



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA

SECRETARIA DE SALUD

INSTITUTO NACIONAL DE REHABILITACIÓN

LUIS GUILLERMO IBARRA IBARRA

ESPECIALIDAD EN: GENÉTICA MÉDICA

“ASOCIACIÓN DE LAS VARIANTES GENÉTICAS DEL GEN COMT CON  
LA PERCEPCIÓN DEL DOLOR EN PACIENTES CON DOLOR  
CRÓNICO DE ESPALDA BAJA”

**T E S I S**

PARA OBTENER EL GRADO DE MÉDICO ESPECIALISTA EN

**GENÉTICA MÉDICA**

P R E S E N T A:

DR. CARLOS MANUEL JUARISTI MANRIQUE.

PROFESOR TITULAR: Dra. en C. MARGARITA VALDÉS FLORES

ASESOR: DR. en C. ANTONIO MIRANDA DUARTE

COASESORES: DRA TANIA INÉS NAVA BRINGAS,

M.C. NORMA CELIA GONZALEZ HUERTA.



CIUDAD DE MÉXICO

FEBRERO DEL 2018



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**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.

---

**DRA. MATILDE L. ENRIQUEZ SANDOVAL**  
DIRECTORA DE EDUCACION EN SALUD

---

**Dra. en C. MARGARITA VALDÉS FLORES**  
PROFESOR TITULAR

---

**DRA TANIA INÉS NAVA BRINGAS**  
ASESOR CLINICO

---

**DRA. XOCHIQUETZAL HERNANDEZ  
LOPEZ**  
SUBDIRECTORA DE EDUCACION  
MEDICA

---

**DR. en C. ANTONIO MIRANDA DUARTE**  
ASESOR METODOLOGICO

## ÍNDICE:

I.-Agradecimientos	4
II.-Resumen	5
IV.-Introducción	7
V.-Marco teorico	8
V.1 Dolor crónico de espalda baja	8
V.2 Factores intrínsecos y extrínsecos asociados a DCEB	11
V.3 Factores genéticos asociados a cuadros dolorosos crónicos	15
V.4 El gen <i>COMT</i> , la enzima catecol-o-metiltransferasa y su relación con las vías de dolor	18
V.5 <i>COMT</i> y su posible asociación con la percepción del dolor	20
VI.-Justificación	23
VII.-Objetivos	25
VII.1.-Objetivos generales	25
VII.2.-Objetivos específicos	25
VIII.-Materiales y Métodos	26
VIII.1.-Tamaño de la muestra	27
VIII.2.-Extracción de DNA	28
VIII.3.-Genotipificación	29
VIII.4 Análisis y métodos estadísticos	30
IX.-Resultados	32
IX.1.- Características demográficas y antropométricas de la muestra	32
IX.2.- Características clínicas de la muestra	35
IX.3.- Análisis genético	37
X.-Discusión	39
XI.-Conclusiones	41
XII.-Bibliografía	42
XIII.- Anexos	44

## AGRADECIMIENTOS:

Al Dr. Antonio Miranda Duarte por su apoyo, asesoramiento, sus invaluable enseñanzas, pero sobretodo, a su paciencia y cariño.

A los Drs. María de la Luz Arenas Sordo, Alberto Hidalgo Bravo, Margarita Valdés Flores, Norberto Leyva Garcia por contribuir en mi formación en esta etapa educativa y sus invaluable enseñanzas en los ámbitos académicos y personales.

A la QFB. Norma Celia Gonzalez Huerta quien participó activamente en el proyecto y compartio sus valiosos conocimientos y experiencia.

Al Dr. Matvey Sosa por los buenos momentos e importante guía en los días de trabajo en el laboratorio.

Al servicio de Donación de Sangre por su colaboración en la toma de muestras.

## RESUMEN:

**Introducción:** El dolor crónico de espalda baja (DCEB) presenta una prevalencia aproximada del 20% en la población general. En los países industrializados es la segunda causa de atención médica y constituye un problema importante de salud pública. Recientemente, se ha propuesto que uno de los genes que podría influir en la percepción de estímulos dolorosos es el gen *COMT* que codifica para la enzima Catecol-O-Metiltransferasa, involucrada en la degradación de neurotransmisores de catecolaminas. El polimorfismo rs4680 (p.V158M) se ha sugerido que está relacionado con una mayor percepción al dolor cuando existe una exposición repetida y sostenida a un estímulo doloroso.

**Objetivo:** El presente estudio tiene como objetivo establecer la asociación de la variante polimórfica rs4680 del gen *COMT* con el grado de percepción de dolor en pacientes con DBEC pacientes con DCEB, y controles sin cuadro crónico.

**Material y Métodos:** Estudio de casos y controles. Casos pacientes con DCEB que acudieron a consulta externa del INR. Controles: sujetos sanos sin antecedentes de DCEB. Se aplicó el cuestionario de Dolor Mc Gill versión corta, así como recolección de covariables implicadas en la patología del DCEB. Se realizó la determinación genotípica del polimorfismo rs4860 correspondiente al gen *COMT*.

**Resultados:** Se incluyeron 87 individuos de los cuales 17 corresponden a sujetos con DCEB y 70 a controles. El análisis mostró equilibrio de Hardy-Weinberg (HW); al hacer el análisis comparativo de frecuencias de genotipos y frecuencias alélicas se observa una relación de mayor frecuencia del alelo G (correspondiente al cambio de p.Val158Met que resulta en una

enzima con menor actividad y mayor termolabilidad) en el grupo de casos y menor frecuencia del alelo A en el mismo grupo de casos al compararse en relación a la frecuencia alélica en el grupo de controles, Sin embargo esta diferencia no es estadísticamente significativa (Valor  $p=0.38$  para el grupo de casos y valor  $p=0.36$ ) siendo necesario un tamaño mayor de muestra para lograr esta significancia. Se probó mediante análisis multivariado que no existieran posibles confusores.

**Conclusiones:** Los resultados obtenidos no muestran una diferencia estadísticamente significativa (Valor  $p=0.38$  para el grupo de casos y valor  $p=0.36$ ) siendo necesario un tamaño mayor de muestra para lograr esta significancia.

**Palabras clave:** genética, polimorfismo, *COMT*, *dolor crónico de espalda baja*, Catecol-O-Metiltransferasa.

## INTRODUCCIÓN

El dolor es definido por la Asociación Internacional para el Estudio de Dolor (IASP, por sus siglas en inglés) como “una experiencia emocional y sensorial desagradable asociada a un daño tisular real o potencial, o descrito en términos de dicho daño”. Éste tiene importancia para la supervivencia del individuo ya que logra que se eviten los estímulos que lo ocasionan, promoviendo la protección y sanación de tejido dañado, etc. (Foulkes et al, 2008). Sin embargo, por si mismo puede generar un estado de enfermedad cuando se torna intenso y persistente, perdiendo su fin primario.

Se considera que más de 60% de la población ha experimentado dolor por al menos un día durante su vida. El dolor crónico de espalda baja (DCEB) presenta una prevalencia del 20% en la población general, constituyendo un problema importante de salud pública, con importantes repercusiones económicas y que afecta la calidad de vida de los afectados (Marina-Camargo et al, 2004). El manejo del dolor y los síndromes dolorosos representa un reto importante para el clínico, debido a la gran variabilidad intersujeto sobre la percepción al mismo, la propensión al desarrollo de dolor crónico y en la respuesta a los analgésicos. 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.



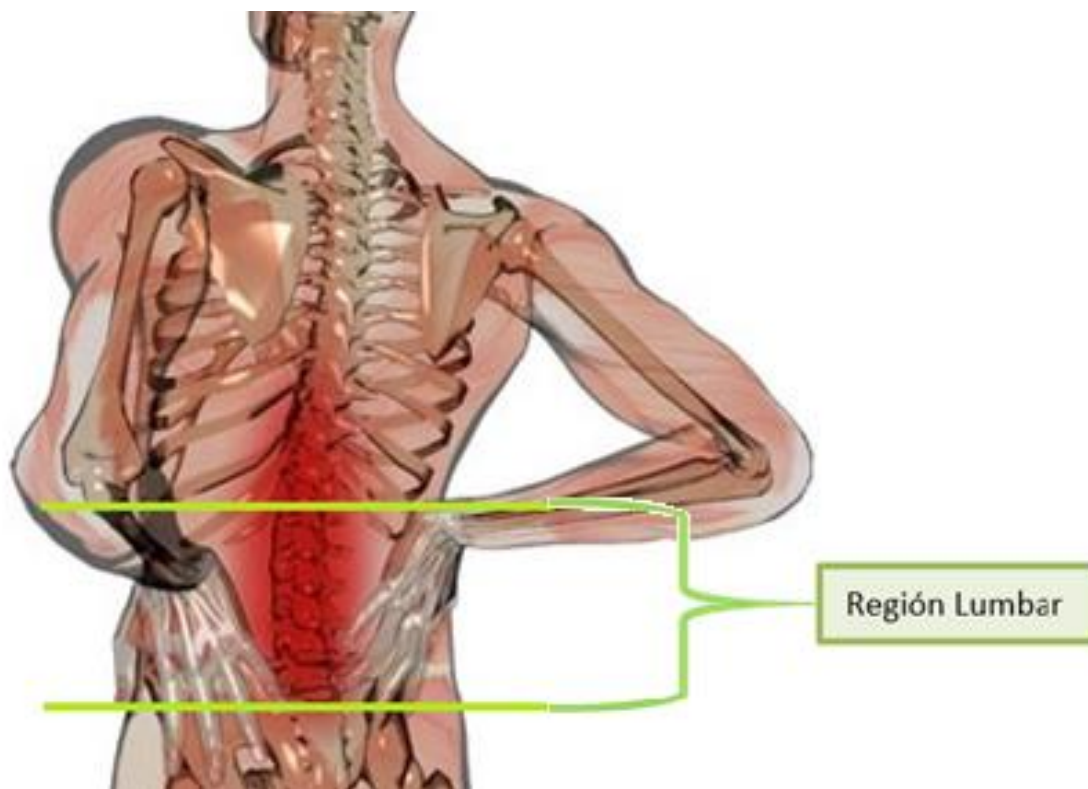
## MARCO TEORICO.

