

MÁSTER UNIVERSITARIO EN BIOTECNOLOGÍA Y BIOINGENIERÍA
UNIVERSIDAD MIGUEL HERNÁNDEZ DE ELCHE

TRABAJO FIN DE MÁSTER

**INFLUENCIA DEL GENOTIPO Y FENOTIPO *CYP2D6* EN LA
DEPENDENCIA IATROGÉNICA A OPIOIDES DE PRESCRIPCIÓN, EN
PACIENTES CON DOLOR CRÓNICO**

Cristian Omar Carvajal Tapia

Tutora académica: Dra. Ana María Peiró Peiró

Cotutor: Jordi Barrachina

Hospital General Universitario de Alicante

Julio 2020

DÑA. ANA MARÍA PEIRÓ PEIRÓ, profesora asociada del área de Farmacología, Pediatría y Química orgánica de la Universidad Miguel Hernández de Elche.

CERTIFICA

Que el presente trabajo titulado:

“INFLUENCIA DEL GENOTIPO Y FENOTIPO *CYP2D6* EN LA DEPENDENCIA IATROGÉNICA A OPIOIDES DE PRESCRIPCIÓN, EN PACIENTES CON DOLOR CRÓNICO”

y que constituye la Memoria del Trabajo Fin de Máster en Biotecnología y Bioingeniería, que presenta:

D. CRISTIAN OMAR CARVAJAL TAPIA

ha sido realizado bajo su supervisión en la Unidad de Investigación y la Unidad de Dolor del Hospital General Universitario de Alicante junto con el Instituto de Bioingeniería, cumpliendo todos los requisitos necesarios.

Y para que así conste, se expide y firma el presente certificado en Elche a 06 de julio de 2020.



Fdo.: Prof. Dra. Ana María Peiró Peiró.

RESUMEN

Introducción y objetivos: Hoy en día el uso de opioides para el tratamiento de dolor crónico no oncológico (DCNO) es muy controvertido puesto que a largo plazo su seguridad y efectividad se ha visto comprometida. En parte, puede deberse a la gran variabilidad interindividual en la respuesta analgésica, la cual a su vez se encuentra influenciada por el perfil genético de cada paciente, además de generar cuadros de dependencia. Es por ello que el objetivo del presente estudio está enfocado en evaluar la influencia del genotipo/fenotipo en la seguridad y efectividad de un protocolo terapéutico individualizado (PTI) de deprescripción en pacientes con dependencia iatrogénica a opioides de prescripción (DOP). **Metodología:** Se diseñó un estudio observacional, prospectivo, con el cual se analizó la influencia del fenotipo metabolizador del gen *CYP2D6* en la efectividad (intensidad y alivio del dolor, calidad de vida, funcionalidad, abstinencia y farmacológicas) y seguridad (eventos adversos, reacciones adversas a medicamentos) del PTI en pacientes con DCNO con DOP. Para ello, se desarrolló un estudio farmacogenético mediante el cual se analizaron polimorfismos de un solo nucleótido del gen *CYP2D6* el cual se encuentra involucrado en el metabolismo de fármacos analgésicos mediante PCR en tiempo real. **Resultados:** Se observó que el PTI disminuyó el consumo de opioides en un 33% en relación con la dosis equivalente de morfina diaria (DEMD), sin cambios en la aparición de abstinencia o variables clínicas analizadas. Además, se observó una mayor presencia de eventos adversos en los Metabolizadores Ultra rápidos (MU) siendo los de mayor prevalencia el dolor de cabeza, boca seca, nerviosismo y edema afectando los sistemas general y gastrointestinal. Con respecto a las sospechas de reacciones adversas a medicamentos, se observó una mayor prevalencia en los Metabolizadores Extensivos (ME), sin embargo, en función del sexo los hombres notificaron tres veces más que las mujeres. **Conclusiones:** El fenotipo *CYP2D6* y el sexo del paciente, puede contribuir a un perfil diferencial de seguridad en los pacientes con DCNO y DOP, que se someten al PTI. La determinación del fenotipo metabolizador podría ser de gran ayuda para comprender la variabilidad interindividual de acuerdo con la seguridad farmacológica, específicamente en mujeres, por lo que es necesario establecer estudios tomando en cuenta la perspectiva de sexo.

Palabras clave: DCNO, DOP, PTI, *CYP2D6*, sexo, opioides.

