



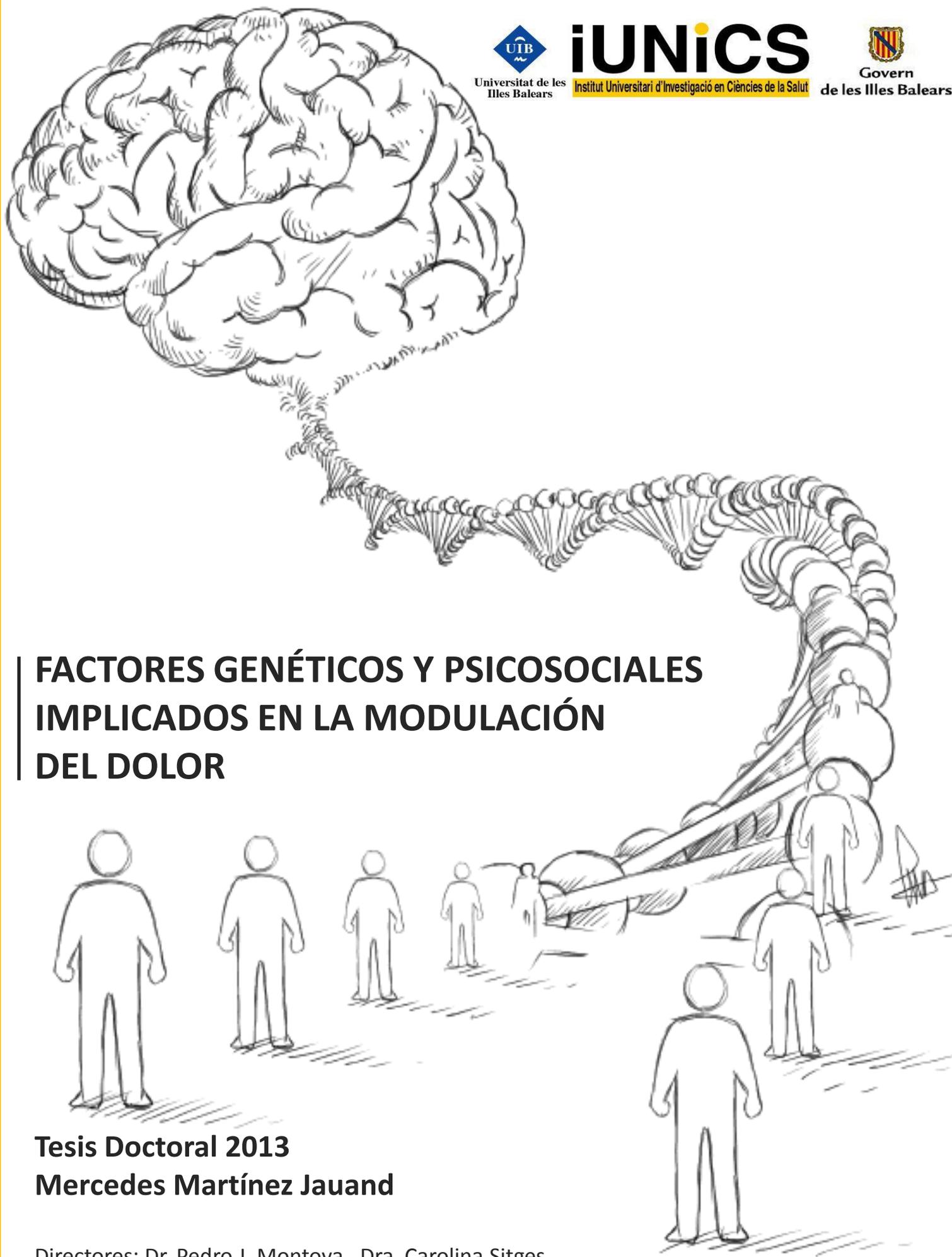
Universitat de les Illes Balears

**iUNiCS**

Institut Universitari d'Investigació en Ciències de la Salut



Govern de les Illes Balears



# FACTORES GENÉTICOS Y PSICOSOCIALES IMPLICADOS EN LA MODULACIÓN DEL DOLOR

**Tesis Doctoral 2013**  
**Mercedes Martínez Jauand**

Directores: Dr. Pedro J. Montoya, Dra. Carolina Sitges  
Universidad de las Islas Baleares

# FACTORES GENÉTICOS Y PSICOSOCIALES IMPLICADOS EN LA MODULACIÓN DEL DOLOR

Tesis Doctoral



Autora: Mercedes Martínez Jauand

Director: Dr. Pedro J. Montoya Jiménez

Codirectora: Dra. Carolina Sitges Quirós

Programa de Doctorado de Neurociencias  
Instituto Universitario de Investigación en Ciencias de la Salud (IUNICS)  
*Universitat de les Illes Balears*

Palma, 2013

**GENETIC AND PSYCHOSOCIAL FACTORS INVOLVED IN THE  
MODULATION OF PAIN**

**Doctoral Thesis**



Author: Mercedes Martínez Jauand

Director: Dr. Pedro J. Montoya Jiménez

Co-director: Dr. Carolina Sitges Quirós

Neuroscience PhD Program  
Research Institute on Health Science (IUNICS)  
*University of Balearic Islands*

Palma, 2013



# Universitat de les Illes Balears

El **Dr. Pedro Montoya Jiménez**, Catedrático de Psicobiología y director del Grupo de Investigación de Neurodinámica y Psicología Clínica del Instituto Universitario de Investigación en Ciencias de la Salud (IUNICS), de la Universidad de las Islas Baleares (UIB) y la **Dra. Carolina Sitges Quirós**, Profesora Ayudante Doctora del área de Psicobiología de la Universidad de las Islas Baleares, como directores de la presente Tesis Doctoral,

CERTIFICAN:

Que el presente trabajo titulado “Factores Genéticos y Psicosociales Implicados en la Modulación del Dolor” ha sido desarrollado por Mercedes Martínez Jauand en el Instituto Universitario de Investigación en Ciencias Salud de la Universidad de las Islas Baleares, para la obtención del grado de Doctora en Neurociencia, con mención Internacional.

Palma de Mallorca, 20 de febrero de 2013

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'P. Montoya'.

Dr. Pedro Montoya Jiménez

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'C. Sitges'.

Dra. Carolina Sitges Quirós



# Universitat de les Illes Balears

**Dr. Pedro Montoya Jiménez**, Full Professor of Psychobiology and director of the Laboratory of Neurodynamics and Clinical Psychology of the Research Institute on Health Science (IUNICS) at the University of the Balearic Islands, and **Dr. Carolina Sitges Quirós**, Associate Professors of Psychobiology at the University of the Balearic Islands, as directors of this Doctoral Thesis,

CERTIFY:

That the present work entitled: "*Genetic and Psychosocial Factors Involved in the Modulation of Pain*" has been developed by Mercedes Martínez Jauand at the research group of Neurodynamics and Clinical Psychology, at the University of the Balearic Islands, as a requirement to get the degree of Doctor in Neuroscience, with International mention.

Palma de Mallorca, 20<sup>th</sup> February 2013

Dr. Pedro Montoya Jiménez

Dr. Carolina Sitges Quirós

## Agradecimientos

En primer lugar, quisiera agradecer los esfuerzos realizados a mi director, al Dr. Pedro Montoya, por ser un gran docente. Por enseñarme procedimientos y actitudes, y por ser innovador y motivarme a abordar sin miedo nuevas técnicas y nuevos temas. A mi codirectora, la Dra. Carolina Sitges, una gran amiga, le agradezco sus ánimos y la confianza que siempre me ha transmitido. Le agradezco que me haya animado a trabajar, no sólo en mi tesis, sino también en mi salud, recordándome siempre aquello de *“mens sana in corpore sano”*.

Asimismo, agradezco a la Asociación Balear de Apoyo en la Fibromialgia (ABAF) y a la Asociación de Fibromialgia de Inca y Comarcas, a sus respectivas presidentas Margalida Pascual y Lucía Pons y a los voluntarios y afectados de dolor crónico por su desinteresada colaboración en los estudios que aquí se presentan.

Agradezco a mis compañeros: Xisca Rosselló, Ana González, Ana Mantecón, César Walteros, Anna Zamorano, Isis Cosa, Joan Femenia, Ignacio Cifre, Miguel Ángel Muñoz, María Balle, Leonardo Hess, Noemí Sánchez, Mirna Frascarelli, Inmaculada Riquelme, Alfonso Morillas, Blanca Aguayo, Jacobo Picardo, Pascal Aggensteiner. A Magdalena Sikora, Erich Avery, Evan Chang, Jonathan Alverio y Verónica Díaz. Les agradezco el ambiente que han creado, la amistad y compañía. Agradezco a Juan Gea, Laura Natalia Roza, Laura Vidaña y María Del Diego la gran ayuda que me han dado durante buena parte de mi tesis, mostrando siempre una enorme motivación por aprender y trabajar. Agradezco también a los colegas de congresos, simposios y jornadas, por los intercambios científicos y los momentos de diversión.

Agradezco al Grupo de Investigación en Genética del Departamento de Biología del UIB, con el que fue posible iniciar una colaboración para abrir una interesante vía de investigación. Así, doy las gracias a la Dra. Misericòrdia Ramón, la Dra. Antònia Picornell y el Dr. José Castro por hacer posible que una psicóloga ande hurgando en el ADN. A mi gran amiga Virginia Rodríguez, por tantas buenas rutas martianas que nos han ayudado a cobrar fuerzas. A Joana Francisca Ferragut y Joana María Buades por su apoyo técnico, y a Josep Pablo Canaves de los Servicios Científico-Técnicos de la UIB, no sólo por su apoyo técnico, sino también por su atención desinteresada a este trabajo. Agradezco a la Fundación Kovacs y a su equipo, y especialmente al Dr. Kovacs y al Dr. Mario Gestoso, Magdalena y M<sup>a</sup> Carmen por tan fructífera colaboración iniciada con el grupo. A Renato Roldán por su ayuda con la imagen de la portada.

Agradezco a mis muchos mentores ocasionales por su grano de arena y por la atención que me prestaron. Agradezco al Dr. Jaime Vila, y a las Dras. M<sup>a</sup> Carmen Fernández y Marisa Viedma por ser mis primeros mentores en este mundo de la ciencia, y hacerme descubrir que, en este campo, diez horas trabajando me parecían dos. A Dante Chialvo, le doy las gracias por

sus retos y desafíos, que me han animado a hacer las cosas bien. A la Dra. Marta Peciña le agradezco que me haya acogido y me haya mentorizado haciéndome todo tan agradable durante mi estancia. Por ser muy motivante trabajar con ella y por transmitir una filosofía de trabajo práctica y productiva que procuro recordar. Al Dr. Jon-Kar Zubieta le doy las gracias por su enorme generosidad, sus consejos y enseñanzas, y por el magnífico grupo que ha construido. Al Dr. Jesús Gómez Amor, por ser un gran anfitrión y porque, aunque breve, mi estancia en su grupo me hizo centrarme, y poner fecha a esta tesis.

Agradezco, cómo no, a mi familia y a mis amigos. Especialmente a mis padres, por su cariño y por los valores y prioridades que me han transmitido, y por aguantar mis ausencias (y presencias) durante este trabajo, por escuchar y animar mis muchos proyectos, y por ser un modelo profesional y personal a seguir. A mis hermanos y a mis sobrinos, por ser como son. Agradezco a Massimo De Faveri por su más que grata compañía, su apoyo y los esfuerzos que ha hecho para que yo complete esta etapa. A su familia, por su cariño y bondad. A mi gran amiga Ruth Suárez, porque siempre está ahí, y cómo no, ahora también. Agradezco a mis amigos y ahora compañeros de nuevos proyectos, Emilio Aguilar y Jorge Chao, por su mano tecnológica.

Finalmente, agradezco la ayuda de la *Conselleria de Salut i Consum del Govern de les Illes Balears* (Acciones Especiales #AAEE0027/08), a la *Universitat de les Illes Balears*, al Ministerio de Ciencia y Tecnología y a los fondos FEDER (Plan Nacional de I+D+i; ref. #PSI201019372), al Ministerio de Educación, Política Social y Deporte (beca AP-2008-03742), a la Fundación *La Caixa* y a la Fundación *La Marató* de TV3, por nutrir y ofrecer la infraestructura que ha hecho posible el trabajo de esta tesis y del grupo en el que se enmarca.

## Índice

<b>Siglas, símbolos y abreviaturas</b> .....	4
<b>Resumen</b> .....	6
<b>Abstract</b> .....	7
<b>1. Introducción</b> .....	8
1.1. Definición y clasificación del dolor .....	9
1.2. Correlatos psicofísicos y cerebrales implicados en el procesamiento somatosensorial en el dolor crónico .....	10
1.3. Factores biopsicosociales implicados en el dolor y su modulación .....	12
1.3.1.Factores genéticos .....	13
1.3.2.Factores psicoendocrinos .....	16
1.3.3.Factores psicosociales .....	18
<b>2. Métodos y objetivos de estudio</b> .....	20
2.1. Métodos y técnicas de estudio .....	20
2.1.1.Estudio de la sensibilidad al dolor y su modulación .....	21
2.1.2.Estudio de marcadores y haplotipos genéticos .....	22
2.1.3.Estudio de la actividad cerebral .....	23
2.2. Objetivos generales de estudio .....	24
<b>3. Publicaciones</b> .....	25
3.1. Estudio 1: <i>Pain sensitivity in fibromyalgia is associated with catechol-O-methyltransferase (COMT) gene</i> .....	25
3.2. Estudio 2: <i>Age-of-onset of menopause is associated to painful and non-painful sensitivity in FM patients</i> .....	28
3.3. Estudio 3: <i>BDNF Val66Met polymorphism impacts Stress Resilience and Placebo Response through Nucleus Accumbens Dopamine Neurotransmission</i> .....	31
3.4. Estudio 4: <i>FAAH selectively influences placebo effects</i> .....	35
3.5. Estudio 5: <i>Temporal dissociation in the brain processing of pain and anger faces with different intensities of emotional expression</i> .....	38
3.6. Estudio 6: <i>Somatosensory activity modulation during observation of other's pain and touch</i> .....	41
<b>4. Discusión general y líneas futuras</b> .....	44
4.1. Discusión general .....	44
4.2. Líneas actuales y futuras .....	45
<b>5. Conclusiones finales</b> .....	46
<b>Referencias</b> .....	51

### Siglas, símbolos y abreviaturas

A: Adenina

ADN: Ácido desoxirribonucleico

AIM: *Ancestry Informative Marker*

APS: *Average Pain Sensitivity*

BDNF: *Brain-Derived Neurotrophic Factor*

C: Citosina

COMT: Catecol-O-metiltransferasa

D<sub>2</sub>/D<sub>3</sub>: Receptores dopaminérgicos 2, 3

DNIC: *Diffuse Noxious Inhibitory Control*

EEG: Electroencefalografía

eCB: Endocannabinoide

EVA: Escala Visual Analógica

FAAH: *Fatty Acid Amide Hydrolase*

FM: Fibromialgia

FSL: *fMRIB Software Library*

fMRI: *Functional Magnetic Resonance Image*

G: Guanina

HPS: *High Pain Sensitivity*

IASP: *International Association for the Study of Pain*

LD: *Linkage Disequilibrium*

LPS: *Low Pain Sensitivity*

MEG: Magnetoencefalografía

Met: Metionina

MID: *Monetary Incentive Delay*

MNI: *Montreal Neurological Institute*

MOR: *Mu-opioid Receptor*

NAC: Núcleo Accumbens

NMDA: N-metil-D-aspartato

OPRM1: Receptor  $\mu$ -opioide 1

PEs: Potenciales evocados

PET: *Positron Emission Tomography*

PCR: *Polymerase Chain Reaction*

Pro: Prolina

QST: *Quantitative Sensory Testing*

RFLPs: *Restriction Fragment Length Polymorphisms*

RM: Resonancia Magnética

SEPs: *Somatosensory Evoked Potentials*

SNC: Sistema Nervioso Central

SPM: *Statistical Parametric Mapping*

Thr: Treonina

Val: Valina

VEPs: *Visual Evoked Potentials*

VTA: *Ventral Tegmental Area*

$\alpha$ : Alfa

$\beta$ : Beta

K: Kappa

$\mu$ : Mu

$\theta$ : Theta

## Resumen

La sensibilidad al dolor y el riesgo a sufrir dolor crónico representan fenómenos complejos de naturaleza multidimensional, con una importante variabilidad interindividual. El objetivo de esta tesis doctoral se centró en explorar los factores genéticos y psicosociales implicados en la modulación del dolor y el riesgo a sufrir dolor crónico mediante seis estudios. Los dos primeros exploraron el efecto de factores genéticos y de la edad de inicio de la menopausia en la sensibilidad al dolor en pacientes con fibromialgia en comparación con voluntarias sanas. El **primer estudio** reveló un incremento de la frecuencia de alelos asociados a una reducida actividad de la enzima COMT en pacientes con síndrome de fibromialgia, junto con una elevada sensibilidad al dolor en estos grupos. El **segundo estudio** mostró que las pacientes con fibromialgia presentaron una edad de inicio de la menopausia más temprana que las controles. Asimismo, se encontró que las pacientes con menopausia temprana mostraban mayor sensibilidad al dolor que las pacientes con aparición tardía de la menopausia. Los dos siguientes estudios examinaron el papel de factores genéticos en la actividad metabólica cerebral asociada al dolor y a la respuesta de analgesia por placebo y en una tarea de funciones ejecutivas. El **tercer estudio** reveló que el alelo met66 del polimorfismo Val66Met en el gen BDNF se asociaba a un fenotipo de vulnerabilidad, resistencia a la analgesia por placebo, incrementos en la actividad dopaminérgica durante el procesamiento de dolor y reducciones durante la condición placebo. Asimismo, se observó que estos efectos eran dependientes del género del sujeto, con una mayor exacerbación en mujeres y con efectos nulos en hombres. El **cuarto estudio** mostró aumentos en la actividad del sistema opioide asociados a la respuesta de analgesia por placebo en portadores del alelo C del polimorfismo funcional C385A del gen FAAH. Por otro lado, no se encontraron diferencias significativas debidas a este polimorfismo en la respuesta al dolor en ausencia de placebo, ni en la activación del sistema dopaminérgico. Finalmente, los dos últimos estudios exploraron la modulación social analizando cambios en la actividad eléctrica cerebral como consecuencia de la observación de dolor y tacto en otros. El **quinto estudio** mostró diferencias en los potenciales evocados visuales en función de la percepción de expresiones faciales de dolor y enfado. El **sexto estudio** reveló que la observación de experiencias somatosensoriales dolorosas y no dolorosas en otras personas modulaba la amplitud de los potenciales somatosensoriales. Todos estos datos subrayan la naturaleza multidimensional de la respuesta al dolor y resaltan el papel de los factores genéticos y psicosociales en la persistencia del dolor a lo largo del tiempo.