### DOLOR CRÓNICO DE ESPALDA BAJA.

El dolor lumbar representa el dolor musculoesquelético más frecuente, afectando de 19 a 21% de la población general, constituye la segunda causa de atención médica en los países industrializados, causa discapacidad crónica, deterioro en la calidad de vida y afecciones a múltiples esferas en los pacientes, familiares y sociedad. Tiene un impacto económico del 1.7% del PIB de un país desarrollado a causa de los gastos generados en los sistemas de salud y en la discapacidad laboral causada por el mismo (Marina-Camargo et al., 2004).

El DCEB se define clínicamente como aquellas sensaciones dolorosas o no confortables localizadas por debajo del margen costal (12° costilla) y por arriba del límite superior de la región glútea (unión lumbosacra), que puede irradiarse hacia uno o ambos miembros pélvicos, con una duración superior a 3 meses o que se presenta episódicamente en un periodo de 6 meses, experimentando dolor en más de la mitad de los días comprendidos en este periodo (Airaksimen et al., 2006).

**Figura 1. Entre las líneas verdes de delimita la región lumbar donde se localiza el dolor crónico de espalda baja.**



No existe una correlación entre el dolor referido por el paciente y las alteraciones anatomopatológicas halladas, y solo se encuentra un diagnóstico etiológico en 10-20 % de los pacientes. Como consecuencia de lo anterior, en aproximadamente 80-90% de los casos de DCEB no se logra establecer un diagnóstico etiológico y aproximadamente un tercio de la población puede presentar alteraciones en estudios de imagen sin relacionarse a sintomatología de dolor (Filler et al, 2005).

La mayoría de los casos de DCEB se deben a causas biomecánicas, por lo que se recomienda que los estudios radiológicos para el diagnóstico etiológico se soliciten solo cuando se cumplen criterios llamados “focos rojos” para descartar alguna causa específica (Van Goethem

et al, 2007). Existe una gran incidencia de anomalías radiológicas en personas asintomáticas; entre las causas no comunes de DCEB se enumeran las siguientes:

- Malignización y metástasis: la columna corresponde al sitio más común para metástasis óseas y se encuentran en el 10% de los pacientes con neoplasias malignas. Las metástasis a columna vertebral se originan más comúnmente de carcinomas de mama, pulmón, próstata, renal, tracto gastrointestinal. De estos menos del 5% son intradurales (Van Goethem et al, 2007).
- Malformaciones estructurales (escoliosis): las alteraciones en las curvaturas normales de la columna pueden desencadenar cuadros de DCEB. Hasta 80% de las escoliosis son idiopáticas, a las que se les imputa una etiología multifactorial con un importante componente poligénico. Usualmente pacientes con escoliosis leves idiopáticas (<25°) tienen poco o no presentan dolor (Van Goethem et al, 2007).
- Dolor Radicular: es consecuencia de la compresión de elementos medulares, el dolor puede acompañarse de sintomatología neuropática. Puede ser consecuencia de varios fenómenos como la herniación de discos lumbares, síndrome de cauda equina, absesos epidurales, fracturas y malignidad (Van Goethem et al, 2007).
- Dolor no radicular: Surge como consecuencia de cambios de los elementos posteriores/periespinales e incluye cambios degenerativos-inflamatorios de ligamentos espinales/paraespinales y cambios periespinales musculares (ejem. Osteoartritis, efusión articular, sinovitis, etc.) (Van Goethem et al, 2007).

- Dolor recurrente crónico postoperatorio: puede tener muchas causas, es muy frecuente y recibe el nombre de síndrome de cirugía de espalda fallida (Van Goethem et al, 2007).

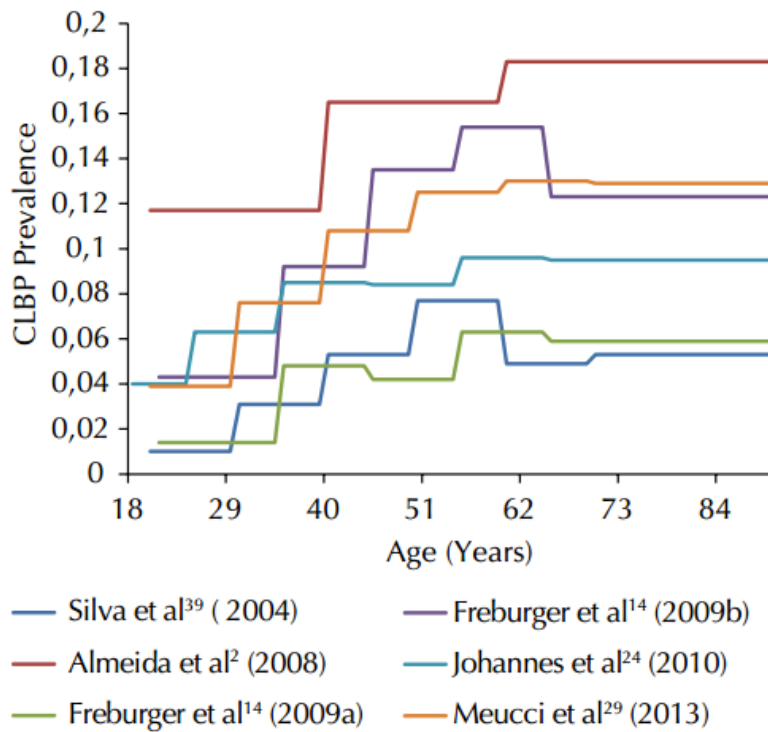
#### FACTORES INTRINSECOS Y EXTRINSECOS ASOCIADOS A DCEB.

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. Los estudios previos han abordado los factores ambientales como la principal causa de dolor, y aunque estudios recientes sobre la susceptibilidad genética indican su importancia, los resultados obtenidos no han sido concluyentes (Hartvigsen, 2003, 2004).

Entre los factores relacionados con la presencia de dolor se encuentran:

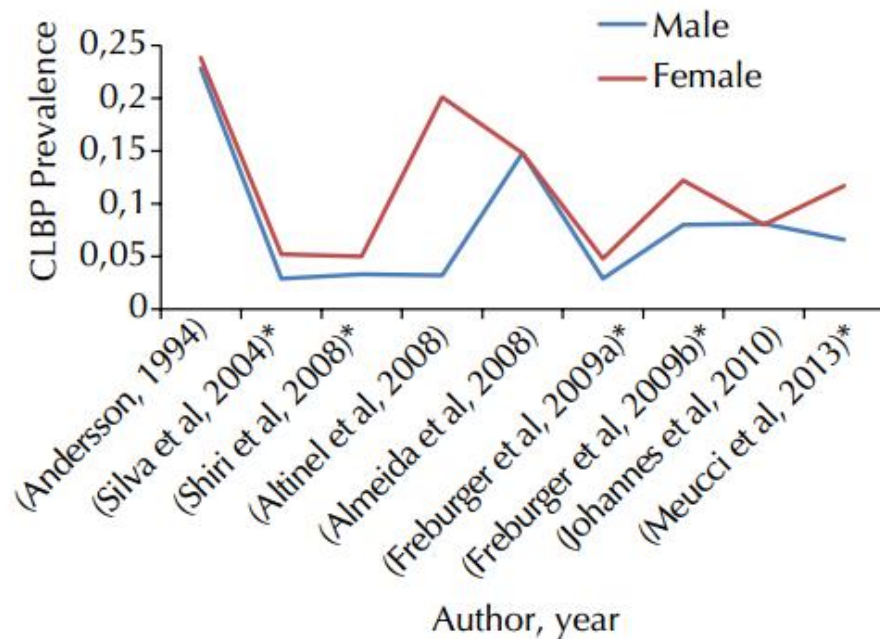
- **Edad:** La prevalencia muestra un aumento gradual con la edad a partir de la 3ra década de la vida y manteniéndose estable a partir de los 60 años. En la figura 2 se muestran gráficas lineales de la prevalencia de dolor por edad de 6 estudios poblacionales. Se intenta explicar este fenómeno con los cambios en el estilo de vida debido a exposiciones laborales y domésticas, además del aumento en la degeneración de tendones, músculos y el desarrollo de osteoartritis (Dalke-Meucci et al, 2015; Marina-Camargo et al, 2004).

