

Genetisk variasjon – viktig for klinisk virkning av opioider?

Sammendrag

Opioiddosen som trengs for adekvat smertelindring er forskjellig fra menneske til menneske. Pasienter responderer dessuten ulikt på ulike opioider. Disse interindividuelle forskjellene tyder på at effekten av opioider er avhengig av genetisk disposisjon. I denne oversiktsartikkelen refereres funn fra utvalgte arbeider der forfatterne har studert forholdet mellom genetisk variasjon og opioiders virkninger. Studiene viser at variasjon i form av enkelt nukleotidpolymorfismer i genet UGT2B7, som koder for enzymer som metaboliserer morfin, i genet OPRM1, som koder for μ -opioidreseptor, og i genet MDR1, som koder for en transportør av morfin over blod-hjernebarrieren, påvirker den kliniske effekten av morfin. I tillegg er det vist at variasjon i genet COMT, som koder for et enzym som metaboliserer katekolaminer, kan endre morfinresponsen. Dette er et eksempel på at genetisk variasjon knyttet til et ikke-opioid system kan modulere den kliniske effekten av opioider. I eksperimentelle studier er det også påvist varianter av OPRM1-genet (alternativt spleisede former) som gir opphav til ulike typer μ -opioidreseptorer. Det er således ut fra eksperimentelle og kliniske erfaringer sterke holdepunkter for å hevde at genetisk interindividuell variasjon forklarer at den optimale opioiddosen er forskjellig fra pasient til pasient.

Engelsk sammendrag finnes i artikkelen på www.tidsskriftet.no

Oppgitte interessekonflikter:
Se til slutt i artikkelen

Pål Klepstad

pal.klepstad@ntnu.no
Avdeling for anestesi og akuttmedisin
St. Olavs Hospital
7006 Trondheim
og
Institutt for sirkulasjon og bildediagnostikk

Ola Dale

Petter C. Borchgrevink
Institutt for sirkulasjon og bildediagnostikk

Stein Kaasa

Institutt for kreftforskning og molekylærmedisin

Frank Skorpen

Institutt for laboratoriemedisin, barne- og kvinnesykdommer

Det medisinske fakultet

Norges teknisk-naturvitenskapelige universitet

Den nødvendige opioiddosen for å oppnå adekvat smertelindring er forskjellig fra individ til individ (1). Tradisjonelt er variasjonen i dosebehov blitt forklart med ulik biotilgjengelighet, med ulik smerteintensitet og med forskjeller i persepsjon av smerte (2, 3). I hvor stor grad en smertestimulus oppleves som smertefull, vil også være påvirket av psykologiske og kulturelle faktorer og av personlighet.

I de siste årene er det kommet informasjon om at genetiske forskjeller bidrar til interindividuell variasjon i opioidbehov. Genetisk variasjon påvirker opioiddistribusjonen ved å innvirke på medikamentopptak, -transport og -metabolisme. Genetisk variasjon som virker på disse forholdene, vil influere på mengden opioid som virker på opioidreseptorene. Dette vil gjenspeiles i endret farmakokinetikk, som i prinsippet kan kompenseres med redusert eller økt opioiddose. Den andre prinsipielle måten genetisk variasjon kan gi forskjellig opioidrespons, er ved endringer i reseptorer eller signalsystemer. Genetisk variasjon i disse systemene er et uttrykk for endret farmakodynamikk.

