has been shown that serum concentrations of morphine and M6G are not closely associated to clinical outcomes such as analgesia and adverse effects [9]. Therefore other factors must contribute to the inter-individual variability in morphine efficacy. Two such factors may be differences in pharmacodynamics at the μ -opioid receptor [10] or differences in the transport of opioids through the blood-brain-barrier (BBB), resulting in variable extracellular concentrations of opioids in the brain [11]. In addition, observations of changed extracellular brain morphine and M6G concentrations after brain trauma and inflammation show that opioid pharmacology is not constant within an individual patient [12, 13].

The individual variability of opioid pharmacology suggests that the patient's genetic disposition influences the response to opioids. This view is strongly supported by observations that ethnicity influences the response to opioids. Cepeda et al. observed that native Indians had a more pronounced morphine depression of the ventilatory response compared with Caucasians [14]. On the other hand, Caucasians were shown by Zhou et al. to become more sedated and to exhibit a more depressed respiratory response than Asians [15].

Before reviewing the relationship between genetic dispositions and effects from opioids, it must be recognised that genetic variability also influences pain perception. Animal studies have shown that the heritability of nociception ranges from 30% to 76% in different nociceptive assays [16]. The heritability of pain is believed to be a result of quantitative trait loci. In other words, the variability stems from several genes that, combined, contribute to pain perception [16]. Pain perception can also be altered by a single mutation at a specific gene. An illustration of a dramatic change related to a single mutation is a mutation in the NTRK1 gene encoding the high-affinity, nerve growth factor-specific tyrosine kinase receptor, resulting in an inborn insensitivity to pain [17]. Thus variability in pain reports from patients is a result both of variable pain perception and of variable responses to analgesics.

ny związanej z pojedynczą mutacją jest mutacja genu NTRK1, zawierającego kod receptora o wysokim powinowactwie dla swoistego czynnika wzrostu nerwów kinazy tyrozynowej; mutacja ta powoduje wrodzoną niewrażliwością na ból [17]. Zatem zmienne relacje pacjentów dotyczące odczuwanego bólu są wynikiem zarówno różnej percepcji bólu, jak i zróżnicowanych reakcji na leki przeciwbólowe.

Wiele zespołów badawczych śledziło związki między zmiennością genetyczną a osobniczą zmiennością dotyczącą skuteczności działania opioidów. Morfina jest najpowszechniej stosowanym opioidem, dlatego poddawano ją najbardziej intensywnym badaniom. Z tego powodu w niniejszej pracy przedstawiono niektóre dane dotyczące zmienności genetycznej w odniesieniu do skuteczności działania tego leku. Podobne dane na temat zmienności genetycznej dotyczącej innych opioidów (kodeiny) zostały opublikowane przez Weinshilboum oraz Evans i McLeod [18, 19].

Ze względu na złożony obraz farmakologii morfiny różnice mogą być wynikiem działania wielu genów, do których należą geny związane z farmakokinetyką morfiny, z receptorami opioidowymi μ oraz z transportem morfiny poprzez barierę krew-mózg za pośrednictwem transporterów oporności wielolekowej (MDR, *multidrug resistance*). Skuteczność morfiny mogą zmieniać także geny związane z działaniem biologicznych systemów modyfikujących analgezję opioidową.

Genetyka a farmakokinetyka morfiny

Podczas długotrwałego podawania morfiny dostrzeżono, że stężenie w M6G osocza jest wyższe niż stężenie morfiny [1, 5]. Metabolit morfiny wiąże się z receptorem opioidowym μ . W badaniach przeprowadzonych na zwierzętach wykazano, że M6G odznacza się silniejszymi właściwościami przeciwbólowymi oraz że odgrywa rolę w analgezji wywoływanej morfiną [5, 6, 20, 21]. Zatem różnice dotyczące konwersji morfiny do M6G mogą zmieniać skuteczność terapii za pomocą tego leku. Wspomniana konwersja jest katalizowana w wątrobie pod wpływem enzymu UDP-glukuronosyltransferazy 2B7 (UGT2B7) [22]. Aby ustalić, czy różnice genetyczne mogą stanowić wyjaśnienie zróżnicowanej aktywności wspomnianego enzymu, w grupie 239 chorych na raka przeprowadzono badania w celu poszukiwania zmian sekwencji w obszarach kodujących i regulacyjnych genu UGT2B7. Zidentyfikowano 10 nowych odmian położenia nukleotydów (polimorfizm pojedynczego nukleotydu — SNP, *single nucleotide polymorphism*), otrzymując całkowitą lic-

Several research groups have explored the relations between gene variations and inter-individual variations in the efficacy of opioids. Morphine is the most widely used opioid substance and has, consequently, been most extensively studied. For this reason the primary purpose of this short review will be to outline some findings concerning genetic variations related to variations in morphine efficacy. Information about genetic variability related to other opioids, such as codeine, has recently been reviewed by Weinshilboum and by Evans and McLeod [18, 19].