ABSTRACT

Introduction and objectives: Today the use of opioids for the treatment of chronic non-cancer pain (DCNO) is highly controversial since in the long term its safety and control has been compromised. In part, it may be due to the great inter-individual variability in the analgesic response, which in turn is influenced by the genetic profile of each patient in addition to generating dependency symptoms. For this reason, the objective of this study is focused on evaluating the influence of genotype/phenotype on safety and evaluation of an individualized therapeutic protocol (PTI) for prescription in patients with iatrogenic dependence on prescription opioids (DOP). **Methodology:** An observational, prospective study was designed, which analyzed the influence of the metabolizing phenotype of the *CYP2D6* gene on the effectiveness (intensity and relief of pain, quality of life, functionality, abstinence and pharmacological) and safety (adverse events, adverse reactions to medications) of PTI in patients with DCNO with DOP. To do this, a pharmacogenetic study was developed through which single nucleotide polymorphisms of the *CYP2D6* gene were analyzed, which is involved in the metabolism of analgesic drugs by real-time PCR. **Results:** It was found that PTI decreased opioid consumption by 33% in relation to the equivalent daily dose of morphine (DEMD), without changes in the appearance of withdrawal or analyzed clinical variables. In addition, there is a greater presence of adverse events in Ultra Rapid Metabolizers (MU) with the highest prevalence being headache, dry mouth, nervousness and edema affecting the general and gastrointestinal systems. Regarding suspected adverse drug reactions, a higher prevalence was observed in the Extensive Metabolizers (ME), however, based on sex, men report three times more than women. **Conclusions:** The *CYP2D6* phenotype and the sex of the patient, may contribute to a differential safety profile in patients with DCNO and DOP, who can see PTI. The determination of the metabolizing phenotype could be of great help to understand the interindividual variability of agreement with pharmacological safety, specifically in women, so it is necessary to establish studies taking into account the sex perspective.

Key words: DCNO, DOP, PTI, *CYP2D6*, sex, opioids.

AGRADECIMIENTOS:

Quisiera expresar mi más sincero agradecimiento a todas las personas que me han acompañado física y sentimentalmente a lo largo de este arduo camino, puesto que son partícipes y cómplices en esta valiosa aventura. Sin ustedes nada de esto habría sido posible y de todo corazón muchas gracias.

A mis tutores, Ana María y Jordi, por su esfuerzo, atención, cariño y su incalculable paciencia y dedicación. Por haberme enseñado varias habilidades, pero sobre todo contagiarme de su gran pasión por la ciencia e investigación. Siempre los tendré presentes.

A Javi y todo el personal que forma parte de ISABIAL por brindarme las herramientas necesarias para el desarrollo de esta investigación. A Mónica y Samuel por todos los días compartidos en el laboratorio, las innumerables horas de análisis, por su valiosa amistad y sus consejos.

De igual forma quiero agradecer a José y Nathalia por su buen humor, amistad y cariño, lo que realmente me hizo sentir como si estuviera en casa y como olvidarme de Julio, Jenny y Bryan y todas esas horas de reflexión, más que compañeros ahora los considero mis amigos.

A mi padre y hermanos, por ser un pilar fundamental en mi vida y sobre todo enseñarme que lo más valioso que una persona puede tener es la familia. A mi madre Sandrita, que a pesar de su partida sus virtudes y valores siempre vivirán en mí. Y a mi prima Gaby por darme todo ese apoyo inigualable e incondicional desde siempre.

Por último, pero no por ello menos importante, a Dome, por toda la paciencia, amor y comprensión que me ha demostrado durante estos 10 meses lejos de mí, sin duda alguna, eres la persona más importante en mi vida.

ABREVIATURAS:

ABUCASIS: Servicio de gestión de salud Valenciano.

ACTH: Hormona adrenocorticotropa.

ADN: Ácido desoxirribonucleico.

AINE: Antiinflamatorios no esteroides.

CEIm: Comité Ético de Investigación Clínica del Departamento de Salud Alicante – HGUA.

δ : Delta.

DCNO: Dolor crónico no oncológico.

DEMD: Dosis equivalente de morfina diaria.

dNTP: Desoxiribonucleótidos.

DOP: Dependencia iatrogénica a opioides de prescripción.

DS: Desviación estándar.

EA: Eventos adversos.

EEAG: Escala de evaluación de actividad global.

EVA-EQ: Escala de calidad de vida.

EVA: Escala visual analógica.

GPCR: Receptores transmembrana acoplados a proteínas G.

HGUA: Hospital General Universitario de Alicante.

IASP: Asociación Internacional para el Estudio del Dolor.

IQR: Rango intercuartílico (Cuartil 1 - cuartil 3).

ISABIAL: Instituto de Investigación Sanitaria y Biomédica de Alicante.

κ : Kappa.

ME: Metabolizadores extensivos.

MedDRA: Diccionario Médico para Actividades Regulatoras.

ML: Metabolizadores lentos.

MU: Metabolizadores ultra rápidos.

μ : mu.

OMS: Organización Mundial de la Salud.

OWS: Escala validada de abstinencia a opiáceos.

PBS: Tampón fosfato salino.

PTI: Protocolo terapéutico individualizado.

RAM: Reacciones adversas a medicamentos.

RT-PCR: Reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real.

SAP: Síndrome específico de abstinencia a opioides.

SED: Sociedad Española del Dolor.

SNC: Sistema nervioso central.

SNE: Sistema nervioso entérico.

SNP: Polimorfismos de un solo nucleótido.

UDO: Unidad de Dolor.

UMH: Universidad Miguel Hernández.

XL-PCR: Reacción en cadena de la polimerasa extra larga.