Interindividuell variasjon i opioidmetabolismen har ulike konsekvenser for de forskjellige legemidlene i denne gruppen. For opioider med inaktive metabolitter vil økt metabolisme medføre mindre effekt. For opioider med aktive metabolitter kan økt omdanning også gi en mer uttalt opioidvirkning via de aktive metabolitter. Ett eksempel på dette er morfin, som delvis omdannes til metabolitten morfin-6-glukuronid. Morfin-6-glukuronid bidrar til den analgetiske virk-

ning ved langtidsbehandling med morfin, og økt nedbrytning av morfin til morfin-6-glukuronid kan resultere i en mer uttalt opioidvirkning (4, 5). Dette fenomenet er spesielt markert hos pasienter med nyresvikt (6). Selv om morfin og morfin-6-glukuronid begge virker som opioidagonister, er ikke serumkonsentrasjon nær knyttet til klinisk effekt (7), noe som kan tyde på at forhold utover dose og serumkonsentrasjon er viktig for morfinets virkning. To slike faktorer er forskjeller i morfinets interaksjon med opioidreseptorer og forskjeller i hvordan morfin transporteres over blod-hjernebarrieren.

En annen klinisk observasjon som illustrerer at individer reagerer ulikt på opioider, er pasienter som får bedre smertelindring eller færre bivirkninger med ett opioid sammenliknet med et annet (8). Endelige data som forklarer hvorfor et skifte av opioid kan resultere i mindre bivirkninger og bedret analgetisk effekt mangler. Likevel er prinsippet om opioidskifte ved manglende behandlingssuksess nå anbefalt som en viktig strategi (9).

De interindividuelle forskjellene i opioidenes effekt underbygger påstanden om at noe av årsaken ligger i genetisk variasjon. At genetisk disposisjon har betydning for virkningen av opioider, støttes videre av forskjeller mellom ulike etniske grupper. For morfin er det rapportert at indianere i Nord-Amerika har en mer uttalt respirasjonshemming sammenliknet med kaukasiere (10), og asiater får mindre sedasjon og respirasjonshemming enn kaukasiere (11). Endelig kan også forskjeller mellom kjønnene når det gjelder opioidrespons oppfattes som et argument for at genetisk disposisjon predikerer effekt fra opioider (12).

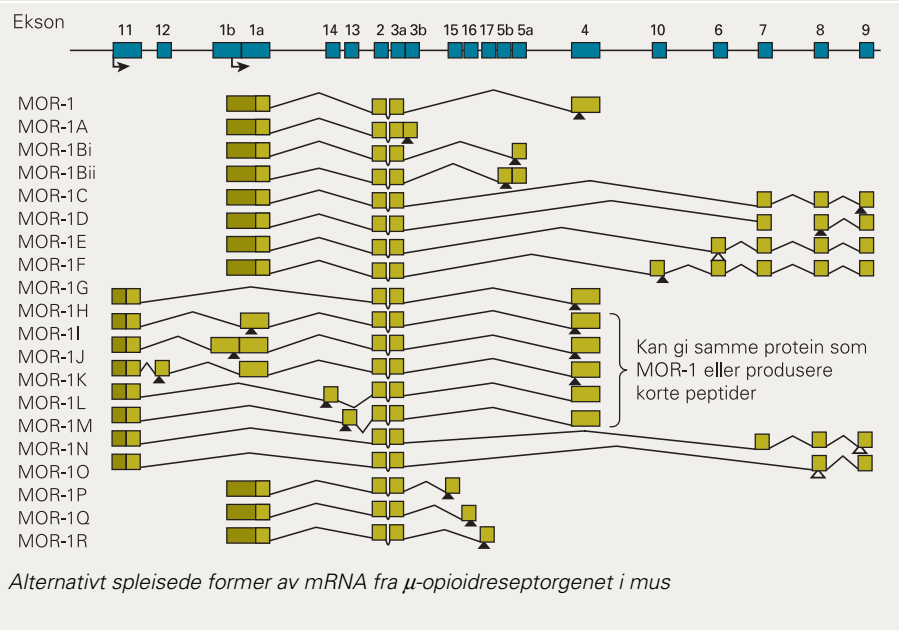
Genetisk variasjon – alternativt spleisede former