### **Abstract**

*Pain sensitivity and risk for chronic pain constitute complex multidimensional phenomena that vary significantly among individuals. The objective of the present Doctoral Thesis was focused on exploring genetic and psychosocial factors involved in the modulation of pain and chronic pain risk throughout six studies. The first two studies explored the effect of genetic factors and age-of-onset of menopause on pain sensitivity in fibromyalgia patients as compared to healthy volunteers. The **first** study showed an increased frequency of alleles associated with a reduced activity of COMT enzyme in patients with fibromyalgia syndrome, coupled with high sensitivity to pain in these groups. The **second** study showed that patients with fibromyalgia had an age-of-onset of menopause earlier than controls. We also found that patients with early menopause showed higher pain sensitivity than patients with late age-of-onset of menopause. The next two studies explored brain metabolic activity in response to pain and placebo analgesia and during an executive function task. The **third** study revealed that met66 allele of the Val66Met polymorphism in the BDNF gene was associated with a phenotype of vulnerability, strength, placebo analgesia, increases in dopaminergic activity during the processing of pain and reductions during the placebo condition. It was also noted that these effects were dependent on gender, being exacerbated in women as compared to men. The **fourth** study showed increases in placebo analgesia and in placebo-induced opioid activity in the C385 allele of the functional polymorphism C385A of the FAAH gene. Furthermore, there were no significant differences due to this polymorphism in the pain response in absence of placebo, or in dopaminergic system activation. Finally, the latter two studies explored the social modulation of brain electrical activity during observation of pain and somatosensory experiences in other's. The **fifth** study showed differences in visual evoked potentials during the sight of pain and anger faces. The **sixth** study showed that observation of painful and non-painful experiences in others modulated the amplitude of somatosensory evoked potentials in the onlooker. These data underscore the multidimensional nature of pain response and highlight the role of genetic and psychosocial factors in the persistence of pain.*

## 1. Introducción

El dolor crónico representa un problema con importantes repercusiones sociales y económicas dentro del ámbito de la salud, ya que causa en Europa una pérdida de 500 millones de días de trabajo, 34 billones de euros y el sufrimiento de un tercio de los europeos (Breivik et al., 2006). Estas cifras indican que el padecimiento de dolor de forma crónica constituye el problema de salud más prevalente en las sociedades industrializadas.

El dolor es un síntoma que nos informa sobre un daño que se ha producido en nuestro cuerpo. Por tanto, la experiencia de dolor actúa como una señal de alarma que tiene la finalidad última de alejarnos de la fuente de dolor o bien proteger la zona de nuestro cuerpo que debe recuperarse de una lesión. Ahora imaginemos que acudimos al especialista con quejas de dolor que continúan después de que la lesión haya sido tratada. Además, imaginemos que el profesional que nos atiende no logra encontrar las causas objetivas de nuestras quejas y que las diferentes pruebas diagnósticas no aportan indicios de daño interno. Imaginemos que la situación se prolonga durante más de tres meses y el dolor se cronifica, se vuelve insoportable o poco controlable, incluso con fuertes analgésicos. Transcurrido ese tiempo, es probable que el dolor se generalice a todo nuestro cuerpo y comience a interferir con nuestra vida laboral, familiar y social. Además, al igual que otras dolencias crónicas, probablemente acabará provocando alteraciones emocionales (ansiedad, depresión). Llegados a este punto, la experiencia de dolor se ha convertido en una alarma que está permanentemente activa. Éste es el caso de, por ejemplo, la fibromialgia, un síndrome de dolor crónico de etiología desconocida, caracterizado por una alta sensibilidad al dolor acompañada por numerosos síntomas afectivos y cognitivos (Wolfe et al., 1995b).

Por otro lado, el dolor es una experiencia subjetiva susceptible de ser modificada por diversos factores que van desde procesos atencionales, emocionales, genéticos u hormonales. Por tanto, en casos como el expuesto anteriormente, es fundamental valorar no sólo la percepción del dolor, sino también el impacto que éste provoca en la funcionalidad y la neuroplasticidad de nuestro cerebro. Además hay que tener en cuenta que una estimulación dolorosa repetitiva provoca una sensibilización del sistema nervioso central (SNC). Dicha sensibilización se encuentra asociada a cambios en la transmisión sináptica, así como a cambios en el funcionamiento y la estructura del SNC. Esta sensibilización es responsable de fenómenos como la **hiperalgesia** (percepción de dolor incrementada) y la **alodinia** (percepción de dolor ante estímulos que normalmente no se perciben como dolorosos).

Ciertamente, los resultados de diversas investigaciones apuntan a la existencia de un patrón de **hiperexcitabilidad cortical** en pacientes con diversos cuadros dolor crónico (fibromialgia, artritis reumatoide, dolor temporomandibular, dolor crónico de espalda, etc.) (Apkarian et al., 2005). Además, se ha observado que este patrón de hiperexcitabilidad ante los estímulos dolorosos se encontraría fundamentalmente modulado por factores emocionales (Montoya et al., 2005; Sitges et al., 2007), cognitivos (por ejemplo, catastrofismo), sociales (apoyo social percibido) (Montoya et al., 2004) y genéticos (Lötsch and Geisslinger, 2007).

Desde un enfoque multidimensional, esta tesis se focaliza en los factores implicados en la modulación del dolor, el procesamiento somatosensorial y en variables asociadas al inicio y mantenimiento del dolor crónico. Este trabajo se enmarca dentro de la línea de investigación en dolor crónico y actividad cerebral que se lleva a cabo en el Grupo de Investigación en Neurodinámica y Psicología Clínica del Instituto Universitario de Investigación en Ciencias de la Salud (IUNICS), de la *Universitat de les Illes Balears* (UIB) (proyectos de investigación BSO2001-0693, SEJ2004-01332, SEJ2007-62312, PSI2010-19372). El trabajo desarrollado en este grupo ha permitido publicar y presentar numerosos estudios en revistas y congresos nacionales e internacionales, además de una valiosa formación en el campo de la Neurociencia y el dolor crónico.

A continuación, se describirán brevemente los principales hallazgos en el campo del dolor crónico relacionado con el procesamiento somatosensorial, así como con factores genéticos, psiconeuroendocrinos y sociales descritos hasta el momento.

### **1.1 Definición y clasificación del dolor**

El dolor se define como la experiencia subjetiva que se desencadena a partir del procesamiento de un input nociceptivo y que se encuentra influida por factores cognitivos, emocionales, sociales y genéticos. Según la *International Association for the Study of Pain* (IASP) (Merskey and Bogduk, 1994), la experiencia de dolor tiene un componente sensorial y otro emocional. De esta definición se desprende que la percepción del dolor constituye un fenómeno psicológico complejo que implica algo más que la transmisión de señales nociceptivas hacia el sistema nervioso central. Por tanto, es preciso que el estudio de la percepción del dolor pueda diferenciar claramente entre la capacidad del organismo para detectar un estímulo nocivo, localizándolo en el espacio, captando su intensidad, reconociendo la sensación dolorosa y dotando a la misma de una respuesta emocional.

En cuanto a la **clasificación** del dolor, existen diversos criterios que permiten caracterizar los estados de dolor. Así, por ejemplo, es habitual distinguir entre dolor crónico (duración superior a 3-6 meses) y agudo, en función del tiempo de duración del dolor. Sin embargo, si atendemos a cómo el paciente describe sus propias sensaciones dolorosas, debemos tener en cuenta que el dolor crónico suele ser descrito como continuo o recurrente, afectando negativamente al bienestar, la funcionalidad y la calidad de vida del paciente. Por el contrario, el dolor agudo se suele caracterizar por ser de aparición repentina, transitorio y por, lo general, con una etiología clara e identificable. De esta forma, la distinción entre dolor agudo y crónico no responde sólo a criterios temporales de duración, sino que además hay que considerar la funcionalidad que poseen ambos tipos de dolor.

En cuanto a la localización de las sensaciones corporales, se suele diferenciar entre dolor somático y dolor visceral. En el primer caso, se distingue entre dolor superficial (piel) y dolor profundo (conjuntivo, músculos, huesos y articulaciones).

Atendiendo a su fisiopatología, se puede diferenciar entre dolor nociceptivo (debido a lesión del tejido), neuropático (causado por una lesión o desaferentación del sistema nervioso), y mixto o con causa indeterminada (también denominado psicogénico). El dolor nociceptivo ocurre como consecuencia de la activación de receptores específicos (nociceptores) tras someterse a estímulos externos agudos (por ejemplo, una herida o un golpe). El dolor neuropático está producido por la estimulación directa del sistema nervioso central o por lesiones de vías nerviosas periféricas.

En conclusión, el dolor representa un importante síntoma con particularidades clínicas propias como la irradiación sobre otras regiones, el dolor referido o la sensibilización ante estímulos inocuos. Además, va acompañado frecuentemente de alteraciones afectivas como depresión y ansiedad.

### **1.2 Correlatos psicofísicos y cerebrales implicados en el procesamiento somatosensorial en el dolor crónico**

Parece claro que el dolor crónico se acompaña de una serie de cambios neuroplásticos y síntomas concomitantes que hacen que sea independiente de la lesión que lo originó y se constituya en una entidad nosológica con características clínicas propias. Estas características incluyen la falta de correspondencia entre la magnitud del daño corporal previo y la intensidad de dolor percibido, la localización difusa de las regiones corporales que generan las sensaciones dolorosas, la resistencia al tratamiento, la presencia de fenómenos perceptivos alterados como hiperalgesia y alodinia, o de alteraciones afectivas, cognitivas y sociales. Por

ello, el estudio del dolor crónico y de la percepción de dolor debe ser abordado desde un enfoque multidimensional y neurocientífico.

Desde este enfoque neurocientífico y gracias al avance en las técnicas de estudio de la actividad cerebral, la investigación básica y clínica de los últimos años ha aportado abundante evidencia empírica acerca de cambios en la **actividad cerebral** asociada a la percepción del dolor (Tracey and Mantyh, 2007). Concretamente, se ha demostrado que diversas estructuras cerebrales tales como la corteza somatosensorial (primaria y secundaria), el giro cingulado anterior, la ínsula, el tálamo, la corteza parietal posterior y la corteza prefrontal están profundamente implicadas en la representación y modulación de la experiencia del dolor en sujetos sanos, zonas que a su vez comprenden la conocida red del dolor o "*pain matrix*". Esta red del dolor consiste en un conjunto de áreas cerebrales implicadas en el procesamiento cerebral del dolor (Apkarian et al., 2005). Así, existen varias investigaciones que apoyan la existencia de alteraciones específicas en el funcionamiento del SNC en pacientes con fibromialgia (Lorenz et al., 1996; Gracely et al., 2004; Apkarian et al., 2005). Básicamente, esas alteraciones incluyen un funcionamiento anómalo de diversas regiones cerebrales, un aumento exagerado en los componentes de los potenciales evocados somatosensoriales y una reducción significativa del dolor muscular ante la administración de antagonistas de los receptores NMDA.

La investigación mediante **electroencefalografía (EEG)** ha permitido demostrar un nexo importante entre la percepción del dolor y cambios específicos en la actividad cerebral. Los datos derivados de investigaciones recientes apuntan a la existencia de un patrón de hiperexcitabilidad cortical en los pacientes con dolor crónico (Apkarian et al., 2005). Junto a la investigación mediante EEG, los estudios de **neuroimagen** han demostrado alteraciones en la actividad cerebral metabólica en pacientes con dolor crónico. Destaca aquí el estudio llevado a cabo por Gracely y colaboradores (Gracely et al., 2002), en el que compararon parámetros psicofísicos (umbrales de dolor) y la actividad cerebral ante la estimulación térmica entre pacientes con fibromialgia y sujetos sanos. Los autores encontraron que la intensidad de estimulación térmica necesaria para provocar la percepción subjetiva de dolor en los pacientes con fibromialgia era significativamente más reducida que la intensidad necesaria para provocar una sensación comparable de dolor en los sujetos sanos, lo que se interpretó como un signo de alodinia. Asimismo, se observó que a pesar de estas diferencias en la intensidad del estímulo, éste desencadenaba en los pacientes con fibromialgia un patrón de actividad cerebral similar al desencadenado en los sujetos sanos. Los patrones anómalos en la actividad del flujo

sanguíneo en pacientes con dolor crónico han sido puestos de manifiesto, no sólo durante la presentación de estímulos dolorosos, sino también durante estados de **reposo**. Concretamente, estudios mediante imágenes de resonancia magnética funcional (fMRI, del inglés *Functional Magnetic Resonance Image*) han demostrado que la **conectividad funcional** de los pacientes con dolor crónico durante un estado de reposo (en ausencia de estimulación) presenta características diferenciales con respecto a la de los voluntarios sanos, particularmente en relación a las regiones cerebrales implicadas en la “*pain matrix*”. Estos estudios permiten concluir que los pacientes con dolor crónico presentan una activación anormal de las redes cerebrales implicadas en estados de reposo, posiblemente asociados a las fluctuaciones espontáneas de dolor (Cifre et al., 2012).

En resumen, la evidencia empírica obtenida hasta la fecha apunta a que una exagerada hiperexcitabilidad del sistema nervioso central juega un papel muy relevante en el establecimiento y mantenimiento del dolor crónico. Es muy probable que esta sensibilización pueda ser responsable de los fenómenos perceptivos anómalos (hiperalgesia y alodinia) que se observan en los pacientes con dolor crónico. Esta hiperexcitabilidad del SNC puede ser objetivada mediante el empleo de pruebas para la evaluación de la sensibilidad al dolor integradas en protocolos de Evaluación Somatosensorial Cuantitativa o **QST** (del inglés, *Quantitative Sensory Testing*). Estos protocolos QST consisten en un conjunto de pruebas que emplean métodos y técnicas psicofísicas para determinar la sensibilidad de un individuo ante estímulos somatosensoriales, dolorosos y no dolorosos. Los protocolos QST constituyen una herramienta versátil que permite obtener un perfil del procesamiento somatosensorial del paciente, detectando cambios en la sensibilidad posiblemente asociados a los procesos de cronificación del dolor. Estos protocolos han permitido objetivar la percepción de dolor, y clasificarla para estudiar su relación con factores psicosociales, y genéticos, mediante la correlación entre fenotipos y genotipos.

### **1.3 Factores biopsicosociales implicados en el dolor y su modulación**

A continuación, se describen los principales marcadores genéticos implicados en la respuesta al dolor y a la predisposición al dolor crónico, así como factores psiconeuroendocrinos y sociales implicados en el procesamiento somatosensorial y el dolor crónico.

### 1.3.1 Factores genéticos

La percepción del dolor y el riesgo a desarrollar dolor crónico presentan una gran variabilidad entre la población debida, en parte, a **influencias poligénicas**. Las variaciones en la secuencia de ADN (ácido desoxirribonucleico) y sus relaciones con el dolor pueden producirse a distintos niveles afectando a la respuesta de los individuos ante estímulos dolorosos evocados, el riesgo o predisposición a la cronificación del dolor, e incluso variando la respuesta a fármacos para el tratamiento del dolor y síntomas concomitantes. De modo similar, existen claras diferencias en la prevalencia del dolor crónico en función del **género**, afectando a una mayor proporción de mujeres que de hombres (Gran, 2003). Esta mayor prevalencia entre mujeres aparece en la mayoría de los síndromes de dolor musculoesquelético (Unruh, 1996) y sugiere la influencia de factores hormonales.