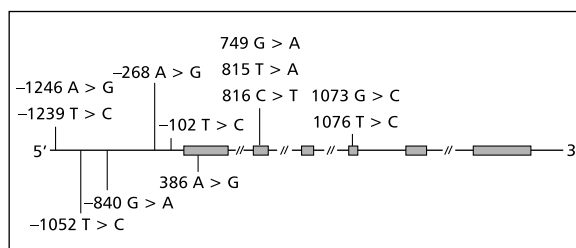
Given the complexity of morphine pharmacology, variability may be caused by several genes. Candidate genes are those related to morphine pharmacokinetics, to μ -opioid receptors and to the BBB transport of morphine through multidrug resistance (MDR) transporters. Genes related to biological systems which modify opioid analgesia may also alter the efficacy of morphine.

Genetics and morphine pharmacokinetics

The morphine metabolite M6G is found in higher serum concentrations than morphine during chronic oral morphine administration [1, 5]. M6G binds to the μ -opioid receptor, possesses higher analgesic potency in animal models, and contributes to the clinical analgesia produced by morphine [5–6, 20, 21]. Therefore differences in the conversion of morphine to M6G could alter the efficacy of morphine treatment. This conversion is catalysed in the liver by the UDP-glucuronosyltransferase 2B7 (UGT2B7) enzyme [22]. In order to assess whether genetic variability could explain differences in the activity of this enzyme, a cohort of 239 cancer patients were screened for sequence variation in the coding and regulatory regions of the UGT2B7 gene. 10 novel nucleotide variations (SNPs, single nucleotide polymorphisms) were identified, giving a total of 12 SNPs (Fig. 1). These 12 SNPs were partly linked (two or more SNPs are present together in the same individuals) so that 3 haplotypes and 6 genotypes of the UGT2B7 gene were predicted. This study observed no differences in M6G/morphine ratios between the genotypes, suggesting that genetic variability in the gene coding for the UGT2B7 enzyme is not important for differences in morphine pharmacokinetics [23]. A later study by Sawyer et al. included 99 patients receiving patient-controlled analgesia mostly for postoperative pain [24]. This study observed a significant trend for decreased M6G/morphine ratios in patients homozygous for tyrosine at position 802 at exon 2, patients heterozygous for

bę 12 SNP (ryc. 1). U niektórych osób występowały dwa lub więcej SNP jednocześnie. Na podstawie tych danych przewidywano istnienie 3 haplotypów i 6 genotypów dotyczących genu UGT2B7. W opisywanym badaniu nie zaobserwowano żadnych różnic stosunku M6G/morfina pomiędzy poszczególnymi genotypami, co sugeruje, że różnice genetyczne w obrębie genu kodującego enzym UGT2B7 nie są istotne dla różnic dotyczących farmakokinetyki morfiny [23]. Późniejsze badanie, które przeprowadzili Sawyer i wsp., obejmowało 99 chorych otrzymujących morfinę „na żądanie” w leczeniu bólu pooperacyjnego [24]. Wykazano istotną tendencję do spadku wartości stosunku M6G/morfina u pacjentów, u których w pozycji 802 eksonu 2 występuje tyrozyna jako cecha homozygotyczna, u chorych heterozygotycznych z tyrozyną i cytozyną w tej samej pozycji oraz u pacjentów homozygotycznych z zakodowaną w tej pozycji cytozyną. Oba wspomniane badania różniły się pod względem pochodzenia bólu (nowotworowy lub pooperacyjny) oraz przynależnością badanych do grup etnicznych (osoby wyłącznie rasy białej lub mieszana populacja złożona z przedstawicieli rasy białej i Amerykanów pochodzenia afrykańskiego). Należy przeprowadzić dalsze badania w celu oceny znaczenia różnic genetycznych w obrębie kodujących obszarów genu odpowiadającego za wytwarzanie enzymu UGT2B7.

Na aktywność enzymu mogą wpływać nie tylko geny kodujące konfigurację enzymu, lecz także czynniki związane z regulacją ekspresji genu. W przypadku genu UGT2B7 wykazano, że na jego ekspresję wpływa białko regulacyjne: czynnik jądrowy hepatocytu 1 α [25]. Dalsze zmiany w obrębie regulacyjnej części genu UGT2B7 (obszar promotora) mogą powodować zwiększenie lub zmniejszenie wytwarzania produktu kodowanego przez gen. W ośrodku badawczym autorów niniejszej pracy zidentyfikowano SNP (-79 G > T) w regulacyjnej części genu UGT2B7, stwierdzając, że u pacjentów charakteryzujących się tym polimorfizmem jako cechą heterozygotyczną (n = 5) występują znacząco niższe stężenia M6G niż u osób o naturalnym genotypie (n = 49) (stosunek M6G/morfina u chorych z naturalnym genotypem $7,3 \pm 10,3$ vs. wartość u pacjentów heterozygotycznych $4,4 \pm 0,9$ — Frank Skorpen, dane niepublikowane). Wstępny wniosek na temat znaczenia różnic genetycznych w odniesieniu do metabolizmu morfiny stanowiło stwierdzenie, że nie ustalono dotychczas, czy zmienność genetyczna wpływa na aktywność enzymu UGT2B7 poprzez zmianę jego konfiguracji, choć wstępne dane sugerują, że zmiany w obrębie regulacyjnej części genu UGT2B7 mogą być potencjalną przyczyną zmian ekspresji genu, a skutek tego zmian aktywności enzymu.