Kartleggingen av arvematerialet hos mennesket har indikert at det finnes opptil

Hovedbudskap

- Genetisk variasjon forklarer forskjeller i opioidbehov
- Det er variasjon i gener relatert til opioidmetabolisme, til μ -opioidreseptorer og til opioidtransportproteiner
- Genetisk variasjon i ikke-opioid biologiske systemer kan indirekte påvirke morfinanalgesi

Figur 1



25 000 proteinkodende gener (13). Det finnes flere ulike proteiner enn det er gener. Dette kan i hovedsak tilskrives en mekanisme betegnet «alternativ spleising». Gener består av kodende områder og ikke-kodende områder. Etter at et gen er transkribert til RNA, fjernes de ikke-kodende områdene og de kodende delene av genet spleises sammen til et ferdig mRNA-molekyl. Ved alternativ spleising kobles de kodende delene av genet sammen på alternative måter og danner derfor ulike mRNA-molekyler som koder for proteiner (f.eks. enzymer eller reseptorer) med potensielt ulike egenskaper.

Genet som koder for μ -opioidreseptor gir opphav til flere mRNA-varianter (fig 1) (14–16). Den biologiske betydningen av disse mRNA-variantene er ikke klarlagt, og det er heller ikke klart om alle variantene koder for funksjonelle utgaver av μ -opioidreseptoren. Likevel åpner dette for at det fra samme opioidreseptorgen lages forskjellige reseptorvarianter. Det er påvist i eksperimenter

mentelle studier at alternativt spleisede mRNA fra μ -opioidreseptorgenet er uttrykt forskjellig i ulike regioner av sentralnervesystemet, og at det finnes en samlokalisering av flere genvarianter i regioner som er viktige for smertesignaloverføringen (17, 18). Disse eksperimentelle funnene reiser en hypotese om at klinisk variasjon i effekt av opioider kan være betinget i at individer, fra et ensartet μ -opioidreseptorgen, uttrykker ulike reseptorvarianter eller har ulike lokalisering av reseptorvarianter.

Genetisk variasjon – enkelt nukleotidpolymorfismer

Den vanligste formen for genetisk variasjon er betinget av at ett basepar i DNA blir erstattet med et annet. Tradisjonelt kalles slike nukleotidskifter enkelt nukleotidpolymorfismer hvis de opptrer hyppig og er en del av den normale genetiske variasjon. Hvis de er sjeldne og forbundet med spesifikke sykdommer, kalles de mutasjoner. Et nukleotidskifte i DNA kan ha ulike konsekvenser (fig 2). For de fleste enkelt nukleotidpolymorfismer gjelder at endringen av DNA ikke gir noen endring av aminosyresekvensen i det proteinet som genet koder for, eller at en endring i proteinets aminosyresekvens ikke medfører endret proteinfunksjon. De enkelt nukleotidpolymorfismer som er av betydning, er de som gir endret funksjon av genproduktet (f.eks. et enzym eller en reseptor). Endret funksjon skyldes endring av genproduktets struktur eller endret mengde av genproduktet.

Flere nivåer

Som for andre legemidler vil den farmakologiske aktivitet av opioider påvirkes av flere faktorer. Hver av disse faktorene kan hver for seg påvirkes av variasjon i gener. Det er

derfor ikke tilstrekkelig å studere variasjonen i ett enkelt gen dersom man ønsker innsikt i om genetisk variasjon har betydning for effekten av et opioid. Potensielle gener hvor variasjon kan påvirke effekten av opioider, er gener som koder for proteiner som er involvert i metabolisme, opioidreseptorer og proteiner som transporterer opioider over bl.a. blod-hjerne-barrieren. I tillegg kan variasjon i gener som koder for biologiske systemer som modulerer opioideffekter være av klinisk betydning.