**Figura 2: Se muestran gráficas lineales de la prevalencia de dolor por edad de 6 estudios poblacionales (Dalke-Meucci et al, 2015).**



- Sexo:** es más común que se presente en el sexo femenino, con un riesgo de 1.25 a 2.2, calculado a través de la razón de momios (OR). En la figura (3) se muestra una gráfica comparativa de 9 estudios poblacionales que comparan la incidencia de DCEB por sexo. El mecanismo por el cual la prevalencia de DCEB es mayor en sujetos del sexo femenino no es claro del todo, sin embargo, se proponen diferencias en los umbrales de dolor, a una menor masa muscular y ósea, cargas debidas a la gestación, cuidado de los hijos, además de las actividades domésticas (Marina-Camargo et al, 2004).

**Figura 3: Se muestra una gráfica comparativa de 9 estudios poblacionales que comparan la incidencia de DCEB por sexo. (Dalke-Meucci et al, 2015)**



\* Statistically significant difference (95%CI).

- **Obesidad:** Se relaciona con un estado de vida más sedentario, además por si mismo constituye un conocido factor de riesgo para el desarrollo de DCEB posiblemente al propiciar sobrecarga de las estructuras articulares de la columna lumbosacra, que se predisponen a la degeneración. Se estima una OR de 1.4 a 3.6 (Dalke-Meucci et al, 2015).
- La asociación de dolor con **depresión** tiene el problema de determinar la temporalidad, ya que se sabe que el dolor genera depresión, y viceversa, la depresión conduce a la presencia de dolor por el componente somático que este implica; en cualquier caso, la OR es de 3.5-4.7 (Marina-Camargo et al, 2004).
- **Ansiedad:** ocasiona contracción muscular y dolor (Marina-Camargo et al, 2004).

- **Tabaquismo:** también se ha relacionado con mayor incidencia de DBEC, parece estar relacionado con los efectos sistémicos de la nicotina en la columna vertebral, acelerando el proceso de degeneración articular, aumento del potencial de trasmisión de impulsos dolorosos del sistema nervioso central (Marina-Camargo et al, 2004).
- **Factores laborales:** contribuyen de forma variable, pero en general con un mayor riesgo en aquellas ocupaciones en las que se requiere posicionar las manos por arriba de los hombros por tiempo prolongado, el tronco flexionado, cargas pesadas para las articulaciones lumbares, permanecer sentado más de 75%, o expuesto a monitores más de 50% de la jornada laboral, conducir más de 4 hrs la jornada (Marina-Camargo et al, 2004).

La asociación de síndromes de dolor crónico posteriores a trauma o infección está bien documentada, sin embargo, el que solo algunos de los sujetos expuestos desarrollan estos cuadros puede estar relacionado a factores intrínsecos, como los genéticos. (Andersen et al. 1995, Cluff et al., 1998). Así mismo también se ha documentado variabilidad intersujeto en la respuesta a analgésicos ya sean opiáceos, placebos o antiinflamatorios no esteroideos.

**Tabla 1: se muestra la relación de incidencia por variable y los OR de las mismas de distintos estudios poblacionales (Dalke-Meucci et al, 2015).**

Author (year)	Variable	Prevalence			
		%	95%CI	%	95%CI
Alkherayf et al <sup>1</sup> (2009)	Smoking status	Daily smokers (present or former): 23.3 Occasional smokers (present or former): 17.2 Non-smokers: 15.7			
		Analysis stratified by smoking status: CLBP prevalence was higher in daily smokers (present or former) in comparison to occasional smokers (present or former) and non-smokers in all variables assessed: sex, age, BMI, education and occupational status			
Freburger et al <sup>14</sup> (2009)	Race/ Ethnicity	1992		2006	
		Non-Hispanic white: 4.1	3.5;4.7	Non-Hispanic white: 10.5	9.4;11.5
		Non-Hispanic black: 3.0	2.0;4.0	Non-Hispanic black: 9.8	8.2;11.4
		Other:4.1	1.4;6.8	Hispanic: 6.3	3.8;8.9
Meucci et al <sup>29</sup> (2013) & Silva et al <sup>39</sup> (2004)	Education (years)	2002		2010	
		0: 6.9	6.0;7.8	0: 14.3	9.7;18.9
		1-4: 6.3	5.5;7.2	1-4: 13.0	10.2;15.7
		5-8: 4.4	3.7;5.2	5-8: 9.7	7.5;11.9
		9-11: 2.7	2.2;3.3	9-11: 8.1	5.9;10.2
	Economic status	≥ 12: 2.0	1.5;2.6	≥ 12: 6.8	4.7;8.8
		A or B: 2.8	2.3;3.4	A or B: 7.8	5.0;10.5
		C: 4.6	3.9;5.4	C: 9.0	7.4;10.5
	Smoking	D or E: 4.6	3.9;5.4	D or E: 11.3	9.0;13.6
		Never: 3.2	2.6;3.9	Never: 8.0	6.6;9.4
		Former smoker: 5.0	4.3;5.8	Former smoker: 11.3	8.5;14.1
	BMI (kg/m <sup>2</sup> )	Smoker: 5.5	4.7;6.3	Smoker: 11.5	9.2;13.9
		≤ 19.9: 2.7	2.1;3.3	≤ 19.9: 4.3	0.5;8.0
20-24.9: 3.4		2.8;4.1	20-24.9: 8.0	6.1;9.8	
25-29.9: 4.1		3.4;4.9	25-29.9: 8.4	6.5;10.2	
Almeida et al <sup>2</sup> (2008)	Smoking	≥ 30.0: 6.2	5.7;7.1	≥ 30.0: 14.2	11.5;16.9
		Never: 12.2			
Van Oostrom et al <sup>32</sup> (2011)	Marital status	Former smoker: 19.7			
		Smoker: 17.6			
		Married or partner: 15.9			
		Single: 9.5			
		Widow or divorced: 20.6			
		Analysis stratified by 3 patterns of low back pain: never long-standing LBP; persistent LBP over 10 years; varying LBP. Individuals with persistent LBP were less educated, have less paid job, were more obese, and predominantly smokers.			

## FACTORES GENÉTICOS ASOCIADOS A CUADROS DOLOROSOS CRÓNICOS.

Los estudios previos han abordado los factores ambientales como la principal causa de dolor y los estudios recientes sobre la susceptibilidad genética al dolor indican su importancia.



Aunque los resultados obtenidos no siempre han sido concluyentes. (Hartvigsen J, 2003, 2004).

Para el desarrollo de síndromes dolorosos, ya sean comunes o raros, se ha documentado el fenómeno de agregación familiar pudiendo esto relacionarse a factores genéticos relacionados a susceptibilidad, factores ambientales familiares o al modelado familiar de comportamiento frente al dolor. El mismo efecto se ha reportado con base en la respuesta al tratamiento de estos síndromes (LaCroix et al, 2009).

A través de modelos experimentales se ha determinado una heredabilidad ( $h^2$ ) para la nocicepción que van desde 28 a 76% en modelos murinos y se han propuesto un número de genes relacionados con el dolor creándose una base de datos de los protocolos en curso para la investigación de estos (LaCroix-Fralish et al 2007; <http://www.jbldesign.com/jmogil/enter.html>). Actualmente se enumeran 430 genes identificados en ratones knockout, relacionados con el dolor.

En humanos, los estudios en gemelos se ha demostrado una heredabilidad ( $h^2$ ) de hasta el 68% para el desarrollo de cuadros dolorosos. (Lacroix et al., 2009). Así mismo también se han identificado algunos genes relacionados con el dolor, faltando aún mucho desarrollo en esta área (Diatchenko et al., 2005). Para la identificación de estos genes se han optado principalmente 2 estrategias: Primero, el estudio de trastornos mendelianos que presentan o insensibilidad al dolor o dolor patológico, utilizando estudios de mapeo por ligamiento genético. A pesar de que estos trastornos son extremadamente raros el determinar su etiología puede ayudar a dilucidar los patofisiológicos que desencadenan cuadros más

comunes. (LaCroix et al., 2009). Segundo, los estudios de asociación genética han determinando la presencia de alelos con mayor frecuencia en sujetos que desarrollen síndromes dolorosos comunes.

Actualmente se han identificado los genes relacionados para todos los subtipos de neuropatía sensorial hereditaria (I-V) así como 3 genes para la migraña hemiplejica familiar (I-III), y otros 2 desordenes de dolor severo inexplicado. Estos genes abarcan varios sistemas biológicos, incluyendo la síntesis de enzimas, factores de transcripción, canales iónicos y neurotrofinas (LaCroix et al., 2009).