Rycina 1. Zmiany sekwencji powodowane przez polimorfizmy dotyczące pojedynczych nukleotydów w obrębie ludzkiego genu UGT2B7

Figure 1. Sequence variations caused by single nucleotide polymorphisms in the human UGT2B7 gene

tyrosine and cytosine at this position and patients homozygous for cytosine. The two studies were different in terms of the origin of the pain (cancer as opposed to postoperative) and ethnicity (Caucasian only as opposed to a mixed population of Caucasians and African Americans). Further studies should be performed in order to evaluate the importance of genetic variation at the encoding regions for the UGT2B7 enzyme.

Enzyme activity may not only be influenced by the genes encoding the configuration of an enzyme but also by factors related to the regulation of gene expression. For the UGT2B7 gene it has been shown that a regulatory protein, hepatocyte nuclear factor-1 α , influences UGT2B7 gene expression [25]. Further variations in the regulatory part of the UGT2B7 gene (the promoter region) can enhance or decrease the production of the gene product. In our laboratory we have identified a SNP (-79 G > T) in the regulatory part of the UGT2B7 gene and found that patients heterozygous for this polymorphism (n = 5) had significantly lower levels of M6G compared with wild type patients (n = 49) (ratio M6G/morphine wild type 7.3 ± 10.3 vs. heterozygous 4.4 ± 0.9) (Frank Skorpen, personal communication). The preliminary conclusion concerning the importance of genetic variability related to morphine metabolism is that it has not so far been established whether genetic variability influences the activity of the UGT2B7 enzyme through a change in enzyme configuration. Preliminary data suggests that genetic variability in the regulatory part of the UGT2B7 gene has the potential to alter expression of the gene and hence enzyme activity.

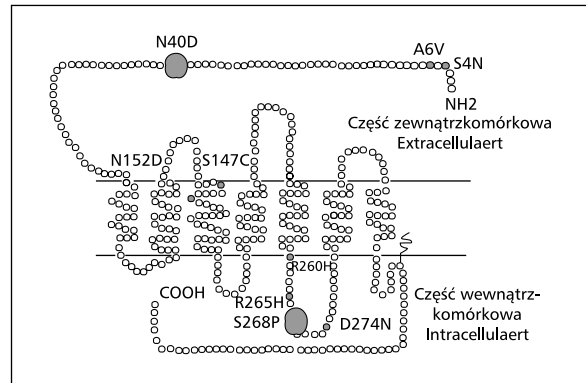
Genetics and μ -opioid receptors

Clinical studies have consistently shown either an absence or a low degree of association between serum concentrations of morphine and M6G and

Genetyka i receptory opioidowe μ

Badania kliniczne nieodmiennie wskazują na brak związku bądź jedynie niewielki pomiędzy stężeniem w osoczu morfiny i M6G a analgezą. Osobnicze różnice dotyczące skuteczności działania morfiny wiążą się ze sposobem, w jaki morfina i M6G wchodzi w interakcje z opioidowym receptorem μ . Hoehe i wsp. zidentyfikowali 43 warianty genu kodującego budowę tego receptora [26]. Większość wariantów znajdowała się w niekodującym obszarze genu, lecz kilka polimorfizmów SNP w obszarach kodujących spowodowało zmiany dotyczące sekwencji aminokwasów w receptorze opioidowym μ (ryc. 2). Ustalono, że substytucja aminokwasu w pozycji 268 (seryna \rightarrow prolina) silnie zaburza funkcję sygnalizacyjną receptora po jego stymulacji przez agonistów opioidowych, w tym morfinę [27]. Odkrycie to budzi powszechne zainteresowanie, gdyż pozwala ustalić, że zmiany genetyczne mogą spowodować zmianę funkcji receptora. Jednak ze względu na niewielką częstość występowania opisanej zmiany (jedna osoba na 250 jest heterozygotyczna) potencjalne znaczenie tego SNP w wywoływaniu zróżnicowanej skuteczności opioidów w obrębie populacji może być ograniczone. Częściej występującym SNP związanym ze zmianą sekwencji aminokwasów jest substytucja A na G w eksonie 1 (A118G), znajdująca się w obrębie zewnątrzkomórkowej N-terminalnej części opioidowego receptora μ , która powoduje zamianę asparaginy na asparaginan w pozycji 40. Częstość występowania polimorfizmu A118G wynosi około 10–14% wśród przedstawicieli rasy kaukaskiej [26]. Lötsch i wsp. [28] oraz Skarke i wsp. [29] w dwóch oddzielnych badaniach eksperymentalnych dotyczących ludzi wykazali, że u osób posiadających jedną lub dwie kopie wariantu alleli 118 G po podaniu M6G zmniejszenie żrenic jest słabsze. W opisie przypadku, który przedstawili Lötsch i wsp., sugerowano także, że pacjenci posiadający wariant genu A118G jako cechę homozygotyczną mogą być w pewnym stopniu chronieni przed występowaniem działań ubocznych M6G [30]. U pacjentów badanych przez Lötscha i wsp. [28] reakcja na morfinę nie zmieniła się, natomiast była słabsza w grupie ochotników, których badali Skalke i wsp. [29].