Genetisk variasjon og kodein

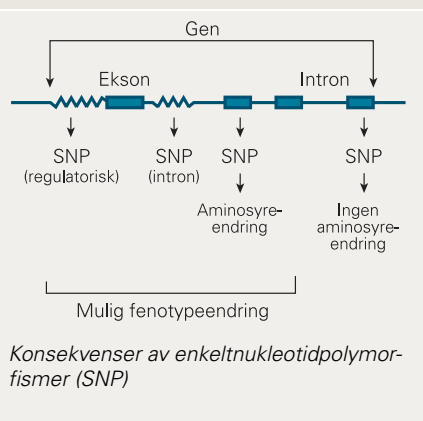
Den mest kjente genetiske variasjon som har klinisk betydning for opioidomsetningen, er variasjoner i genet som koder for enzymet CYP2D6. Enzymet omdanner kodein til morfin. Individer med økt aktivitet i CYP2D6 har økt virkning av kodein, individer med nedsatt aktivitet i enzymet har mindre effekt av kodeinbehandling (19). Blant kaukasiere har ca. 7% genetisk betinget nedsatt CYP2D6-aktivitet og redusert effekt av kodeinbehandling (19). Tilsvarende variasjon i forhold til CYP2D6-aktivitet er funnet for tramadol (20). For de andre opioidene er det, med unntak av morfin, lite kunnskap om klinisk betydning av genetisk variasjon. Vi vil derfor i resten av denne oversikten presentere utvalgte resultater som beskriver hvilken betydning genetisk variasjon har for effekten av morfin.

Genetisk variasjon og morfinmetabolisme

Ved kronisk peroral morfinbehandling er det høyere serumkonsentrasjon av morfinmetabolitten morfin-6-glukuronid enn av morfin (1, 4). Morfin-6-glukuronid binder til μ -opioidreseptor, har kraftigere antinociseptiv effekt enn morfin i dyrestudier, og er i kliniske studier vist å bidra til morfins analgetiske virkning (4, 5, 21, 22). Omdanningen av morfin til morfin-6-glukuronid katalyseres i hovedsak i leveren, ved enzymet UDP-glukuronosyltransferase 2B7 (UGT2B7) (23). For å undersøke om genetisk variasjon kunne forklare forskjeller i enzymaktivitet ble 239 norske kreftpasienter under pågående morfinbehandling undersøkt med henblikk på sekvensvariasjon i UGT2B7-genet. Man fant til sammen 12 ulike enkelt nukleotidpolymorfismer i genet. Enkeltnukleotidpolymorfismene var delvis koblet (dvs. at to eller flere samtidig var til stede på samme kromosomkopi), slik at man kunne identifisere seks genotyper av UGT2B7-genet. Forholdstallet mellom morfin-6-glukuronid og morfin varierte ikke mellom de ulike genotypene, og det var således ingen holdepunkter for å tro at genetisk variasjon i genet UGT2B7 påvirket metaboliseringen av morfin (24). Tilsvarende funn er rapportert i en senere undersøkelse utført hos pasienter med postoperativ smerte (25).

Variasjoner i de ikke-kodende regioner av et gen kan påvirke genets ekspresjon og dermed den biologiske aktiviteten. For genet

Figur 2



UGT2B7 er det vist at både variasjon i genet hepatocyttnukleær faktor-1 α og enkelt-nukleotidpolymorfismen 79 G>T i den regulerende del av UGT2B7-genet virker inn på ekspresjonen og dermed på mengden aktivt enzym (26, 27).