**Tabla 2: Genes relacionados los subtipos de cuadros de dolor patológico hereditario e insensibilidad congénita al dolor. (LaCroix et al., 2009).**

<b>Disorder<sup>a</sup></b>	<b>OMIM<sup>b</sup></b>	<b>Linkage</b>	<b>Gene</b>	<b>Protein</b>
<i>Pathological pain</i>				
FHM type I	141500	19p13	<i>CACNA1A</i>	Cav2.1 calcium channel
FHM type II	602481	1q21	<i>ATP1A2</i>	$\alpha_2$ subunit, Na <sup>+</sup> ,K <sup>+</sup> -ATPase
FHM type III	609634	2q24	<i>SCN1A</i>	Nav1.1 sodium channel
FMF	249100	16p13	<i>MEFV</i>	Pyrin
HNA	162100	17q25	<i>SEPT9</i>	Septin 9
PE	133020	2q24	<i>SCN9A</i>	Nav1.7 sodium channel
PEPD	167400	2q24	<i>SCN9A</i>	Nav1.7 sodium channel
<i>Congenital insensitivity to pain</i>				
CIDP	243000	2q24	<i>SCN9A</i>	Nav1.7 sodium channel
HSAN type I	162400	9q22	<i>SPTLC1</i>	Serine palmitoyltransferase, long chain 1
HSAN type II	201300	12p13	<i>HSN2</i>	Unknown
HSAN type III	223900	9p31	<i>IKBKAP</i>	IKK-complex associated protein
HSAN type IV	256800	1q21	<i>NTRK1</i>	Neurotrophic tyrosine kinase receptor
HSAN type V	608654	1p13	<i>NGFB</i>	Nerve growth factor, $\beta$

En cuanto a los estudios de asociación genética de los síndromes dolorosos y analgesia en humanos se han asociado al menos 23 genes. En la tabla 3 se enlistan algunos de los más relevantes.

Actualmente, los estudios de asociación amplia del genoma (GWAS por Genome wide association studies,) prometen el descubrimiento de factores genéticos a lo largo de todo el genoma relacionados con el desarrollo de trastornos comunes permitiendo analizar a un tiempo cientos de miles de loci, sin la necesidad de contar a priori con genes candidatos para el estudio logrando, al menos teóricamente, un abordaje más heurístico de los muchos factores genéticos relacionados y sus posibles interacciones. Sin embargo, por su propia naturaleza cuenta con las desventajas de requerir de muestras muy grandes (varios cientos como mínimo), mayor infraestructura, altos costos, y análisis complejo. (LaCroix et al., 2009).

**Tabla 3: Genes asociados a síndromes dolorosos y analgesia por medio de estudios de asociación.** (LaCroix et al., 2009).

Gen	función del producto	
<b>CYP2D2</b>	Transformación de moléculas activas	Eficacia de ciertos opiáceos
<b>SLC6A4</b>	Transportador de serotonina	Fibromialgia, dolor después de intervenciones dentales.
<b>ILRN</b>	Antagonista endógeno de receptor de interleucina-1	
<b>MC1R</b>	Receptor melanocortina 1**	Sensibilidad reducida a dolor eléctrico y térmico
<b>COMT</b>	Degradación de catecolaminas.	Variación en la sensibilidad al dolor y unión a receptor mu-opioide
<b>GCH1</b>	GTP ciclohidrolasa	Procesamiento de dolor neuropático, dolor mecánico, respuesta a capsaicina.

El gen *COMT*, la enzima catecol-o-metiltransferasa y su relación con las vías de dolor.

El gen *COMT* se localiza en el locus 22q11.21, consta de 10 exones, y codifica para enzima Catecol-O-metil transferasa, de 24 kD, encargada de catalizar la transferencia de un grupo metilo a partir de S-adenosilmetionina a las catecolaminas incluyendo dopamina, epinefrina y norepinefrina. Esta metilación resulta en una de las principales vías de degradación de los transmisores catecolaminas. Además de su papel en la degradación de catecolaminas

endógenas también juega un papel importante en el metabolismo de medicamentos catecol usadas en el tratamiento de hipertensión, asma y parkinson (OMIM +116790, 2018). COMT se encuentra en 2 formas en los tejidos, una forma soluble (S-COMT) y una forma de unión a membrana (MB-COMT). La diferencia entre ambos reside en el dominio N-terminal. Los niveles de actividad enzimática de COMT muestran una distribución trimodal, siendo posible agrupar a los sujetos sanos en aquellos con actividad alta, intermedia y baja (Pielman et al, 1981).

En investigaciones recientes el gen COMT ha despertado especial interés en múltiples patologías al asociarse variantes fenotípicas (en función de su actividad enzimática o su expresión) con el desarrollo de desorden obsesivo compulsivo, esquizofrenia (observando esta asociación por primera vez en pacientes con síndrome de delección 22q11 y posteriormente en sujetos judíos ashkenazi), parkinson, neoplasias asociadas a estrógenos (principalmente cáncer de mama), hipertensión, depresión, anorexia nerviosa, alcoholismo, trastorno del pánico, preeclamsia y variabilidad en la sensibilidad al dolor (OMIM +116790, 2018).

En la actualidad se han reportado 4,140 variantes de gen *COMT*, pero solo unas cuantas han despertado interés clínico. La variante rs6267 se ha asociado con la susceptibilidad a esquizofrenia y las variantes rs4680 (p.V158M), rs4633 y rs4818 (estas 2 últimas correspondientes a 2 cambios puntuales sinónimos) se han asociado a la variación en la percepción del dolor y en la respuesta a fármacos opiáceos. Las variantes rs4633 y rs4818, a pesar de no alterar la estructura proteica, si resultan en una actividad enzimática disminuida, al disminuir la cantidad de proteína traducida. Estas variaciones ocasionan cambios en la estructura secundaria del mRNA que condicionan niveles de traducción menores (Nackley et

al, 2006). La variante rs4680 consiste en una transición de una guanina a una adenosina (c.472G>A) en el codón 158 que da como resultado el cambio del aminoácido valina por un aminoácido metionina (p.V158M). Esta variante ha demostrado ser la responsable de la variabilidad en la actividad enzimática de COMT medida en eritrocitos y hepatocitos, que se encuentra de forma común en la población, debido a que la proteína con el aminoácido metionina en la posición 158 tiene menor actividad enzimática y mayor termolabilidad. (Lachman et al. 1996). Se ha demostrado diferencias en la actividad enzimática entre 3 a 4 veces menor en los pacientes homocigotos para el alelo 158Met al ser comparados con sujetos homocigotos para la variante 158Val (Cargnin et al, 2013).

#### *COMT* Y SU POSIBLE ASOCIACIÓN CON LA PERCEPCIÓN DEL DOLOR.

Existen varios genes estudiados previamente en asociación potencial con el DCEB como los genes de la GTP ciclohidrolasa 1, las Interleucina-1  $\alpha$  y  $\beta$ , receptor de agonista de la interleucina-1, la Interleucina-6, el gen de la Catecol-O-metiltransferasa, entre otros (Lacroix 2009, Diatchenko 2006). El gen *COMT* podría influir en la percepción de estímulos dolorosos ya que se involucra en la degradación de los neurotransmisores de catecolaminas (dopamina, adrenalina y noradrenalina) después de su liberación en la hendidura sináptica (Loggia et al 2011), encontrándose involucradas en la modulación del dolor. Las variaciones genéticas en *COMT* contribuyen a la variabilidad intersujeto en los fenotipos de respuesta a dolor como sensibilidad, cronicidad, severidad y respuesta a analgésicos. Múltiples estudios han demostrado sus implicaciones clínicas para la percepción del dolor y en la eficacia del tratamiento (Cargnin et al, 2013).

Recientemente se ha sugerido que uno de sus polimorfismos de un solo nucleótido (SNP), el rs4680, en el que se sustituye una valina por una metionina en la posición 158 (p.V158M), lleva a una reducción de actividad enzimática de 3 a 4 veces y a una mayor disponibilidad de dopamina, por lo que puede estar asociado con una percepción aumentada al dolor relacionado con la exposición repetida y/o sostenida al estímulo doloroso (Loggia et al., 2011). Lo anterior sugiere que podría contribuir a la generación de cuadros dolorosos crónicos relacionados con un estímulo repetido o constante. Se plantea que la actividad disminuida de *COMT* esta asociada a una metabolización reducida de catecolaminas como norepinefrina y epinefrina, llevando a la potenciación de las señales dolorosas por estimulación corriente debajo de vías de receptores adrenérgicos Beta2 y Beta3 (Cargnin et al, 2013).

Zubieta et al., demostraron que los homocigotos del alelo 158met (c.472G>A) se caracterizaban por una mayor sensibilidad al dolor y respuestas disminuidas del sistema opioide- $\mu$  (Zubieta 2003). A su vez, Loggia et al., encontraron efectos detectables relacionados con el polimorfismo p.V158M de *COMT* en las medidas de sensibilidad al dolor después de estimulación repetida o prolongada (Loggia 2011).