ÍNDICE DE CONTENIDOS:

1	INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES.....	9
1.1	Dolor crónico no oncológico (DCNO).....	10
1.2	Tratamiento del DCNO.....	11
1.2.1	Escalera analgésica de la OMS.....	13
1.3	Perfil de seguridad del tratamiento analgésico.....	14
1.3.1	Eventos adversos.....	14
1.3.2	Sospecha de reacción adversa a medicamentos.....	15
1.3.3	Problemas de abuso y dependencia a opioides de prescripción.....	16
1.4	Protocolo terapéutico individualizado (PTI).....	16
1.5	Farmacogenética aplicada a la respuesta analgésica.....	17
1.5.1	Gen <i>CYP2D6</i>	17
1.5.2	Fenotipo y genotipo <i>CYP2D6</i> aplicado a la DOP.....	18
1.6	Perspectiva de sexo aplicada a la respuesta analgésica.....	19
2	HIPÓTESIS Y OBJETIVOS.....	20
2.1	Hipótesis.....	20
2.2	Objetivos.....	20
2.2.1	Objetivo principal:.....	20
2.2.2	Objetivos secundarios:.....	20
3	MATERIALES Y MÉTODOS.....	21
3.1	Diseño del estudio.....	21
3.2	Población de estudio.....	21
3.3	Variables de estudio.....	22
3.4	Variable principal.....	22
3.4.1	Respuesta al PTI.....	22
3.5	Variables secundarias.....	23
3.5.1	Variables descriptivas.....	23
3.5.2	Variables clínicas.....	23
3.5.3	Variables farmacológicas (EA y sospechas RAM).....	24
3.6	Estudio farmacogenético.....	25

3.6.1	Obtención de la muestra biológica y extracción de ADN.....	25
3.6.2	Genotipado de las muestras.....	25
3.6.3	Número de copias.....	27
3.6.4	Presencia o ausencia del alelo 5* y duplicaciones del gen <i>CYP2D6</i>	28
3.6.5	Cálculo del puntaje de actividad y análisis del fenotipo metabolizador.	29
3.7	Análisis estadístico.....	30
3.8	Cronograma.....	31
4	RESULTADOS.....	33
4.1	Análisis de la población de estudio.....	33
4.2	Análisis descriptivo.....	34
4.3	Análisis de variable de respuesta al PTL.....	35
4.3.1	Dosis equivalente de morfina diaria.....	35
4.4	Análisis clínico.....	36
4.4.1	Efectividad.....	36
a)	Variable de efectividad de acuerdo con el fenotipo <i>CYP2D6</i>	37
b)	Variable de efectividad de acuerdo con el sexo.....	38
4.5	Análisis farmacológico.....	39
4.5.1	Seguridad.....	39
a)	Eventos y reacciones adversas.....	39
i)	Eventos adversos de acuerdo con el fenotipo <i>CYP2D6</i>	40
ii)	Eventos adversos a través de sistemas MedDRA de acuerdo con el fenotipo <i>CYP2D6</i>	42
iii)	Eventos y reacciones adversos a medicamentos de acuerdo con el sexo.....	44
iv)	Eventos adversos a través de sistemas MedDRA de acuerdo con el sexo.....	46
v)	Reacciones adversas a través de sistemas MedDRA.....	48
5	DISCUSIÓN.....	49
6	LIMITACIONES Y FORTALEZAS.....	51
7	CONCLUSIONES.....	52
8	BIBLIOGRAFÍA.....	53

1 INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES.

Según la Asociación Internacional para el Estudio del Dolor (IASP) “*el dolor es una experiencia sensorial y emocional desagradable asociada a un daño tisular real o potencial, o expresada en términos de dicho daño*”, el cual puede afectar a los humanos en cualquier momento de su vida considerándose como una experiencia universal. Actualmente el dolor es considerado un problema de salud pública, debido a que, durante los últimos años, en poblaciones occidentales se ha observado que alrededor del 20% de pacientes que acuden a consulta presentan dolor crónico, siendo uno de los de mayor prevalencia el dolor de espalda (61%). No obstante, es importante mencionar que menos del 10% de pacientes que presentan dolor son atendidos en unidades especializadas y alrededor del 40% de pacientes no reciben un tratamiento analgésico adecuado, sin embargo, el 64% de los pacientes que si reciben un tratamiento no logran controlar favorablemente su dolor (Hutchinson, Moreland, de Williams, Weinman, & Horne, 2007).

La presencia de dolor no controlado normalmente se encuentra asociado con cambios fisiopatológicos secundarios en estructuras hipotalámicas y límbicas cuya activación simpática desencadena la liberación de hormonas involucradas en la respuesta al estrés (aldosterona, glucagón, catecolaminas, cortisol, ACTH) además de presentar una disminución de insulina y testosterona (sustancias anabólicas) (Torrance, Elliott, Lee, & Smith, 2010). Por todo ello, la Organización Mundial de la Salud (OMS) determinó al alivio del dolor persistente y el acceso a un tratamiento como derechos humanos fundamentales, además, estableció el consumo de analgésicos opioides como un indicador del tratamiento contra el dolor.

