



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

**PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS MÉDICAS,
ODONTOLÓGICAS Y DE LA SALUD
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO
INSTITUTO NACIONAL DE REHABILITACIÓN**

**ASOCIACIÓN DE UN POLIMORFISMO DEL GEN SCN9A CON LA
PERCEPCIÓN AL DOLOR EN PACIENTES CON DOLOR CRÓNICO DE
ESPALDA BAJA**

T E S I S

**QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:
MAESTRA EN CIENCIAS MÉDICAS**

PRESENTA:

DRA. TANIA INÉS NAVA BRINGAS

TUTOR:

**DR. ANTONIO MIRANDA DUARTE.
PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS MÉDICAS,
ODONTOLÓGICAS Y DE LA SALUD**

MÉXICO, DF.

MARZO 2015



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

AGRADECIMIENTOS:

Al Dr. Antonio Miranda Duarte por su apoyo incondicional y sobre todo su amistad a través de estos años.

A la QFB. Norma Celia González Huerta quien con dedicación y paciencia participó activamente en el proyecto.

A mi esposo Emmanuel por su compañía durante estos 18 años y ahora a Rodrigo por estar presente en nuestras vidas.

A mi familia por su apoyo incondicional.

INDICE

- I. RESUMEN**
- II. ANTECEDENTES**
- III. JUSTIFICACIÓN**
- IV. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**
- V. HIPÓTESIS**
- VI. OBJETIVOS**
- VII. METODOLOGÍA**
- VIII. ANALISIS ESTADÍSTICO**
- IX. ASPECTOS ÉTICOS**
- X. RESULTADOS**
- XI. DISCUSIÓN**
- XII. CONCLUSIÓN**
- XIII. ANEXOS**
- XIV. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

I. RESUMEN

Introducción: La variabilidad individual a la percepción del dolor ha sido estudiada sin lograr determinar cuáles mecanismos proporcionan las diferencias y la importancia que tienen los factores genéticos contra los ambientales sobre el desarrollo de dolor crónico de espalda baja.

Objetivo: Establecer la asociación del polimorfismo rs6746030 del SCN9A con la percepción de dolor en pacientes con dolor crónico de espalda baja.

Material y Métodos: Estudio de casos y controles. Casos: pacientes con dolor crónico de espalda baja que acudan a la consulta externa del INR. Controles: hospitalarios sin antecedente de cuadros de dolor crónico de espalda baja. Se aplicará el Cuestionario de Dolor de Mc Gill versión corta, así como recolección de covariables implicadas en la patología del dolor crónico de espalda baja. Se realizó la detección del polimorfismo del gen SCN9A en la población.

Análisis estadístico: Estadística descriptiva para resumir los datos. Comparación entre grupos mediante t de Student para datos independientes y para variables cualitativas chi cuadrada (χ^2). Se realizó un análisis de regresión logística no condicional, estimando la razón de momios para la asociación del polimorfismo del gen SCN9A a través del exponencial de los coeficientes de regresión en forma univariada y multivariada. Modelo multivariado con las variables que en el análisis univariado mostraron un valor de $p \leq 0.15$. El nivel de significancia fue de 0.05.

Resultados: Se incluyeron 132 individuos, 69 casos con D dolor crónico de espalda baja y 63 controles sanos. La edad promedio de los casos fue de 34.07 ± 7.3 años y de los controles fue de 31.82 ± 6.1 años. La distribución por sexos para ambos grupos se muestra en la tabla 1, sin diferencias significativas ($p = 0.82$). El análisis mostró desequilibrio de HW en el grupo control ($p = 0.0367$); al hacer el análisis comparativo de frecuencias de genotipos y frecuencias alélicas no se encontró una diferencia estadísticamente significativa entre grupos. ($p > 0.05$).

Igualmente se probó mediante análisis multivariado que no existiera posibles confusores, sin encontrar diferencias significativas en los alelos y genotipos estudiados.

Conclusiones: En el presente estudio el polimorfismo rs6746030 del gen SCN9A no mostró encontrarse asociado al dolor en pacientes con dolor crónico de espalda baja.

II. ANTECEDENTES

El dolor puede considerarse un beneficio evolutivo para proteger a las especies de sufrir lesión o daño, sin embargo, cuando se torna persistente e intenso puede generar un estado de enfermedad por sí solo perdiendo su fin primario y convirtiéndose en una fuente interminable de sufrimiento. Se estima que más del 60% de la población ha experimentado dolor por al menos un día durante toda su vida. (Marina-Camargo et al., 2004).

Según la Asociación Internacional para el Estudio del Dolor (IASP, por sus siglas en inglés), puede definirse como “una experiencia emocional y sensorial desagradable asociada a un daño tisular real o potencial, o descrito en términos de dicho daño” (Verhaakaet al., 1998).

“El dolor es lo que el paciente dice y existe cuando el paciente dice que lo tiene” (Malleson P et al. 2001). Su estudio va mas allá de las alteraciones físicas, siendo un complejo fenómeno multidimensional que constituye una experiencia subjetiva única para cada persona y que se relaciona con múltiples factores. (Holdcroft et al., 2003).

Algunas de las principales razones por la cual el alivio del dolor continúa siendo un reto para el clínico radica en la extensa variabilidad intersujeto sobre la percepción al mismo, la propensión al desarrollo de dolor crónico y en la respuesta a los analgésicos. (LaCroix-Fralish, Mogil 2009).

La variabilidad intersujeto ha sido documentada en estudios experimentales y clínicos sin lograr determinar con seguridad cuales son los mecanismos que en humanos proporcionan estas diferencias en la percepción y la importancia relativa que tienen los factores genéticos contra los ambientales sobre el desarrollo de dolor crónico. (Lacroix-Fralish et al., 2009). Por ejemplo, es bien conocida la asociación de síndromes de dolor crónico posteriores a un trauma o infección específica (ej. síndrome de dolor central posterior a un evento vascular cerebral, neuralgia pos herpética después de una infección por herpes zoster), sin embargo, las investigaciones consistentemente demuestran que solo una pequeña proporción de la población desarrollará estos cuadros de dolor probablemente relacionado a factores intrínsecos, tal vez genéticos. (Andersen et al., 1995; Cluff et al., 1998).

Múltiples modelos genéticos, primordialmente murinos, se han utilizado para el estudio del dolor. A través de la crianza de cepas con diversas características relacionadas al dolor y el estudio de sus descendientes, se ha determinado una heredabilidad (h^2) para la nocicepción con rangos que van de 28 a 76%, lo cual sugiere la existencia de factores genéticos relacionados. (Mogil et al., 1996; Lacroix et al., 2009).

A partir de las investigaciones en modelos animales se ha propuesto una serie de “genes del dolor”, incluso existe una base de datos disponible vía electrónica donde se pueden consultar las investigaciones sobre dolor y genética en modelos animales (LaCroix-Fralish, 2007; <http://www.jbldesign.com/jmogil/enter.html>)

El estudio de los genes asociados al dolor en humanos está aún en desarrollo y son pocos los genes identificados a la fecha (Diatchenko L et al., 2005).

Existen algunos estudios en gemelos con resultados variables, lográndose demostrar una h^2 con rangos que van desde el cero (Michalowicz et al, 2000) hasta el 68% (McGregor et al, 2004; Norbury et al., 2007; Fejer et al., 2006). Es importante resaltar que estas investigaciones han sido realizadas primordialmente en etnias caucásicas, lo cual podría no ser aplicable todas las poblaciones (Edwards 2001, Campbell 2008).