Una de las evidencias más claras sobre el rol que desempeñan los factores genéticos en el dolor y su modulación es el llamado **síndrome de insensibilidad congénita al dolor**. Se trata de un síndrome relativamente raro, en el que los afectados presentan una incapacidad difusa para percibir sensaciones de dolor en cualquier modalidad (Nagasako et al., 2003). Si bien las mutaciones como ésta ponen de manifiesto el importante papel que desempeñan los factores genéticos en la percepción del dolor y sus alteraciones, dan cuenta de cuadros particulares de dolor de rara aparición. Por el contrario, las variaciones simples que se dan de forma relativamente común en la población vienen representadas, mayoritariamente, por **polimorfismos de único cambio nucleotídico o SNPs** (del inglés, *Simple Nucleotide Polymorphisms*). Estas pequeñas variaciones parecen ser la diana para avanzar en la comprensión de la gran diversidad de trastornos dolorosos, el riesgo a padecerlos y la respuesta a sus tratamientos. La mayor representación de estas variaciones sugiere que son responsables de contribuir a las influencias poligénicas que, junto con otros factores biopsicosociales, puedan converger en la presencia de dolor crónico.

Así, durante los últimos años se han estudiado diversos genes candidatos y marcadores polimórficos que podrían estar implicados en manifestaciones clínicas relevantes en el dolor. De este modo, se han identificado varios polimorfismos genéticos que parecen modular la sensación dolorosa, algunos de los cuales han sido implicados en el desarrollo y mantenimiento del dolor crónico (Lötsch and Geisslinger, 2007). Por tanto, existen diversos polimorfismos genéticos que han sido relacionados con una mayor sensibilidad hacia el dolor en voluntarios sanos y algunos grupos de pacientes. Dichos polimorfismos regulan la expresión

génica de receptores, hormonas, neurotransmisores y transportadores o enzimas que los regulan.

Uno de los polimorfismos genéticos más implicados en la variabilidad interindividual en la percepción del dolor, así como en los procesos fisiopatológicos del dolor crónico es el **polimorfismo Val158Met (rs4680)**, localizado en el gen que codifica para la **enzima catecol-O-metiltransferasa (COMT)**. Dicha enzima es la encargada de metabolizar catecolaminas (dopamina, adrenalina o epinefrina y noradrenalina o norepinefrina). El polimorfismo Val158Met codifica una sustitución de las bases nitrogenadas guanina (G) por adenina (A), dando lugar a una sustitución del aminoácido valina (val) por metionina (met) en el codón 158 de la secuencia de aminoácidos. Dicho cambio hace que la termoestabilidad de la enzima varíe, y, con ello, su capacidad enzimática, dando lugar a una degradación de catecolaminas hasta cuatro veces inferior (Lotta et al., 1995). Diversos estudios han puesto de manifiesto que los homocigotos met/met muestran mayor sensibilidad al dolor de distintas modalidades y duración (Zubieta et al., 2003; Diatchenko et al., 2005; Diatchenko et al., 2006) y una mayor predisposición a sufrir cuadros de dolor crónico, habiendo observado frecuencias más elevadas de dicho genotipo y del alelo metionina en poblaciones de pacientes con diversos cuadros de dolor, tales como pacientes con dolor temporomandibular (Diatchenko et al., 2005), síndrome de fibromialgia (Josep García-Fructuoso et al., 2006; Vargas-Alarcón et al., 2007) o cefaleas (Hagen et al., 2006). Entre los mecanismos que sustentan la relación entre la COMT y la sensibilidad al dolor, se ha propuesto que la percepción del dolor podría incrementarse, bien directamente mediante activación noradrenérgica (Nackley et al., 2007) o bien indirectamente mediante un incremento de la actividad dopaminérgica que llevaría a la supresión de la expresión de opiáceos endógenos (Zubieta et al., 2003).

Junto a SNPs funcionales como el Val158Met, los **haplotipos** del gen COMT también han sido implicados en el dolor. Durante la recombinación genética, los SNPs próximos en la secuencia de ADN presentan una probabilidad muy alta de heredarse juntos por su relación de proximidad. A la combinación de alelos de SNPs próximos de parte de la secuencia de una sola copia del cromosoma se le denomina haplotipo y la investigación en torno a ellos ha recibido un interés creciente en los últimos años. En este sentido, se ha observado que la combinación haplotípica del polimorfismo Val158Met, junto con otros tres polimorfismos del gen COMT, presenta una fuerte asociación con la variabilidad a la sensibilidad al dolor experimental y el riesgo a desarrollar cuadros de dolor crónico, tales como dolor temporomandibular (Diatchenko et al., 2005; Diatchenko et al., 2006). Concretamente, Diatchenko y colaboradores (2005) describieron que la combinación haplotípica del polimorfismo funcional con otros tres

polimorfismos silentes situados en el mismo gen (los polimorfismos rs6269, rs4633, y rs4818) predecía una mayor diferencia en la actividad enzimática y explicaba el 11% en la variabilidad al dolor experimental. De este modo, los haplotipos fueron designados como LPS (del inglés *Low Pain Sensitivity*), APS (del inglés, *Average Pain Sensitivity*) y HPS (del inglés *High Pain Sensitivity*) por la sensibilidad al dolor asociada a cada uno de ellos. De este modo, la presencia de haplotipos APS y HPS se asociaba a una alta sensibilidad al dolor, mientras que el haplotipo LPS se asociaba a un patrón de baja sensibilidad. Asimismo, los autores mostraron una reducción de más del doble en el riesgo a sufrir dolor temporomandibular en sujetos portadores de haplotipos LPS (Diatchenko et al., 2005). La contribución de polimorfismos del gen COMT a la percepción de dolor en pacientes con fibromialgia y voluntarios sanos ha sido abordada en el estudio 1 del presente trabajo de tesis.

Por otra parte, el dolor constituye uno de los estresores más universales, y por consiguiente, presenta claras propiedades motivacionales. De este modo, la respuesta al estrés y los mecanismos de recompensa del cerebro juegan un papel clave en la modulación del dolor, compartiendo áreas cerebrales en su procesamiento. Por ejemplo, la respuesta dopaminérgica en el núcleo accumbens (NAc) juega un rol importante en el procesamiento de la recompensa (Robbins and Everitt, 1996; Berridge and Robinson, 2003), así como del dolor (Scott et al., 2006; Scott et al., 2008) y de la saliencia estimular en general (Zink et al., 2003). Un gen clave que puede contribuir a la variabilidad individual en el estrés y la recompensa, así como a la neurotransmisión cerebral dopaminérgica es el gen codificador del **factor neurotrófico derivado del cerebro** (BDNF del inglés, *Brain-derived neurotrophic factor*), una proteína que interactúa con la secreción del sistema dopaminérgico del cuerpo estriado, promoviendo la supervivencia y la diferenciación de las neuronas dopaminérgicas (Hyman et al., 1991). El polimorfismo funcional Val66Met (rs6265) en el gen BDNF codifica una sustitución de valina (val) por metionina (met) en el codón 66, disminuyendo el tráfico intracelular y la liberación de la proteína (Egan et al., 2003; Chen et al., 2004). Se ha observado en estudios animales que los niveles de BDNF en el NAc modula el desarrollo de un fenotipo vulnerable (Berton et al., 2006; Krishnan et al., 2007; Miczek et al., 2011). El BDNF ha sido también implicado en la depresión y la ansiedad (Martinowich et al., 2007), así como responsable de las diferencias de género en la depresión (Monteggia et al., 2007). De modo similar, se ha observado que los niveles de BDNF se asocian a la sensibilidad al dolor, mostrando relaciones opuestas según el género, tanto en sujetos sanos (Stefani et al., 2012) como en estudios animales (Li et al., 2010). Tomados en conjunto, estos estudios sugieren que puede haber un dimorfismo sexual en función del BDNF que puede contribuir a la variabilidad individual de

estos fenotipos relacionados con la vulnerabilidad al estrés, la depresión y el procesamiento del dolor, así como con factores moduladores del mismo. Esta cuestión ha sido abordada en el estudio 3 de la presente tesis.

Otros SNPs implicados en el dolor afectan al gen de la **enzima ácido graso amido-hidrolasa (FAAH)** responsable de la degradación de lípidos de señalización endógena como el cannabinoide anandamida. El polimorfismo funcional más estudiado de este gen es el C385A que codifica una sustitución del citosina (C) por adenina (A) causando un cambio en el aminoácido treonina (Thr) por prolina (Pro) en el codón 129 y provocando un descenso en la función de la enzima (Sipe et al., 2002; Chiang et al., 2004). Una ausencia de la enzima FAAH ha sido asociada a un fenotipo hipoalérgico en ratas (Lichtman et al., 2004a). No obstante, polimorfismos en regiones intrónicas del gen FAAH han sido también asociados a una mayor sensibilidad ante estimulación fría dolorosa en humanos (Kim et al., 2004). En este sentido, varias líneas de evidencia dan soporte a la hipótesis según la cual el sistema endocannabinoide está involucrado en el procesamiento del dolor (Martin and Lichtman, 1998; Pertwee, 2001; Hohmann, 2002; Goya et al., 2003). En relación a la enzima FAAH, ratones carentes de la misma (FAAH  $-/-$ ) muestran elevados umbrales de dolor, presumiblemente como resultado de la elevación de los niveles cerebrales de la anandamida (Cravatt et al., 2001). Por último, se ha demostrado que los inhibidores de la FAAH también producen antinocicepción en diversas pruebas de dolor (Haller et al., 2006). De hecho, se ha planteado la hipótesis de que un acoplamiento funcional con receptores opioides  $\mu$ ,  $\delta$  o K pueda conducir a la mejora de los efectos antinociceptivos de los opiáceos por parte de los cannabinoides (Williams et al., 2006). Los datos citados anteriormente sugieren que disminuir la degradación de anandamida mediante la inhibición de FAAH podría ejercer un efecto en el sistema opioide en la modulación de las señales de dolor. La mediación de un polimorfismo regulador de la función de la enzima FAAH en la neurotransmisión opioide y dopaminérgica durante el dolor y su modulación mediante la administración de un placebo, ha sido abordada en el estudio 4.

### **1.3.2 Factores psicoendocrinos**

Es conocido que determinadas condiciones dolorosas presentan marcadas diferencias de género en la tasa de prevalencia (Unruh, 1996). Por ejemplo, en el caso de la fibromialgia (FM) las mujeres representan alrededor del 90% de los afectados (Wolfe et al., 1995a; Carmona et al., 2001; Gran, 2003). Aunque las causas de estas diferencias de género en el dolor y su cronificación no son conocidas, sugieren una influencia de las hormonas sexuales en la sensibilidad al dolor y mecanismos fisiopatológicos del dolor crónico.

Aunque se ha apuntado repetidamente que la exagerada sensibilidad hacia el dolor en pacientes con FM y otras condiciones, como el dolor temporomandibular, podría estar mediada por cambios en los niveles de determinadas **hormonas sexuales** (estradiol, progesterona, prolactina y testosterona), la evidencia empírica que apoya esta hipótesis resulta todavía insuficiente. Diversos estudios clínicos han encontrado que las mujeres con FM presentan un aumento significativo de los síntomas de dolor durante el embarazo y en los meses posteriores al parto (Ostensen et al., 1997). Investigaciones adicionales han observado que la edad de la menarquía es significativamente más tardía en pacientes con FM y que éstas presentan una menor tasa de fertilidad que las voluntarias sanas (Raphael and Marbach, 2000; Schochat and Beckmann, 2003). Otros estudios han puesto de manifiesto que un 25% de mujeres con FM relacionan la presencia de la menopausia con el comienzo de la sintomatología dolorosa y que la intensidad de los síntomas es mayor en pacientes postmenopáusicas que en pacientes premenopáusicas (Pamuk and Cakir, 2005). Finalmente, se ha observado que la aparición temprana de la menopausia y la presencia de histerectomías son más frecuentes entre pacientes con FM que entre pacientes con artritis reumatoide (Pamuk et al., 2009).

Todos los datos citados anteriormente apoyan la idea de que la sintomatología clínica del síndrome de FM podría estar relacionada con la aparición de alteraciones funcionales en la regulación hormonal de las mujeres. Sin embargo, la evaluación de la sensibilidad al dolor evocado en pacientes con FM durante las diferentes fases del ciclo menstrual ha proporcionado resultados limitados e inconsistentes (Carette et al., 1992; Akkuş et al., 2000; Alonso et al., 2004; Gur et al., 2004; Okifuji and Turk, 2006). De hecho, se ha sugerido que la hipersensibilidad al dolor observada en pacientes con dolor crónico podría estar asociada a los cambios en los niveles de hormonas sexuales durante la transición hacia la menopausia, en lugar de con fluctuaciones hormonales durante el ciclo menstrual (Martin, 2009). En este sentido, los estudios epidemiológicos han revelado que las pacientes con FM muestran una aparición temprana de la menopausia (Waxman and Zatzkis, 1986) y que los síntomas de la FM con frecuencia se inician o empeoran después de la misma (Waxman and Zatzkis, 1986; Wolfe et al., 1995a; Pamuk and Cakir, 2005), sugiriendo que una reducción del tiempo de exposición a las hormonas sexuales podría agravar el dolor y otros síntomas relacionados o incluso contribuir a su desarrollo.

Al nivel hormonal, el efecto de **los estrógenos**, y especialmente del estradiol, se ha puesto de manifiesto en diversos estudios que comparan la respuesta al dolor agudo inducido experimentalmente y el dolor clínico. Dado que los niveles de estrógenos pueden modular la

función de los sistemas nervioso, inmune, esquelético y cardiovascular, la modulación estrogénica del dolor resulta compleja de esclarecer, dando lugar a efectos tanto pro-nociceptivos como anti-nociceptivos. El sentido de la relación dependerá, por tanto, del grado en que estos sistemas se encuentran implicados en cada tipo o síndrome de dolor (Craft, 2007). Asimismo, la **aromatasa** parece desempeñar un papel crucial en la modulación del dolor en mujeres post-menopáusicas poniendo de manifiesto la importancia de los niveles de estrógenos en el procesamiento del dolor. Dicha enzima es la responsable de la conversión de andrógenos en estrógenos, consistiendo en la principal fuente de estrógenos en mujeres post-menopáusicas. Uno de los primeros indicios de la relación entre la aromatasa y el dolor parte de una serie de estudios en los que se describe una mayor prevalencia de síndromes de dolor musculoesquelético tras la interrupción de este mecanismo de conversión a partir de inhibidores de la aromatasa (Felson and Cummings, 2005).

En definitiva, toda esta evidencia empírica apunta a la idea de que, si bien los factores hormonales juegan un papel relevante en la respuesta al dolor y en el síndrome de FM, la relación que mantienen con la sensibilidad hacia el dolor de estas pacientes no es simple y podría estar mediada por numerosas variables biológicas. A partir de los datos previos surge el interés de explorar posibles diferencias en la edad de inicio de la menopausia, y su efecto en la sensibilidad al dolor en mujeres con dolor crónico. Esta cuestión ha sido abordada en el estudio 2 de la presente tesis.

### **1.3.3 Factores psicosociales**

Si bien los factores genéticos y hormonales pueden contribuir a determinar la susceptibilidad de una persona a sufrir dolor crónico, es conocido que la cultura y las influencias sociales juegan también un papel fundamental en la percepción del dolor. Estos factores afectan a la respuesta al dolor en general (Zatzick and Dimsdale, 1990), influyendo sobre las cogniciones y el control autopercebido sobre el mismo (Bates and Rankin-Hill, 1994). De igual modo, el apoyo social como refuerzo o ganancia secundaria a la condición de enfermedad podría contribuir al mantenimiento del dolor a lo largo del tiempo (Gil et al., 1987). Por último, la sensibilidad al dolor puede verse modificada por la presencia de seres queridos (Montoya et al., 2004). Todo ello resalta la importancia de estudiar las influencias sociales en la percepción del dolor y el dolor crónico.

En este sentido, el descubrimiento del sistema de neuronas espejo en la corteza premotora y parietal ha sentado las bases para una mejor comprensión de los mecanismos

neurobiológicos implicados en la empatía (Rizzolatti et al., 1996). En este sentido, los estudios recientes mediante fMRI han mostrado que la observación del estado emocional de otras personas activa parte de la red neural implicada en el procesamiento del mismo estado experimentado por uno mismo (Singer et al., 2004; Lamm et al., 2007). Algunos autores han sugerido que estos circuitos compartidos están formados a partir de aprendizajes asociativos en el dominio de las acciones (Preston and de Waal, 2002), emociones y sensaciones (Keysers et al., 2010).