Wnioski wynikające z badań przeprowadzonych wśród ochotników należałoby potwierdzić w badaniach klinicznych, aby można było określić kliniczne znaczenie zmienności biologicznej. W związku z tym przeprowadzono badania obejmujące 100 pacjentów cierpiących na raka, starając się ustalić, czy polimorfizm A118G skutkuje zmianą funkcji receptora



Rycina 2. Receptor opioidowy μ składa się z części zewnątrzkomórkowej, śródbłonkowej oraz wewnątrzkomórkowej. Na rycinie przedstawiono te polimorfizmy dotyczące pojedynczych nukleotydów, których skutkiem jest zmieniona sekwencja aminokwasów receptora opioidowego μ

Figure 2. The μ -opioid receptor consists of an extracellular, a transmembrane and an intracellular part. The figure identifies those single nucleotide polymorphisms that result in an altered amino acid sequence in the μ -opioid receptor

clinical outcomes. These results strongly suggest that the inter-individual variability in morphine efficacy is related to variations in the way in which morphine and M6G interact with the μ -opioid receptor. Hoehe et al. identified 43 variants within the μ -opioid receptor gene [26]. Most of the variants were in the non-encoding region of the gene but, as illustrated in Figure 2, several SNPs in the encoding regions resulted in an altered amino acid sequence in the μ -opioid receptor (Fig. 2). It has been established that an amino acid substitution at position 268 (serine \rightarrow proline) strongly impairs receptor signaling after stimulation with opioid agonists, including morphine [27]. This observation is of major principal interest since it establishes that genetic variability has the potential to change receptor function. However, because of the low frequency of this variation (one in 250 individuals was heterozygous), the potential significance of this SNP in contributing to the population variability of opioid efficacy may be limited. A more common SNP associated with a change in the amino acid sequence is an A to G substitution in exon 1 (A118G), located in the extracellular N-terminal part of the μ -opioid receptor, causing an exchange of asparagine for aspartate at position 40. The frequency of A118G polymorphism is about 10–14% in Caucasians [26]. Lötsch et al. [28] and Skarke et al. [29] showed in two separate human experimental studies that subjects carrying one or two copies of the variant 118 G allele had decreased pupillary constriction after M6G administration. In a case

opiodowego μ , ocenianej na podstawie dawki morfiny potrzebnej do osiągnięcia zadowalającego zmniejszenia bólu nowotworowego (wynik oceny nasilenia bólu ≤ 4 według 11-punktowej skali numerycznej). Badając skutki polimorfizmu A118G, autorzy stwierdzili, że 4 pacjentów, u których wspomniany polimorfizm stanowił cechę homozygotyczną, potrzebowało około 2-krotnie większej dawki morfiny w porównaniu z osobami o normalnym genotypie, aby uzyskać zadowalające zmniejszenie bólu (dawka morfiny w mg/dobę: normalny genotyp ($n = 79$) 97 ± 92 , wariant heterozygotyczny ($n = 17$) 66 ± 50 , wariant homozygotyczny ($n = 4$) 220 ± 143). Powyższa różnica znajdowała również odzwierciedlenie w stężeniach morfiny i M6G w osoczu [31]. Mniejsza skuteczność morfiny u homozygot A118G, obserwowana w badaniu, potwierdziła wyniki uzyskane w innych badaniach przeprowadzonych wśród ludzi [28, 29]. Wykryto również 3 inne polimorfizmy genu kodującego budowę receptora opiodowego μ , występujące z częstością istotną klinicznie, są to: $-172 G > T$ (91 badanych o genotypie normalnym, 8 z wariantem homozygotycznym, 1 z wariantem heterozygotycznym), $lvs2 + 31 G > A$ (84 badanych o genotypie normalnym, 16 z wariantem heterozygotycznym) oraz $lvs2 + 691 G > C$ (14 badanych o genotypie normalnym, 46 z wariantem heterozygotycznym, 40 z homozygotycznym). Z obserwacji autorów niniejszej pracy wynika, że nie wywierały one wpływu na efektywność kliniczną morfiny w badanej grupie chorych cierpiących z powodu bólu nowotworowego [31].

Zmiany genetyczne w obrębie genu kodującego budowę receptora opiodowego μ mogą być spowodowane działaniem mechanizmów innych niż polimorfizm SNP. Na podstawie badań przeprowadzonych na zwierzętach wykazano, że różnice w selekcji obszarów eksonów podczas translacji kodu na mRNA skutkują powstawaniem licznych wariantów receptora opiodowego μ (odmiany procesu łączenia), które mogą odpowiadać za zróżnicowaną odpowiedź analgetyczną oraz działania niepożądane ze strony morfiny i M6G [32]. Ponadto w doświadczeniach przeprowadzanych na zwierzętach wykazano, że sekwencje „antysens”, ukierunkowane na określone eksony genu kodującego opiodowy receptor μ (OPRM1), wywierają zróżnicowany wpływ na antynocyceptywne efekty działania różnych opiodów, w tym morfiny i M6G [33]. Ostatnio Pan i wsp. opisali identyfikację w obrębie mózgu ludzkiego wariantów receptora opiodowego μ , powstałych wskutek odmian procesu składania [34]. Trwa identyfikacja w ludzkim mózgu dalszych wariantów receptora μ tego typu (Frank Skorpen, dane niepublikowane). Zainteresowanie

history presented by Lötsch et al. it was also proposed that patients homozygous for the A118G variant could have some protection against M6G-induced side effects [30]. The response to morphine was unaltered in the study by Lötsch et al. [28] and reduced in the volunteers studied by Skalko et al. [29].