Los genes involucrados en la percepción al dolor en humanos han logrado ser identificados estudiando enfermedades poco frecuentes, como la Insensibilidad Congénita al Dolor y el Dolor Patológico, entre otras (Lacroix 2009). Así mismo, mediante estudios de asociación genética, se han identificado varios genes en enfermedades más comunes y su relación con la percepción o respuesta al dolor. (Lacroix 2009).

Entre estos últimos estudios, destacan los efectos clínicos de las mutaciones del gen SCN9A (Cox 2006, Fretleman 2006, Yang 2004, Estación 2008). Este gen se localiza en el cromosoma 2q24.3, contiene 26 exones y codifica la subunidad α del canal de sodio activado por voltaje Nav1.7. Tiene un papel crítico en la generación, amplificación y conducción de los potenciales de acción originados en los nociceptores, y sus mutaciones tienen diversos efectos clínicos tales como la eritemalgia primaria y la insensibilidad congénita al dolor, entre otras patologías. (Michels et al., 2005; Raymond et al., 2004 Waxman 2005, Rush 2006). (Ver Figura 1 y 2 en anexos).

Reimann et al, describió una interesante asociación entre la presencia de un polimorfismo del gen SCN9A con el dolor; el rs6746030 (A/G), encontrando al alelo A como de riesgo para presentar una alteración en los umbrales al dolor

($p=0.0158$). Esto fue replicado en 6 cohortes con diferentes tipos de dolor entre las cuales se encontraban patologías de columna (dolor post disectomia, radiculopatía lumbosacra, ciática). Este SNP (por las siglas en inglés de Single Nucleotide Polymorphism) está localizado en el exón 18 y el alelo A produce un cambio de triptofano por arginina en la posición 1150 del Nav 1.7 (Nav1.7-R1150W) (Reimman et al, 2010).

El Dolor crónico de Espalda Baja (DCEB) es un problema de salud pública mundial y a pesar de varias décadas de investigación sobre las causas, persiste mucha confusión en cuanto a los factores que influyen en el desarrollo y cronicidad del cuadro, como en la respuesta individual a los tratamientos disponibles. (Harvitgsen 2004).

Prácticamente todos los individuos sufrirán un episodio de Dolor Bajo de Espalda (DBE) en algún momento de su vida (80 a 90%) y hasta un 40% de la población sufrirá un evento de ciática relacionado a problemas de columna, (Covarrubias 2010, Waxman 2000) sin embargo, no existe una correlación lineal entre el dolor referido por el paciente y las alteraciones anatomo-patológicas halladas, y es posible llegar a un diagnóstico etiológico solo en 10 a 20% de los casos de DEB. Aún más significativo es que se calcula que hasta un tercio de la población puede presentar de manera asintomática alteraciones en estudios de imagen de columna, reportándose evidencia de hernias de disco en personas de 20-39 años, 40-60 años, y más de 60 años de edad en aproximadamente 21%, 22% y 36%, respectivamente. (Filler AG et al, 2005).

La mayoría de los estudios previos sobre el DEB se basan en los factores ambientales como la principal causa de dolor; sin embargo, estudios recientes

sobre la susceptibilidad genética al dolor han tomado un papel importante en el entendimiento de las enfermedades de la columna. (Hartvigsen J, 2003, 2004). La contribución genética al dolor de espalda en la actualidad es en gran parte desconocida y los resultados de los estudios en gemelos son controversiales. Un estudio danés encontró en un diseño de casos y controles que la exposición al trabajo físico era probablemente más importante que los genes hallados en gemelos en el DBE (Hartvigsen 2003). En contra parte, Bengtsson y Thorson, reportaron mayor concordancia de DBE en gemelos monocigóticos en comparación con gemelos dicigóticos. (Bengtsson 1991). Otro estudio llevado a cabo en 223 pares de gemelos encontró una moderada asociación de los factores genéticos en la presentación de DEB para los pacientes masculinos, sin encontrar dicha asociación para las mujeres (concordancia en monocigotos de 0.35 con IC 0.27 - 0.43, dicigotos 0.24 con IC 0.18 - 0.30, heredabilidad estimada para hombres 0.27 IC 0.03 - 0.51 y mujeres -0.08 IC -0.28 a -0.12). (Hartvigsen 2005). Siendo el dolor el principal motivo de consulta médica, y frecuentemente, la principal medida de desenlace satisfactorio cuando se instala un tratamiento, es ocasionalmente frustrante -para el paciente y el médico- no obtener los resultados deseados en el control del mismo, obligándonos a investigar los procesos que ocasionan dolor en la población en general, y cuales factores realmente determinarían un pronóstico de mejoría.

A la fecha no se conoce las posibles asociaciones en nuestra población del polimorfismo del gen SCN9A y su influencia en la percepción al dolor en pacientes con DCEB, lo cual representa un nuevo horizonte en su estudio.

III. JUSTIFICACIÓN

El DCEB es la segunda causa de atención médica en los países industrializados. Es causa de discapacidad crónica, deterioro en la calidad de vida y afecciones en múltiples esferas de los pacientes, sus familiares y la sociedad; condicionante de pérdidas millonarias de la economía (Breivik et al., 2006; Elliott et al., 1999; Andersson et al., 1999). Tiene gran impacto sobre la calidad de vida de los pacientes afectando su estado de ánimo, personalidad y relaciones sociales, generando fatiga y disminución de la función física general y limitando la ejecución de las actividades de la vida diaria (AVD).

A pesar de la constante investigación en el campo de la prevención y tratamiento de las patologías de columna, el progreso sobre el control efectivo del dolor y el entendimiento de los mecanismos que regulan las diferencias en la percepción individual al dolor son insuficientes. La necesidad constante de ofrecer un tratamiento efectivo para abolir o disminuir los síntomas asociados a los cuadros de dolor lumbar crónico nos obliga a analizar todas las posibles causas asociadas y que determina su gravedad, para en un futuro de ser posible, diseñar tratamientos efectivos contra el dolor.

El encontrar un marcador biológico asociado a la percepción del dolor en DCEB elevaría la posibilidad de detectar casos que tengan una tendencia a desarrollar cuadros crónicos y tomar medidas preventivas. En el Instituto Nacional de Rehabilitación (INR) contamos con los recursos humanos y materiales que nos permiten realizar dicha investigación, así como con la población que es interés de este estudio, al ser un centro de referencia nacional; ignorar esta necesidad tiene

un impacto directo en la calidad de vida de los pacientes, así como en los costos de atención médica.

IV. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

¿Existe asociación del polimorfismo rs6746030 del gen SCN9A y la percepción al dolor en pacientes con DCEB?

V. HIPÓTESIS

El polimorfismo rs6746030 del gen SCN9A mostrará una asociación directa con el dolor en pacientes con DCBE.

VI. OBJETIVO

Establecer la asociación del polimorfismo rs6746030 del SCN9A con la percepción de dolor en pacientes con DCEB.

VII. METODOLOGÍA

Diseño del estudio: Estudio de casos y controles no pareado.

Descripción del Universo: Pacientes con diagnóstico clínico de DCEB de la consulta del servicio de Rehabilitación de Columna del INR.

Criterios de selección de la muestra:

a) **Criterios de selección de los casos**

Criterios de inclusión.

- Sexo masculino y femenino.
- De 18 a 45 años.
- Presencia de dolor lumbar crónico de tipo mecánico.
- Mestizos mexicanos (al menos 3 generaciones nacidas en el país).

Criterios de exclusión.

- Dolor lumbar de tipo No mecánico.
- Antecedente de cirugía lumbar.
- Datos clínicos de radiculopatía lumbar.
- Datos radiológicos de espondilolistesis, escoliosis, fractura vertebral.
- Polineuropatía de cualquier tipo primordialmente diabética.
- Enfermedades neuromusculares.
- Analfabetas.
- Portadores de algún otro tipo de Dolor crónico superior a 12 semanas.

b) Criterios de selección de los controles**Criterios de inclusión.**

- Sexo masculino y femenino sin antecedente de DCEB.
- De 18 a 45 años.
- Mestizos mexicanos (al menos 3 generaciones nacidas en el país).