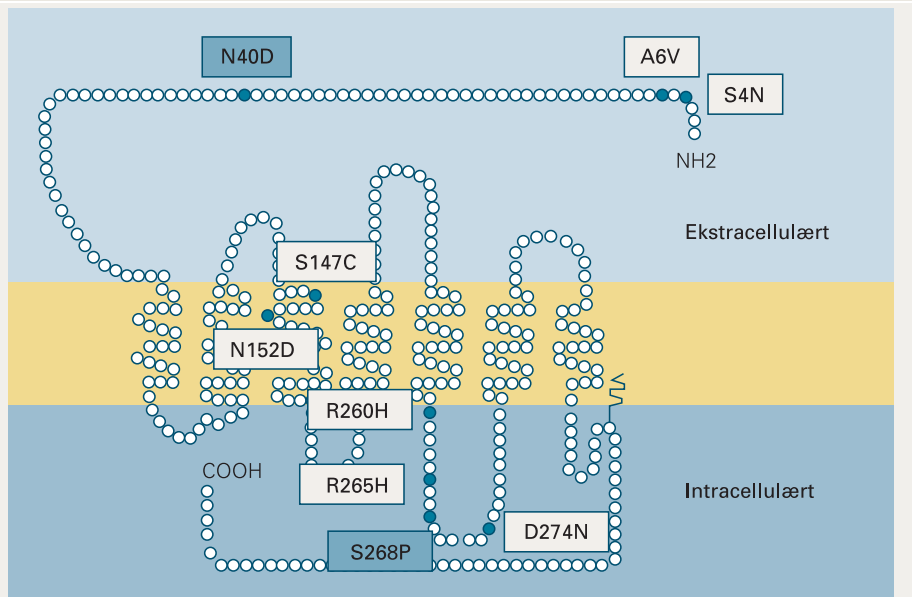
En foreløpig konklusjon i forhold til genetisk variasjon og morfinmetabolisme er at variasjon i UGT2B7-genet ikke påvirker nedbrytningen av morfin ved en endring i enzymets struktur. Det finnes imidlertid data som indikerer at genetisk variasjon påvirker genuttrykket, dvs. mengden enzym, og dermed graden av omdanning av morfin til morfin-6-glukuronid.

Genetisk variasjon og μ -opioidreseptorer

I kliniske studier er det funnet at serumkonsentrasjonen av morfin og morfinmetabolitter ikke predikerer klinisk effekt av morfinbehandlingen (7). Den manglende sammenhengen indikerer at interindividuell variasjon i effekt av morfin og er knyttet til hvordan morfintet interagerer med μ -opioidreseptoren. I genet som koder for denne opioidreseptoren, er det påvist et stort antall enkeltnukleotidpolymorfismer (fig 3) (28). En av enkeltnukleotidpolymorfismene i μ -opioidreseptorgenet gir et enkelt aminosyrebytte fra serin til prolin (S268P). Individuer som er homozygote for prolinvarianten, har et nærmest utsluttet reseptorsvar på stimulering med μ -opioidagonister, inkludert morfin (29). Dette viser at genetisk variasjon kan endre reseptorfunksjonen. Likevel, selv om denne enkeltnukleotidpolymorfismen er viktig for enkeltindivider, er den så lavfrekvent at den bidrar lite til variasjonene i opioidrespons i befolkningen (29).

En mer vanlig enkeltnukleotidpolymorfisme i μ -opioidreseptorgenet gir et aminosyrebytte fra asparagin til aspartat (N40D) i den ekstracellulære delen av reseptoren (28). To eksperimentelle studier viser at forsøkspersoner som er hetero- eller homozygote for aspartatvarianten, hadde nedsatt pupillkonstriksjon etter tilførsel av μ -opioidagonisten morfin-6-glukuronid (30, 31). Om denne enkeltnukleotidpolymorfismen også virker inn på morfinresponsen, er mer usikkert, siden man kun i én av studiene fant nedsatt pupillkonstriksjon hos bærere av aspartatvarianten etter administrering av morfin (30, 31). På grunnlag av en kasuistikk er det også spekulert i om genvarianten kan beskytte mot morfin-6-glukuronidutløste bivirkninger (32). Det finnes lite data fra kliniske studier av betydningen av denne aspartatvarianten. Caraco og medarbeidere har i et sammendrag rapportert at pasienter med aspartatvarianten hadde et økt behov for alfentanil til postoperativ smertelindring (33). I en studie med 100 kreftpasienter fant man at pasienter som var homozygote for aspartatvarianten, trengte omtrent dobbelt så mye morfin per døgn for å oppnå adekvat smertelindring (34). Både for κ - og δ -opioidresep-

Figur 3



Skjematiske illustrasjon av μ -opioidreseptoren. Kjente aminosyreendringer ut fra enkeltnukleotidpolymorfismer

torer er det funnet flere ulike enkeltnukleotidpolymorfismer, men det er ikke påvist at noen av disse har betydning for den kliniske effekt av opioider (35).