Findings in human volunteers must be confirmed in clinical studies in order to establish the clinical significance of biological variability. Consequently, we investigated 100 cancer patients to determine, on the basis of their need for morphine to achieve adequate relief from cancer pain (pain numeric rate scale score ≤ 4 on a 11-point scale), whether A118G polymorphism results in an altered function of the μ -opioid receptor. As regards polymorphism A118G, we observed that 4 patients homozygous for this polymorphism needed about twice the morphine doses needed by wild type patients in order to achieve adequate pain relief (mg morphine/24 h: wild type ($n = 79$) 97 ± 92 , heterozygous ($n = 17$) 66 ± 50 , homozygous variant ($n = 4$) 220 ± 143). This difference was also reflected in serum concentrations of morphine and M6G [31]. The reduced efficacy of morphine observed in our study in patients homozygous for A118G polymorphism supported the results obtained in the human experimental studies [28, 29]. We found 3 other polymorphisms of the μ -opioid receptor gene that were present with clinically relevant frequency. These 3 polymorphisms were $172 G > T$ (91 wild type, 8 homozygous variant, 1 heterozygous), $lvs2 + 31 G > A$ (84 wild type, 16 heterozygous) and $lvs2 + 691 G > C$ (14 wild type, 46 heterozygous, 40 homozygous variant) and did not influence the clinical efficacy of morphine as observed in our cohort of patients suffering from cancer pain [31].

Genetic variability in the μ -opioid receptor gene can be caused by mechanisms other than SNPs. Animal studies have identified the fact that differences in the selection of exon region during translation to mRNA give rise to multiple μ -opioid receptor variants (splice variants) that may be responsible for a varying analgesic response to and adverse effects from morphine and M6G [32]. Moreover, experimental studies in animals have shown that antisense targeting of specific exons in the μ -opioid receptor gene (OPRM1) has a different influence on the antinociceptive effects of various opioids, including morphine and M6G [33]. Pan et al. recently reported the identification of μ -opioid receptor splice variants in the human brain [34]. The identification of new μ -opioid receptor splice variants in the human brain is in progress (Frank Skorpen, personal communication). It will be of inte-

budzi kwestia, czy gen kodujący budowę opioidowego receptora μ u człowieka składa się z kompleksów w taki sam sposób, jak u zwierząt, a także, czy wspomniane warianty powstałe podczas łączenia się mogą stanowić wyjaśnienie zróżnicowanych efektów działania różnych związków opioidowych.

Genetyka i transportery MDR

Punkty uchwytu leku, receptory opioidowe μ , znajdują się przede wszystkim w płynie zewnątrzkomórkowym w obrębie ośrodkowego układu nerwowego. Morfina jest usuwana z mózgu w drodze transportu poprzez barierę krew-mózg. Osłabienie funkcji transporterów MDR powoduje zwiększenie stężenia morfiny w płynie zewnątrzkomórkowym mózgu oraz nasilenie analgetycznego działania leku [35, 36]. Dotychczas nie ustalono, jaki jest wpływ hamowania transporterów MDR na skuteczność opioidów u ludzi. Drewe i wsp. nie stwierdzili zwiększonego oddziaływania morfiny na ciśnienie parcjalne dwutlenku węgla (pCO_2) oraz na odczuwaną senność po zablokowaniu P-glikoproteiny [37]. Wyniki te odtworzyli także Skarke i wsp., wykorzystując model doświadczalny oparty na odpowiedzi oddechowej na wdychany zwrotnie dwutlenek węgla oraz na zwężeniu źrenic po podaniu morfiny [38]. Zmienność genetyczna może powodować zmiany funkcjonowania transporterów MDR i stanowić hipotetyczną przyczynę różnic stężeń morfiny i M6G w płynie zewnątrzkomórkowym mózgu. Ponieważ dotychczas nie ukazały się doniesienia zawierające dane kliniczne na temat istotności polimorfizmów SNP w odniesieniu do genów MDR, autorzy zdecydowali się w pierwszej kolejności zbadać 3 polimorfizmy genu MDR-1, które cechują się albo częstym występowaniem (61 A > G, 1236 C > T), albo dowiedzionym wpływem na transport innych substratów (3435 C > T) [39]. Nie stwierdzono żadnych różnic dotyczących skuteczności morfiny w przypadku polimorfizmów: 61 A > G (naturalny genotyp: n = 174, wariant heterozygotyczny: n = 32, wariant homozygotyczny: n = 1) oraz 1236 C < T (naturalny genotyp: n = 72, wariant heterozygotyczny: n = 103, wariant homozygotyczny: n = 32). W przypadku pacjentów z polimorfizmem 3435 C > T zaobserwowano tendencję do potrzeby stosowania większych dawek morfiny (w mg/dobę) — naturalny genotyp (n = 35) 95 ± 109 , wariant heterozygotyczny (n = 91) 107 ± 90 , wariant homozygotyczny (n = 81) 136 ± 140 . Tendencja ta osiągnęła poziom istotności statystycznej po wykluczeniu wszystkich chorych z niewydolnością nerek (Cecilie Baar, doniesienie niepublikowane). Powyższe wyniki, choć jeszcze niepo-

rest to see if the human opioid gene has the same complex splicing as that in animals and if such splice variants can explain the variable effects from different opioid substances.