Criterios de exclusión.

- Antecedente de cirugía lumbar.
- Polineuropatía de cualquier tipo primordialmente diabética.

- Enfermedades neuromusculares.
- Datos radiológicos de espondilolistesis, escoliosis, fractura vertebral.
- Analfabetas.
- Que sean familiares de los casos seleccionados.
- Portadores de algún otro tipo de Dolor crónico superior a 12 semanas.

Tamaño de la muestra

El tamaño de muestra se calculó con base en la fórmula para un estudio de casos y controles no pareado (Schlesselman JJ, 1982) y tomando en cuenta la prevalencia de 14.2% del polimorfismo del gen SCN9A en sujetos controles (Valdes 2011). Se muestran los resultados de la muestra necesaria por grupo de acuerdo a distintos panoramas.

R	$z \alpha$	$z \beta$	N
2	1.96	1.28	291
2.5	1.96	1.28	157
3	1.96	1.28	104

Donde:

α = Probabilidad de error tipo I

β = Probabilidad de error tipo II

R = Riesgo mínimo que interesa demostrar

N = Número de casos con 1 control por caso

Se utilizó la siguiente fórmula:

$$N = [Z\alpha\sqrt{2pq} + Z\beta\sqrt{(p_1q_1 + p_0q_0)}]^2 / (p_1 - p_0)^2$$

Donde:

$$p_1 = p_0 R / [1 + p_0(R - 1)] \quad \text{y:} \quad \bar{p} = \frac{1}{2} (p_1 + p_0) \bar{q} = 1 - \bar{p}q_1 = 1 - p_1q_0 = 1 - p_0$$

DEFINICIÓN OPERATIVA DE LAS VARIABLES

VARIABLE DEPENDIENTE

Dolor Crónico de Espalda Baja (DCEB): Fue definido clínicamente, mediante interrogatorio y exploración física y con estudios radiográficos. Los pacientes con DCEB fueron aquellos con una descripción del cuadro según la siguiente definición: “dolor o molestia localizada por debajo del margen costal inferior y por arriba del pliegue inferior glúteo, que puede o no ser referido a miembros pélvicos, con una duración superior a 12 semanas (Airaksimen O et al., 2006).

Los controles fueron pacientes que no reportaron antecedente de un cuadro de dolor persistente por más de 3 meses de evolución en la región descrita previamente.

Dolor. Se categorizo en dos grupos según la presencia o ausencia de dolor (casos y controles)

Además se aplicó se utilizó el Cuestionario de Dolor de Mc Gill en su versión corta “MPQ-SV” en español (Anexos). Este instrumento es auto aplicable, ya está validado en su versión en español, y ha sido aplicado en diferentes países hispanoparlantes como México, Argentina, Costa Rica, España y Panamá (Bejarano et al., 1985; Masedo et al., 2000; Boreau et al., 1984; Vanderiet et al., 1994). Tiene amplia aceptación entre los profesionales de la salud y proporciona una valoración del dolor desde una triple perspectiva: a) sensorial b) afectivo-

motivacional, y c) evaluativo. Es la escala de principal elección para evaluación del dolor crónico. (Serrano-Atero et al., 2002). Consta de 15 descriptores (11 sensoriales y 4 afectivos) en los que el paciente puntúa de 0 a 3 según sea su dolor: “ninguno”, “leve”, “moderado” y “severo”. Incluye el índice de intensidad del dolor (“PPI”), con respuestas desde “sin dolor” hasta “insoportable”; y una Escala visual análoga (EVA), para la valoración del dolor en el momento actual.

La EVA fue diseñada por Scout Huskinson, en 1976, consiste en una línea vertical de 10 cm de longitud dispuesta entre dos puntos donde figuran las expresiones “no dolor” y “máximo dolor imaginable”, el paciente marcará aquel punto de la línea que mejor refleje el dolor que padece. Su principal ventaja estriba en el hecho de que no contienen números o palabras descriptivas. Su validez para la medición del dolor ha sido demostrada en numerosos estudios y su fiabilidad también ha sido evaluada, encontrándose satisfactoria para la mayoría de los autores (Price DD, 1983, 1988; Yarnitsky et al., 1996).

Como resultados se obtiene del MPQ SV:

1.- EVA: 0 a 100 mm. Cuantitativa 2. Palabras. Total 0 a 45. (Sensorial 0/33 Afectivos 0/12). Ordinal. 3. PPI. Respuesta seleccionada. Ordinal.

VARIABLE INDEPENDIENTE. Nominal.

GENOTIPIFICACIÓN DEL GEN SCN9A: La tipificación del rs6746030 del gen SCN9A se realizó con ensayo TaqMan siguiendo las instrucciones del proveedor (AppliedBiosystems)

COVARIABLES.

Se interrogaron y registraron los factores que por su papel sobre el DCEB pudieran tener influencia en los resultados obtenidos para poder realizar un control durante el análisis estadístico. Ver sección de anexos.

Procedimientos

Reclutamiento y estudio de los Casos.

- I. Identificación de pacientes candidatos al estudio mediante verificación clínica y radiológica de la presencia de un cuadro de DCEB de la consulta externa de Rehabilitación de Columna del Instituto Nacional de Rehabilitación.
- II. Invitación al protocolo y firma de Consentimiento informado (Ver anexos)
- III. Llenado de formato de recolección de datos.
 - a. Datos demográficos y clínicos relevantes (Se anexa formato).
 - b. Aplicación de Cuestionario de Dolor de Mc Gill.
- IV. Análisis genético: Toma de muestra de sangre y determinación de polimorfismos.

Reclutamiento y estudio de los Controles.

- I. Invitación de Controles de Hospitalarios.
- II. Firma de Consentimiento informado (Ver anexos)
- III. Llenado de formato de recolección de datos y evaluación en consulta.
 - a. Datos demográficos y clínicos relevantes (Se anexa formato).
 - b. Aplicación de Cuestionario de Dolor de Mc Gill.
- IV. Análisis genético: Toma de muestra de sangre y determinación de polimorfismos.

ADN: Se obtuvo de leucocitos de sangre periférica empleando un procedimiento de saltingout; subsecuentemente se usó PCR para amplificar los fragmentos.

Las reacciones se llevaron a cabo en un termociclador en un volumen total de 50 μ l, conteniendo 50mM KCl, 10 mM tris HCl (pH 8.3), 1.5 mM MgCl₂, 200 μ M de cada dNTP, 0.2 μ M de cada primer, 1.25 unidades de Taq DNA polimerasa y 300 ng de DNA. Después de un periodo inicial de desnaturalización de 5 minutos a 94°C, un total de 32 ciclos se desarrollaron como sigue: desnaturalización por 45 a 94°C, primer annealing por 45 segundos a una temperatura específica para el iniciador y una extensión del iniciador por 60 segundos a 72°C.

Posteriormente se realizó la tipificación del polimorfismo rs6746030 del gen SCN9A con ensayo TaqMan para PCR en tiempo real siguiendo las instrucciones del proveedor (AppliedBiosystems).

La genotipificación por PCR en tiempo real consiste en la reacción de replicación del DNA *in vitro* mediante ciclos repetidos para amplificar y simultáneamente cuantificar la tasa de generación de los productos específicos en cada ciclo, mediante la medición de una onda fluorescente específica.