También se ha demostrado que la variante rs4680 influencia la eficacia de la morfina utilizada en dolor relacionado a cáncer, por lo que los grupos de pacientes con fenotipos met/met requieren dosis menores de morfina que los grupos con fenotipos val/val, posiblemente explicado por una densidad aumentada de receptores  $\mu$ -opioides en los individuos con fenotipos met/met (Cargnin et al, 2013).

Aunque rs4680 no parece involucrado en la patogénesis de migraña, se ha asociado con la expresión fenotípica de la migraña con aura, donde los portadores del alelo 150met muestran mayor intensidad de las cefaleas y una mayor incidencia de vómitos y náusea en comparación con los pacientes que no presentan el alelo 158met. (Cargnin et al, 2013). También se ha observado que en pacientes con genotipo Met/Met los tratamientos con antagonistas de dopamina no resultan eficaces, debido a que COMT inactiva dopamina y norepinefrina, pero no 5-hydroxytryptamina (Cargnin et al, 2013).

Lo anterior forma parte de resultados de modelos experimentales que consistentemente han demostrado que los individuos con actividad disminuida de COMT tienen baja tolerancia al dolor. Se ha observado que los individuos sanos con genotipo Met/Met de *COMT* muestran mayores puntajes sensoriales y afectivos de dolor y una mayor densidad de receptores opioides- $\mu$  en el cerebro. En estudios de neuroimagen funcional, los sujetos Met/Met una mayor respuesta catabólica en la corteza del cíngulo anterior a la estimulación dolorosa en comparación con sujetos portadores del alelo 158Val (Cargnin et al, 2013).

Los efectos de COMT en la sensibilidad y modulación del dolor parecen depender de las condiciones del dolor, observándose que en aquellos de tipo neuropático o relacionados al cáncer *COMT* no juega un rol importante, mientras que en el dolor musculoesquelético y en la migraña las actividades disminuidas de actividad de COMT parece aumentar su incidencia e intensidad (Cargnin et al, 2013).

Aunque son varios los trabajos que indagan los efectos de rs4680 en relación con los fenotipos relacionados con el dolor, muchas veces tienen la limitante de no identificar otros haplotipos

como rs740603 y SNPs polimórficos en intrón 1, que también se han asociado a efectos adversos de la morfina, no es tan clara su asociación a los fenómenos observados en rs4680. Los alelos rs4633 y rs4818 también se han relacionado con una menor actividad enzimática de COMT al alterar no su estructura sino su tasa de traducción, y también han sido relacionados con la percepción del dolor.

## JUSTIFICACIÓN

El dolor tiene un impacto sobre la calidad de vida de las personas que lo padecen, afectando su estado de ánimo, personalidad, relaciones sociales y limita la ejecución de las actividades de la vida diaria. El dolor lumbar representa el dolor musculoesquelético más frecuente, afectando del 19-21% población general, siendo el DBEC la segunda causa de atención médica en los países industrializados. El DEBC causa discapacidad crónica, deterioro en la calidad de vida y afecciones a múltiples esferas en los pacientes, familiares y sociedad; calculándose un impacto económico del 1.7% del PIB de un país desarrollado a causa de los gastos generados en los sistemas de salud y en la discapacidad laboral causada por el mismo. (Marina-Camargo et al., 2004).

El manejo del dolor y los síndromes dolorosos representa un reto importante para el clínico, debido a la gran variabilidad intersujeto sobre la percepción al mismo, la propensión al desarrollo de dolor crónico y en la respuesta a los analgésicos. 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.

En estudios en humanos sobre la contribución genética a la percepción del dolor, los estudios en gemelos han arrojado resultados variables, lográndose demostrar una heredabilidad ( $h^2$ ) de hasta el 68%. (Lacroix et al., 2009). El gen COMT es uno de los genes recientemente asociados con la percepción del dolor. Éste codifica para la enzima Catecol-O-Metiltransferasa, que se encuentra involucrada en múltiples funciones fisiológicas, incluyendo la degradación de neurotransmisores de catecolaminas después de su liberación en la hendidura sináptica (Loggia 2011). Recientemente uno de sus polimorfismos de un solo nucleótido, rs4680 (p.V158M), se ha demostrado estar asociado con la percepción del dolor, sobre todo si este se asocia a un estímulo prolongado o repetido (Loggia 2011). Zubieta et al., demostraron que los homocigotos para el alelo rs4680 se caracterizaban por una mayor sensibilidad al dolor y respuestas disminuidas al dolor del sistema opioide-mu (Zubieta 2003).

El demostrar la asociación del polimorfismo rs4680 con la presencia y la intensidad de la percepción en el DEBC, podría sugerir su participación dentro de la fisiopatología del dolor, y representar un marcador biológico asociado al riesgo de presentar la entidad y a su intensidad. Encontrar marcadores biológicos asociados a la percepción del dolor en estas entidades elevaría la posibilidad de detectar posibles casos que tengan una tendencia a desarrollar cuadros crónicos de dolor y tomar medidas preventivas.

## PROBLEMA

Determinar si existe asociación entre las variantes polimórficas rs4680 del gen *COMT* con la incidencia y el grado de percepción al dolor en pacientes con DBEC.

## HIPÓTESIS

Las variantes polimórficas rs4680 del gen *COMT* mostrarán una asociación con el dolor en pacientes con la presencia de DBEC,.

## OBJETIVOS

### OBJETIVOS GENERALES

- Establecer la asociación de las variantes polimórficas del gen *COMT* con el grado de percepción de dolor en pacientes con DBEC.

### OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Valorar el grado de percepción de dolor en pacientes con DBEC, y en los controles.
- Establecer si existe asociación de las variantes polimórficas del gen *COMT* con el grado de percepción de dolor en pacientes con DBEC.
- Establecer si existe asociación de las variantes polimórficas del gen *COMT* con la presencia DBEC, en comparación con los controles.

## MATERIAL Y MÉTODOS:

Se realizó un estudio de casos y controles, en el que los casos fueron pacientes con diagnóstico de DBEC que acudieron a la consulta de rehabilitación de columna del INR y cumplieron los criterios de inclusión previa firma de formato de consentimiento informado. Los controles corresponden a pacientes sin DBEC y que cumplieron con los criterios de inclusión previa firma de formato de consentimiento informado. Se inició la recolección de muestras el 30 de septiembre del 2016.

### 1. Criterios de selección de los casos:

#### a. Criterios de inclusión:

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

#### b. Criterios de exclusión:

- Dolor lumbar de tipo no mecánico
- Antecedentes 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 tipo de dolor crónico superior a 12 semanas diferente al DBEC

## 2. Criterios de selección de los controles:

### a. Criterios de inclusión:

- Sexo masculino y femenino
- Sin antecedente de DCEB
- De 18 a 45 años
- Meztizos mexicanos (almenos 3 generaciones nacidas en el país)

### b. Criterios de exclusión:

- Antecedentes de cirugía lumbar
- Datos radiológicos de espondilo listesis, escoliosis, fractura vertebral
- Polineuropatía de cualquier tipo, primordialmente diabética
- Enfermedades neuromusculares
- Analfabetas
- Portadores de algún tipo de dolor crónico superior a 12 semanas
- Que sean familiares de los casos seleccionados

En ambos grupos se realizó la recolección de datos y la aplicación de las escalas sobre el dolor (Cuestionario de Dolor de Mc Gill versión corta), firma del consentimiento informado, valoración clínica y radiológica (radiografía anteroposterior y lateral de columna lumbar), toma de muestra sanguínea (5 ml) misma que fue sometida a extracción de ADN para la detección del polimorfismo del gen COMT.

## TAMAÑO DE MUESTRA

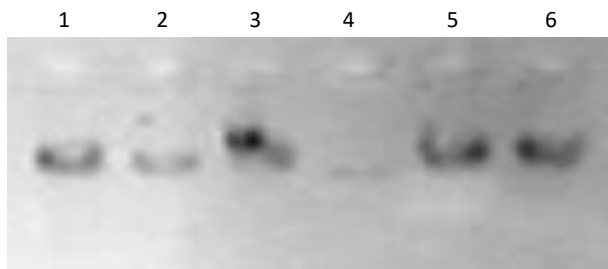
El tamaño de la muestra se calculó con base en la fórmula para un estudio de casos y controles no pareado (Schlesselman JJ, 1982), para detectar un riesgo mínimo de 2, para un  $\alpha$  de 0.05 y un  $z\beta$  de 0.20 y considerando una prevalencia en la población sana del polimorfismo del gen

COMT del 58% (De Marchis et al. 2015). Con estos parámetros se estimó un tamaño de muestra de 148 sujetos. Sin embargo, en el presente trabajo se lograron reunir un total de 87 muestras de las cuales 17 corresponden a casos y 70 a controles.