De acuerdo con esta interpretación, estudios de electroencefalografía (EEG) y magnetoencefalografía (MEG) han proporcionado consistente evidencia de la implicación de las cortezas somatosensorial y motora en las representaciones compartidas del procesamiento del dolor (Avenanti et al., 2006; Godinho et al., 2006; Minio-Paluello et al., 2006; Bufalari et al., 2007; Fan and Han, 2008; Valeriani et al., 2008; Avenanti et al., 2009a; Avenanti et al., 2009b; Minio-Paluello et al., 2009). Así, por ejemplo, un estudio reciente con potenciales somatosensoriales evocados (SEPs), mediante pulsos de estimulación eléctrica no dolorosa, ha demostrado que la observación simultánea de video-clips en los que aparece una aguja penetrando la mano de un modelo, provoca un incremento significativo en la amplitud del componente P45 en comparación con la visualización de video-clips representando la misma mano siendo rozada por un bastoncillo o en ausencia de estimulación somatosensorial (Bufalari et al., 2007). Además, se encontró que dicho incremento en la amplitud del potencial P45 correlacionaba con la intensidad, pero no con el desagrado atribuido al modelo, sugiriendo que este efecto modulador estaría relacionado con los componentes sensoriales del dolor (localización, intensidad, etc.), más que con los afectivos (desagrado). Asimismo, la investigación sobre las regiones cerebrales que se activan cuando se comparten los sentimientos de otra persona no se restringe a la empatía hacia el dolor. Por ejemplo, existe también evidencia de que la observación de tacto y la experiencia de tacto en primera persona activa regiones similares de la corteza somatosensorial primaria (Keysers et al., 2004; Blakemore et al., 2005; Schaefer et al., 2006). Esta cuestión es abordada en el estudio 6 del presente trabajo de tesis. De igual modo, datos similares se han obtenido cuando los participantes observaban a otras personas probando sabores desagradables (Jabbi et al., 2007) o contemplando pasivamente caras de desagrado (Wicker et al., 2003). De hecho, la visión de expresiones faciales constituye un paradigma importante para el estudio de la modulación social del dolor. Así, se ha demostrado que la visión de expresiones faciales afecta a las estimaciones subjetivas de dolor sobre las mismas, incluso cuando el *feedback* verbal es contradictorio (Poole and Craig, 1992). Asimismo, un reciente estudio de neuroimagen ha

demostrado que, en comparación con expresiones faciales de enfado y neutras, la visión de expresiones faciales de dolor provoca una mayor activación en varias áreas cerebrales relacionadas con el procesamiento emocional (Simon et al., 2008). La participación de estas áreas cerebrales se ha interpretado como un patrón de respuesta específico a los estímulos biológicamente relevantes, tales como los estímulos dolorosos o potencialmente dolorosos (Simon et al., 2008). Esta cuestión es abordada en el estudio 5 del presente trabajo de tesis.

Un paso más allá en la modulación social del dolor la constituyen las sensaciones sinestésicas de tacto e incluso de dolor, descritas durante la visión de experiencias táctiles o dolorosas en otros (*mirror-touch or pain synaesthesia*) (Blakemore et al., 2005; Banissy et al., 2011). Concretamente, estas sensaciones se han mostrado en pacientes con daño cerebral (Halligan et al., 1997), amputaciones (Ramachandran and Brang, 2009; Goller et al., 2011) e incluso en individuos sanos (Blakemore et al., 2005). Este fenómeno parece estar relacionado con una hiperexcitabilidad de los sistemas de neuronas espejo somatosensoriales. De este modo, se ha propuesto que dicho fenómeno ocurriría con mayor frecuencia en pacientes que han sufrido un traumatismo o en pacientes con dolor crónico, que en la población general. Un ejemplo de ello es la elevada frecuencia de sensaciones táctiles sinestésicas en amputados (Goller et al., 2011). De este modo, se ha sugerido que en pacientes con dolor crónico estas sensaciones se asociarían a los fenómenos de hiperexcitabilidad y sensibilización central, característicos en estos pacientes, y responsables de la alta sensibilidad al dolor que exhiben (Fitzgibbon et al., 2012). De hecho, ha sido propuesto que, mientras que las sensaciones sinestésicas de tacto parecen estar más relacionadas con factores innatos, la sinestesia para el dolor parece asociarse a la experiencia de dolor previa, intensa o continuada. En este sentido, el estudio de la modulación de la actividad eléctrica cerebral durante la observación de experiencias somatosensoriales en otros podría establecerse como un paradigma para el estudio de la modulación social de dicho patrón de hiperexcitabilidad cortical en pacientes con dolor crónico, así como para ahondar en el estudio del procesamiento somatosensorial en población sana.

## **2. Métodos y objetivos de estudio**

### **2.1 Métodos y técnicas de estudio**

En esta sección se describen brevemente las técnicas de registro y análisis de datos empleados en esta tesis doctoral, así como los objetivos generales de los estudios llevados a cabo.

### 2.1.1 Estudio de la sensibilidad al dolor y su modulación

El umbral de detección táctil se evaluó mediante los filamentos de von Frey (AB Somedic, Suecia) en los **estudios 1 y 2**. Para ello, se utilizó un set compuesto por filamentos de distinto diámetro de grosor e igual longitud. Dichos filamentos se aplican de mayor a menor diámetro provocando una sensación claramente perceptible al inicio, que va disminuyendo gradualmente hasta que dejan de ser percibidos (Keizer et al., 2008). Además, se aplicó una serie de estímulos de intensidad ascendente (hasta 15 estímulos, variando de 10 a 150 voltios) (Inui et al., 2002) para evaluar el umbral de detección en el **estudio 2**.

La **sensibilidad al dolor** se evaluó mediante estimulación mecánica y térmica en los **estudios 1 y 2**. En el caso de la estimulación mecánica, se determinaron los **umbrales de dolor a la presión** usando un algómetro digital con una punta de goma plana en su extremo. Las medidas de **umbral de dolor ante estimulación térmica por calor** se obtuvieron con un estimulador térmico. Para ello, se pidió a los sujetos que colocaran la yema del dedo índice sobre la placa térmica. La temperatura de la placa fue aumentando a partir de 37 °C hasta un máximo de 52 °C a una velocidad media de 0,2 °C/s. El **umbral de tolerancia al dolor por frío** se evaluó con la misma placa térmica, fijando una temperatura constante de 1 °C durante un tiempo máximo de 150 s. Se pidió a los participantes que mantuvieran la yema del dedo en contacto con la placa hasta que la percepción de dolor no pudiera tolerarse más. Durante la tarea, se les pidió que indicaran el grado de dolor que estaban experimentando mediante una escala verbal de 0 a 100 puntos cada 10 s.

El estudio de la **modulación somatosensorial** (estudio 6) se llevó a cabo mediante pulsos neumáticos no dolorosos de 2 bares de intensidad y 100 ms de duración aplicados en la yema del dedo índice en trenes de 6 pulsos, administrados cada 900 ±100 ms.

Los estudios de la **modulación del dolor** (estudios 3 y 4) se han llevado a cabo mediante tomografía por emisión de positrones (PET, *Positron Emission Tomography*) aplicando un **paradigma de estimulación tónica**, originalmente diseñado para reproducir el cuadro de dolor temporomandibular (Stohler and Kowalski, 1999). Además, en estos estudios se exploró la respuesta al **placebo** combinando este paradigma de estimulación tónica con la administración intravenosa de un salino isotónico al que se le atribuyeron propiedades analgésicas. El efecto de analgesia se determinó mediante el cambio en las estimaciones de dolor en respuesta a los mismos perfiles de salino hipertónico infundido.

Tabla 1. Pruebas para el estudio de sensibilidad táctil y dolorosa y su modulación.

Medida	Modalidad	Herramienta	Área de estimulación	Unidad de medida
Umbral de detección	Mecánico	Monofilamentos de von Frey	1. Antebrazo a nivel del codo 2. Cara interna o ventral de la muñeca 3. Yema del dedo índice	Número de filamento y fuerza nominal correspondiente
	Eléctrico	Estimulador eléctrico	Cara interna o ventral de la muñeca	Número de estímulo según la intensidad de voltaje (1-15)
Umbral de dolor	Térmico (calor)	Placa térmica	Yema del dedo índice	Temperatura (°C)
	Mecánico	Algómetro	1. Musculatura epicondílea, en posición flexo-supina 2. Cara interna o ventral de la muñeca 3. Yema del dedo índice	Newtons
Umbral de tolerancia al dolor	Térmico (frío)	Placa térmica	Yema del dedo índice	Tiempo (segundos)
Modulación somatosensorial	Pneumático	Bomba de aire	Yema del dedo índice	Amplitud de los SEPs
Modulación del dolor	Químico/dolor muscular tónico	Salino hipertónico (5% de cloruro de sodio)	Masetero izquierdo	Velocidad de infusión (µl/min) para mantener la sensación de dolor (EVA 30-40/100)

### 2.1.2 Estudio de marcadores y haplotipos genéticos

Los estudios genéticos presentados en esta tesis doctoral han analizado: polimorfismos de único cambio nucleotídico o **SNPs** funcionales y los llamados **marcadores informativos ancestrales** o AIMs (del inglés *Ancestry Informative Markers*) y haplotipos. En el estudio 1 se analizaron polimorfismos y haplotipos del gen COMT y en los estudios 3 y 4, se analizaron polimorfismos funcionales aislados en los genes BDNF y FAAH y 186 AIMs localizados en diversos genes. En la tabla 3 se esquematizan los marcadores y haplotipo analizados y la metodología utilizada en cada caso.

Tabla 2. Estudio de marcadores y haplotipos genéticos

Análisis	Gen	Muestra ADN	Métodos
SNPs funcionales	COMT (Val158Met, y no funcionales rs6269, rs4633, y rs4818)	Mucosa Bucal	<ul style="list-style-type: none"> <li>• PCR en tiempo real, determinando perfiles de fluorescencia (LightCycler® 480)</li> <li>• Secuenciación (Big Dye® Terminator Cycle Sequencing kit v 3.1 y ABI PRISM® 3100 Genetic Analyser).</li> <li>• Método RFLPs</li> </ul>
	BDNF (Val66Met) FAAH (Pro129Thr)	Plasma sanguíneo	Medición del nivel de hibridación mediante Microarrays de ADN, (plataforma <i>Illumina Goldengate</i> ®).
AIMs	Varios		
Haplotipos	COMT	Mucosa bucal	Cálculo del desequilibrio de ligamiento (LD) a partir de los SNPs genotipados mediante la versión 4.2 de Haploview.

### 2.1.3 Estudio de la actividad cerebral

En la siguiente tabla se resume la estimulación, procedimiento y herramientas empleadas en los distintos estudios para el análisis de la actividad cerebral, tanto eléctrica como bioquímica.

Tabla 3. Metodología utilizada en los estudios de la actividad cerebral.

Señal	Medida	Sistema	Estimulación	Procedimiento	Herramientas
Eléctrica	Potenciales evocados	Somatosensorial (estudio 6)	Pulsos neumáticos de 2 bares de intensidad aplicados en la yema del dedo índice derecho, cada 900 ms±100, en trenes de 6 pulsos.	Estimulación neumática durante la visualización de video-clips mostrando una mano presionada por un hisopo de algodón (tacto), pinchada por una aguja (dolor) o en reposo. Evaluación de la intensidad y desagrado.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• EEG de 64 electrodos</li> <li>• Amplificador BrainAmp</li> <li>• Registro y análisis mediante Brain Vision Recorder® y Analyzer®</li> </ul>
	Frecuencia	Visual (estudio 5)	Fotogramas extraídos en 6 intervalos de tiempo desde el inicio de expresiones faciales neutras o reflejando dolor o enfado (0, 200, 400, 600, 800, y 1000 ms)	Presentación de diferentes expresiones faciales. Evaluación del desagrado y arousal o activación elicitado por cada imagen.  Análisis mediante la transformada wavelet Morlet (ancho de 7 ciclos) por convolución en el dominio de la frecuencia en un solo ensayo, durante un intervalo entre 1000 y 2000 ms. Bandas de frecuencia analizadas: $\theta$ (4-8 Hz), $\alpha$ (8-12 Hz), y $\beta$ (12-20 Hz).	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Estimulador neumático</li> <li>• Presentation®</li> </ul>
Metabólica	Potencial de unión de receptores de <b>Dopamina</b>	D <sub>2</sub> /D <sub>3</sub> Radiotrazador [ <sup>11</sup> C] raclopride (estudios 3 y 4)	Salino hipertónico	Línea base, períodos de estimulación dolorosa con y sin placebo de 20 minutos de duración cada uno. Administración del 50% de los radiotrazadores en un bolo y la cantidad restante mediante bomba de infusión continua.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Tomógrafo PET (D<sub>2</sub>/D<sub>3</sub> y MOR)</li> <li>• Escáner de RM (GE Signa 3-Tesla)</li> </ul>
	Potencial de unión de receptores <b><math>\mu</math>-opioide</b>	MOR Radiotrazador [ <sup>11</sup> C] carfentanil (estudio 4)		Tarea en la que los sujetos han de responder ante la aparición de una señal dentro de un intervalo temporal determinado y lo más rápido posible. Las respuestas correctas están recompensadas, bien por la ganancia, o bien por la evitación de una pérdida monetaria anunciada al comienzo del ensayo.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Atlas del Instituto Neurológico de Montreal (MNI)</li> <li>• Softwares SPM y FSL</li> </ul>
	<b>fMRI</b>	Señal BOLD	<i>Monetary Incentive Delay</i> (MID) Task		

## 2.2 Objetivos generales de los estudios

El eje principal de este trabajo se ha centrado en el estudio de factores implicados en el procesamiento somatosensorial en pacientes con dolor crónico y voluntarios sanos. Este abordaje se ha llevado a cabo desde un enfoque multidimensional, planteándose objetivos a diversos niveles de análisis, desde el nivel biomolecular al psicosocial. Para ello, se han trazado los siguientes objetivos generales:

1. Examinar la contribución de polimorfismos funcionales en genes codificadores de algunos de los principales péptidos implicados en la cascada bioquímica desencadenada por estímulos dolorosos, en la predisposición a desarrollar dolor crónico y en la sensibilidad a estímulos somatosensoriales en pacientes con dolor crónico y voluntarios sanos (estudios 1, 3 y 4).
2. Estudiar las posibles diferencias relacionadas con la desproporcionada prevalencia del dolor crónico en mujeres, así como con la hiperalgesia característica en estos pacientes. Concretamente, se tuvo por objetivo explorar diferencias en la media de edad de la menopausia y su relación con la sensibilidad a estímulos somatosensoriales (estudio 2), así como estudiar la interacción entre factores genéticos y el género de los sujetos en la respuesta al dolor y su modulación por placebo (estudio 3).
3. Examinar la contribución de polimorfismos genéticos funcionales en la actividad metabólica cerebral, rasgos de personalidad y respuesta al dolor. Concretamente, se plantea estudiar la respuesta bioquímica de los sistemas dopaminérgico y opioide mediante Tomografía por Emisión de Positrones (PET) durante el procesamiento del dolor y su modulación por placebo (estudios 3 y 4).
4. Estudiar el rol de factores sociales en la modulación del procesamiento cerebral somatosensorial en voluntarios sanos mediante el estudio de Potenciales Evocados (PE) visuales y somatosensoriales. Concretamente:
  - a. Explorar la dinámica de la actividad cerebral desencadenada por expresiones faciales de dolor y enfado con diferentes niveles de intensidad en la expresión emocional (estudio 5).
  - b. Explorar la modulación de la actividad eléctrica somatosensorial durante la observación de experiencias somatosensoriales en otros (estudio 6).

### 3. Publicaciones

A continuación, se detalla el planteamiento de cada uno de los estudios, los objetivos que pretendían alcanzar, los resultados más relevantes y la discusión de los mismos. Todos los participantes fueron informados de los detalles de cada estudio cumplimentando y firmando un consentimiento informado. Por otro lado, todos los estudios respetaban la Declaración de Helsinki (1991). Los protocolos de los estudios 1, 2, 5 y 6 fueron aprobados por el comité ético de Investigaciones Clínicas de las Islas Baleares y/o por el comité ético de la Universidad de las Islas Baleares. Asimismo, los estudios 3 y 4 fueron aprobados por el *Institutional Review Board and the Radioactive Drug Research Committee* de la Universidad de Michigan (EE.UU.). En el siguiente apartado se comentarán y discutirán los resultados y las aportaciones de cada uno de los trabajos.

#### 3.1 Estudio 1: *Pain sensitivity in fibromyalgia is associated with catechol-O-methyltransferase (COMT) gene*

Este trabajo ha sido publicado en la revista *European Journal of Pain* (factor de impacto: 4.267) (Martínez-Jauand et al., 2013a). El objetivo fue evaluar la presencia de diferentes haplotipos definidos a partir de polimorfismos genéticos en el gen que codifica la enzima catecol-O-metiltransferasa (COMT) (Diatchenko et al., 2006) en el síndrome de fibromialgia (FM) y la sensibilidad al dolor. Concretamente, se exploró la frecuencia de distribución genotípica y haplotípica, así como la asociación con la sensibilidad al dolor en pacientes diagnosticadas con FM (n=113) y en voluntarias sanas (n=65). Para ello se llevó a cabo una evaluación clínica y una evaluación somatosensorial cuantitativa (QST) compuesta por una determinación de umbrales sensoriales táctiles, umbrales de dolor por calor y presión, y umbrales de tolerancia al dolor. Para el análisis de ADN se recogieron muestras de mucosa bucal y se llevaron a cabo diversos métodos de genotipado (método para RFLPs y PCR en tiempo real).

Los resultados de este estudio mostraron que el grupo de pacientes con FM presentaba un mayor número de participantes homocigotas para el alelo metionina (met) en el polimorfismo funcional Val158Met (rs4680) en comparación con el grupo de voluntarias sanas. De modo similar, se observó que la frecuencia de haplotipos en el gen COMT asociados a fenotipos de alta y media sensibilidad al dolor (HPS y APS) era mayor en el grupo de pacientes (37.8%) que en el grupo control (21.9%). Además, este estudio corroboró una mayor sensibilidad al dolor en pacientes con FM en comparación con voluntarias sanas para todas las pruebas empleadas para evocar dolor (térmico por calor y frío, y mecánico). Las pacientes con

FM y portadoras de los haplotipos HPS y/o APS u homocigotas para el alelo metionina (genotipo met/met) mostraron mayor sensibilidad al dolor que las portadoras de los restantes haplotipos y genotipos. Finalmente, este estudio reveló que las pacientes con FM homocigotas para el alelo metionina presentaban mayores niveles de ansiedad rasgo (puntuación en STAIR).