Se utilizará una sonda TaqMan para el SNP capaz de discriminar la diferencia entre nucleótidos, marcada con un fluoróforo de diferente longitud de emisión y que permitirá detectar la generación de cadenas hijas de DNA. La sonda TaqMan tiene una molécula reportera (fluorescente) y una molécula apagadora (quencher) que bloquea su emisión mientras estén cercanas.

La TaqDNA polimerasa también tiene actividad 5'-exonucleasa, degradando la sonda Taqman y separando así el reportero del apagador.

Dichas mezclas marcadas serán leídas en el termociclador (Rotor-Gene Q 2plex) que alberga sensores para medir la fluorescencia tras excitar el fluoróforo a la longitud de onda apropiada, permitiendo medir la tasa de generación de los productos específicos.

VIII. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Las variables cuantitativas se resumieron obteniendo promedio y desviación estándar, la comparación entre los grupos se realizó mediante la prueba de t de Student para datos independientes. Para las variables cualitativas se realizó chi cuadrada.

Debido al diseño de casos y controles se realizó un análisis de regresión logística no condicional, estimando la razón de momios para la asociación del polimorfismo del gen SCN9A a través del exponencial de los coeficientes de regresión en forma univariada y multivariada. Para formar el modelo multivariado se tomaron las variables que en el análisis univariado mostraron un valor de $p \leq 0.15$. El nivel de significancia alfa fue de 0.05.

IX. CONSIDERACIONES ÉTICAS.

El estudio se adaptó a los principios científicos y éticos para la investigación en seres humanos de acuerdo a la Declaración de Helsinki (De Roy PG. Helsinki and the Declaration of Helsinki. World Med J 2004; 50/1:9-11)

Aunque la toma de muestra sanguínea confiere un riesgo mínimo, para incluir a los casos siempre se procedió a entrevistarse con los pacientes para invitarlos a participar y sólo se incluyeron cuando dieron su consentimiento.

Se explicó de forma sencilla y comprensiva la naturaleza del estudio y la necesidad de la toma de muestra sanguínea, sin ejercer ningún tipo de presión para convencerlos de su colaboración.

Quienes aceptaron participar en el estudio firmaron una carta de consentimiento diseñada previamente (Anexos).

Asimismo, cuando se invitaron controles sanos se procedió de la misma forma que con los casos, y sólo quienes aceptaron participar ingresaron al estudio, sin intervenir en su decisión y firmando la carta de consentimiento.

X. RESULTADOS.

a) Características demográficas y antropométricas de la muestra.

Se incluyeron 132 individuos, 69 casos con DCEB y 63 controles sanos.

La edad promedio de los casos fue de 34.07 ± 7.3 años y de los controles fue de 31.82 ± 6.1 años, sin diferencias significativas ($p= 0.059$). La distribución por sexos para ambos grupos se muestra en la tabla 1, sin diferencias significativas ($p= 0.82$).

En cuanto a las variables antropométricas se realizaron comparaciones del peso, talla e índice de masa corporal (IMC) en la población de casos y de controles, con mayores promedios de IMC en los casos, siendo esta diferencia estadísticamente significativa ($p = 0.004$). Ver tabla 2.

En cuanto a la escolaridad para el grupo de casos encontramos que la mayoría era de nivel licenciatura (27 individuos) seguido por preparatoria (20 individuos), y el resto de nivel secundaria, primaria y posgrado (11, 6 y 5 casos respectivamente). Para el grupo de los controles el nivel posgrado fue el más frecuente (34 individuos) seguido del nivel licenciatura (20 individuos) y el resto de preparatoria, primaria y secundaria (6, 2 y 1 caso respectivamente).

Respecto al estado civil la mayoría tanto de casos y controles eran solteros (37 y 41 individuos respectivamente), seguido por estado civil casado (22 y 17

respectivamente) y una minoría de divorciados (2 controles y 4 casos) y unión libre (6 casos y 3 controles).

El lugar de residencia de la mayoría tanto de los casos (64 individuos) como de los controles (56 individuos) fue el Distrito Federal, y en cuanto al lugar de nacimiento encontramos igualmente para casos y controles que la mayoría eran originarios del área metropolitana (38 controles y 53 casos) y el resto distribuidos en estados del interior de la república (25 controles y 16 casos).

En la ocupación encontramos que el grupo de casos reportaba que tanto la ocupación actual, como el antecedente de haber realizado actividades consideradas de riesgo para DCEB, se encontraba de manera más frecuente que en el grupo de controles, siendo esto estadísticamente significativo ($p = 0.03$).

Respecto al nivel socioeconómico para el grupo de casos encontramos que la mayoría era de nivel 3 (40 individuos) seguido del nivel socioeconómico 2 (22 individuos), y una minoría de nivel 1 y 4 (1 y 6 casos respectivamente). Para el grupo de los controles igualmente el nivel socioeconómico más frecuente fue el nivel 3 (30 individuos) seguido del nivel 4 (28 individuos) y nivel 2 (5 individuos) sin reportar para este grupo nivel 1.

Sobre el antecedente de realizar actividad física de manera regular en el momento del estudio, encontramos que la frecuencia es menor en los casos que en los controles ($p= 0.02$). Ver tabla 3.

b) Características clínicas de la muestra.

El tiempo promedio de evolución del DCEB en el grupo de casos fue de 4.9 ± 4.92 años. En la mayoría de los casos no se ubicó un desencadenante del cuadro (39.13%) seguido por el dolor asociado a posturas inadecuadas (30.43%) a trauma de baja energía como contusiones leves (24.64%) y esfuerzos repetitivos (5.8%).

Los resultados de las escalas de dolor y funcionalidad para el grupo de casos se muestran en la tabla 4.

Tanto el antecedente de depresión y ansiedad tuvieron frecuencias similares en ambos grupos sin diferencia. ($p > 0.05$). Ver tablas 5 y 6.

Sobre el antecedente de tabaquismo no se encontraron diferencias entre grupos, sin embargo si había mayor frecuencia en exfumadores durante el interrogatorio en el grupo de casos en comparación con los controles, siendo estadísticamente significativo. $p = 0.32$.

c) Análisis genético.

Del total de la muestra analizada, la frecuencia del Alelo G en controles fue 90% contra 92% en casos y la frecuencia del Alelo A fue del 10% en controles contra el 8% en casos. Los Genotipos encontrados en la muestra de controles se distribuyó de la siguiente manera: para el genotipo AA la frecuencia fue del 3.7%, para el AG una frecuencia del 12.70% y para el genotipo GG la frecuencia fue del 84.13%. En cuanto a los genotipos en los casos reportamos las siguientes frecuencias: Genotipo AG del 15.94%, GG del 84.96%, sin encontrar casos con genotipo AA.

(Ver tabla 7). El análisis mostró desequilibrio de HW en el grupo control ($p=0.0367$); al hacer el análisis comparativo de frecuencias de genotipos y frecuencias alélicas no se encontró una diferencia estadísticamente significativa entre grupos. ($p > 0.05$).

Igualmente se probó mediante análisis multivariado que no existiera posibles confusores que alterarán los resultados, incluyendo a la edad, el sexo, el índice de masa corporal, el antecedente de tabaquismo y el antecedente actividad deportiva en el análisis al ser los principales factores diferenciados en los grupos de casos y controles, sin encontrar diferencias significativas en los alelos y genotipos estudiados. Ver tabla 8.

XI. DISCUSIÓN

A pesar de la prevalencia e impacto económico y social del DCEB, el aspecto genético del dolor lumbar no ha sido estudiado a profundidad cuando se compara con las investigaciones realizadas en otras patologías. . (Lacroix 2009).