Genetikk og MDR-transportproteiner

Virkningsstedene for opioider, opioidreseptorene, er primært lokalisert på cellemembranene i nerveceller i sentralnervesystemet. For å virke på disse reseptorene må opioider krysse blod-hjerne-barrieren til ekstracellulærfasen i sentralnervesystemet og på den måten øker morfins effekt (36). Hemming av MDR-transportproteiner endrer ikke respirasjonshemming, sedasjon eller pupillkonstriksjon etter morfinadministrering i humane eksperimentelle studier (37). Vi undersøkte to enkeltnukleotidpolymorfismer i MDR-1-genet som er spesielt hyppige (61 A>G, 1236 C>T) og en enkeltnukleotidpolymorfisme som er påvist å ha betydning for andre legemidler (3435 C>T), og fant at pasienter som var hetero- eller homozygote for 3435T-allelet, trengte mer morfin enn pasienter som var homozygote for 3435C-allelet (Laugsand EA, Baar C, Rakvåg TT et al. Genetic variation in the MDR1 gene: implications for the clinical efficacy of morphine? Norsk Selskap for Farmakologi og Toksikologis vintermøte 2005). Resultatet indikerer at transport av opioider over blod-hjerne-barrieren kan variere indi-

vider imellom på grunn av ulik genetisk disposisjon.

Biologiske systemer som virker inn på opioider

Virkningen av opioider påvirkes av ikke-opioid biologiske systemer. Eksempel på et slikt system er nedadstigende, hemmende noradrenerge nervebaner. Klinisk utnyttet denne typen interaksjon mellom opioider og ikke-opioid systemer ved at man gir adrenerge substanser for å potensere virkningen av opioider (38). Genetisk variasjon i gener som koder for egenskaper tilknyttet adrenerge systemer kan derfor virke inn på effekten av opioider. Enzymet katekol-O-metyltransferase bryter ned katekolaminene dopamin, adrenalin og noradrenalin. I genet er det påvist en høyfrekvent enkeltnukleotidpolymorfisme (1947 G>A). Individuer som er homozygote for 1947 A-allelet, har om lag en tredel av normal enzymaktivitet (39). En interaksjon mellom denne genetiske variasjonen, som reduserer nedbrytningen av noradrenalin, og det opioid system ble påvist av Zubieta og medarbeidere. De fant at individer som er homozygote for 1947 A-allelet, har lavere nivå av endogene opioider og økt tetthet av opioidreseptorer (40). Det kan tenkes at det hos pasienter med denne genetiske varianten enten er nedsatt virkning av opioider pga. nedsatt nivå av endogene opioider eller bedret effekt av opioider pga. økt tetthet av reseptorer. Vi fant i en kohort på 207 kreftpasienter, hvorav 67 var homozygote for 1947 A-allelet, at denne genetiske varianten gav redusert morfinbehov (41). Dette funnet er av prinsipiell interesse, siden det viser at også genetisk variasjon i ikke-opioid systemer indirekte påvirker effekten av

morfinbehandling. Om genetisk variasjon i andre systemer som medvirker i smerteperspsjon eller i opioideffekt har betydning for klinisk respons på opioider, er så langt ikke kartlagt.

Manuskriptet ble godkjent 6.4. 2005.