De acuerdo con estudios previos (Diatchenko et al., 2005; Diatchenko et al., 2006), estos datos sugieren que la reducción en la actividad de la enzima COMT podría contribuir al mantenimiento de los síntomas de dolor en pacientes con FM. En este sentido, se han propuesto dos mecanismos a partir de los cuales el polimorfismo Val158Met podría actuar como modulador en la percepción del dolor. En primer lugar, se ha sugerido que los elevados niveles de catecolaminas (especialmente, adrenalina y noradrenalina) asociados a la baja actividad enzimática de la COMT en los homocigotos met/met podrían sobreestimar los receptores  $\beta$ -adrenérgicos y desencadenar así un incremento en la percepción de dolor (Nackley et al., 2007). Este mecanismo estaría apoyado por hallazgos previos demostrando que el bloqueo de receptores  $\beta$ -adrenérgicos (y no  $\alpha$ -adrenérgicos o dopaminérgicos) reduce la hiperalgesia provocada por la administración exógena de adrenalina (Khasar et al., 1999; Nackley et al., 2007). Un segundo mecanismo que podría estar implicado en la relación entre actividad de la COMT y la percepción del dolor se basa en la mediación del sistema opioide (Zubieta et al., 2003). En este caso, elevados niveles de catecolaminas asociados a los homocigotos met/met produciría una supresión en la síntesis de opioides endógenos debido a una sobreactivación de los receptores dopaminérgicos de las neuronas opioides (George and Kertesz, 1987). Además, esta supresión de opioides en los homocigotos met/met iría acompañada de un aumento en la densidad receptores opioides con el objetivo de mantener la funcionalidad del sistema. Este cambio compensatorio permitiría que la menor concentración de ligando (endorfinas) tuviera mayores lugares de unión (más receptores). En apoyo de esta hipótesis, existen estudios que demuestran que los pacientes met/met con cáncer requieren menores dosis de morfina para alcanzar los mismos efectos analgésicos que los pacientes heterocigotos u homocigotos val/val (Rakvåg et al., 2005). De acuerdo con la hipótesis compensatoria, el elevado número de receptores opioides permite que la administración exógena de sustancias opioides alcance un efecto analgésico a dosis más bajas. En definitiva, los resultados de este estudio sugieren que las variaciones genéticas en el gen COMT conllevan diferentes consecuencias en la respuesta al dolor y niveles de ansiedad en pacientes con FM, pudiendo emplearse como marcadores genéticos para la clasificación y agrupación de estos pacientes.

Martínez-Jauand M, Sitges C, Rodríguez V, Picornell A, Ramon M, Buskila D, Montoya P (2013)  
Pain sensitivity in fibromyalgia is associated with catechol-O-methyltransferase  
(COMT) gene. Eur J Pain 17:16- 27.

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22528689>

### **3.2 Estudio 2: *Age-of-onset of menopause is associated to painful and non-painful sensitivity in FM patients***

Este segundo trabajo ha sido publicado en la revista *Clinical Rheumatology* (Martínez-Jauand et al., 2013b) (factor de impacto: 1.996). Este estudio tenía el objetivo de estudiar la influencia de la edad de la menopausia en el procesamiento somatosensorial, doloroso y no doloroso, en mujeres diagnosticadas con el síndrome de FM (n=74) y voluntarias sanas (n=32). Para tal fin, se llevó a cabo una evaluación clínica incluyendo una entrevista sobre eventos relacionados con la función hormonal femenina (menopausia, menarquía, toma de anticonceptivos, tratamiento hormonal sustitutivo, dolor menstrual previo, etc.). La valoración de la sensibilidad se llevó a cabo con el protocolo QST, determinando y agrupando medidas de umbrales somatosensoriales no dolorosos (táctiles y eléctricos) y dolorosos (mecánicos y térmicos por calor y frío).

Este estudio mostró diferencias significativas en la sensibilidad al dolor teniendo en cuenta la edad de inicio de la menopausia. En particular, se observó que las pacientes con FM mostraban una edad de inicio de la menopausia más temprana que las voluntarias sanas (46.4 vs 49.3 años, respectivamente). Asimismo, el estudio reveló que las pacientes con un inicio de la menopausia anterior a los 49 años de edad presentaban una mayor sensibilidad a los estímulos somatosensoriales que las pacientes con inicio de la menopausia posterior a los 49 años. Esta mayor sensibilidad se observó ante estímulos somatosensoriales tanto dolorosos como no dolorosos. Estos resultados concuerdan con estudios previos (Waxman and Zatzkis, 1986; Pamuk et al., 2009) y sugieren que un período de exposición menor a los estrógenos puede contribuir al mantenimiento y agravamiento de fenómenos como la alodinia e hiperalgesia. Esta hipótesis parece estar también apoyada por estudios en los que un aumento en la incidencia de dolor crónico se asocia a una reducción de los niveles de estrógenos a través de la administración de inhibidores de la aromataasa (enzima encargada de la conversión de andrógenos en estrógenos) (Magliano, 2010).

Existen diversos mecanismos a través de los cuales los cambios hormonales asociados a la menopausia podrían modular la respuesta al dolor y la sensibilización central en pacientes con dolor crónico. Así, por ejemplo, se ha observado en estudios de neuroimagen que existen diferencias de género y de edad en la unión de receptores  $\mu$ -opioides, con una mayor densidad de estos receptores en diversas regiones cerebrales en mujeres pre-menopáusicas. La densidad de receptores parece disminuir en mujeres post-menopáusicas hasta niveles inferiores a los observados en hombres (Zubieta et al., 1999). Asimismo, se ha descrito una

reducida disponibilidad de receptores opioides durante estimulación tónica dolorosa en diversas regiones cerebrales relacionadas con el procesamiento del dolor entre pacientes con FM en comparación con voluntarios sanos (Harris et al., 2007). Estos datos sugieren que un menor tiempo de exposición a los estrógenos durante la etapa reproductiva, como ocurre en las mujeres con FM que presentan menopausia temprana, podría haber conducido a una regulación a la baja de receptores  $\mu$ -opioides en el cerebro y, por tanto, a una incrementada hipersensibilidad al dolor en comparación con las pacientes que experimentaron la menopausia a edades más tardías. Finalmente, observamos que las pacientes con FM y menopausia temprana presentaban una mayor interferencia del dolor que las pacientes con menopausia tardía. En este sentido, es posible que un episodio traumático como la menopausia precoz o quirúrgica pueda ejercer un alto impacto psicosocial agravando los síntomas del dolor crónico.

Martínez-Jauand M, Sitges C, Femenia J, Cifre I, González S, Chialvo D, Montoya P (2013a) Age-of-onset of menopause is associated with enhanced painful and non-painful sensitivity in fibromyalgia. Clin Rheumatol 32(7):975-81.

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24042479>

### **3.3 Estudio 3: *BDNF Val66Met polymorphism impacts Stress Resilience and Placebo Response through Nucleus Accumbens Dopamine Neurotransmission***

Los trabajos tercero y cuarto de la tesis doctoral se llevaron a cabo para conocer la influencia de polimorfismos genéticos funcionales de único cambio nucleotídico (SNPs) en la actividad dopaminérgica (estudios 3 y 4) y opioide (estudio 4) en respuesta a un estímulo de dolor sostenido y en fenotipos implicados en la respuesta de analgesia inducida por la administración de un placebo. El tercer trabajo se encuentra bajo revisión en la revista *Archives of General Psychiatry* (factor de impacto: 14.179). Este trabajo tenía como objetivo determinar el impacto polimorfismo funcional Val66Met del gen que regula el factor neurotrófico derivado del cerebro o BDNF, en los rasgos de vulnerabilidad y las respuestas a los acontecimientos negativos y estresantes (procesamiento del dolor y la anticipación de una situación estresante) y experiencias gratificantes (alivio de dolor por la administración de un placebo, y la anticipación de una recompensa monetaria), en el circuito de VTA-NAc, sobre la actividad de los receptores dopaminérgicos D<sub>2</sub>/D<sub>3</sub> y la señal BOLD. Para ello, 72 voluntarios sanos fueron genotipos para el polimorfismo Val66Met. A fin de explorar la respuesta del sistema dopaminérgico durante el procesamiento del dolor y su modulación por placebo, se llevaron a cabo dos experimentos mediante PET en una submuestra de 57 participantes, administrando el radiotrazador [<sup>11</sup>C] raclopride y realizados en orden contrabalanceado. El primero consistió en la administración de un salino hipertónico para generar dolor sostenido a una intensidad constante. En el segundo, se aplicó el mismo estímulo acompañado de un placebo. La evaluación subjetiva de la experiencia de dolor se realizó cada 15 segundos y al finalizar la prueba mediante diversas escalas. Cada experimento PET tuvo una duración de 90 minutos. Además, se evaluaron los rasgos de personalidad y se llevó a cabo una sesión adicional con registro de fMRI durante la realización de una tarea de incentivo monetario o MID (del inglés *Monetary Incentive Delay*).

Los resultados de este estudio mostraron una mayor activación (señal BOLD) del VTA durante la anticipación de sucesos negativos como la pérdida monetaria en los participantes portadores del alelo met66, en comparación con homocigotos para el alelo val66. Asimismo, se observó que las mujeres portadoras del alelo met66 presentaron mayor vulnerabilidad al estrés, caracterizada por elevadas puntuaciones en depresión y ansiedad, valoraciones subjetivas de dolor, bajas puntuaciones de resiliencia y baja analgesia inducida por placebo, en comparación con hombres portadores del alelo met66 o con las mujeres homocigotas para el alelo val66. Además, los portadores del alelo met66 reflejaron una mayor activación

dopaminérgica en el circuito VTA-NAc durante el procesamiento de un estímulo nociceptivo y menor activación en la condición de placebo. Finalmente, la activación dopaminérgica durante el procesamiento del estímulo doloroso correlacionó con la estimación de dolor, mientras que la desactivación durante la condición de placebo correlacionó con la analgesia inducida por el mismo, en los portadores del alelo met66. Por otra parte, se encontró que los hombres portadores del alelo met66 no presentaban diferencias en las puntuaciones de vulnerabilidad y resiliencia o en las estimaciones de dolor y la respuesta de analgesia asociada al placebo con respecto a los homocigotos para el alelo val66, o bien presentaban diferencias opuestas.

En primer lugar, estos resultados demuestran que el alelo met66 del gen BDNF (que disminuye el tráfico intracelular de la proteína y su liberación) modula la actividad dopaminérgica en el circuito VTA-NAc. Este resultado concuerda con estudios previos en animales que señalan que la supresión del gen BDNF interactúa con la actividad dopaminérgica en el estriado y que dicha señalización mediada por el BDNF en el circuito VTA-NAc se asocia con un fenotipo de vulnerabilidad y estrés social (Berton et al., 2006; Krishnan et al., 2007; Miczek et al., 2011). Finalmente, estos resultados apoyan las observaciones previas realizadas en pacientes depresivos en los que se relacionan niveles reducidos de BDNF con los síntomas de anhedonia (Duman and Monteggia, 2006). Estos efectos podrían representar un ejemplo de activación del circuito VTA-NAc durante las respuestas de vigilancia y reactividad al entorno (Valenti et al., 2011). También se observó un incremento en la activación (señal BOLD) en el hipocampo durante la anticipación de acontecimientos estresantes (pérdidas monetarias) en portadores del alelo met66. En segundo lugar, nuestros resultados ponen de manifiesto que los efectos del polimorfismo Val66Met en la respuesta al dolor y su modulación por placebo se encuentran en parte, mediados por el género de los sujetos. En este sentido, los resultados de esta investigación se encuentran en consonancia con experimentos previos realizados en ratones que muestran que la reducción de los niveles de BDNF provoca mayor sensibilidad a la ansiedad en hembras que en machos (Autry et al., 2009). Por otro lado, cabe destacar que ya existen indicios de que las hormonas sexuales juegan un papel relevante en la regulación de la señalización de la proteína BDNF (Miranda et al., 1993). Asimismo, un estudio reciente en voluntarios sanos ha puesto de relieve que reducidos niveles de BDNF se encuentran relacionados significativamente con bajos umbrales de dolor en mujeres, con efectos opuestos observados en hombres (Stefani et al., 2012). Finalmente, la relación entre el polimorfismo, la actividad dopaminérgica y las respuestas al dolor del presente estudio se encuentran relacionadas con la observación de que los pacientes con dolor crónico presentan niveles significativamente elevados de BDNF. En conclusión, la presencia de alelos met66 en mujeres

podría constituir un factor de riesgo para condiciones patológicas donde las diferencias de género han sido ampliamente documentadas, tales como el dolor crónico y los trastornos del estado de ánimo.

Martínez-Jauand M, Peciña M, Martínez-Jauand M, Montoya P, Hodgkinson C, Stohler CS, Goldman D, Zubieta JK. BDNF Val66Met polymorphism impacts Stress Resilience and Placebo Response through Nucleus Accumbens Dopamine Neurotransmission (Unpublished manuscript).

### **3.4 Estudio 4: *FAAH selectively influences placebo effects***

El cuarto trabajo que se presenta en esta tesis doctoral ha sido publicado en la revista *Molecular Psychiatry (Nature Publishing Group)*, con un factor de impacto de 14.897. El objetivo del estudio era explorar el rol del polimorfismo funcional C385A del gen que codifica para la enzima amidohidrolasa de ácidos grasos o FAAH, responsable del metabolismo de endocannabinoides. Para ello, se llevaron a cabo cuatro experimentos mediante PET empleando los radiotrazadores [<sup>11</sup>C] raclopride y [<sup>11</sup>C] carfentanil para el estudio de la respuesta dopaminérgica y opioide, respectivamente. Se utilizó el mismo paradigma descrito previamente y se incluyó un análisis de las imágenes de PET durante la administración del estímulo doloroso (salino hipertónico), con y sin placebo. Las sesiones de cada experimento tuvieron una duración de 90 minutos.

Este estudio reveló una mayor activación del sistema opioide durante el procesamiento del dolor en la condición placebo en homocigotos 385C/C (Pro129/Pro129). Este alelo está asociado a una mayor actividad de la enzima FAAH y, por consiguiente, a reducidos niveles de endocannabinoides (eCBs) (Sipe et al., 2002; Chiang et al., 2004). Concretamente, se observó que los sujetos homocigotos 385C/C mostraron mayor analgesia inducida por placebo y mayor activación del sistema opioide durante la condición de placebo en diversas regiones cerebrales (NAc, caudado-putamen, tálamo, ínsula anterior, cíngulo anterior dorsal y rostral, corteza orbito-frontal, corteza prefrontal medial y dorsal y parahipocampo) que los portadores de alelos 385A. Dicha activación se correlacionó con la reducción en la intensidad de dolor asociada a la administración del placebo. Además, los resultados indicaron que el efecto aparecía en el sistema opioide durante la respuesta al placebo, pero no en el sistema dopaminérgico, ni durante el procesamiento del estímulo doloroso en ausencia de placebo.

Estos resultados concuerdan con estudios previos que demuestran que los bajos niveles crónicos de eCBs, una situación paralela a la observada en homocigotos 385A/A, pueden inducir decrementos compensatorios en la densidad de receptores CB1, lo que a su vez podría reducir la respuesta del sistema opioide por medio de interacciones entre ambos receptores ( $\mu$ -opioides y CB1) (Parolaro et al., 2010). Estos resultados están en concordancia con los hallazgos proporcionados por dos líneas de investigación en el estudio de los eCBs. Por un lado, apoya parcialmente los resultados de diversos estudios demostrando que los eCBs interactúan con el sistema opioide para modular la respuesta al dolor (Guindon and Hohmann, 2009; Parolaro et al., 2010). En este caso, nuestros resultados sobre la interacción entre los

sistemas opioide y cannabinoide sólo serían válidos para explicar la respuesta de analgesia por placebo y no la respuesta durante el procesamiento del dolor. Por otro lado, los resultados de este estudio están en consonancia con aquellos estudios que postulan la implicación de ambos sistemas en el procesamiento de la recompensa (Fattore et al., 2010) y en la analgesia inducida por estrés (Butler et al., 2008). En este sentido, cabría pensar que la respuesta de analgesia por placebo es una respuesta que implica un reforzamiento negativo y que, por tanto, la interacción entre los sistemas opioide y cannabinoide durante la condición placebo estaría relacionada con el valor hedónico que adquiere dicha analgesia. En consonancia, los resultados de este estudio indican que el polimorfismo del gen FAAH modula la actividad opioide y las valoraciones subjetivas de dolor sólo durante la condición placebo. Un resultado similar ha sido descrito en un estudio con voluntarios sanos mostrando que el polimorfismo C385A no estaba asociado a los umbrales de dolor por estimulación térmica (Kim et al., 2006). No obstante, estos resultados contrastan con los obtenidos en animales en los que se ha observado que la inhibición de la enzima FAAH se asociaba a un fenotipo hipoalgésico mediado por el receptor CB1 (Cravatt et al., 2001; Lichtman et al., 2004b; Lichtman et al., 2004a). En conclusión, los resultados sugieren que este marcador genético está implicado en el procesamiento del dolor y el placebo por mediación del sistema  $\mu$ -opioide, pero no por mediación del sistema dopaminérgico. Finalmente, las aportaciones derivadas de este estudio sugieren la posibilidad de que este marcador se encuentre implicado en las diferencias interindividuales en la respuesta a tratamientos analgésicos, pudiendo ayudar a identificar aquellos pacientes con resistencia al tratamiento.