Según la IASP existen cinco requisitos para establecer la interpretación del dolor: 1) la región afectada, 2) el sistema involucrado, 3) características temporales del dolor, 4) la etiología y 5) la intensidad percibida por parte del paciente. En el presente estudio únicamente se tomará en cuenta el dolor crónico músculo esquelético no oncológico, el cual representa alrededor del 80% de la consulta diaria en la Unidad de Dolor (UDO) del Hospital General Universitario de Alicante (HGUA).

1.1 Dolor crónico no oncológico (DCNO).

El DCNO es aquel que persiste en el tiempo al menos de 3 a 6 meses durante la cicatrización o resolución de la enfermedad. Estudios recientes indican que alrededor del 10% al 25% de la población sufren o han sufrido a lo largo de toda su vida este tipo de dolor (López et al., 2014). En el año 2015 la Sociedad Española del Dolor (SED) realizó la Declaración del Escorial, el cual pretende ayudar a pacientes y personas que se encuentran afectados con este problema. A continuación, se detallan los objetivos de dicha declaración (Sociedad Española del Dolor 2015):

1. La necesidad de dar voz a la epidemia silenciosa que supone el dolor crónico en nuestro país.
2. Que el abordaje del dolor es responsabilidad de instituciones, profesionales sanitarios y pacientes.
3. La necesidad de fomentar la creación de políticas que vayan encaminadas a la prevención del dolor crónico, asumiendo que la cronicidad del dolor es mucho más difícil de abordar y tratar. Debiendo, por tanto, evitar en la medida de lo posible esta cronificación.
4. El deber de cualquier profesional de la salud a estar formado en el tratamiento del dolor, tanto agudo como crónico, de manera específica. Instando a los responsables de las políticas de educación de pregrado y de formación de postgrado a instaurar medidas que incluyan el tratamiento del dolor, entendiendo este como una patología transversal y no como un síntoma dentro de otra patología.
5. Que la formación y el empoderamiento del paciente son tareas pendientes, que permitirán a éste tomar el control de su enfermedad, ayudándole a tomar decisiones sobre la misma y su tratamiento. Del mismo modo, reconocemos la necesidad y el deber de los pacientes a ser responsables de su dolor, realizando los cambios de estilo de vida que precisen y llevando a cabo el cumplimiento terapéutico que implica el tratamiento de este.
6. Que el dolor crónico es una patología transversal que requiere aunar esfuerzos por parte de los diferentes especialistas sanitarios y cohesión entre ellos, así como empatía con el paciente y sus familiares.

7. Que existen poblaciones marginales que requieren un esfuerzo añadido en el abordaje del dolor como son los niños, los ancianos, los pacientes con cáncer independientemente de su estadio y pacientes con enfermedades raras, entre otros.
8. La necesidad de crear redes implicando a todos (instituciones, profesionales y pacientes) que trabajen al unísono para mejorar el abordaje, teniendo en cuenta que la lucha contra el dolor es una tarea común.
9. La necesidad de promocionar la investigación en dolor, tanto en los mecanismos biológicos como en su tratamiento.
10. Que el tratamiento de los pacientes con dolor crónico intenso y/o complejo debe ser realizado por equipos multidisciplinares integrados en Unidades del Dolor y debidamente formados. Esto permitirá aplicar las terapias más coste/eficientes y lograr una mayor calidad en el abordaje de este.

Actualmente se conoce que alrededor del 80% de personas que padecen de DCNO y se encuentran en tratamiento con opioides presentan diferentes comorbilidades, algunas de ellas con la capacidad de potenciarse entre sí, como la depresión, la ansiedad y el insomnio (Taylor, Lichstein, Durrence, Reidel, & Bush, 2005). Esto puede potenciar una amplia variabilidad en la respuesta analgésica y, por tanto, la necesidad de individualizar su manejo farmacológico (Martel, Wasan, Jamison, & Edwards, 2013; Velázquez, Muñoz, Sánchez, Zenner, & Velázquez, 2012). Además, es importante añadir que la respuesta al tratamiento analgésico en pacientes con DCNO depende de factores fisiológicos, ambientales y genéticos, lo que conlleva a una variabilidad en la seguridad y efectividad del tratamiento.

1.2 Tratamiento del DCNO.

Actualmente el uso de fármacos analgésicos opioides es considerado como uno de los tratamientos fundamentales para el dolor agudo, quirúrgico y oncológico. Esto se debe en gran parte a su alta afinidad a receptores opioides, los cuales al activarse promueven una analgesia alta. Sin embargo, su uso como tratamiento para DCNO es muy discutido en la comunidad, específicamente por los perfiles de seguridad y efectividad a largo plazo. Esto se debe a que los opioides aparte de producir analgesia promueven la presencia de eventos indeseables, los cuales pueden influir en la calidad de vida de los pacientes y en casos desarrollar dependencia (Eriksen, Sjøgren, Bruera, Ekholm, & Rasmussen, 2006). Es por ello que se recomienda su uso

únicamente en casos de que intervenciones previas hayan fracasado o no existan respuestas satisfactorias al tratamiento (Vega, Ferrándiz, Genové, Santeularia, & Catala, 2019).