La gran mayoría de las publicaciones sobre dolor lumbar se enfocan en el aspecto ambiental, sin embargo la relevancia del presente trabajo es analizar potenciales factores genéticos relacionados con la respuesta individual al dolor y el entendimiento en la cronicidad de esta patología.

En primera instancia, podemos confirmar con los hallazgos de esta investigación, que las características clínicas de la población incluida concuerdan con la literatura internacional, donde se menciona que el DCEB afecta primordialmente a

personas en edad económicamente activa, solteros y del sexo femenino. Solo reportamos diferencias en que los sujetos de estudio tenían en promedio mayor nivel educativo y socioeconómico, lo cual pudiera explicarse porque son residentes del área metropolitana (teniendo acceso a mejores servicios en comparación con zonas rurales), y en el caso de los controles sanos, al ser voluntarios, tienen un perfil educativo y sociocultural que generalmente está relacionado con la aceptación a participar como sujetos de estudio en diseños de este tipo. (Kovacs 2003, Kovacs 2006, Currie 2004, Shiphorst 2008, Day 2010).

En cuanto a las características del dolor, encontramos similitudes con otros estudios respecto a la intensidad y severidad referida por los pacientes con DBEC (Curie 2001, Kovacs 2006, Cook 2006). Al analizar los factores psicológicos, encontramos menor frecuencia de depresión o ansiedad al compararlo con lo reportado por Currie, quien encuentra estas comorbilidades en el 19.8% de los pacientes con DBEC y del 5.9% en pacientes en población general, siendo que en el presente estudio los porcentajes fueron del 7.9% en casos y de 4.3% en controles, igualmente puede estar explicado por el tipo de población que como control se acerca voluntariamente a participar en el estudio.. (Currie 2001).

El factor genético del “individuo” para la percepción del dolor puede ser determinante en la comprensión del DCEB y de la alta variabilidad en las respuestas al tratamiento.

Existen varios genes estudiados previamente en asociación potencial con el DCEB como los genes de la GTP ciclohidrolasa 1, la Interleucina-1 (α y β), la Interleucina-1 receptor agonista, la Interleucina-6, el gen de la Catecol-O-metiltransferasa, entre otros. (Lacroix 2009, Diatchenko 2006.)

En cuanto al motivo de estudio en la presente investigación, los resultados del grupo de Reimman sobre la influencia del gen SCN9A en la modulación al dolor en pacientes con DCEB, nos permitieron ampliar nuestro conocimiento y explorar otras áreas de potencial influencia en esta patología, incluso durante el desarrollo de este trabajo revisamos los resultados publicados por Vargas-Alarcon y cols, quienes confirman la presencia del polimorfismo de nuestro interés en controles sanos mexicanos (prevalencia del 6.5%), y aun cuando no se encontró asociado con el motivo de su investigación, si reportan la asociación de otro polimorfismo del mismo gen, el rs6754031, en 73 mexicanas con diagnóstico de fibromialgia al compararlo con sus controles; dicha enfermedad es conocida por generar dolor crónico en quienes lo padecen, con lo cual se menciona la posible implicación de una alteración en el funcionamiento de los canales de sodio NAV 1.7 en la etiología de la fibromialgia.

Analizando nuestros resultados, no fue posible al momento demostrar la asociación del polimorfismo rs6754030 del gen SCN9A con el DCEB en esta primera etapa, sin embargo cabe resaltar que se incluyó únicamente un SNP , y que esto no descarta que dicho gen se encuentre asociado con el DCEB,

debiendo incrementar la población de estudio e incluir otros SNPs relacionados con el dolor crónico, antes de emitir conclusiones.

De hecho, consideramos que los resultados de esta investigación nos ayudan a reafirmar la importancia de reproducir estas investigaciones en nuestra población, ya que SNPs relacionados en estudios previos (y en poblaciones caucásicas), no son determinantes de los hallazgos que serán relevantes para la población mestiza, y por ende, los tratamientos y modelos fisiopatogenicos del DCEB, pueden no ser traspolables a nuestra población, justificando la alta variabilidad de respuesta a tratamientos.

Aun con nuestros hallazgos, consideramos importante mencionar que los resultados no son determinantes ya que la muestra es pequeña y encontramos en desequilibrio de Hardy Weiberg a los controles. Esto puede ser explicado por situaciones tan diversas como que los alelos no se hayan segregado de forma independiente en la población, o que el apareamiento no fue al azar, o que los alelos reflejan una mutación reciente que aún no ha alcanzado el equilibrio, hasta sesgos en la selección de los sujetos controles por la existencia de una estratificación de la población (Salanti F, 2005.Trikalinos, 2006).

A pesar de las limitaciones mencionadas, este es el primer estudio reportado en población mexicana con DCEB, lo que nos permite iniciar una línea de investigación que proporcione un entendimiento del factor genético implicado en la fisiopatogenia del dolor crónico y que nos oriente en cuales son los modelos que

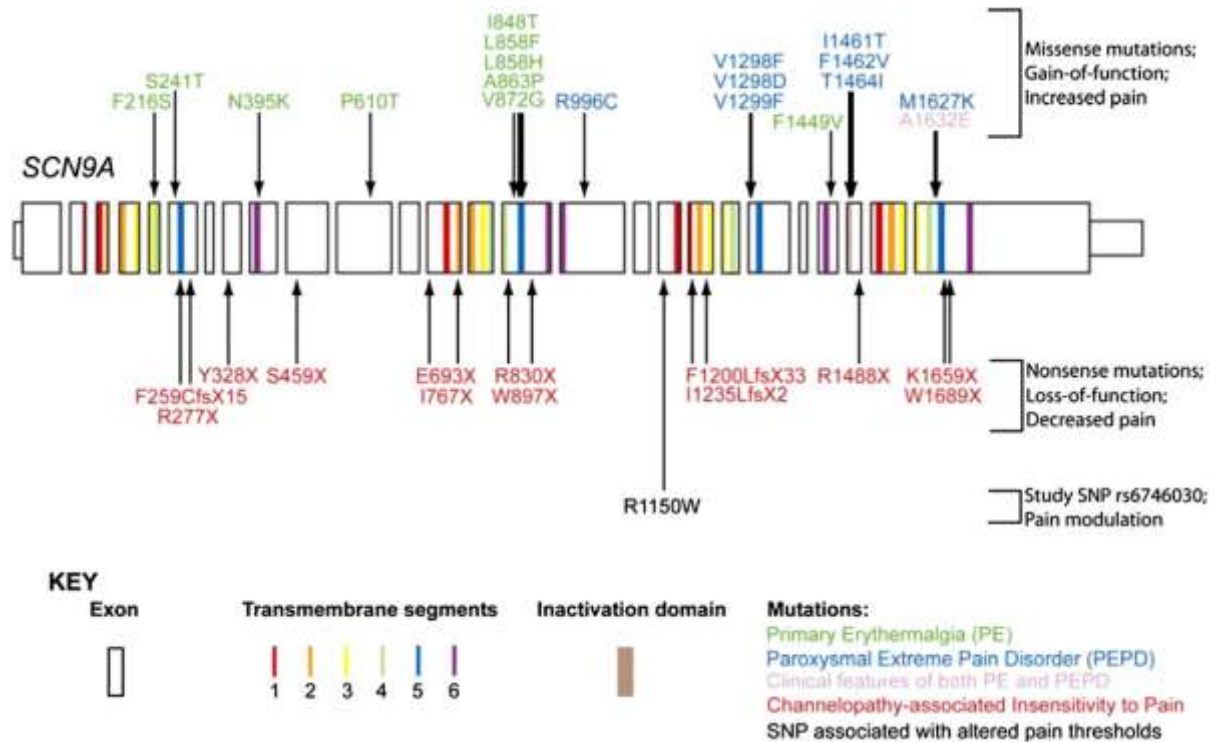
deberemos investigar en el futuro en nuestra población, incluyendo nuevos SNPs y ampliando nuestra muestra de pacientes.