Oppgitte interessekonflikter: Pål Klepstad, Ola Dale og Petter C. Borchgrevink har mottatt reisestøtte og honorar for undervisning fra JanssenCilag, Mundipharma og Nycomed, Stein Kaasa har fått reisestøtte og honorar for foredrag fra JanssenCilag og Mundipharma, og Frank Skorpen har fått honorar for undervisning fra JanssenCilag.

Litteratur

1. McQuay HJ, Carroll D, Faura CC et al. Oral morphine in cancer pain: influences on morphine and metabolite concentration. *Clin Pharmacol Ther* 1990; 48: 236–44.
2. Glare PA, Walsh TD. Clinical pharmacokinetics of morphine. *Ther Drug Monit* 1991; 13: 1–23.
3. Mogil JS. Complex trait genetics of pain in the laboratory mouse. I: Mogil JS, red. *The genetics of pain. Progress in pain research and management*. Bd. 28. Seattle: IASP Press, 2004: 123–49.
4. Klepstad P, Kaasa S, Borchgrevink PC. 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: 713–9.
5. Portenoy RK, Thaler HT, Inturrisi CE et al. 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: 422–31.
6. Sear JW, Hand CW, Moore RA et al. Studies on morphine disposition: influence of renal failure on the kinetics of morphine and its metabolites. *Br J Anaesth* 1989; 62: 28–32.
7. Klepstad P, Borchgrevink PC, Dale O et al. 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: 679–87.
8. de Stoutz ND, Bruera E, Suarez-Almazor M. Opioid rotation for toxicity reduction in terminal cancer patients. *J Pain Symptom Manage* 1995; 10: 378–84.
9. Cherny N, Ripamonti C, Pereira J et al. Strategies to manage the adverse effects of oral morphine: an evidence-based report. *J Clin Oncol* 2001; 19: 2542–54.
10. Cepeda MS, Farrar JT, Roa JH et al. Ethnicity influences morphine pharmacokinetics and pharmacodynamics. *Clin Pharmacol Ther* 2001; 70: 351–61.
11. Zhou HH, Sheller JR, Nu HE et al. Ethnic differences in response to morphine. *Clin Pharmacol Ther* 1993; 54: 507–13.
12. Pleym H, Spigset O, Kharasch ED et al. Gender differences in drug effects: implications for anesthesiologists. *Acta Anaesthesiol Scand* 2003; 47: 241–59.
13. Stein LD. Human genome: end of the beginning. *Nature* 2004; 431: 915–6.
14. Pasternak GW. Incomplete cross tolerance and multiple mu opioid peptide receptors. *Trends Pharmacol Sci* 2001; 22: 67–70.
15. Kvam TM, Baar C, Rakvag TT et al. Genetic analysis of the murine mu opioid receptor: increased complexity of Oprm gene splicing. *J Mol Med* 2004; 82: 250–5.
16. Pan Y-X, Xu J, Mahurter L et al. Identification and characterization of two human mu opioid receptor splice variants, hMOR-10 and hMOR-1X. *Biochem Biophys Res Commun* 2003; 301: 1057–61.
17. Abbadie C, Pan Y-X, Drake CT et al. Comparative immunohistochemical distributions of the carboxy terminus epitopes from the mu-opioid receptor splice variants MOR-1D, MOR-1 and MOR-1C in the mouse and rat CNS. *Neuroscience* 2000; 100: 141–53.
18. Abbadie C, Pan Y-X, Pasternak GW. Differential distribution in rat brain of mu opioid receptor carboxy terminal splice variants MOR-1C and MOR-1-like immunoreactivity: evidence for regionspecific processing. *J Comp Neurol* 2000; 419: 244–56.
19. Poulsen L, Brøsen 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.
20. Poulsen L, Arendt-Nielsen L, Brøsen K et al. The hypoalgesic effect of tramadol in relation to CYP2D6. *Clin Pharmacol Ther* 1996; 60: 636–44.