Pecina M, Martínez-Jauand M, Goldman D, Stohler CS, Zubieta JK (2013) FAAH selectively influences placebo effects. *Molecular Psychiatry*. *Molecular Psychiatry* (in press)  
doi:10.1038/mp.2013.124

<http://www.nature.com/mp/journal/vaop/ncurrent/full/mp2013124a.html>

### **3.5 Estudio 5: *Temporal dissociation in the brain processing of pain and anger faces with different intensities of emotional expression***

Los trabajos quinto y sexto se llevaron a cabo para conocer la modulación psicosocial en la actividad cerebral eléctrica asociada a la observación de expresiones faciales (enfado y dolor) y experiencias somatosensoriales (tacto y dolor) en otras personas. El quinto estudio fue publicado en la revista *Pain* (factor de impacto: 5.777) (González-Roldan et al., 2011). El objetivo del estudio fue explorar la dinámica de la actividad cerebral desencadenada por expresiones faciales de dolor y enfado con diferentes niveles de intensidad expresiva. Para ello, se llevó a cabo el registro de la actividad electroencefalográfica (EEG) en 20 voluntarias sanas y se analizaron los potenciales evocados visuales (VEPs) mientras visualizaban rostros con expresión neutra, de dolor y de enfado. Además, se pidió a las participantes que valoraran la valencia (nivel de agrado o desagrado) y la activación o *arousal* que les provocaba cada imagen. Por último, también se llevaron a cabo análisis de la frecuencia de la señal de EEG correspondiente a cada categoría e intensidad de la expresión facial.

Los resultados del estudio revelaron que las expresiones faciales de dolor fueron consideradas como más desagradables y activantes que las expresiones de enfado y neutras, para todos los niveles de intensidad de la expresión facial. Además, las expresiones faciales de dolor y enfado de intensidad media y alta fueron percibidas como más desagradables y activantes que las de baja intensidad. Los resultados de los potenciales evocados visuales (VEPs) reflejaron que las expresiones faciales de dolor desencadenaban mayor amplitud en latencias entre 350 y 550 ms en zonas centrales (promedio de los electrodos C3, Cz y C4), mientras que las expresiones de enfado provocaban una mayor amplitud del componente P200 en áreas occipitales (promedio de los electrodos O1, Oz y O2). Por otro lado, los análisis de tiempo-frecuencia mostraron mayor incremento de actividad theta entre los 200 y 400 ms en áreas frontales (F3, Fz y F4), centrales (C3, Cz y C4) y parietales (P3, Pz, P4) durante la visualización de expresiones de enfado y dolor de alta intensidad en comparación con las expresiones de baja intensidad.

El incremento en las amplitudes de los VEPs, así como en la actividad theta asociada a las expresiones faciales de alta intensidad, parecen reflejar un mecanismo cerebral para la facilitación del procesamiento sensorial y posterior almacenamiento mnésico de aquellos estímulos motivacionalmente relevantes (Olofsson et al., 2008). Por otro lado, el incremento en la amplitud de componentes positivos en latencias más tardías es uno de los indicadores más estables del procesamiento de estímulos afectivos altamente activantes (Cuthbert et al.,

2000; Keil et al., 2002). Dado que las expresiones de dolor desencadenaron mayor actividad en estas latencias, los resultados sugieren que podrían estar siendo interpretadas como estímulos motivacionalmente más relevantes que las expresiones de enfado. No obstante, dado que las expresiones de dolor fueron calificadas como más desagradables y activantes que las de enfado para todos los niveles de intensidad, no fue posible determinar si las diferencias en el procesamiento cerebral son debidas al componente de valencia o al de activación (*arousal*) de las mismas. Por otro lado, desde una perspectiva evolutiva, tanto la expresión de enfado como de dolor podrían tener una función social relacionada con el procesamiento de estímulos amenazantes. En este sentido, visualizar la expresión de dolor agudo puede estar asociado a una respuesta de empatía en el observador. Esta interpretación concuerda con estudios previos que reflejan que el incremento de amplitudes de los VEPs en latencias posteriores a los 350 ms parece estar relacionado con una respuesta de empatía desencadenada al juzgar la experiencia de dolor observada en otros (Fan and Han, 2008). Por su parte, el incremento en la amplitud del componente P200 durante la visión de expresiones de enfado parece reflejar un mecanismo de detección de estímulos amenazantes (Carretié et al., 2001; Eimer et al., 2003; Ashley et al., 2004; Kubota and Ito, 2007), considerado como un indicador automático atencional. Finalmente, los distintos patrones de activación evocados por la visión de expresiones faciales de enfado y dolor sugieren la presencia de dos mecanismos cerebrales diferenciados para el procesamiento y reconocimiento de estas dos emociones. Esta interpretación concuerda con estudios de neuroimagen que revelan dos redes cerebrales diferenciadas, implicadas en el procesamiento de dolor (Apkarian et al., 2005; Tracey and Mantyh, 2007) y enfado (Britton et al., 2006).

González-Roldan AM, Martínez-Jauand M, Muñoz-García MA, Sitges C, Cifre I, Montoya P (2011) Temporal dissociation in the brain processing of pain and anger faces with different intensities of emotional expression. *Pain* 152:853-859.

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21296497>

### **3.6 Estudio 6: *Somatosensory activity modulation during observation of other's pain and touch***

El sexto y último estudio ha sido publicado en la revista *Brain Research* (factor de impacto: 2.739) (Martínez-Jauand et al., 2012). El objetivo del estudio era conocer si la observación de dolor y tacto en otros es capaz de modular los potenciales evocados somatosensoriales (SEP) desencadenados por estimulación táctil en un grupo de voluntarias sanas (n=23). Para ello se registró la actividad electroencefalográfica (EEG) mientras las participantes observaban video-clips representando una mano que estaba siendo penetrada por una aguja (condición de dolor), presionada por un bastoncillo (tacto) o en reposo en ausencia de estimulación (condición de mano en reposo). Además, se pidió a los participantes que estimaran la intensidad de la reacción emocional propia inducida por cada película (aversión) y la intensidad y desagrado de la estimulación física supuestamente experimentada por el modelo de las mismas.

Los resultados del estudio indicaron que la visión de experiencias somatosensoriales (dolor y táctil) modulaba la amplitud de los SEPs. Concretamente, se observó que la visión de video-clips que mostraban la mano de un modelo mientras era presionada por un bastoncillo (condición de tacto) o pinchada por una aguja (condición de dolor) desencadenaba mayores amplitudes del componente P50 en electrodos centro-parietales sobre el hemisferio contralateral a la estimulación, que la mera visión de la mano en ausencia de estimulación. Los resultados de las estimaciones subjetivas corroboraron que los video-clips de dolor fueron calificados como más desagradables que los videos de tacto. Asimismo, la amplitud del componente P50 durante la visión de los videos de dolor y tacto correlacionó con la estimación subjetiva de desagrado experimentado durante la visualización de estos mismos video-clips.

Estos datos concuerdan con estudios que reflejan que la observación de una experiencia corpórea en otros puede influir en el estado somático del propio observador (Keysers et al., 2010). Dado que los video-clips de tacto y dolor difieren en el desagrado que provocan, el efecto modulador podría estar reflejando un mecanismo atencional desencadenado durante el procesamiento de información viso-táctil en general, y no específico para el procesamiento del dolor. De hecho, la novedad de este estudio reside en que la modulación observada fue independiente del carácter nociceptivo de la estimulación experimentada por el modelo de los video-clips. En línea con esta interpretación, el aumento en la amplitud del componente P50 correlacionó con las puntuaciones en la escala Toma de Perspectiva del IRI (Davis, 1996). Este resultado sugiere que aquellos individuos más capaces para adoptar la perspectiva del otro son, asimismo, los que se tornan más vigilantes de sus

propias experiencias somáticas. No obstante, los resultados obtenidos en este estudio parecen ir parcialmente en contra de los resultados obtenidos en estudios previos. Por ejemplo, Bufalari y colaboradores (Bufalari et al., 2007), empleando un paradigma similar, mostraron incrementos del componente P45 elicitado por estímulos eléctricos no dolorosos durante la visualización de videos de dolor, mientras que la visualización de la condición de tacto provocó una inhibición de este mismo componente. De modo similar, Cheng y colaboradores (Cheng et al., 2008) mostraron una mayor activación de la corteza somatosensorial primaria durante la observación de situaciones dolorosas en comparación con la observación de situaciones similares, pero que no comportan dolor. Estas diferencias podrían explicarse por diversos factores tales como diferencias en la estimulación empleada para evocar los SEPs en los participantes (eléctrica vs. neumática), la congruencia entre éstas y la estimulación observada en los video-clips de dolor y tacto (pinchazo vs. presión del hisopo), o la perspectiva desde la que fueron visualizados (egocéntrica vs. alocéntrica).

En definitiva, los resultados de los estudios 5 y 6 sugieren la posibilidad de que los pacientes con dolor crónico presenten una exacerbada modulación social de la actividad cerebral como consecuencia de los fenómenos de hiperexcitabilidad y sensibilización central característicos en estos pacientes (Fitzgibbon et al., 2012). En este sentido, esta nueva hipótesis plantea la utilidad de estos paradigmas para ahondar en el estudio de la modulación social de los mecanismos centrales implicados en la cronificación del dolor.

Martínez-Jauand M, González-Roldán AM, Muñoz MA, Sitges C, Cifre I, Montoya P (2012)  
Somatosensory activity modulation during observation of other's pain and touch. Brain  
Res 1467:48-55.

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22683688>

#### **4. Discusión general y líneas futuras**

A continuación se integrarán las aportaciones de los diferentes estudios llevados a cabo en esta tesis doctoral, así como las futuras perspectivas que se plantean en base a los resultados obtenidos y a los intereses suscitados después de realizar estas investigaciones.

##### **4.1 Discusión general**

Las aportaciones derivadas de la presente tesis resaltan la influencia de los factores genéticos y psicosociales en el dolor. Los mecanismos responsables de la activación espontánea y prolongada de la percepción del dolor parecen, por tanto, responder a fenómenos complejos de índole variada. Desde una aproximación multidimensional al problema del dolor crónico, un primer determinante es la carga genética de los individuos, condicionada a su vez por la filogenia de la especie. Esta diferente carga genética podría ser responsable de claras diferencias raciales y poblacionales en la respuesta al dolor. Además, estos marcadores genéticos podrían determinar nuestra predisposición a que los diversos mecanismos de cronificación del dolor lleguen o no a instaurarse con el tiempo. No obstante, los polimorfismos genéticos no son los únicos factores que determinan la sensibilidad al dolor. La expresión de los genes es claramente dependiente del entorno del individuo y la función para la que estaban programados en el código genético puede que no se corresponda con su función final. En este sentido, las influencias epigenéticas, entendidas como todos aquellos factores no genéticos que intervienen en la ontogenia de un individuo, adquieren un papel determinante en la respuesta al dolor y su cronificación. Podríamos aquí destacar el género y el entorno social. Respecto al primero, las influencias e interacciones entre el género del individuo y su carga genética son claras y muy variadas, pudiendo exacerbar algunos fenotipos y atenuar otros. Es más, las diferencias de género determinadas por el efecto de hormonas sexuales y sus interacciones con otros sistemas son de suficiente magnitud para explicar, por sí solas, las diferencias en la respuesta al dolor crónico. En relación al segundo punto y en estrecha conexión con el género del individuo, se encuentra el entorno social del individuo y el aprendizaje que se desarrolla en el mismo. Este entorno va a determinar estilos de comportamiento, cogniciones y emociones individuales, que de igual modo van a condicionar nuestra respuesta al dolor, pudiendo nuevamente exacerbarla o suprimirla. Estos factores se combinan dando lugar a una marcada variabilidad interindividual en la respuesta al dolor y en el riesgo al dolor crónico. Finalmente, la presencia de distintas enfermedades o estados de enfermedad hará, de la respuesta al dolor, un fenómeno todavía más complejo y variable.

Las aportaciones de los trabajos de la presente tesis subrayan la naturaleza multidimensional de la respuesta y cronificación del dolor. De este modo, las investigaciones llevadas a cabo han permitido resaltar el peso de factores genéticos en las pequeñas variaciones en la misma (estudios 1, 3 y 4). También han permitido conocer que un evento dependiente del género como es la transición hacia la menopausia contribuye significativamente a explicar dicha variabilidad (estudio 2) y que tanto los factores genéticos como los relacionados con el género parecen interactuar para modular esta respuesta (estudio 3). Los trabajos derivados de la tesis también han permitido contribuir al avance en la comprensión de la modulación psicosocial del dolor, reflejando cómo la mera observación del dolor y experiencias somatosensoriales en otros puede modificar nuestra respuesta y procesamiento cerebral (estudios 5 y 6). En conjunto, estas aportaciones enfatizan la necesidad de una aproximación futura que permita indagar las interacciones genéticas, y epigenéticas, hormonales y psicosociales, que conduzcan a una comprensión más precisa del dolor crónico y sus mecanismos de instauración y mantenimiento.

#### 4.2 Líneas actuales y futuras

Los estudios previamente descritos y discutidos han abierto nuevas colaboraciones y líneas de investigación. En este sentido, los resultados obtenidos en el **estudio 1** han motivado el inicio de tres nuevos estudios para ahondar en el análisis de la influencia de marcadores en el gen COMT sobre la percepción del dolor. Un primer estudio se ha llevado a cabo gracias a la colaboración con la Fundación Kovacs y ha consistido en ampliar la muestra de estudio, incluyendo pacientes con dolor crónico lumbar. En este estudio, se ha aplicado el mismo protocolo de evaluación y análisis genéticos descrito anteriormente a una muestra adicional de 124 pacientes con dolor crónico lumbar que iban a ser sometidos a neuroreflejo terapia. Además, este estudio tiene por objeto explorar la respuesta a dicho tratamiento según la carga genética de los participantes, mediante evaluaciones del dolor clínico pre y post-tratamiento. El objetivo del segundo estudio es explorar los factores genéticos implicados en la actividad cerebral asociada al procesamiento del dolor. Para ello, ya se han realizado registros de EEG en 40 pacientes seleccionadas según la carga genética en el polimorfismo Val158Met, así como los haplotipos del gen COMT previamente descritos. El paradigma experimental ha consistido en la presentación de estímulos táctiles y eléctricos junto con estimulación dolorosa térmica en laterales opuestos del cuerpo. Este paradigma permite examinar la modulación inhibitoria endógena a través de vías descendentes de modulación del dolor. Esta respuesta ha sido

denominada efecto DNIC (del inglés *Diffuse Noxious Inhibitory Control*), el cual ha sido propuesto como una medida psicológica con elevada relevancia clínica para la caracterización de la capacidad de una persona para modular el dolor y con ello, la capacidad para desarrollar cuadros de dolor (Pud et al., 2009). Además, en este estudio se ha llevado a cabo la recogida de muestras de saliva para poder realizar el análisis de los niveles de hormonas sexuales femeninas que permitan ahondar en las relaciones observadas en el **estudio 2**.

Un tercer estudio se ha puesto en marcha con el objetivo de explorar diferencias en la conectividad cerebral funcional relacionada con la carga genética en el gen COMT. Para tal fin se llevaron a cabo 34 registros de fMRI en pacientes con FM que previamente participaron en el **estudio 1**, mientras realizaban una tarea de reposo.

A pesar de que los tres estudios mencionados anteriormente se encuentran actualmente en marcha, algunos datos preliminares apuntan de nuevo a diferencias significativas en el procesamiento cerebral del dolor en función de la carga genética en el gen COMT, así como en otros genes analizados (por ejemplo, el OPRM1). La experiencia adquirida mediante estos estudios también ha permitido establecer colaboraciones con otras universidades, entre ellas la Universidad de Zaragoza, permitiendo así ampliar el banco de muestras de pacientes a más de 500, lo que permitirá ahondar en los factores genéticos implicados en las características clínicas de los pacientes con dolor crónico. Actualmente, todas estas muestras han sido ya analizadas en los polimorfismos descritos en el **estudio 1**. Asimismo, se ha iniciado el análisis de nuevos polimorfismos, entre ellos el polimorfismo A118G del gen que codifica para el receptor  $\mu$ -opioide y el polimorfismo C385A del gen FAAH explorado en el **estudio 4**. Posteriormente, se contempla analizar otros polimorfismos tales como el Val66Met del gen BDNF. En este último caso, los efectos dependientes del género en un fenotipo de vulnerabilidad observado en el **estudio 3**, sugieren que este marcador podría contribuir a explicar las diferencias de género observadas en la sensibilidad al dolor y la prevalencia de las condiciones de dolor crónico y alteraciones del estado de ánimo que la acompañan. De hecho, un estudio reciente ha revelado resultados similares en esta misma línea, indicando que los niveles de BDNF se asocian a umbrales de dolor de forma opuesta en hombres y mujeres (Stefani et al., 2012). Entre las líneas futuras de trabajo, se incluye el explorar en pacientes con dolor crónico de espalda las diferencias dependientes del género en la incidencia, sensibilidad al dolor y respuesta al tratamiento en función del genotipo de los individuos en este polimorfismo.

Por último, otras líneas futuras comprenden el diseño de un *microarray* de ADN que permita una exploración más profunda de los marcadores genéticos, no sólo en la sintomatología dolorosa, sino también en la presencia de síntomas concomitantes tales como ansiedad, depresión y problemas de sueño, así como en la respuesta a fármacos y su metabolismo. Hasta la fecha, se ha iniciado el diseño de un *microarray* que contiene marcadores implicados en dolor incluyendo marcadores ancestrales informativos o AIMs.