XII. CONCLUSIONES.

En el presente estudio el polimorfismo rs6746030 del gen SCN9A no mostró encontrarse asociado al dolor en pacientes con DCBE.

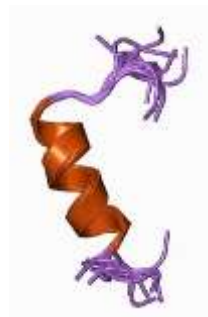
XIII. ANEXOS

Figura 1. Esquema del Gen SCN9A y sus mutaciones conocidas resultantes en patologías en la percepción al dolor.



Tomado de: Reimann F, PNAS. 2010.

Figura 2. Representación gráfica de la estructura molecular del Nav 1.7.



Formato de recolección de datos.**Datos Generales.**

Nombre: _____

Edad ____ Sexo: __ Expediente _____ CLas Socioec _____

Dirección: _____

Ciudad de Residencia: DF ____ . Foráneo: _____

Teléfonos: _____

Estado civil: _____ Escolaridad: _____

Actividad Deportiva: _____ Tiempo _____ Horas/día _____

Historia Deportiva previa: _____

Ocupación: _____ Desempleado _____

Historia Laboral previa:

Tiempo de evolución de dolor (MESES) _____

Tabaquismo Sí ____ Tiempo ____ No ____ Exfumador ____ Cigarros/día ____

Uso de analgésicos, tiempo de uso, dosis y frecuencia

EXPLORACION FISICA

Peso _____ Talla _____ IMC _____

Genética. Polimorfismo rs6746030:

AA _____ AG _____ GG _____


Cuestionario de Dolor de MPQ SV

Nombre:

A. Por favor describa su dolor en los últimos 7 días (Marque solo un cuadro en cada línea)				
	Ninguno	Leve	Moderado	Severo
	0	1	2	3
1. Pulsante				
2. Punzante				
3. Lancinante				
4. Lacerante				
5. Tipo cólico				
6. Tirante				
7. Caliente/quemante				
8. Agujoneante				
9. Pesadez				
10. Sensibilidad				
11. Sensación de resquebrajamiento				
12. Extenuante				
13. Enfermante				
14. Atemorizante				
15. Cruel				

B. Mida su dolor durante los últimos 7 días

La siguiente línea representa el dolor, con una intensidad que va aumentando desde "ausencia de dolor" hasta el "peor dolor posible". Coloque una marca sobre la línea horizontal en el lugar que mejor describa el dolor que ha sufrido en los últimos 7 días.



No dolor El peor dolor posible

_____ Puntaje en mm

C. Intensidad actual del dolor	
0	<input type="checkbox"/> Sin dolor
1	<input type="checkbox"/> Leve
2	<input type="checkbox"/> Incómodo
3	<input type="checkbox"/> Estresante
4	<input type="checkbox"/> Horrible
5	<input type="checkbox"/> Insoportable



INR

Consentimiento Informado para el estudio
**“ASOCIACIÓN DE UN POLIMORFISMO DEL GEN SCN9A CON LA
 PERCEPCIÓN AL DOLOR EN PACIENTES CON DOLOR CRÓNICO DE
 ESPALDA BAJA”**

Instituto Nacional de Rehabilitación

México, D.F., a _____ de _____ del 20__

Número de identificación del sujeto: |_|_|_|_|_|_|_|_|_|_|

El objetivo del estudio es establecer la relación de la predisposición genética y la percepción al dolor en pacientes con dolor crónico de espalda baja.

Su participación consistirá en acudir a una cita para valoración clínica y con radiografías, posteriormente se realizará una extracción de sangre, para este estudio, aproximadamente de 10 ml (en comparación la cantidad de sangre que se toma en una donación de sangre para la Cruz Roja es de 450 ml).

El riesgo por la extracción de sangre es mínimo puede relacionarse con la aparición de un moretón en muy raras ocasiones, sin embargo, todos los materiales que se utilicen para la toma de las muestras son nuevos, estériles y serán abiertos en su presencia. En caso de que un procedimiento provoque una lesión, recibirá la atención médica necesaria por parte de los médicos involucrados en el estudio. Las entrevistas, evaluaciones y estudio genético serán sin cargo económico alguno.

Su participación en este estudio es voluntaria y usted podrá retirarse en el momento que lo desee sin inconvenientes para el futuro tratamiento en esta institución. Los investigadores se comprometen a responder cualquier pregunta y aclarar cualquier duda acerca de los procedimientos que se llevarán a cabo, los riesgos, beneficios o cualquier otro asunto relacionado con la investigación.

También se le ha informado que conserva el derecho de retirarse del estudio en cualquier momento en que lo considere conveniente, sin que ello afecte la atención médica que recibe en el Instituto Nacional de Rehabilitación.

Se le otorga la seguridad de que no se le identificará en las presentaciones o publicaciones que deriven de este estudio y de que los datos relacionados con su privacidad serán manejados de manera confidencial. Así mismo otorga autorización para la utilización de la información y material derivados de esta investigación con fines de difusión de información médica en futuras publicaciones.

Por medio de la presente doy voluntariamente mi consentimiento para participar en el proyecto de investigación titulado: "Estudio de asociación de las variantes genéticas del gen SCN9A y percepción al dolor en pacientes con dolor crónico de espalda baja"

Nombre y firma del paciente

Nombre y firma de los testigos

Nombre y firma del Investigador responsable:

Dr. Antonio Miranda Duarte CE 1482257 y/o Dra. Tania Inés Nava Bringas. CE 5419133

SI USTED ACEPTA QUE SU MUESTRA DE SANGRE SEA EMPLEADA PARA FUTUROS ESTUDIOS GENÉTICOS, MANTENIENDO LA CONFIDENCIALIDAD Y ANONIMATO POR FAVOR FIRME EN EL SIGUIENTE ESPACIO.

Nombre y Firma _____

Lista de Covariables interrogadas y su categorización.

COVARIABLES	TIPO DE VARIABLE
Sexo	Cualitativa Nominal
Edad	Cuantitativa Continua
Peso	Cuantitativa Continua
Talla	Cuantitativa Continua
Índice de Masa Corporal	Cuantitativa Continua
Escolaridad	Cualitativa Nominal
Estado Civil	Cualitativa Nominal
Tiempo de Evolución (meses)	Cuantitativa Discreto
Nivel Socioeconómico	Ordinal
Ocupación	Cualitativa Nominal
Tabaquismo	Cualitativa Nominal
Actividades Deportivas	Cualitativa Nominal
Lugar de Residencia	Cualitativa Nominal
Diagnóstico de Depresión/Ansiedad	Cualitativa Nominal
Desencadenante del Cuadro	Cualitativa Nominal

TABLAS Y GRAFICOS

Tabla 1. Distribución por sexos para grupos de casos y controles

	MASCULINO	FEMENINO	TOTAL
CONTROLES	19 (30.16%)	44 (69.84%)	63
CASOS	26 (37.68%)	43 (62.32%)	69
TOTAL	45 (34.09%)	87 (65.91%)	132

Tabla 2. Variables antropométricas en los grupos de casos y de controles.

		N	Media	DE
PESO	CONTROLES	63	67.32	12.53
	CASOS	69	71.17	14.58
TALLA	CONTROLES	63	1.73	0.75
	CASOS	69	1.62	0.09
IMC	CONTROLES	63	24.53	4.56
	CASOS	69	26.90	4.69

Tabla 3. Actividad física actual.