## EXTRACCIÓN DE DNA

El DNA se obtuvo de leucocitos de sangre periférica empleando el kit de extracción [QIAGEN Puregene](#), siguiendo las especificaciones del fabricante. Después de la hidratación del DNA las muestras se mantienen a temperatura  $-20^{\circ}\text{C}$ . Posterior las muestras fueron sometidas a análisis en para determinar la concentración y factor de pureza determinando la absorbancia a 260 y 280 nm con equipo Biodrop. A demás se realizó una electroforesis horizontal en gel de agarosa al 1.2% para identificar la presencia e integridad del DNA (figura 3).

**Figura 3: Muestra imagen de una electroforesis horizontal en gel de agarosa al 1.2% con el objetivo de identificar la presencia e integridad del DNA.**



POZO	MUESTRA	ng/ $\mu\text{l}$	260/280
1	005-B	108.8	1.8
2	006-B	27.66	2.0
3	007-B	109.2	1.9
4	008-B	14.36	2.2
5	004-B	53.27	1.8
6	011-B	73.13	1.8

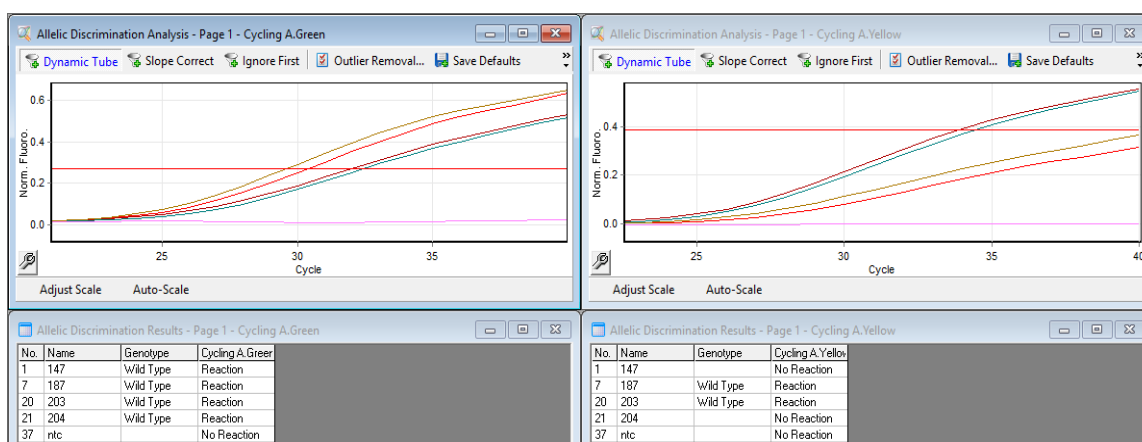
## GENOTIPIFICACIÓN

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 utilizó 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.

En el presente estudio, para la genotipificación de los sujetos se realizó PCR para amplificar los fragmentos. Las reacciones se llevaron a cabo en un termociclador en un volumen total de 50  $\mu$ l, conteniendo 50mM KCl, 10 mM tris HCl (pH 8.3), 1.5 mM MgCl<sub>2</sub>, 200  $\mu$ M de cada dNTP, 0.2  $\mu$ 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 40 ciclos se desarrolla 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 60°C.

Posteriormente se realizó la tipificación del polimorfismo rs4680 de COMT utilizando las sondas TaqMan con las secuencias 5'-CCAGCGGATGGTGGATTCGCTGGC[A/G]TGAAGGACAAGGTGTGCATGCCTGA-3', que corresponden a las señales [VIC/FAM], que permitió realizar la genotipificación por medio de PCR tiempo real cualitativa, siguiendo las instrucciones del proveedor (AppliedBiosystems), siendo posible agrupar a los sujetos en una distribución trimodal: homocigoto AA, heterocigoto AG, y homocigoto GG.

**Figura 4: Genotipificación:** En la imagen se aprecian las graficas correspondientes a las señales de fluorescencia para el alelo A, VIC (Green) y para el alelo G, FAM (yellow). Se considera como positivo solo a las líneas por encima del umbral (línea roja) indicando la presencia del alelo en cuestión.



#### ANÁLISIS Y MÉTODOS ESTADÍSTICOS:

Las variables cuantitativas se resumen obteniendo promedio y desviación estándar, la comparación entre los grupos se realizó mediante la prueba de *t* de Student para datos independientes o prueba de *U* de Mann-Whitney cuando sea conveniente. Para las variables cualitativas se realizará chi cuadrada ( $\chi^2$ ) o prueba exacta de Fisher para dos colas cuando el valor esperado en una celda sea menor de 5. Debido al diseño de casos y controles se realizará

un análisis de regresión logística no condicional, estimando la razón de momios para la asociación del polimorfismo del gen *COMT* a través del exponencial de los coeficientes de regresión en forma univariada y multivariada. Para formar el modelo multivariado se probaron las variables que en el análisis univariado muestren un valor de  $p \leq 0.15$ . El nivel de significancia fue de 0.05.

Para tener una validez interna adecuada se aplicarán de forma estricta los criterios de selección de la muestra, y una vez captados los sujetos de estudio se realizarán todos los procedimientos y se aplicarán todos los instrumentos de medición de la misma forma en ambos grupos apegándose al diseño del estudio. Así mismo, se controlaron los posibles sesgos y confusores durante la selección de los casos o bien en el análisis estadístico con el modelo multivariado.

Para la validez externa consideramos que los pacientes captados para este estudio podrían reflejar el comportamiento de la población general, por otra parte, al estudiar en número de muestra propuesto se espera que esta sea también representativa de la población.



## RESULTADOS

### Características demográficas y antropométricas de la muestra.

Se incluyeron 87 individuos de los cuales 17 fueron casos con DCEB y 70 controles sanos. La edad promedio de los casos fue de 33.94 años y de los controles es de 29.37 años. La distribución por sexos para el grupo de controles fue de 54.29% mujeres (n=38) y 45.71% varones (n=32), los casos son conformados por 64.71% varones (n=11) y 35.29% mujeres (n=6). (Tabla 5).

En cuanto a las variables antropométricas se realizan comparaciones del peso, talla e índice de masa corporal (IMC) en la población de casos (n=16) y de controles (n=54), presentando un IMC promedio de 25.77 para los controles y 25.49 para los casos, aunque de estos individuos solo 4 del grupo de casos presentaron IMC >30 y ninguno de los controles. No se observa diferencia estadísticamente significativa (Tabla 5).

**Tabla 5. Características demográficas y clínicas de la muestra.**

	<b>Casos (n = 17)</b>	<b>Controles (n = 70)</b>	<b>p</b>
<b>Edad (Promedio ± DS años)</b>	33.9±9.2	29.4±7.6	0.03
<b>IMC (Promedio ± DS kg/m<sup>2</sup>)</b>	25.8±3.3	25.5±3.4	0.8
<b>Sexo, Femenino (n, %)</b>	6(35.3)	38(54.29)	0.16
<b>Fumadores activos (%)</b>	31.1	18.5	0.27
<b>Exfumadores (%)</b>	19	18	0.9
<b>Actividad ocupacional de riesgo (%)</b>	31.2	9.4	0.03
<b>Actividad deportiva (%)</b>	20	41.2	0.13

En cuanto a la escolaridad: en el grupo de los controles la más común fue grado licenciatura correspondiendo al 46.3%, seguido de bachillerato completado con 24%, 16% presentaron estudios de posgrado y para los grados de secundaria y primaria se encontraron frecuencias de 7.4% y 5.56% respectivamente (Valor Pr=0.47). En el grupo de los casos el mayor número correspondió a pacientes con preparatoria terminada con 43.75% de los sujetos, seguido de grado licenciatura con 25% de los casos, 12.5% correspondieron a secundaria terminada y para sujetos con estudios de postgrado y primaria completada se observaron frecuencias de 12.5% y 6.25%. No se observa diferencia estadísticamente significativa (Valor Pr=0.47). Tabla 6.

**Tabla 6: Distribución de la muestra por grado de escolaridad.**

	Controles	Casos	Total
<b>Primaria</b>	3 5.56%	1 6.25%	4 5.71%
<b>Secundaria</b>	4 7.41%	2 12.50%	6 8.57%
<b>Preparatoria</b>	13 24.07%	7 43.75%	20 28.57%
<b>Universidad</b>	25 46.30%	4 25%	29 41.43%
<b>Postgrado</b>	9 16.67%	2 12.50%	11 15.71%
<b>Total</b>	54	16	70

Pearson chi2(4) = 3.5439 Pr = 0.471

Respecto al estado civil: Para el grupo de controles se observó mayor frecuencia de sujetos solteros con 61.42%, seguido de sujetos casados con 25.71%, 10% para unión libre y 2.85% para casados. En cuanto al grupo de casos se observa que el mayor porcentaje corresponde a sujetos casados 56.25%, solteros 43.71%. No se observa diferencia estadísticamente

significativa. (Valor de Pr=0.085). No se encontró diferencia estadísticamente significativa.

Tabla 7.