En cuanto a los **estudios 5 y 6**, los resultados obtenidos plantean el interrogante de si en pacientes con dolor crónico el patrón de actividad cerebral en respuesta a la visión de dolor en otros varía respecto a lo observado en voluntarios sanos. Por el momento, se han realizado modificaciones en el paradigma para solventar parte de las limitaciones encontradas. No obstante, diversos estudios plantean que la sensibilización central e hiperexcitabilidad cortical previamente observada en estos pacientes y que da lugar a bajos umbrales al dolor, también se manifestará en una mayor actividad cerebral durante la observación de dolor o experiencias somatosensoriales en otros, pudiendo incrementar la percepción de dolor en uno mismo (Fitzgibbon et al., 2012).

Finalmente, algunos resultados obtenidos mediante los trabajos de la presente tesis, en particular, el **estudio 1** han permitido establecer un contrato de transferencia de la Universidad de las Islas Baleares (UIB) con el sector empresarial. El objetivo de la transferencia de resultados es la evaluación clínica estandarizada de pacientes con dolor crónico, incluyendo medidas de sensibilidad al dolor, una evaluación psicosocial, marcadores y haplotipos genéticos, todo ello a partir de los protocolos diseñados y de los resultados obtenidos. A su vez, estos datos están siendo utilizados en colaboración con el Grupo de Arquitectura y Comportamiento de Sistemas Informáticos y de Comunicaciones del Departamento de Matemáticas e Informática de la UIB para el desarrollo de un proyecto de máster que permita llevar a cabo una herramienta digitalizada de dicho protocolo, que a su vez integre reglas ontológicas para dar soporte al pronóstico, diagnóstico y tratamiento de pacientes con dolor crónico.

## 5. Conclusiones finales

- Hay una mayor frecuencia de genotipos y haplotipos asociados a una baja función de la enzima COMT y una alta sensibilidad al dolor en pacientes con fibromialgia en comparación con voluntarias sanas. Además, las pacientes portadoras de estas variantes genéticas exhibieron una mayor sensibilidad a estímulos dolorosos de diversas modalidades sensoriales (térmicos y mecánicos), así como mayores niveles de ansiedad. Estos resultados dan soporte a estudios previos, corroborando una implicación del gen COMT en el riesgo a desarrollar dolor crónico, así como en la alta sensibilización a estímulos dolorosos. Estos marcadores y haplotipos genéticos podrían dar soporte a la estratificación de pacientes con fibromialgia en subgrupos con distinto perfil clínico.
- Las pacientes con fibromialgia experimentaron la transición hacia la menopausia a edades más tempranas que las voluntarias sanas. Además, las pacientes con fibromialgia que experimentaron la menopausia de forma temprana exhibieron mayor sensibilidad tanto a estímulos dolorosos como no dolorosos, sugiriendo que un intervalo reducido de exposición a estrógenos y otras hormonas frecuentes en la etapa reproductiva de la mujer, puede constituir bien un factor de riesgo que predisponga a sufrir síndromes de dolor crónico, o bien actúe agravándolos.
- El alelo met66 del polimorfismo Val66Met, asociado a una reducida función de la proteína BDNF, se relacionó con un fenotipo de alta vulnerabilidad al estrés y una mayor señal BOLD en VTA durante la anticipación de acontecimientos estresantes (pérdidas monetarias). Además, en los portadores del alelo met66 se observó una elevada respuesta al dolor y una elevada activación del sistema dopaminérgico durante el dolor sostenido, y una reducida activación de este mismo sistema durante la administración de un placebo, así como una reducida analgesia en respuesta al mismo. Además, se observó que las diferencias asociadas a un fenotipo de vulnerabilidad se veían potenciadas en mujeres, pero anuladas o incluso opuestas en hombres, lo que sugiere que este marcador genético podría constituir la base de las diferencias de género ampliamente conocidas en el dolor crónico y los trastornos del estado de ánimo.
- El genotipo del polimorfismo C385A previamente asociado a una reducida actividad de la enzima FAAH, y por consiguiente, a elevados niveles de endocannabinoides, se ha asociado a una reducida respuesta placebo y reducida activación del sistema  $\mu$ -opioide

en diversas regiones cerebrales durante la administración de un placebo para el dolor, sin diferencias observadas durante la experiencia de dolor en ausencia de placebo, ni en la activación de receptores dopaminérgicos. Los datos indican que los elevados niveles crónicos de endocannabinoides asociados a este genotipo, podrían dar lugar a decrementos compensatorios en la densidad de receptores cannabinoides CB1, los que a su vez interactúan de diversos modos posibles con los receptores opioides. De este modo, los resultados sugieren que este marcador genético está implicado en la modulación del dolor y la respuesta al placebo por mediación del sistema  $\mu$ -opioide, pero no por mediación del sistema dopaminérgico. Asimismo, este estudio plantea la posibilidad de que este marcador module las diferencias interindividuales en la respuesta a tratamientos analgésicos en general, y opiadérgicos en particular.

- El contexto social modula la actividad cerebral eléctrica en respuesta a estímulos somatosensoriales y visuales. Mientras la visualización de experiencias somatosensoriales en otros no modula diferencialmente la información somatosensorial en función del carácter doloroso o no doloroso de dicha experiencia, la visualización de rostros reflejando dolor y enfado sí consigue modular diferencialmente la actividad cerebral.

### **Final conclusions**

- *There is a higher frequency of genotypes and haplotypes associated with low COMT enzyme function and high sensitivity to pain in fibromyalgia patients compared to healthy volunteers. In addition, patients carrying these genetic variants exhibited increased sensitivity to painful stimuli of various sensory modalities (thermal and mechanical) and higher levels of anxiety trait. These results support previous studies, confirming involvement of the COMT gene in the risk of developing chronic pain, as well as the high sensitization to painful stimuli. These genetic markers may support the stratification of fibromyalgia patients in subgroups with different clinical profiles.*
- *Fibromyalgia patients experienced an earlier age-of-onset of menopause than healthy volunteers. In addition, patients with fibromyalgia who experienced early menopause exhibited increased sensitivity to painful and non-painful stimuli, suggesting that an early transition to menopause (shortening the time of exposure to estrogens and other female sex hormones), can be a predisposing factor for chronic pain, and pain maintenance.*

- *The allele met66 of the Val66Met polymorphism, associated with a reduced BDNF protein function, was related with a phenotype characterized by high vulnerability to stress, high VTA BOLD response during anticipation of stressful life-events (monetary losses), high response to pain and high activation of the dopaminergic system during sustained pain, and reduced activation during administration of a placebo and placebo-induced analgesia. Moreover, most of these differences were enhanced in women but nullified or even were found to be the opposite in men, suggesting that this genetic marker may represent the basis of the widely known gender differences in the risk of depression among women compared to men.*
- *The genotype in the C385A polymorphism previously associated to a low activity of the FAAH enzyme, and therefore increased levels of endocannabinoids, has been associated with a reduced activation of the  $\mu$ -opioid system in various brain regions during placebo administration for pain, with no differences observed during sustained pain experience without placebo administration, neither in the activation of dopamine receptors. These data indicate that elevated chronic levels of endocannabinoids, associated with this genotype, may be related to compensatory reductions in CB1 cannabinoid receptors density, which in turn interact with opioid receptors. Thus, the results suggest that this genetic marker is involved in the modulation of pain response and reward through effects on  $\mu$ -opioid system, but not through the dopamine reward system. This study also raises the possibility of this marker to underlie interindividual differences in the response to pain relief, and more especially, in the response to opiodergic drugs.*
- *Social context modulates brain electrical activity in response to visual and somatosensory stimuli. While observation of somatosensory experiences in others modulates own somatosensory processing irrespective of whether participants were observing either a painful or non-painful bodily sensation, brain activity elicited by affective faces was differentially modulated by pain and anger.*

## Referencias

- Akkuş S, Delibaş N, Tamer MN (2000) Do sex hormones play a role in fibromyalgia? *Rheumatology (Oxford)* 39:1161-1163.
- Alonso C, Loevinger BL, Muller D, Coe CL (2004) Menstrual cycle influences on pain and emotion in women with fibromyalgia. *J Psychosom Res* 57:451-458.
- Apkarian AV, Bushnell MC, Treede RD, Zubieta JK (2005) Human brain mechanisms of pain perception and regulation in health and disease. *Eur J Pain* 9:463-484.
- Ashley V, Vuilleumier P, Swick D (2004) Time course and specificity of event-related potentials to emotional expressions. *Neuroreport* 15:211-216.
- Autry AE, Adachi M, Cheng P, Monteggia LM (2009) Gender-specific impact of brain-derived neurotrophic factor signaling on stress-induced depression-like behavior. *Biol Psychiatry* 66:84-90.
- Avenanti A, Minio-Paluello I, Bufalari I, Aglioti SM (2009a) The pain of a model in the personality of an onlooker: influence of state-reactivity and personality traits on embodied empathy for pain. *Neuroimage* 44:275-283.
- Avenanti A, Minio-Paluello I, Sforza A, Aglioti SM (2009b) Freezing or escaping? Opposite modulations of empathic reactivity to the pain of others. *Cortex* 45:1072-1077.
- Avenanti A, Minio-Paluello I, Minio Paluello I, Bufalari I, Aglioti SM (2006) Stimulus-driven modulation of motor-evoked potentials during observation of others' pain. *Neuroimage* 32:316-324.
- Banissy MJ, Garrido L, Kusnir F, Duchaine B, Walsh V, Ward J (2011) Superior facial expression, but not identity recognition, in mirror-touch synesthesia. *J Neurosci* 31:1820-1824.
- Bates MS, Rankin-Hill L (1994) Control, culture and chronic pain. *Soc Sci Med* 39:629-645.
- Berridge KC, Robinson TE (2003) Parsing reward. *Trends Neurosci* 26:507-513.
- Berton O, McClung CA, Dileone RJ, Krishnan V, Renthal W, Russo SJ, Graham D, Tsankova NM, Bolanos CA, Rios M, Monteggia LM, Self DW, Nestler EJ (2006) Essential role of BDNF in the mesolimbic dopamine pathway in social defeat stress. *Science* 311:864-868.
- Blakemore SJ, Bristow D, Bird G, Frith C, Ward J (2005) Somatosensory activations during the observation of touch and a case of vision-touch synaesthesia. *Brain* 128:1571-1583.
- Breivik H, Collett B, Ventafridda V, Cohen R, Gallacher D (2006) Survey of chronic pain in Europe: prevalence, impact on daily life, and treatment. *Eur J Pain* 10:287-333.
- Britton JC, Taylor SF, Sudheimer KD, Liberzon I (2006) Facial expressions and complex IAPS pictures: common and differential networks. *Neuroimage* 31:906-919.
- Bufalari I, Aprile T, Avenanti A, Di Russo F, Aglioti SM (2007) Empathy for pain and touch in the human somatosensory cortex. *Cereb Cortex* 17:2553-2561.
- Butler RK, Rea K, Lang Y, Gavin AM, Finn DP (2008) Endocannabinoid-mediated enhancement of fear-conditioned analgesia in rats: opioid receptor dependency and molecular correlates. *Pain* 140:491-500.
- Carette S, Dessureault M, Bélanger A (1992) Fibromyalgia and sex hormones. *J Rheumatol* 19:831.
- Carmona L, Ballina J, Gabriel R, Laffon A, Group ES (2001) The burden of musculoskeletal diseases in the general population of Spain: results from a national survey. *Ann Rheum Dis* 60:1040-1045.
- Carretié L, Mercado F, Tapia M, Hinojosa JA (2001) Emotion, attention, and the 'negativity bias', studied through event-related potentials. *Int J Psychophysiol* 41:75-85.
- Chen ZY, Patel PD, Sant G, Meng CX, Teng KK, Hempstead BL, Lee FS (2004) Variant brain-derived neurotrophic factor (BDNF) (Met66) alters the intracellular trafficking and activity-dependent secretion of wild-type BDNF in neurosecretory cells and cortical neurons. *J Neurosci* 24:4401-4411.

- Cheng Y, Yang CY, Lin CP, Lee PL, Decety J (2008) The perception of pain in others suppresses somatosensory oscillations: a magnetoencephalography study. *Neuroimage* 40:1833-1840.
- Chiang KP, Gerber AL, Sipe JC, Cravatt BF (2004) Reduced cellular expression and activity of the P129T mutant of human fatty acid amide hydrolase: evidence for a link between defects in the endocannabinoid system and problem drug use. *Hum Mol Genet* 13:2113-2119.
- Cifre I, Sitges C, Fraiman D, Muñoz M, Balenzuela P, González-Roldán A, Martínez-Jauand M, Birbaumer N, Chialvo DR, Montoya P (2012) Disrupted functional connectivity of the pain network in fibromyalgia. *Psychosom Med* 74:55-62.
- Craft RM (2007) Modulation of pain by estrogens. *Pain* 132 Suppl 1:S3-12.
- Cravatt BF, Demarest K, Patricelli MP, Bracey MH, Giang DK, Martin BR, Lichtman AH (2001) Supersensitivity to anandamide and enhanced endogenous cannabinoid signaling in mice lacking fatty acid amide hydrolase. *Proc Natl Acad Sci U S A* 98:9371-9376.
- Cuthbert BN, Schupp HT, Bradley MM, Birbaumer N, Lang PJ (2000) Brain potentials in affective picture processing: covariation with autonomic arousal and affective report. *Biol Psychol* 52:95-111.
- Davis MH (1996) *Empathy : a social psychological approach*. Boulder, Colo.: WestviewPress.
- Diatchenko L, Nackley AG, Slade GD, Bhalang K, Belfer I, Max MB, Goldman D, Maixner W (2006) Catechol-O-methyltransferase gene polymorphisms are associated with multiple pain-evoking stimuli. *Pain* 125:216-224.
- Diatchenko L, Slade GD, Nackley AG, Bhalang K, Sigurdsson A, Belfer I, Goldman D, Xu K, Shabalina SA, Shagin D, Max MB, Makarov SS, Maixner W (2005) Genetic basis for individual variations in pain perception and the development of a chronic pain condition. *Hum Mol Genet* 14:135-143.
- Duman RS, Monteggia LM (2006) A neurotrophic model for stress-related mood disorders. *Biol Psychiatry* 59:1116-1127.
- Egan MF, Kojima M, Callicott JH, Goldberg TE, Kolachana BS, Bertolino A, Zaitsev E, Gold B, Goldman D, Dean M, Lu B, Weinberger DR (2003) The BDNF val66met polymorphism affects activity-dependent secretion of BDNF and human memory and hippocampal function. *Cell* 112:257-269.
- Eimer M, Holmes A, McGlone FP (2003) The role of spatial attention in the processing of facial expression: an ERP study of rapid brain responses to six basic emotions. *Cogn Affect Behav Neurosci* 3:97-110.
- Fan Y, Han S (2008) Temporal dynamic of neural mechanisms involved in empathy for pain: an event-related brain potential study. *Neuropsychologia* 46:160-173.
- Fattore L, Melis M, Fadda P, Pistis M, Fratta W (2010) The endocannabinoid system and nondrug rewarding behaviours. *Exp Neurol* 224:23-36.
- Felson DT, Cummings SR (2005) Aromatase inhibitors and the syndrome of arthralgias with estrogen deprivation. *Arthritis Rheum* 52:2594-2598.
- Fitzgibbon BM, Enticott PG, Rich AN, Giummarra MJ, Georgiou-Karistianis N, Bradshaw JL (2012) Mirror-sensory synaesthesia: exploring 'shared' sensory experiences as synaesthesia. *Neurosci Biobehav Rev* 36:645-657.
- George SR, Kertesz M (1987) Met-enkephalin concentrations in striatum respond reciprocally to alterations in dopamine neurotransmission. *Peptides* 8:487-492.
- Gil KM, Keefe FJ, Crisson JE, Van Dalfsen PJ (1987) Social support and pain behavior. *Pain* 29:209-217.
- Godinho F, Magnin M, Frot M, Perchet C, Garcia-Larrea L (2006) Emotional modulation of pain: is it the sensation or what we recall? *J Neurosci* 26:11454-11461.
- Goller AI, Richards K, Novak S, Ward J (2011) Mirror-touch synaesthesia in the phantom limbs of amputees. *Cortex*.