		ACTIVIDAD FISICA ACTUAL		Total
		No	SI	
GRUPO	CONTROLES	32	31	63
	CASOS	49	20	69
	Total	81	51	132

Tabla 4. Resultados sobre los puntajes de la Escala de Dolor de Mc Gill y el Cuestionario de Roland Morris para el grupo de casos.

N=69	Mínimo	Máximo	Media	Desv. típ.
EVA*	3	91	51.90	23.577
PALABRAS TOTALES DE CUESTIONARIO DE DOLOR DE MC GILL	2	42	12.91	8.457
AREA SENSORIAL DE CUESTIONARIO DE DOLOR DE MC GILL	1	32	9.83	5.953
AREA AFECTIVA DE CUESTIONARIO DE DOLOR DE MC GILL	0	12	3.09	3.399
ROLAND MORRIS (DISCAPACIDAD FUNCIONAL)	1	24	8.20	5.022

*EVA = Escala Visual Análoga, reportada en milímetros.

Tabla 5. Antecedente de Depresión en los grupos

		DEPRESIÓN		Total
		0	SI	
GRUPO	CONTROLES	59	4	63
	CASOS	64	5	69
	Total	123	9	132

Tabla 6. Antecedente de Ansiedad en los grupos

		ANSIEDAD		Total
		0	SI	
GRUPO	CONTROLES	60	3	63
	CASOS	66	3	69
	Total	126	6	132

Tabla 7. Frecuencias de genotipos y frecuencias alélicas en la muestra.

	CONTROLES N=63	CASOS N=69	OR*	IC*	p
Alelo A	12 (10%)	11 (8%)	0.82	0.34 - 1.93	0.65
Alelo G	114 (90%)	127 (92%)	1.2	0.51 – 2.86	0.65
Genotipo AA	2 (3.17%)	0 (0%)	NA*	NA*	NA*
Genotipo AG	8 (12.70%)	11 (15.94%)	1.3	0.43 - 4.02	0.59
Genotipo GG	53 (84.13%)	58 (84.96%)	0.99	0.34 - 2.81	0.99

OR= Odds ratio. IC= Intervalo de Confianza NA = NO APLICA

Tabla 8. Resultados de modelo multivariado mediante regresión logística ajustado para edad, sexo, índice de masa corporal, tabaquismo, actividad deportiva.

	Análisis crudo			Análisis ajustado		
	OR	IC	p	OR	IC	p
Genotipo AA	NA*	NA*	NA*	NA*	NA*	NA*
Genotipo AG	1.3	0.43 - 4.02	0.59	1.304	0.45 – 3.75	0.62
Genotipo GG	0.99	0.34 - 2.81	0.99	0.93	0.33 – 2.63	0.89

OR= Odds ratio. IC= Intervalo de Confianza NA = NO APLICA

CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES

PRIMER AÑO de Marzo 2012 a Febrero 2013

ACTIVIDAD/ MES *	Ma r	Ab r	May	Ju n	Jul	Ag o	Se p	Oc t	No v	Di c	En e	Fe b
Revisión de protocolo	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>								
Reclutamiento de pacientes					<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Consentimiento informado					<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Evaluación Clínica					<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Aplicación de instrumentos					<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Toma de muestras					<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

SEGUNDO AÑO de Marzo 2013 a Febrero 2014

ACTIVIDAD /MES	Mar	Ab r	May	Ju n	Jul	Ag o	S ep	O ct	N ov	Di c	E ne	Fe b
Reclutamiento de pacientes	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>							
Consentimiento informado	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>							
Evaluación Clínica	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>							
Aplicación de instrumentos	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>							
Toma de muestras	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>							
Integración de resultados					<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>					
Análisis de resultados						<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>			
Elaboración de reporte										<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

XIV. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Airaksinen O, Kovacs F, et al. European guidelines for the management of chronic nonspecific low back pain. *Eur Spine J* 2006;15:S192–S300.
- Andersen G, Vestergaard K, Ingeman-Nielsen M, Jensen TS. Incidence of central poststroke pain. *Pain* 1995;61:187–93.
 - Bejarano PF, Noriego RD, Rodríguez ML, Berrio GM. Evaluation of pain: Adaptation of the McGill Pain Questionnaire. *Rev Col Anestesia* 1985;13: 321-351.
- Bengtsson B, Thorson J. Back pain: a study of twins. *Acta Genet Med Gemellol(Roma)* 1991;40:83–90.
- Bieri D, Reeve RA. The faces pain scale for the assessment of the severity of pain experienced by children: development, initial validation and preliminary investigation for ratio scale properties. *Pain* 1990; 41: 139-150.
- Boureau F, Luu M, Doubrere JF. Elaboration d'un questionnaire d'autoévaluation de la douleur par liste qualificatifs. Comparaison avec le McGill Pain Questionnaire de Melzack. *Thérapie* 1984 ; 39 : 119-29.
- Campbell CM, France CR, Robinson ME, Logan HL, Geffken GR, Fillingim RB. Ethnic differences in the nociceptive flexion reflex (NFR). *Pain* 2008;134:91–96.
- Cluff RS, Rowbotham MC. Pain caused by herpes zoster infection. *NeuroClin* 1998;16:813–32.
- Colomer-Oferil J. Aspectos clínicos y abordaje diagnóstico y terapéutico de las neuropatías hereditarias sensitivo motoras. *RevNeurol* 2002; 35: 239-45.
- Cook. The fear-avoidance model of chronic pain: Validation and age analysis using structural equation modeling. *PAIN* 2006; 121:195-206.
- Covarrubias-Gómez. Lumbalgia: Un problema de salud Pública. *Revista Mexicana de Anestesiología*. 2010.33(1);106-109.
- Cox JJ, et al. (2006) An SCN9A channelopathy causes congenital inability to experience pain. *Nature* 444:894–898.
- Currie et al. Chronic back pain and major depression in the general Canadian population. *PAIN* 2004(107);54-60.

- Diatchenko L, Slade G, Nackley A, Bhalang K, Sigurdsson A, Belferl, Goldman D, Xu K, Shabalina S, Shagin D, Max M, Makarov S, Maixner W. Genetic basis for individual variations in pain perception and the development of a chronic pain condition. *Human Molecular Genetics*. 2005; 14 (1):135–143.
- Edwards CL, Fillingim RB, Keefe F. Race, ethnicity and pain. *Pain* 2001;94:133–37.
- Estacion M, et al. (2008) Nav1.7 gain-of-function mutations as a continuum: A1632E displays physiological changes associated with erythromelalgia and paroxysmal extreme pain disorder mutations and produces symptoms of both disorders. *J Neurosci* 28: 1079–11088.
- Fejer R, Hartvigsen J, Kyvik KO. Heritability of neck pain: a population-based study of 33,794 Danish twins. *Rheumatology* 2006;45:589–94
- Fertleman CR, et al. (2006) SCN9A mutations in paroxysmal extreme pain disorder: Allelic variants underlie distinct channel defects and phenotypes. *Neuron* 52:767–774.
- Filler AG, Haynes J, Jordan SE, et al: Sciatica of nondisc origin and piriformis syndrome: diagnosis by magnetic resonance neurography and interventional magnetic resonance imaging with outcome study of resulting treatment: *J Neurosurg Spine*: 2: 99-115, 2005.
- Goldberg YP, et al. (2007) Loss-of-function mutations in the Nav1.7 gene underlie congenital indifference to pain in multiple human populations. *Clin Genet* 71:311–319.
- Hartvigsen J, Christensen K, Frederiksen H, Pedersen H. Genetic and Environmental Contributions to Back Pain in Old Age A Study of 2,108 Danish Twins Aged 70 and Older. *Spine* 2004;29:897–902
- Hartvigsen J, Kyvik KO, Leboeuf-Yde C, et al. Ambiguous relation between physical workload and low back pain: a twin control study. *Occup EnvironMed* 2003;60:109–14.
- Holdcroft A., Power I. “Recent developments Management of pain”. *BMJ* 2003; 326: 635-39