**Tabla 7: Distribución de la muestra respecto a su estado civil.**

ESTADO CIVIL	Soltero	Casado	Unión libre	Divorciado	Total
<b>Controles</b>	43 (61.42%)	18 (25.71%)	7 (10%)	2 (2.85%)	70
<b>Casos</b>	7 (43.74%)	9 (56.25%)	0	0	16
<b>Total</b>	50	27	7	2	86

Pearson chi2(3) = 6.6251 Pr = 0.085

El lugar de residencia: de la mayoría tanto de los casos (2/3 individuos) como de los controles (56 individuos) fue el Distrito Federal, y en cuanto al lugar de nacimiento encontramos para los controles que la mayoría eran originarios de la CDMX (48) y en segundo lugar el Estado de México (13 controles). Los casos uno corresponde a Ecuador, otro al Edo. Mex. y otro a la CDMX. Tablas 8 y 9.

**Tabla 8: Distribucion de la muestra respecto a lugar de residencia**

	Foraneo	CDMX	Total
<b>Controles</b>	14 (20%)	56 (80%)	70
<b>Casos</b>	4 (25%)	12 (75%)	16
<b>Total</b>	18	68	86

Pearson chi2(1) = 0.1967 Pr = 0.657

**Tabla 9: Distribucion de la muestra por lugar de origen**

	CDMX	Edo Mex	Gto	Gro	Hgo	Pue	Sin	Tab	Tam	Ver	Total
<b>Controles</b>	48	13	2	0	1	0	1	1	1	3	70
<b>Casos</b>	12	2	0	1	0	1	0	0	0	0	16
<b>Total</b>	60	15	2	1	1	1	1	1	1	3	86

Pearson chi2(10) = 15.4574 Pr = 0.116

En cuanto a la actividad deportiva se interrogo a los sujetos sobre el tipo de actividad, tiempo de practicarlo y frecuencia. Se considero a aquellos que realizaban actividad deportiva regular

(> 3 veces por semana) encontrándose la siguiente distribución en la muestra: para el grupo de controles se encontró que 41% de los sujetos realizaban actividad física de forma regular y 20% de los casos. A pesar de la diferencia en frecuencias esta no fue estadísticamente significativa (valor Pr= 0.134. (tabla 5).

#### Características clínicas de la muestra.

El tiempo promedio de evolución del DCEB en el grupo de casos fue de 5.4 años (desde 3 meses, hasta 22 años de evolución), con una edad de inicio promedio de 28.4 años. cuanto a la causa putativa desencadenante del cuadro doloroso se encontró que 10 (62.5%) de los sujetos no son capaces de atribuir el cuadro a algún evento desencadenante, 2 sujetos (12.5%) atribuyen el cuadro a un cambio postural (ejem levantarse), 3 sujetos (18.75%) lo atribuyeron después de la realización de un esfuerzo y uno (6.25%) a un trauma de baja energía (tabla 10).

Ocupación de riesgo: En los controles observamos una distribución de 90.56% de los sujetos realizando una actividad laboral no considerada de riesgo para el desarrollo de dolor crónico de espalda baja y 9.44%. En cuanto a los casos se observa que 31.25% de los sujetos realizan una actividad laboral considerada como de riesgo mostrando una asociación estadísticamente significativa en favor del desarrollo de dolor crónico de espalda baja, con un valor de Pr=0.03.

Los antecedentes de depresión y ansiedad se recabaron como positivas solo en aquellos casos diagnosticados previamente y que han requerido tratamiento, por lo que las incidencias reportadas en el presente estudio no corresponderán a los estimados epidemiológicos reportados en la literatura ya que estos estiman las prevalencias totales. En el presente encontramos 1 sujeto con diagnóstico clínico de depresión que corresponde a 1.85%. en el

caso del grupo de casos no se reporta ningún sujeto con antecedente de diagnóstico clínico de depresión.

**Tabla 10: Características clínicas de la muestra:**

	<b>Casos (n = 17)</b>	<b>Controles</b>	<b>P</b>
<b>Tiempo de evolución (Promedio)</b>	5.4 años		
<b>Edad de Inicio (Promedio)</b>	28.4		
<b>Causa putativa:</b>			
• Sin atribución a evento desencadenante	62.5%		
• Cambio postural	12.5%		
• Realización de esfuerzo	18.75%		
• Trauma de baja energía	6.25%		
<b>Ocupación de riesgo</b>			
• Actividad laboral de no riesgo	31.25%	90.56%	
• Actividad laboral de riesgo	68.75%	9.44%	0.03
<b>Depresión</b>	0	1.8%	0.58
<b>Ansiedad</b>	0	3.7%	0.43

En lo referente a los cuadros de ansiedad de igual manera solo se consideraron como positivos a aquellos sujetos con diagnóstico clínico de ansiedad. encontramos 2 sujetos con diagnóstico clínico de depresión que corresponde a 3.7%. en el caso del grupo de casos no se reporta ningún sujeto con antecedente de diagnóstico clínico de depresión. No se encontró diferencia estadísticamente significativa obteniendo un valor  $Pr=0.43$ .

Sobre el antecedente de tabaquismo, en el grupo de controles se observó una incidencia de 18.51%, a su vez una incidencia de 18.51% de exfumadores. En el caso de los casos se observó una incidencia de 31.24% de fumadores y de 18.75% de exfumadores con un valor  $Pr= 0.27$ .

## Análisis genético.

Para el análisis de frecuencias alélicas por grupo se realizó la genotipificación de 87 individuos, conformados por 17 casos con DCEB y 70 controles sanos. La frecuencia de los alelos A/G y su distribución trimodal de homocigoto AA, heterocigoto AG, y homocigoto GG, se encuentran en equilibrio de Hardy-Weinberg ( $p=0.36$ ). Se observa una relación de mayor frecuencia del alelo G en el grupo de casos y menor frecuencia del alelo A en el mismo grupo de casos al compararse en relación con la frecuencia alélica en el grupo de controles. Sin embargo, esta diferencia no alcanza valores estadísticamente significativos (Valor  $p=0.38$  para el grupo de casos y valor  $p=0.36$ ).

Se obtuvieron frecuencias de 15.71% de homocigotos del alelo A del marcador rs4680 del gen *COMT*, en el grupo de controles en comparación al 5.88% en el grupo de casos. La frecuencia de heterocigotos fue de 54.29% para el grupo de controles y 52.94% del grupo de casos. La frecuencia de homocigotos para el alelo G fue de 30% para el grupo de controles en comparación con 32.18% del grupo de casos, observándose una frecuencia mayor en el grupo de sujetos con dolor crónico de espalda baja (Valor  $P=0.47$ ). La frecuencia alélica por grupo se sintetiza en las tablas 13 y 14, en las que se observa una relación de mayor frecuencia del alelo G en el grupo de casos y menor frecuencia del alelo A en el mismo grupo de casos al compararse en relación con la frecuencia alélica en el grupo de controles. Lo anterior concuerda con lo reportado en la literatura en donde el genotipo GG (correspondiente al cambio de p.Val158Met que resulta en una enzima con menor actividad y mayor termolabilidad) se relaciona con una percepción aumentada a los estímulos dolorosos. Sin

embargo, esta diferencia no alcanza valores estadísticamente significativos (Valor  $p=0.38$  para el grupo de casos y valor  $p=0.36$ ).

**Tabla 13. Asociación alélica y genotípica de rs4680 en casos con dolor crónico de espalda baja y controles**

<b>SNP</b>	<b>Casos (n = 17)</b>	<b>Controles (n = 70)</b>	<b>OR (IC 95%)<sup>a</sup></b>	<b>P</b>
	<b>n (%)</b>	<b>n (%)</b>		
<b>Alelo</b>				
<b>A</b>	11 (32)	60 (43)	0.6 (0.3-1.5)	0.3
<b>G</b>	23 (68)	80 (57)	1.6 (0.7-3.8)	0.3
<b>Genotipo</b>				
<b>AA</b>	1 (5.8)	11 (15.7)	0.3 (0.01 – 2.7)	0.3
<b>GA</b>	9 (52.9)	38 (54.3)	0.9 (0.3 – 3.2)	0.9
<b>GG</b>	7 (41.2)	21 (21)	1.6 (0.4 – 5.5)	0.4

a: Razón de momios no ajustadas e intervalos de confianza 95%

**Tabla 14. Resultados de análisis multivariado de rs4680 en casos con dolor crónico de espalda baja y controles**

<b>Genotipo</b>	<b>OR (CI 95%)<sup>a</sup></b>	<b>P</b>
<b>AA</b>	<b>0.5 (0.05 – 4.2)</b>	<b>0.5</b>
<b>AG</b>	<b>1.2 (0.4 – 4.2)</b>	<b>0.7</b>
<b>GG</b>	<b>1 (0.3 – 3.7)</b>	<b>0.9</b>

a: Razón de momios ajustadas por edad y ocupación

## DISCUSIÓN

A pesar de la prevalencia e impacto económico y social del DCEB, su componente genético no ha sido estudiado a profundidad cuando se compara con las investigaciones realizadas en otras patologías. (Lacroix 2009). La principal limitante es el hecho de que el estudio de los factores genéticos en estas entidades complejas es complicado, ya que debe considerarse los factores ambientales y su interacción con los distintos aspectos genéticos. La 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. El factor genético asociado con la percepción del dolor puede ser determinante en la comprensión del DCEB y de la alta variabilidad en las respuestas al tratamiento. Identificar estos factores genéticos ayuda al entendimiento de los mecanismos fisiopatológicos y al desarrollo de nuevas estrategias terapéuticas, que en última instancia pudieran ser definitivas.