Genetics and MDR transporters

The effect sites, μ -opioid receptors, are primarily located in the extracellular fluid (ECF) in the central nervous system. Morphine is transported out of the brain through the BBB. A reduction in the function of the MDR transporters will increase the concentrations of morphine in the ECF of the brain and the analgesic efficacy of morphine [35, 36]. The influence on the efficacy of opioids of inhibiting the action of MDR transporters has not been established in humans. Drewe et al. found no enhancement of morphine effects on pCO_2 tension and drowsiness after P-glycoprotein blockade [37], results which were reproduced by Skarke et al. in a model using respiratory response to carbon dioxide rebreathing and pupillary constriction after morphine administration [38]. Genetic variability may result in MDR transporters functioning differently and it could be hypothesised that differences are brought about in the extracellular brain concentrations of morphine and M6G. Because clinical data on the importance of SNPs in the MDR genes has not been reported, we decided, as a first approach, to study 3 polymorphisms in the MDR-1 gene that are frequent (61 A > G, 1236 C > T) or are shown to influence the transport of other substrates (3435 C > T) [39]. We observed no differences in morphine efficacy for the 61 A > G (wild type n = 174, heterozygous n = 32, homozygous variant n = 1) and 1236 C < T (wild type n = 72, heterozygous n = 103, homozygous variant n = 32) polymorphisms. For patients with the 3435 C > T polymorphism there was a trend towards a greater need for morphine (mg morphine/24 h: wild type (n = 35) 95 ± 109 , heterozygous (n = 91) 107 ± 90 , homozygous variant (n = 81) 136 ± 140). This trend became statistically significant when all patients with renal failure were excluded (Cecilie Baar, personal communication). This finding, while too premature to be the basis for any conclusion, may still represent an indication that genetic variability in the MDR-1 gene is associated with an alteration in the efficacy of morphine treatment.

Conclusion

The scope of this short review has not been to survey all current knowledge related to genetic variability and opioid efficacy, but rather to present some selected findings from this field of research.

twierdzone, mogą mimo to być wskazówką, że zmienność genetyczna dotycząca genu MDR-1 wiąże się ze zmienioną efektywnością leczenia morfiną.

Wniosek

Celem niniejszego krótkiego przeglądu nie było przedstawienie pełnej istniejącej wiedzy na temat zmienności genetycznej i skuteczności opioidów, lecz raczej zaprezentowanie pewnych wybranych odkryć w tej dziedzinie badań. Dotychczasowe rezultaty jednoznacznie wskazują, że skuteczność opioidów wiąże się, przynajmniej częściowo, z cechami wrodzonymi, u podłoża których leży zmienność genetyczna związana z metabolizmem opioidów, funkcją receptorów opioidowych oraz transporterów tej grupy leków. Ponadto na efekty kliniczne mogą wpływać zmiany zachodzące w obrębie innych systemów biologicznych, modyfikujących działania wywołane przez agonistów opioidowych. Dalsze poszukiwania naukowe powinny łączyć podstawowe badania, zmierzające do wyjaśnienia zmienności genetycznej w relacji do mechanizmów biologicznych zaangażowanych w sygnalizacyjne działanie opioidów, z badaniami klinicznymi mającymi na celu zrozumienie wpływu wspomnianej zmienności na wyniki leczenia pacjenta. Ważnym przedsięwzięciem będą badania pośrednie, prowadzone w celu poprawy zrozumienia czynników biologicznych wpływających na zapotrzebowanie pacjentów na leki z grupy opioidów.

Podziękowania

Niniejszy przegląd jest wyrazem współpracy z *Pain and Palliation Research Group at the Medical Faculty, Norwegian University of Science and Technology*. Do jego powstania przyczynili się następujący naukowcy, zaangażowani w badania nad opioidami i genetyką: Cecilie Baar, Petter C. Borchgrevink, Ola Dale, Monica Holthe, Stein Kaasa, Hans E. Krokan, Tor Morten Kvam, Trude T. Råkvåg oraz Frank Skorpen.

Piśmiennictwo

1. McQuay H.J., Carroll D., Faura C.C., Gavaghan D.J., Hand C.W., Moore R.A. Oral morphine in cancer pain: influences on morphine and metabolite concentration. *Clin. Pharm. Ther.* 1990; 48: 236–244.
2. Glare P.A., Walsh T.D. Clinical pharmacokinetics of morphine. *Ther. Drug Monit.* 1991; 13: 1–23.
3. Thirlwell M.P., Sloan P.A., Maroun J.A., Boos G.J., Besner J.-G., Stewart J.H., Mount B.M. Pharmacokinetics and clinical efficacy of oral morphine solution and controlled-release morphine tablets in cancer patients. *Cancer* 1989; 63: 2275–2283.
4. Collin E., Poulain P., Gauvain-Piquard A., Petit G., Pichard-Leandri E. Is disease progression the major factor in morphine „tolerance” in cancer pain treatment. *Pain* 1993; 55: 319–326.