El término opioide abarca a un conjunto de sustancias tanto exógenas como endógenas, las cuales tienen una alta afinidad por los receptores opioides, los cuales se encuentran en el cerebro, específicamente en áreas tales como: materia gris periacueductal, la medula espinal y periferia (plexos mientéricos digestivos y articulaciones) (Beledo, Simón, & Martínez, 2013) permitiendo interacciones específicas, generando efectos similares al de la morfina (Foley, 2003). Hoy en día se conocen cuatro tipos diferentes de receptores opioides en humanos: *mu* (μ), *delta* (δ), *kappa* (κ) y *nociceptina*. Todos ellos pertenecientes a la gran superfamilia de receptores transmembrana acoplados a proteínas G (GPCR), por lo que presentan una similitud en su estructura, no obstante, al poseer diferentes ligandos endógenos pueden establecer diferentes funciones (Waldhoer, Bartlett, & L., 2004).

La respuesta generada por los opioides frente a sus receptores depende de su mecanismo de acción el cual puede ser como: agonista, agonista parcial o antagonista en uno o varios receptores. Sin embargo, en los opioides exógenos podemos observar un fenómeno llamado dualismo farmacológico, que no es más que la acción de dos fármacos opioides sobre distintos receptores (μ , κ) generando un mismo efecto farmacológico en este caso la analgesia (Pasternak & Pan, 2013). Además, es importante mencionar que el mecanismo de acción de los fármacos (ligandos exógenos) puede ser como agonista para uno y antagonista para otro (Volkow, Wang, Fowler, & Tomasi, 2012).

El sistema opioide endógeno se encuentra involucrado en varias funciones fisiológicas como se puede observar en la Tabla 1. No obstante, es importante mencionar el rol que juega en el circuito cerebral de recompensa, debido a que produce la liberación de dopamina en el núcleo accumbens, a través de la inhibición de las interneuronas GABAérgicas del área tegmental ventral (Volkow & Li, 2005).

Receptor	Ligando endógeno	Función
μ	Beta-endorfina Encefalinas Endomorfina	Analgesia Depresión respiratoria ↓ Motilidad gastrointestinal Miosis Sedación Euforia Dependencia física
κ	Dinorfinas	Analgesia Miosis Disforia Alucinaciones Sedación
δ	Encefalinas Beta-endorfina	Depresión respiratoria ↓ Motilidad gastrointestinal Tolerancia Alteraciones del humor

Tabla 1. Receptores opioides principales, ligandos endógenos y funciones generales de los receptores.

1.2.1 Escalera analgésica de la OMS.

Para el tratamiento del dolor en pacientes con cáncer la OMS en 1988, propuso un protocolo denominado “Escalera Analgésica” cuyo uso se ha extendido para pacientes con DCNO. De esta forma como se observa en la Figura 1, el primer escalón se encuentra dirigido a tratar el dolor leve, mediante el uso de Antiinflamatorios No Esteroides (AINE) y fármacos no opioides como el paracetamol, metamizol, etc. En el segundo escalón se encuentran opioides débiles como la codeína y el tramadol que pueden ser usados en combinación con fármacos no opioides, cuyo objetivo es tratar el dolor moderado. Por último, en el tercer escalón se encuentran opioides fuertes como la morfina, buprenorfina o fentanilo los cuales se usan para tratar el dolor intenso y al igual que los escalones anteriores pueden ser usados en combinación con fármacos no opioides. En este sentido es necesario indicar que en todos los niveles el uso de fármacos adyuvantes esta permitido con el fin de mejorar la comorbilidad (Manchikanti et al., 2012).

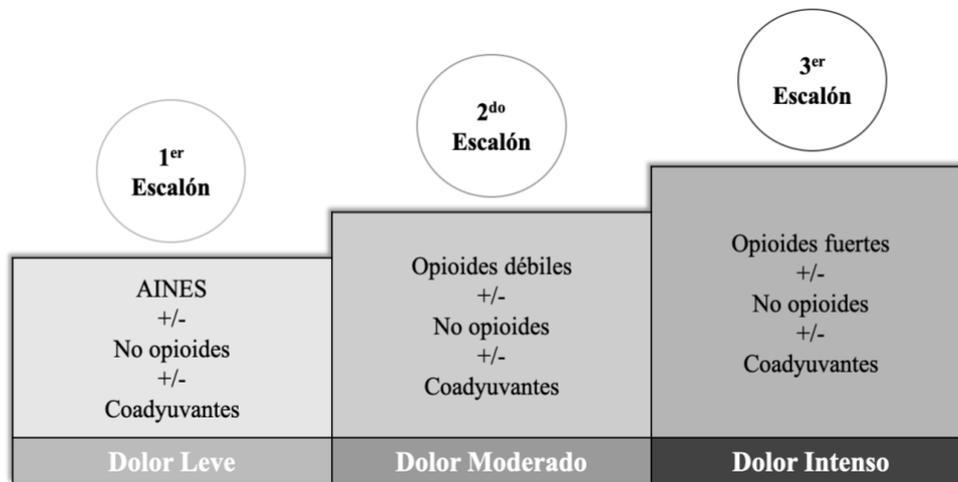


Figura 1. Escalera Analgésica Organización Mundial de la Salud.