En el presente trabajo se observa una tendencia a una mayor frecuencia del alelo G y el genotipo GG, y una menor frecuencia del alelo A y el genotipo AA en los casos en comparación con controles. Sin embargo, esta diferencia no es estadísticamente significativa (Valor  $p=0.38$  para el grupo de casos y valor  $p=0.36$ ) siendo necesario un tamaño mayor de muestra. Esta tendencia concuerda con lo reportado en la literatura en donde el genotipo GG (correspondiente al cambio de p.Val158Met que resulta en una enzima con menor actividad y



mayor termolabilidad) se relaciona con una percepción aumentada a los estímulos dolorosos( De Marchis, 2015).

Una de las principales limitantes para el presente estudio es el hecho de que son varios los factores genéticos involucrados con DCEB, y solo investigamos la asociación de COMT. Se requerirá analizar otras variantes y otros genes en el futuro. También es importante analizar otros factores no genéticos involucrados en la etiología del DCEB, que forman parte de covariables.

La importancia en realizar investigaciones relacionadas con los factores genéticos asociados a patología en nuestra población reside en que las características particulares de mestizaje llevan a que resultados observados para distintas poblaciones (ejem. Caucásicos), no son reproducibles en muchos casos a nuestra población. A pesar de las limitaciones mencionadas, estos forman parte de los primeros estudios reportado en población mexicana con DCEB, lo que nos permite continuar esta línea de investigación que intenta proporcionar un entendimiento del factor genético implicado en la fisiopatogenia del dolor crónico y orientar en cuales son los modelos que deberemos investigar en el futuro en nuestra población, y ampliar nuestra muestra de pacientes.

## CONCLUSIONES

El DCEB como entidad reúne características ideales para el estudio de la asociación de polimorfismos del gen *COMT*, debido a que se ha relacionado con factores mecánicos de exposición repetida y/o sostenida, sin embargo, el estudio de los factores genéticos en entidades como éstas es complicado ya que debe considerar los factores ambientales, además de la interacción de los distintos aspectos genéticos y otros factores intrínsecos no genéticos.

En el presente estudio se observa una tendencia de mayor incidencia de homocigosis para el alelo G del rs4680 en el grupo de sujetos que desarrollaron DCEB que concuerda con lo reportado en la literatura en donde el genotipo GG (correspondiente al cambio de p.Val158Met que resulta en una enzima con menor actividad y mayor termolabilidad) se ha visto relacionado con una percepción aumentada al dolor.

La determinación de heredabilidad en los modelos experimentales, en rangos de 28 a 76 %, demuestran la importancia de los factores hereditarios como parte de la etiología de los cuadros crónicos del dolor y subrayan la importancia de su estudio para determinar el riesgo para desarrollar estos cuadros, entender su patofisiología e incluso predecir su respuesta a tratamiento.

## BIBLIOGRAFÍA

- 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.
- Cargnin S, Magnani F, Viana M, Tassorelli C, Mittino M, Cantello R, Sances G, Nappi G, Canonico P, Genazzani A, Raffaelli W, Terrazzino R. An Opposite-Direction Modulation of the COMT Val158Met Polymorphism on the Clinical Response to Intrathecal Morphine and Triptans. *The Journal of Pain*, Vol 14, No 10 (October), 2013: pp 1097-1106.
- Cluff RS, Rowbotham MC. Pain caused by herpes zoster infection. *NeurolClin* 1998;16:813–32.
- Covarrubias-Gómez. Lumbalgia: Un problema de salud Pública. *Revista Mexicana de Anestesiología*. 2010.33(1);106-109.
- Dalke-Meucci R, Gastal-Fassa A, Neice-Muller X. Prevalence of chronic low back pain: systematic review: *Rev Saúde Pública* 2015;49:73. Doi:10.1590/S0034-8910.2015049005874.
- De Marchis M, Barbanti P, Palmirota R, Egeo G, Aurilia C, Fofi L, Piroso S, Ialongo C, Della-Morte D, D’Andrea G, Ferroni P, Guadagni F. Look beyond Catechol-O-Methyltransferase genotype for catecholamines derangement in migraine: the BioBIM rs4818 and rs4680 polymorphisms study. *The Journal of Headache and Pain* (2015) 16:37.
- 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.
- 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.
- Foulkes T, Wood JN (2008) Pain Genes. *PLoS Genet*. doi:10.1371/journal.pgen.1000086
- 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.
- Loggia M, Jensen K, Gollub R, Wasan A, Edwards R, Kong j. The Catechol-O-Methyltransferase (COMT) val158met Polymorphism Affects Brain Responses to Repeated Painful Stimuli. *PLoS* 6 (11).
- LaCroix-Fralish ML, Mogil J. Progress in genetic studies of pain and analgesia. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*. 2009;49:97-121.
- Marina-Camargo D, Jiménez J, Archila E, Villamizar M. El dolor: una perspectiva epidemiológica. *Salud UIS* 2004;36:2-13.
- Catechol-O-Methyltransferase; COMT, Entry +116790. Omin.org.  
<http://omim.org/entry/116790?search=comt&highlight=comt#biochemicalFeatures>

- Van Goethem J, Kim P, and Watanabe A. [chapter 20: Spine and Lower Back Pain](#). Diagnostic Imaging of the Spine and Spinal Cord. Springer, 2007. ISBN 978-3-540-68483-1.
- Yilmaz Z, Kaplan A, Zai C, Levitan R, Kennedy J. *COMT* Val158Met variant and functional haplotypes associated with childhood ADHD history in women with bulimia nervosa. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry* 35 (2011) 948–952.
- 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.

## ANEXOS:

### **Anexo1:** Consentimiento Informado para el estudio

“Asociación de las variantes genéticas del gen COMT con la percepción del dolor en pacientes con dolor bajo de espalda crónico”

#### **Instituto Nacional de Rehabilitación**

Tlalpan, CDMX. A \_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ del 2017. Número de identificación del sujeto: |\_|\_|\_|\_|\_|\_|\_|\_|\_|\_|

El objetivo del estudio es establecer la relación de la predisposición genética y la percepción al dolor en las molestias de mi espalda y/o ciática.

Se me ha explicado que mi participación consistirá en acudir a una cita para valoración clínica, posteriormente se me realizará una extracción de sangre, para este estudio, aproximadamente de 10 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 mi presencia. En caso de que un procedimiento provoque una lesión, recibiré la atención médica necesaria por parte de los médicos involucrados en el estudio. Las entrevistas, evaluaciones y estudio genético serán sin cargo económico alguno.

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 me ha informado que conservo el derecho de retirarme del estudio en cualquier momento en que lo considere conveniente, sin que ello afecte la atención médica que recibo en el Instituto Nacional de Rehabilitación.

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

Declaro que estoy satisfecho(a) con la información que he recibido, y que todas mis dudas han sido resueltas.

Por medio de la presente doy voluntariamente mi consentimiento para participar en el proyecto de investigación titulado: **“Asociación de las variantes genéticas del gen COMT y con la percepción al dolor en pacientes con dolor bajo de espalda crónico y ciática”**. Además **ACEPTO QUE MI MUESTRA DE SANGRE SEA EMPLEADA PARA FUTUROS ESTUDIOS GENÉTICOS, MANTENIENDO LA CONFIDENCIALIDAD Y ANONIMATO.**

Nombre y firma del paciente

Nombre y firma de testigo 1

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

Nombre y firma de testigo 2

Nombre y firma del Investigador responsable:

Dr. Antonio Miranda Duarte y/o Dr. Carlos Manuel Juaristi Manrique.

\_\_\_\_\_

**Anexo2: Formato de recolección de datos.**

Nombre: \_\_\_\_\_ # \_\_\_\_\_ :

**Datos Generales.**

Edad \_\_\_\_\_ Sexo: \_\_\_\_\_ Expediente \_\_\_\_\_ Clas Socioec \_\_\_\_\_

Dirección: \_\_\_\_\_

Ciudad de Residencia: CDMX o Foráneo. Lugar de origen: \_\_\_\_\_

Teléfonos: \_\_\_\_\_ Estado civil: \_\_\_\_\_

Escolaridad: \_\_\_\_\_

Actividad Deportiva: \_\_\_\_\_ Tiempo de practicarlo \_\_\_\_\_

Días a la semana: \_\_\_\_\_ Hist. Dep. previa años \_\_\_\_\_

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.

\_\_\_\_\_

Diagnóstico de Ansiedad \_\_\_\_\_ Depresión \_\_\_\_\_

**EXPLORACION FISICA**

Peso \_\_\_\_\_ Talla \_\_\_\_\_ IMC \_\_\_\_\_

**Genética:**

**Polimorfismos:**

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_


## 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