The results obtained so far strongly argue that opioid efficacy is partly related to inborn properties caused by genetic variability linked to opioid metabolism, opioid receptors and opioid transporters. In addition, clinical effects may be influenced by variations in other biological systems that modify the effects induced by opioid agonists. Further research should be a combination of basic research to elucidate the genetic variability associated with the biological mechanism of opioid signalling and of clinical research which aims to understand the consequences of such variability in terms of patient outcome. Translational research will be an important strategy in order to develop a better understanding of the biological factors which influence the patient's need for opioids.

Acknowledgement

This review is written on behalf of the Pain and Palliation Research Group at the Medical Faculty, Norwegian University of Science and Technology. The following researchers have been involved in the studies on opioids and genetics and have contributed to this review: Cecilie Baar, Petter C. Borchgrevink, Ola Dale, Monica Holthe, Stein Kaasa, Hans E. Krokan, Tor Morten Kvam, Trude T. Råkvåg and Frank Skorpen.

5. Klepstad P., Kaasa S., Borchgrevink P.C. Start of oral morphine to cancer patients: effective serum morphine concentrations and contribution from morphine-6-glucuronide to the analgesia produced by morphine. *Eur. J. Clin. Pharmacol.* 2000; 55: 713–719.
6. Portenoy R.K., Thaler H.T., Inturrisi C.E., Friedlander-Klar H., Foley K.M. The metabolite morphine-6-glucuronide contributes to the analgesia produced by morphine infusion in patients with pain and normal renal function. *Clin. Pharmacol. Ther.* 1992; 51: 422–431.
7. Osborne R., Joel S.P., Slevin M.L. Morphine intoxication in renal failure: the role of morphine-6-glucuronide. *BMJ* 1986; 292: 1548–1549.
8. Sear J.W., Hand C.W., Moore R.A., McQuay H.J. Studies on morphine disposition: Influence of renal failure on the kinetics of morphine and its metabolites. *Br. J. Anaesth.* 1989; 62: 28–32.
9. Klepstad P., Borchgrevink P.C., Dale O., Zahlsen K., Aamo T., Fayers P., Fougner B., Kaasa S. Routine drug monitoring of serum concentrations of morphine, morphine-3-glucuronide and morphine-6-glucuronide do not predict clinical observations in cancer patients. *Palliat. Med.* 2003; 17: 679–687.
10. Shafer S.L., Varvel J.R. Pharmacokinetics, pharmacodynamics and rational opioid selection. *Anesthesiology* 1991; 74: 53–63.
11. Bouw M.R., Xie R., Tunblad K., Hammarlund-Udenaes M. Blood-brain barrier transport and brain distribution of morphine-6-glucuronide in relation to the antinociceptive effect in rats — pharmacokinetic/pharmacodynamic modeling. *Br. J. Pharmacol.* 2001; 134: 1796–1804.