Durante la última década, España ha sufrido un aumento en el consumo de opioides (fentanilo y tramadol) de la mano de un incremento significativo en la presencia y prevalencia de eventos adversos (EA), prevenibles en la mayoría de los casos (García del Pozo, Carvajal, Vilorio, Velasco, & García del Pozo, 2008). Sin embargo, mediante un consumo y tratamiento responsable, es posible evitar los efectos nocivos derivados del abuso de este tipo de sustancias lo que conlleva a la necesidad de evaluar los perfiles de seguridad y efectividad del tratamiento analgésico.

1.3 Perfil de seguridad del tratamiento analgésico.

1.3.1 Eventos adversos.

Dentro del perfil de seguridad se encuentran los EA los cuales se definen como reacciones no deseadas luego de la administración de un fármaco en la dosis indicada para el tratamiento de una enfermedad o con el fin de modificar alguna función biológica. En este sentido la aparición de EA condiciona los perfiles de seguridad de los fármacos analgésicos, debido a que pueden empeorar una condición clínica o producir manifestaciones las cuales conduzcan a un diagnóstico erróneo y un tratamiento ineficaz.

Uno de los principales problemas en los tratamientos con opioides, es la tolerancia frente a uno o varios de los efectos producidos debidos a cambios farmacocinéticos y farmacodinámicos. La tolerancia muy a menudo es generada por los receptores del sistema nervioso central (SNC), al

contrario de los receptores del sistema nervioso entérico (SNE) cuyos efectos persisten con el tratamiento crónico. Un claro ejemplo de este último es el estreñimiento, el cual dura a pesar del uso de laxantes y es la causa principal del abandono del tratamiento con opioides. Los EA digestivos como el estreñimiento se producen específicamente por la interacción de opioides exógenos sobre los receptores κ , los cuales se encuentran a lo largo del plexo mioentérico y están involucrados en la actividad motora intestinal (Wood & Galligan, 2004). Actualmente se han desarrollado varios fármacos los cuales combinan mecanismos acción y principios activos con el fin de reducir este tipo de problemas.

1.3.2 Sospecha de reacción adversa a medicamentos.

Para determinar si un EA es una reacción adversa a medicamentos (RAM) se realiza un análisis de causalidad entre el fármaco y el EA. En este sentido y con el fin de evitar este tipo de situaciones es necesario establecer una detección temprana de EA que ayudaría a mejorar el diagnóstico clínico.

Según la OMS las RAM son *“cualquier reacción nociva no intencionada que aparece a dosis normalmente usadas en el ser humano para profilaxis, diagnóstico o tratamiento o para modificar funciones fisiológicas”*. Para determinar las RAM el HGUA elaboró un sistema interconsulta de rutina clínica entre la UDO y la Unidad de Farmacología Clínica, en el cual se valoraba una serie de factores tales como: la aparición, duración y gravedad de las RAM. Debido a que pueden: aparecer inmediatamente luego del inicio, durante o después del tratamiento, ser poco o muy frecuentes, evitados a través de un ajuste de la dosis o propios de la acción terapéutica, ser expresión de una dosis o evidenciarse solo con dosis supra terapéuticas, ser ligeros o graves. En este sentido el registro de RAM en etapas tempranas garantizaría la seguridad de los tratamientos.

Por otra parte, MedDRA es un diccionario de terminología médica que se usa en la clasificación de EA, este sistema se basa en una estructura jerárquica compleja de 5 niveles que permite codificar y agrupar EA, además de relacionarlos con sistemas en los cuales están involucrados.

1.3.3 Problemas de abuso y dependencia a opioides de prescripción.

La Dependencia es un fenómeno complejo en el cual influyen al menos 3 factores: factores ambientales (entorno familiar, social, agentes estresantes, etc.), propiedades farmacológicas (implicadas en el circuito dopaminérgico de recompensa) y factores genéticos los cuales tienen un peso del 40 al 60 % en el riesgo de desarrollar dependencia. Estudios previos han demostrado que alrededor del 30% de pacientes con DCNO tratados con opioides presentan conductas de dependencia (Juurlink & Dhalla, 2012).

La OMS caracteriza la dependencia como “*un fuerte deseo de consumir la sustancia y un deterioro de la capacidad para controlar su uso*”. En este contexto la dependencia se caracteriza por un síndrome específico de abstinencia a opioides (SAP) que puede deberse a una retirada abrupta, reducción de dosis, disminución de la sustancia en sangre o la administración de un agonista. Hoy en día, los tratamientos para la deprescripción de opioides consisten en protocolos terapéuticos dirigidos a interrumpir de forma gradual el uso de este tipo de sustancias, a través de un conjunto de medidas farmacológicas en pacientes con DCNO (Muriel et al., 2018).