- Kovacs F et al. The Correlation Between Pain, Catastrophizing and Disability in Subacute and Chronic Low Back Pain. *Spine* 2011(36);339-345.
- Kovacs F. et al. Minimal Clinically Important Change for Pain Intensity and Disability in patients with Nonspecific Low Back Pain. *Spine* 2007;32(5):2915-2920.
- LaCroix-Fralish ML, Mogil J. Progress in genetic studies of pain and analgesia. *Annu Rev PharmacolToxicol.* 2009;49:97-121
- LaCroix-Fralish, M.L., Ledoux, J.B. and Mogil, J.S. The Pain Genes Database: an interactive web browser of pain-related transgenic knockout studies. *Pain*, 131:3.e1-3.e4, 2007.
- Lázaro C, Caseras X, Whizar-Lugo VM. Psychometric properties of McGill Pain Questionnaire-Spanish Version (MPQ-SV) in several Spanish-speaking countries. *Clin J Pain* 2001; 17: 365-374.
- MacGregor AJ, Andrew T, Sambrook PN, Spector TD. Structural, psychological, and genetic influences on low back and neck pain: a study of adult female twins. *Arthritis Rheum* 2004;51:160–67.
- Malleson P, Connell H, Bennet S, Eccleston C. Chronic musculoskeletal and other idiopathic pain syndromes. *Arch Dis Child* 2001;84:189-192
- Marina-Camargo D, Jiménez J, Archila E, Villamizar M. El dolor: una perspectiva epidemiológica. *Salud UIS* 2004;36:2-13
- Masedo AI, Esteve R. Some empirical evidence regarding the validity of Spanish Version of the McGill Pain Questionnaire (MPQ-SV). *Pain* 2000; 85(3):451-456.
- Melzack. R. The McGill Pain Questionnaire: Major properties and scoring methods. *Pain.*1975.1:277-259
- Members of the Complex Trait Consortium. The nature and identification of quantitative trait loci: a community's view. *NatRevGenet.* 2003 November ; 4(11): 911–916.
- Michalowicz BS, Pihlstrom BL, Hodges JS, Bouchard TJ Jr. No heritability of temporomandibular joint signs and symptoms. *J Dent Res* 2000;79:1573–78.

- Michiels, J. J., teMorsche, R. H. M., Jansen, J. B. M. J., Drenth, J. P. H. Autosomal dominant erythralgia associated with a novel mutation in the voltage-gated sodium channel alpha-subunit Nav1.7. *Arch. Neurol.* vol. 62, 1587-1590, 2005.
- Mogil, J.S. (1996) The genetics of pain and pain inhibition. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*, 93, 3048-3055.
- Mogil, J.S. (1999) The genetic mediation of individual differences in sensitivity to pain and its inhibition. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*, 96, 7744–7751
- Mogil, J.S., Wilson, S.G., Chesler, E.J., Rankin, A.L., Nemmani, K.V., Lariviere, W.R., Groce, M.K., Wallace, M.R., Kaplan, L., Staud, R. et al. (2003) The melanocortin-1 receptor gene mediates female-specific mechanisms of analgesia in mice and humans. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*, 100, 4867–4872.
- Nagasako EM, Oaklander A L, Dworkin RH. Congenital insensitivity to pain: an update. *Pain* 2003; 101: 213-9.
- Norbury TA, MacGregor AJ, Urwin J, Spector TD, McMahon SB. Heritability of responses to painful stimuli in women: a classical twin study. *Brain* 2007;130:3041–49.
- Price DD, McGrath PA, Raffii A. The validation of visual analogue scales as ratio scale measures in chronic and experimental pain. *Pain* 1983; 17: 45-56
- Price DD. Psychological and neural mechanisms of pain. New York: Raven,1988.
- Raymond CK, et al. (2004) Expression of alternatively spliced sodium channel alpha subunit genes. Unique splicing patterns are observed in dorsal root ganglia. *J BiolChem* 279:46234–46241.
- Reimann F, Cox J, Belfer I, Diatchenko L, Zaykine D, Mc Hale M, et al. Pain perception is altered by a nucleotide polymorphism in SCN9A. *PNAS*. 2010;107(11):5148-5153.
- Rush AM, et al. (2006) A single sodium channel mutation produces hyper- or hypoexcitability in different types of neurons. *Proc Natl Acad Sci USA* 103:8245–8250. 5152

- Salanti, Georgia, et al. "Hardy–Weinberg equilibrium in genetic association studies: an empirical evaluation of reporting, deviations, and power." *European journal of human genetics* 13.7 (2005): 840-848.
- Serrano-Atero MS, Caballero J, Cañas A, García-Saura PL, Serrano-Álvarez C and Prieto J. Pain assesment (II). *RevSocEsp Dolor* 2002; 9: 109-121.
- Trikalinos, Thomas A., et al. "Impact of violations and deviations in Hardy-Weinberg equilibrium on postulated gene-disease associations." *American journal of epidemiology* 163.4 (2006): 300-309.
- Valdes AM, Arden NK, Vaughn FL, Doherty SA, Leaverton PE, Zhang W, Muir KR, Rampersaud E, Dennison EM, Edwards MH, Jameson KA, Javaid MK, Spector TD, Cooper C, Maciewicz RA, Doherty M. Role of the Na(V)1.7 R1150W amino acid change in susceptibility to symptomatic knee osteoarthritis and multiple regional pain. *Arthritis Care Res.* 2010 Oct 28.(Epub ahead of print).
- Vanderiet K, Adriaensen H, Carton H. The McGill Pain Questionnaire constructed for the Dutch language. Preliminary data concerning reliability and validity. *Eur J. Psicol. Assessment* 1994; 10: 141-51.
- Vargas-Alarcon G, Alvarez-Leon E, Fragoso JM, Vargas A, Martinez A, Vallejo M, Martinez-Lavin M. A SCN9A gene-encoded dorsal root ganglia sodium channel polymorphism associated with severe fibromyalgia. *BMC Musculoskelet Disord.* 2012 Feb 20;13:23..
- Verhaaka P, Kerssens J, Dekker J, Sorbi M, Bensing J. Prevalence of chronic benign pain disorder among adults: a review of the literature. *Pain.* 1998;77:231–239
- Vicente-Fatela L, Acedo MS. Trastornos de la reactividad al dolor. *Rev. Soc. Esp. del Dolor*, 2001;1:31-52
- Waxman R, Tennant A, Helliwell P. A prospective follow-up study of low back pain in the community. *Spine* 2000;25:2085-2090.
- Waxman SG, Dib-Hajj S (2005) Erythralgia: Molecular basis for an inherited pain syndrome. *Trends Mol Med* 11:555–562.

- Yang Y, et al. (2004) Mutations in SCN9A, encoding a sodium channel alpha subunit, in patients with primary erythralgia. *J Med Genet* 41:171–174.
- Yarnitsky D, Sprecher E, Zaslansky R. Multiple sessions experimental painmeasurements. *Pain* 1996; 67: 327-33.
- Zubieta, J.K., Heitzeg, M.M., Smith, Y.R., Bueller, J.A., Xu, K., Xu, Y., Koeppe, R.A., Stohler, C.S. and Goldman, D. (2003) COMT val158met genotype affects mu-opioid neurotransmitter responses to a pain stressor. *Science*, 299, 1240–1243