12. Bouw M.R., Ederoth P., Lundberg J., Ungerstedt U., Nordstrom C.-H., Hammarlund-Udenaes M. Increased blood-brain barrier permeability of morphine in a patient with severe brain lesions as determined by microdialysis. *Acta Anaesthesiol. Scand.* 2000; 45: 390–392.
13. Tunblad K., Ederoth P., Gardenfors A., Hammarlund-Udenaes M., Nordstrom C.-H. Altered brain exposure of morphine in experimental meningitis studied with microdialysis. *Acta Anaesthesiol. Scand.* 2004; 48: 294–301.
14. Cepeda M.S., Farrar J.T., Roa J.H., Boston R., Meng Q.C., Ruiz F., Carr D.B., Strom B.L. Ethnicity influences morphine pharmacokinetics and pharmacodynamics. *Clin. Pharm. Ther.* 2001; 70: 351–361.
15. Zhou H.H., Sheller J.R., Nu H.E., Wood M., Wood A.J.J. Ethnic differences in response to morphine. *Clin. Pharm. Ther.* 1993; 54: 507–513.
16. Mogil J.S. Pain genetics: Pre- and post-genomic findings. International Association for the Study of Pain. Technical Corner from IASP Newsletter 2000, t. 2.
17. Indo Y., Tsurata Y., Karim M.A. Mutations in the TRKA/NGF receptor gene in patients with congenital insensitivity to pain with anhidrosis. *Nature Genet.* 1996; 13: 485–488.
18. Weinshilboum R. Inheritance and drug response. *New Eng. J. Med.* 2003; 348: 529–537.
19. Evans W.E., McLeod H.L. Pharmacogenetics — drug disposition, drug targets, and side effects. *New Eng. J. Med.* 2003; 348: 538–549.
20. Pasternak G.W., Bodnar R.J., Clark J.A., Inturrisi C.E. Morphine-6-glucuronide, a potent mu agonist. *Life Sciences* 1987; 41: 2845–2849.
21. Paul D., Standifer K.M., Inturrisi C.E., Pasternak G.W. Pharmacological characterization of morphine-6-glucuronide. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 1989; 25: 477–483.
22. Coffman B.L., Rios G.R., King C.D., Tephly T.R. Human UGT2B7 catalyzes morphine glucuronidation. *Drug Metab. Dispos.* 1997; 25: 1–4.
23. Holthe M., Ravåg T.N., Klepstad P., Idle J.R., Kaasa S., Krokan H.E., Skorpen F. Sequence variation in the UDP-glucosyltransferase 2B7 (UGT2B7) gene: identification of 10 novel single nucleotide polymorphisms (SNPs) and analysis of their relevance to morphine glucuronidation in cancer patients. *Pharmacogenomics J.* 2003; 3: 17–26.
24. Sawyer M.B., Innoceti F., Das S., Cheng C., Ramirez J., Pantle-Fisher F.H., Pei D., Boyett J.M., Cook E., Ratain M.J. A pharmacogenetic study of uridine diphosphate-glucuronosyltransferase 2B7 in patients receiving morphine. *Clin. Pharm. Ther.* 2003; 73: 566–574.
25. Toide K., Takahashi Y., Yamazaki H., Terauchi Y., Fujii T., Parkison A., Kamataki T. Hepatocyte nuclear factor-1 α is a causal factor responsible for interindividual differences in the expression of UDP-glucuronosyltransferase 2B7 mRNA in human livers. *Drug Metab. Disp.* 2002; 30: 613–615.
26. Hoehe M.R., Kopke K., Wendel B., Rohde K., Flachmeier C., Kidd K.K., Berrettini W.H., Church G.M. Sequence variability and candidate gene analysis in complex disease: association of mu opioid receptor gene variation with substance dependence. *Hum. Mol. Genet.* 2000; 22: 2895–908.
27. Befort K., Filiol D., Décalliot F.M., Gavériaux-Ruff C., Hoehe M.R. A single nucleotide polymorphic mutation in the human μ -opioid receptor severely impairs receptor signaling. *J. Biol. Chem.* 2001; 276: 3130–3137.
28. Lötsch J., Skarke C., Grosch S., Darimont J., Schmidt H., Geisslinger G. The polymorphism A118G of the human μ -opioid receptor gene decreases the pupil constrictory effect of morphine-6-glucuronide but not that of morphine. *Pharmacogenetics* 2002; 12: 3–9.
29. Skarke C., Darimont J., Schmidt H., Geisslinger G., Lötsch J. Analgesic effect of morphine and morphine-6-glucuronide in a transcutaneous electrical pain model in healthy volunteers. *Clin. Pharmacol. Ther.* 2003; 73: 107–121.
30. Lötsch J., Zimmerman M., Darimont J., Marx C., Dudziak R., Skarke C., Geisslinger G. Does the A118G polymorphism at the μ -opioid receptor gene protect against morphine-6-glucuronide toxicity? *Anesthesiology* 2002; 97: 814–819.
31. Klepstad P., Ravåg T.N., Kaasa S., Holthe M., Dale O., Borchgrevink P.C., Baar C., Vikan T., Krokan H.E., Skorpen F. The 118 A > G polymorphism in the human-opioid receptor gene may increase morphine requirements in patients with pain caused by malignant disease. *Acta Anaesthesiol. Scand.* 2004 (w druku).
32. Pasternak G.W. Incomplete cross tolerance and multiple μ -opioid peptide receptors. *Trends in Pharmacological Sciences* 2001; 22: 67–70.
33. Rossi G.C., Leventhal L., Pan Y.-X., Cole J., Su W., Bodnar R.J., Pasternak G.W. Antisense mapping of MOR-1 in rats: distinguishing between morphine and morphine-6-glucuronide antinociception. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 1997; 281: 109–114.
34. Pan Y.-X., Xu J., Mahurter L., Xu M., Gilbert A.-K., Pasternak G.W. Identification and characterization of two human μ opioid receptor splice variants, hMOR-10 and hMOR-1X. *Biochem. Biophys. Res. Com.* 2003; 301: 1057–1061.
35. Zong J., Pollack G.M. Morphine antinociception is enhanced in *mdr1a* gene deficient mice. *Pharmaceut. Res.* 2000; 17: 749–753.
36. Thompson S.J., Koszdin K., Bernards C.M. Opiate-lacking analgesia is increased and prolonged in mice lacking P-glycoprotein. *Anesthesiology* 2000; 92: 1392–1399.
37. Drewe J., Ball H.A., Beglinger C., Peng B., Kemmler A., Schächinger H., Haefeli W.E. Effect of P-glycoprotein modulation on the clinical pharmacokinetics and adverse effects of morphine. *Br. J. Clin. Pharmacol.* 2000; 50: 237–246.
38. Skarke C., Jarrar M., Erb K., Schmidt H., Geisslinger G., Lötsch J. Respiratory and miotic effects of morphine in healthy volunteers when P-glycoprotein is blocked by quinidine. *Clin. Pharmacol. Ther.* 2003; 74: 303–311.
39. Hoffmeyer S., Burk O., von Richter O., Arnold H.P., Brockmoller J., Johne A., Cascorbi I., Gerloff T., Roots I., Eichelbaum M., Brinkmann U. Functional polymorphisms of the human multidrugresistance gene: multiple sequence variations and correlation of one allele with P-glycoprotein expression and activity *in vivo*. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 2000; 97: 3473–3478.