1.4 Protocolo terapéutico individualizado (PTI).

En el año 2014, en la UDO del HGUA se desarrolló un estudio denominado DESOPI el cual demostró la efectividad de un PTI para la deprescripción de opioides en pacientes con dependencia iatrogénica a opioides de prescripción (DOP). Sin embargo, se consideró necesario establecer una relación entre el genotipo y fenotipo del metabolismo de opioides en la respuesta al PTI. De esta forma se podría incluir un marcador genético para ayudar y guiar de forma individualizada en la rutina clínica.

El PTI es un protocolo de deprescripción ambulatoria a pacientes con DCNO y DOP. Fue diseñado, establecido y ejecutado tomando en cuenta las guías nacionales e internacionales para el tratamiento de la dependencia de opiáceos (Plan Nacional sobre Drogas) (Margarit et al., 2019; Muriel et al., 2019; Peiró, 2018; Planelles et al., 2019). Es importante mencionar que en el presente estudio para determinar si el PTI fue satisfactorio los individuos deberían tener una reducción del 30% o más de la dosis equivalente de morfina diaria (DEMD).

En este sentido, la deprescripción se define como “*un proceso de retirada de una medicación inadecuada, supervisado por un profesional sanitario con el objetivo de manejar la polifarmacia y mejorar resultados*” (Reeve, Gnjudic, Long, & Hilmer, 2015).

1.5 Farmacogenética aplicada a la respuesta analgésica.

La farmacogenética es una disciplina biológica enfocada a estudiar la relación entre las variaciones de las secuencias de ADN (genotipo) y la respuesta a determinados fármacos. Las variaciones en estas secuencias de ADN se derivan en varios aspectos, entre los principales se encuentran cambios en los receptores y transportadores de membrana o en enzimas encargadas de metabolizar los fármacos. Además, es importante recalcar que la mayoría de las diferencias en estas secuencias se deben a polimorfismos de un solo nucleótido (SNP). En este sentido, estudios han demostrado que el análisis de los SNP son una herramienta importante al momento de ajustar las dosis de los tratamientos en pacientes con DOP, puesto que permitiría disminuir los EA y mejorar la eficacia del tratamiento (Lötsch, Skarke, Liefhold, & Geisslinger, 2004).

Dentro del área que estudia el dolor existen varios genes que se encuentran involucrados como los que codifican para receptores opioides (*OPRRM1*, *OPRD1*, *OPRK1*), transportadores de membrana (*ABCB1*, *SLCO1A2*), moléculas involucradas en la transmisión del dolor (*COMT*, *GCHI*, *MC1R*, *DRD2*) y enzimas involucradas en el metabolismo (*CYP2D6*, *UGT2B7*). En el presente estudio únicamente evaluaremos las variantes genéticas que codifican para la enzima metabolizadora *CYP2D6*.

1.5.1 Gen *CYP2D6*.

CYP2D6 es una enzima que forma parte de la familia del citocromo P450 las cuales son consideradas unas de las más importantes con respecto al metabolismo de fármacos opioides (GervasiniI, Carrillo, & Benítez, 2004), debido a que esta enzima es capaz de metabolizar alrededor del 25% de fármacos en humanos. Hoy en día, se conoce que el gen que codifica para esta enzima presenta varios polimorfismos y se encuentra en el brazo largo (q) del cromosoma 22 en la posición 13.2 (Figura 2).

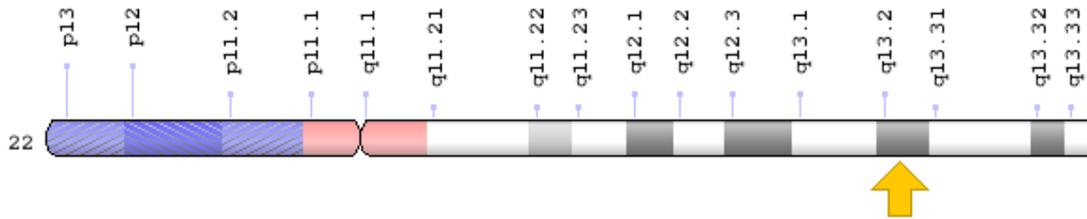


Figura 2. Posición cromosómica del gen CYP2D6.

Actualmente se han descrito que existen más de 100 variantes alélicas para el gen *CYP2D6* debido a que es extremadamente polimórfico (Glass et al., 2018), además se han detectado más de 30 alelos inactivos, de tal forma que individuos homocigóticos para estas variantes presentan una actividad metabólica nula, permitiendo de esta forma clasificar a los pacientes de acuerdo a su fenotipo metabólico: metabolizadores lentos (ML), metabolizadores extensivos (ME) y metabolizadores ultra rápidos (MU) (Del Tredici et al., 2018).