- González-Roldan AM, Martínez-Jauand M, Muñoz-García MA, Sitges C, Cifre I, Montoya P (2011) Temporal dissociation in the brain processing of pain and anger faces with different intensities of emotional expression. *Pain* 152:853-859.
- Goya P, Jagerovic N, Hernandez-Folgado L, Martin MI (2003) Cannabinoids and neuropathic pain. *Mini Rev Med Chem* 3:765-772.
- Gracely RH, Petzke F, Wolf JM, Clauw DJ (2002) Functional magnetic resonance imaging evidence of augmented pain processing in fibromyalgia. *Arthritis Rheum* 46:1333-1343.
- Gracely RH, Geisser ME, Giesecke T, Grant MA, Petzke F, Williams DA, Clauw DJ (2004) Pain catastrophizing and neural responses to pain among persons with fibromyalgia. *Brain* 127:835-843.
- Gran JT (2003) The epidemiology of chronic generalized musculoskeletal pain. *Best Pract Res Clin Rheumatol* 17:547-561.
- Guindon J, Hohmann AG (2009) The endocannabinoid system and pain. *CNS Neurol Disord Drug Targets* 8:403-421.
- Gur A, Cevik R, Sarac AJ, Colpan L, Em S (2004) Hypothalamic-pituitary-gonadal axis and cortisol in young women with primary fibromyalgia: the potential roles of depression, fatigue, and sleep disturbance in the occurrence of hypocortisolism. *Ann Rheum Dis* 63:1504-1506.
- Hagen K, Pettersen E, Stovner LJ, Skorpen F, Zwart JA (2006) The association between headache and Val158Met polymorphism in the catechol-O-methyltransferase gene: the HUNT Study. *J Headache Pain* 7:70-74.
- Haller VL, Cichewicz DL, Welch SP (2006) Non-cannabinoid CB1, non-cannabinoid CB2 antinociceptive effects of several novel compounds in the PPQ stretch test in mice. *Eur J Pharmacol* 546:60-68.
- Halligan PW, Marshall JC, Hunt M, Wade DT (1997) Somatosensory assessment: can seeing produce feeling? *J Neurol* 244:199-203.
- Harris RE, Clauw DJ, Scott DJ, McLean SA, Gracely RH, Zubieta JK (2007) Decreased central mu-opioid receptor availability in fibromyalgia. *J Neurosci* 27:10000-10006.
- Hohmann AG (2002) Spinal and peripheral mechanisms of cannabinoid antinociception: behavioral, neurophysiological and neuroanatomical perspectives. *Chem Phys Lipids* 121:173-190.
- Hyman C, Hofer M, Barde YA, Juhasz M, Yancopoulos GD, Squinto SP, Lindsay RM (1991) BDNF is a neurotrophic factor for dopaminergic neurons of the substantia nigra. *Nature* 350:230-232.
- Inui K, Tran TD, Qiu Y, Wang X, Hoshiyama M, Kakigi R (2002) Pain-related magnetic fields evoked by intra-epidermal electrical stimulation in humans. *Clin Neurophysiol* 113:298-304.
- Jabbi M, Swart M, Keysers C (2007) Empathy for positive and negative emotions in the gustatory cortex. *Neuroimage* 34:1744-1753.
- Josep García-Fructuoso F, Ignacio Lao-Villadóniga J, Beyer K, Santos C (2006) [Relationship between COMT gene genotypes and severity of fibromyalgia]. *Reumatol Clin* 2:168-172.
- Keil A, Bradley MM, Hauk O, Rockstroh B, Elbert T, Lang PJ (2002) Large-scale neural correlates of affective picture processing. *Psychophysiology* 39:641-649.
- Keizer D, Fael D, Wierda JM, van Wijhe M (2008) Quantitative sensory testing with Von Frey monofilaments in patients with allodynia: what are we quantifying? *Clin J Pain* 24:463-466.
- Keysers C, Kaas JH, Gazzola V (2010) Somatosensation in social perception. *Nat Rev Neurosci* 11:417-428.

- Keysers C, Wicker B, Gazzola V, Anton JL, Fogassi L, Gallese V (2004) A touching sight: SII/PV activation during the observation and experience of touch. *Neuron* 42:335-346.
- Khasar SG, McCarter G, Levine JD (1999) Epinephrine produces a beta-adrenergic receptor-mediated mechanical hyperalgesia and in vitro sensitization of rat nociceptors. *J Neurophysiol* 81:1104-1112.
- Kim H, Mittal DP, Iadarola MJ, Dionne RA (2006) Genetic predictors for acute experimental cold and heat pain sensitivity in humans. *J Med Genet* 43:e40.
- Kim H, Neubert JK, San Miguel A, Xu K, Krishnaraju RK, Iadarola MJ, Goldman D, Dionne RA (2004) Genetic influence on variability in human acute experimental pain sensitivity associated with gender, ethnicity and psychological temperament. *Pain* 109:488-496.
- Krishnan V et al. (2007) Molecular adaptations underlying susceptibility and resistance to social defeat in brain reward regions. *Cell* 131:391-404.
- Kubota JT, Ito TA (2007) Multiple Cues in Social Perception: The Time Course of Processing Race and Facial Expression. *J Exp Soc Psychol* 43:738-752.
- Lamm C, Nusbaum HC, Meltzoff AN, Decety J (2007) What are you feeling? Using functional magnetic resonance imaging to assess the modulation of sensory and affective responses during empathy for pain. *PLoS One* 2:e1292.
- Laske C, Stransky E, Eschweiler GW, Klein R, Wittorf A, Leyhe T, Richartz E, Köhler N, Bartels M, Buchkremer G, Schott K (2007) Increased BDNF serum concentration in fibromyalgia with or without depression or antidepressants. *J Psychiatr Res* 41:600-605.
- Li F, Zhang JW, Wei R, Luo XG, Zhang JY, Zhou XF, Li CQ, Dai RP (2010) Sex-differential modulation of visceral pain by brain derived neurotrophic factor (BDNF) in rats. *Neurosci Lett* 478:184-187.
- Lichtman AH, Shelton CC, Advani T, Cravatt BF (2004a) Mice lacking fatty acid amide hydrolase exhibit a cannabinoid receptor-mediated phenotypic hypoalgesia. *Pain* 109:319-327.
- Lichtman AH, Leung D, Shelton CC, Saghatelian A, Hardouin C, Boger DL, Cravatt BF (2004b) Reversible inhibitors of fatty acid amide hydrolase that promote analgesia: evidence for an unprecedented combination of potency and selectivity. *J Pharmacol Exp Ther* 311:441-448.
- Lorenz J, Grasedyck K, Bromm B (1996) Middle and long latency somatosensory evoked potentials after painful laser stimulation in patients with fibromyalgia syndrome. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 100:165-168.
- Lotta T, Vidgren J, Tilgmann C, Ulmanen I, Melén K, Julkunen I, Taskinen J (1995) Kinetics of human soluble and membrane-bound catechol O-methyltransferase: a revised mechanism and description of the thermolabile variant of the enzyme. *Biochemistry* 34:4202-4210.
- Lötsch J, Geisslinger G (2007) Current evidence for a modulation of nociception by human genetic polymorphisms. *Pain* 132:18-22.
- Magliano M (2010) Menopausal arthralgia: Fact or fiction. *Maturitas* 67:29-33.
- Martin BR, Lichtman AH (1998) Cannabinoid transmission and pain perception. *Neurobiol Dis* 5:447-461.
- Martin VT (2009) Ovarian hormones and pain response: a review of clinical and basic science studies. *Gend Med* 6 Suppl 2:168-192.
- Martinowich K, Manji H, Lu B (2007) New insights into BDNF function in depression and anxiety. *Nat Neurosci* 10:1089-1093.
- Martínez-Jauand M, González-Roldán AM, Muñoz MA, Sitges C, Cifre I, Montoya P (2012) Somatosensory activity modulation during observation of other's pain and touch. *Brain Res* 1467:48-55.
- Martínez-Jauand M, Sitges C, Rodríguez V, Picornell A, Ramon M, Buskila D, Montoya P (2013a) Pain sensitivity in fibromyalgia is associated with catechol-O-methyltransferase (COMT) gene. *Eur J Pain* 17:16-27.

- Martínez-Jauand M, Sitges C, Femenia J, Cifre I, González S, Chialvo D, Montoya P (2013b) Age-of-onset of menopause is associated with enhanced painful and non-painful sensitivity in fibromyalgia. *Clin Rheumatol*.
- Merskey H, Bogduk N (1994) *Classification of Chronic Pain: Descriptions of Chronic Pain Syndromes and Definitions of Pain Terms*. Seattle: IASP Press.
- Miczek KA, Nikulina EM, Shimamoto A, Covington HE, 3rd (2011) Escalated or suppressed cocaine reward, tegmental BDNF, and accumbal dopamine caused by episodic versus continuous social stress in rats. *J Neurosci* 31:9848-9857.
- Minio-Paluello I, Avenanti A, Aglioti SM (2006) Left hemisphere dominance in reading the sensory qualities of others' pain? *Soc Neurosci* 1:320-333.
- Minio-Paluello I, Baron-Cohen S, Avenanti A, Walsh V, Aglioti SM (2009) Absence of embodied empathy during pain observation in Asperger syndrome. *Biol Psychiatry* 65:55-62.
- Miranda RC, Sohrabji F, Toran-Allerand CD (1993) Presumptive Estrogen Target Neurons Express mRNAs for both the Neurotrophins and Neurotrophin Receptors: A Basis for Potential Developmental Interactions of Estrogen with the Neurotrophins. *Mol Cell Neurosci* 4:510-525.
- Monteggia LM, Luikart B, Barrot M, Theobald D, Malkovska I, Nef S, Parada LF, Nestler EJ (2007) Brain-derived neurotrophic factor conditional knockouts show gender differences in depression-related behaviors. *Biol Psychiatry* 61:187-197.
- Montoya P, Larbig W, Braun C, Preissl H, Birbaumer N (2004) Influence of social support and emotional context on pain processing and magnetic brain responses in fibromyalgia. *Arthritis Rheum* 50:4035-4044.
- Montoya P, Sitges C, García-Herrera M, Izquierdo R, Truyols M, Blay N, Collado D (2005) Abnormal affective modulation of somatosensory brain processing among patients with fibromyalgia. *Psychosom Med* 67:957-963.
- Nackley AG, Tan KS, Fecho K, Flood P, Diatchenko L, Maixner W (2007) Catechol-O-methyltransferase inhibition increases pain sensitivity through activation of both beta2- and beta3-adrenergic receptors. *Pain* 128:199-208.
- Nagasako EM, Oaklander AL, Dworkin RH (2003) Congenital insensitivity to pain: an update. *Pain* 101:213-219.
- Okifuji A, Turk DC (2006) Sex hormones and pain in regularly menstruating women with fibromyalgia syndrome. *J Pain* 7:851-859.
- Olofsson JK, Nordin S, Sequeira H, Polich J (2008) Affective picture processing: an integrative review of ERP findings. *Biol Psychol* 77:247-265.
- Ostensen M, Rugelsj en A, Wiggers SH (1997) The effect of reproductive events and alterations of sex hormone levels on the symptoms of fibromyalgia. *Scand J Rheumatol* 26:355-360.
- Pamuk ON, Cakir N (2005) The variation in chronic widespread pain and other symptoms in fibromyalgia patients. The effects of menses and menopause. *Clin Exp Rheumatol* 23:778-782.
- Pamuk ON, D nmez S, Cakir N (2009) Increased frequencies of hysterectomy and early menopause in fibromyalgia patients: a comparative study. *Clin Rheumatol* 28:561-564.
- Parolaro D, Rubino T, Vigano D, Massi P, Guidali C, Realini N (2010) Cellular mechanisms underlying the interaction between cannabinoid and opioid system. *Curr Drug Targets* 11:393-405.
- Peciña, M., Martínez-Jauand, M., Hodkinson, C., Goldman, D., Zubieta, J.K. (2013). FAAH selectively influences placebo effects. *Molecular Psychiatry* (in press).
- Pertwee RG (2001) Cannabinoid receptors and pain. *Prog Neurobiol* 63:569-611.

- Poole GD, Craig KD (1992) Judgments of genuine, suppressed, and faked facial expressions of pain. *J Pers Soc Psychol* 63:797-805.
- Preston SD, de Waal FB (2002) Empathy: Its ultimate and proximate bases. *Behav Brain Sci* 25:1-20; discussion 20-71.
- Pud D, Granovsky Y, Yarnitsky D (2009) The methodology of experimentally induced diffuse noxious inhibitory control (DNIC)-like effect in humans. *Pain* 144:16-19.
- Rakvåg TT, Klepstad P, Baar C, Kvam TM, Dale O, Kaasa S, Krokan HE, Skorpen F (2005) The Val158Met polymorphism of the human catechol-O-methyltransferase (COMT) gene may influence morphine requirements in cancer pain patients. *Pain* 116:73-78.
- Ramachandran VS, Brang D (2009) Sensations evoked in patients with amputation from watching an individual whose corresponding intact limb is being touched. *Arch Neurol* 66:1281-1284.
- Raphael KG, Marbach JJ (2000) Comorbid fibromyalgia accounts for reduced fecundity in women with myofascial face pain. *Clin J Pain* 16:29-36.
- Rizzolatti G, Fadiga L, Gallese V, Fogassi L (1996) Premotor cortex and the recognition of motor actions. *Brain Res Cogn Brain Res* 3:131-141.
- Robbins TW, Everitt BJ (1996) Neurobehavioural mechanisms of reward and motivation. *Curr Opin Neurobiol* 6:228-236.
- Schaefer M, Flor H, Heinze HJ, Rotte M (2006) Dynamic modulation of the primary somatosensory cortex during seeing and feeling a touched hand. *Neuroimage* 29:587-592.
- Schochat T, Beckmann C (2003) [Sociodemographic characteristics, risk factors and reproductive history in subjects with fibromyalgia--results of a population-based case-control study]. *Z Rheumatol* 62:46-59.
- Scott DJ, Heitzeg MM, Koeppe RA, Stohler CS, Zubieta JK (2006) Variations in the human pain stress experience mediated by ventral and dorsal basal ganglia dopamine activity. *J Neurosci* 26:10789-10795.
- Scott DJ, Stohler CS, Egnatuk CM, Wang H, Koeppe RA, Zubieta JK (2008) Placebo and nocebo effects are defined by opposite opioid and dopaminergic responses. *Arch Gen Psychiatry* 65:220-231.
- Simon D, Craig KD, Gosselin F, Belin P, Rainville P (2008) Recognition and discrimination of prototypical dynamic expressions of pain and emotions. *Pain* 135:55-64.
- Singer T, Seymour B, O'Doherty J, Kaube H, Dolan RJ, Frith CD (2004) Empathy for pain involves the affective but not sensory components of pain. *Science* 303:1157-1162.
- Sipe JC, Chiang K, Gerber AL, Beutler E, Cravatt BF (2002) A missense mutation in human fatty acid amide hydrolase associated with problem drug use. *Proc Natl Acad Sci U S A* 99:8394-8399.
- Sitges C, García-Herrera M, Pericás M, Collado D, Truyols M, Montoya P (2007) Abnormal brain processing of affective and sensory pain descriptors in chronic pain patients. *J Affect Disord* 104:73-82.
- Stefani LC, Torres IL, de Souza IC, Rozisky JR, Fregni F, Caumo W (2012) BDNF as an effect modifier for gender effects on pain thresholds in healthy subjects. *Neurosci Lett* 514:62-66.
- Stohler CS, Kowalski CJ (1999) Spatial and temporal summation of sensory and affective dimensions of deep somatic pain. *Pain* 79:165-173.
- Tracey I, Mantyh PW (2007) The cerebral signature for pain perception and its modulation. *Neuron* 55:377-391.
- Unruh AM (1996) Gender variations in clinical pain experience. *Pain* 65:123-167.
- Valenti O, Lodge DJ, Grace AA (2011) Aversive stimuli alter ventral tegmental area dopamine neuron activity via a common action in the ventral hippocampus. *J Neurosci* 31:4280-4289.

- Valeriani M, Betti V, Le Pera D, De Armas L, Miliucci R, Restuccia D, Avenanti A, Aglioti SM (2008) Seeing the pain of others while being in pain: a laser-evoked potentials study. *Neuroimage* 40:1419-1428.
- Vargas-Alarcón G, Fragoso JM, Cruz-Robles D, Vargas A, Lao-Villadóniga JI, García-Fructuoso F, Ramos-Kuri M, Hernández F, Springall R, Bojalil R, Vallejo M, Martínez-Lavín M (2007) Catechol-O-methyltransferase gene haplotypes in Mexican and Spanish patients with fibromyalgia. *Arthritis Res Ther* 9:R110.
- Waxman J, Zatzkis SM (1986) Fibromyalgia and menopause. Examination of the relationship. *Postgrad Med* 80:165-167, 170-161.
- Wicker B, Keysers C, Plailly J, Royet JP, Gallese V, Rizzolatti G (2003) Both of us disgusted in My insula: the common neural basis of seeing and feeling disgust. *Neuron* 40:655-664.
- Williams IJ, Edwards S, Rubo A, Haller VL, Stevens DL, Welch SP (2006) Time course of the enhancement and restoration of the analgesic efficacy of codeine and morphine by delta9-tetrahydrocannabinol. *Eur J Pharmacol* 539:57-63.
- Wolfe F, Ross K, Anderson J, Russell IJ (1995a) Aspects of fibromyalgia in the general population: sex, pain threshold, and fibromyalgia symptoms. *J Rheumatol* 22:151-156.
- Wolfe F, Ross K, Anderson J, Russell IJ, Hebert L (1995b) The prevalence and characteristics of fibromyalgia in the general population. *Arthritis Rheum* 38:19-28.
- Zatzick DF, Dimsdale JE (1990) Cultural variations in response to painful stimuli. *Psychosom Med* 52:544-557.
- Zink CF, Pagnoni G, Martin ME, Dhamala M, Berns GS (2003) Human striatal response to salient nonrewarding stimuli. *J Neurosci* 23:8092-8097.
- Zubieta JK, Dannals RF, Frost JJ (1999) Gender and age influences on human brain mu-opioid receptor binding measured by PET. *Am J Psychiatry* 156:842-848.
- Zubieta JK, Heitzeg MM, Smith YR, Bueller JA, Xu K, Xu Y, Koeppe RA, Stohler CS, Goldman D (2003) COMT val158met genotype affects mu-opioid neurotransmitter responses to a pain stressor. *Science* 299:1240-1243.