21. Pasternak GW, Bodnar RJ, Clark JA et al. Morphine-6-glucuronide, a potent mu agonist. *Life Sci* 1987; 41: 2845–9.
22. Paul D, Standifer KM, Inturrisi CE et al. Pharmacological characterization of morphine-6-glucuronide, a very potent morphine metabolite. *J Pharmacol Exp Ther* 1989; 25: 477–83.
23. Coffman BL, Rios GR, King CD et al. Human UGT2B7 catalyzes morphine glucuronidation. *Drug Metab Dispos* 1997; 25: 1–4.
24. Holthe M, Rakvag TN, Klepstad P et al. 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.
25. Sawyer MB, Innocenti F, Das S et al. A pharmacogenetic study of uridine diphosphate-glucuronosyltransferase 2B7 in patients receiving morphine. *Clin Pharmacol Ther* 2003; 73: 566–74.
26. Toide K, Takahashi Y, Yamazaki H et al. 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 Dispos* 2002; 30: 613–5.
27. Dugay Y, Baar C, Skorpen F et al. A novel functional polymorphism in the uridine diphosphate-glucuronyltransferase 2B7 promotor with significant impact on promotor activity. *Clin Pharmacol Ther* 2004; 75: 223–33.
28. Hoehe MR, Kopke K, Wendel B et al. 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.
29. Befort K, Filliol D, Décalliot FM et al. A single nucleotide polymorphic mutation in the human mu-opioid receptor severely impairs receptor signaling. *J Biol Chem* 2001; 276: 3130–7.
30. Lötsch J, Skarke C, Grosch S et al. The polymorphism A118G of the human mu-opioid receptor gene decreases the pupil constrictory effect of morphine-6-glucuronide but not that of morphine. *Pharmacogenetics* 2002; 12: 3–9.
31. Skarke C, Darimont J, Schmidt H et al. Analgesic effect of morphine and morphine-6-glucuronide in a transcutaneous electrical pain model in healthy volunteers. *Clin Pharmacol Ther* 2003; 73: 107–21.
32. Lötsch J, Zimmerman M, Darimont J et al. Does the A118G polymorphism at the mu-opioid receptor gene protect against morphine-6-glucuronide toxicity? *Anesthesiology* 2002; 97: 814–9.
33. Caraco Y, Maroz Y, Davidson E et al. Variability in alfentanil analgesia maybe attributed to polymorphism in the mu-opioid receptor gene. *Clin Pharmacol Ther* 2001; 69: 63.
34. Klepstad P, Rakvag TN, Kaasa S et al. 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; 48: 1232–9.
35. Lötsch J, Skarke C, Liefhold J et al. Genetic predictors of the clinical response to opioid analgesics. *Clin Pharmacokinet* 2004; 43: 983–1013.
36. Thompson SJ, Koszidin K, Bernards CM. Opiate-lacking analgesia is increased and prolonged in mice lacking P-glycoprotein. *Anesthesiology* 2000; 92: 1392–9.
37. Drewe J, Ball HA, Beglinger C et al. Effect of P-glycoprotein modulation on the clinical pharmacokinetics and adverse effects of morphine. *Br J Clin Pharmacol* 2000; 50: 237–46.
38. Niemi G, Breivik H. The minimally effective concentration of adrenaline in a low-concentration thoracic epidural analgesic infusion of bupivacaine, fentanyl and adrenaline after major surgery. *Acta Anaesthesiol Scand* 2003; 47: 239–450.
39. Lotta T, Vidgren J, Tilgmann C et al. Kinetics of human soluble and membrane-bound catechol O-methyltransferase: a revised mechanism and description of the thermolabile variant of the enzyme. *Bochemistry* 1995; 4: 4202–10.
40. 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.
41. Rakvaag TT, Klepstad P, Baar C et al. The Val 158 Met polymorphism of the COMT gene may influence morphine requirements in cancer patients. *Pain* 2005; 116: 73–8.