Mediante esta clasificación es posible evaluar la seguridad y efectividad de los tratamientos de acuerdo con el fenotipo metabólico, debido a que es posible detectar los EA por un aumento de la concentración plasmática de los fármacos consumidos. Anteriormente, se utilizaba técnicas como el uso de sustratos, inhibidores e inductores o anticuerpos para la caracterización del citocromo P450. Con el avance de las herramientas de biología molecular, hoy en día, es posible cuantificar con una alta especificidad y sensibilidad los genes que intervienen en el metabolismo de los fármacos y analizar las secuencias de estos, dando como resultado un análisis más específico sobre la variabilidad interindividual de los pacientes y de esta forma poder relacionar los genotipos obtenidos (variantes alélicas, SNP) con el fenotipo metabolizador (ML, ME y MU).

1.5.2 Fenotipo y genotipo *CYP2D6* aplicado a la DOP.

Como se menciona anteriormente el gen *CYP2D6* es uno de los principales genes que se encuentran involucrados en el metabolismo de fármacos analgésicos (opioides), no obstante, varios estudios han demostrado que es un gen extremadamente polimórfico (Bertilsson, Dahl, Dalén, & Al-Shurbaji, 2002). Por tal motivo la presencia de EA como la dependencia podría ser el resultado de su naturaleza genética, por lo que es necesario determinar si existe relación entre estos.

En este sentido, la detección de variaciones en las secuencias de ADN del gen *CYP2D6* toma una importancia relevante, debido a que podrían ser usadas como marcadores genéticos en la rutina clínica, aportando datos que permitan adaptar individualmente la medicación y los tratamientos clínicos a corto y largo plazo generando de esta forma una disminución del desarrollo de DOP con DCNO, además de mejorar la calidad de vida.

1.6 Perspectiva de sexo aplicada a la respuesta analgésica.

Durante la última década varios estudios han demostrado que existen diferencias claras entre hombres y mujeres con respecto al dolor y su respuesta analgésica. Siendo las mujeres quienes mayores problemas presentan tanto en las intervenciones farmacológicas como no farmacológicas. Aunque hoy en día se desconoce la etiología de esta diferencia, varios autores indican que en parte podría deberse a las hormonas sexuales, puesto que influyen en la sensación del dolor, a esto se podría añadir la influencia de factores genéticos como los genes que codifican para la familia de enzimas del citocromo P450 (*CYP2D6*) puesto que se ha observado que las mujeres presentan una mayor actividad (Bartley & Fillingim, 2013; Miyazaki & Yamamoto, 2009), por otra parte evidencias científicas han demostrado que existen claras diferencias farmacológicas ligadas al sexo en la unión de los receptores opioides μ en el SNC y en la respuesta analgésica a ligandos para los receptores κ (Schwartz, 1999). Esto podría explicar los resultados obtenidos en un estudio previo donde la prevalencia de mujeres fue del 67% acompañado de una presencia mayor de EA en comparación con los hombres (Planelles et al., 2020). Por este motivo, aplicar la perspectiva de sexo a la medicina del dolor se considera esencial para poder explicar, al menos en parte, la diferencia en la respuesta analgésica sobre todo en el aspecto de seguridad farmacológica. Esto es más relevante en una población más vulnerable que, además de DCNO, presentan una DOP.

2 HIPÓTESIS Y OBJETIVOS.

2.1 Hipótesis.

El tratamiento del DCNO debe ser considerado como una parte fundamental e integral de la práctica clínica, debido a que el tratamiento mediante el uso de opioides se encuentra asociado a la presencia de EA y RAM, mas aún en el caso mujeres, debido a que presentan una mayor cantidad de EA en comparación con los hombres.

En este sentido el presente estudio se centra en evaluar la efectividad y seguridad de un PTI de pacientes con DCNO y DOP. Y pretende demostrar como el uso de marcadores genéticos, podrían ser usados como una herramienta clínica para mejorar los perfiles de seguridad y efectividad de los tratamientos analgésicos.

2.2 Objetivos.

2.2.1 Objetivo principal:

Evaluar la influencia del genotipo y fenotipo metabólico del gen *CYP2D6*, el cual se encuentra relacionado con el metabolismo de fármacos analgésicos, con el fin de analizar su influencia en la efectividad (variables clínicas) y seguridad (EA y RAM) del PTI en pacientes ambulatorios con DCNO que habían desarrollado conductas de DOP.

2.2.2 Objetivos secundarios:

- a) Realizar un análisis descriptivo de la población de estudio con DCNO que han desarrollado conductas de DOP.
- b) Determinar la efectividad del PTI de acuerdo con el fenotipo metabólico *CYP2D6*.
- c) Describir el consumo farmacológico y, en especial, DEMD de cada fenotipo metabolizador *CYP2D6*.
- d) Analizar la seguridad del PTI de acuerdo con el fenotipo metabolizador *CYP2D6*.
- e) Analizar la influencia del sexo como variable transversal en todos los aspectos analizados en nuestra población.

3 MATERIALES Y MÉTODOS.

3.1 Diseño del estudio.

El presente estudio posee un diseño observacional prospectivo, con grupo control histórico, con el cual se pretende analizar la influencia del fenotipo metabolizador del gen *CYP2D6* en variables de respuesta que valoran la efectividad y seguridad de un PTI en pacientes con DCNO y DOP que acuden a UDO del HGUA. El período de inclusión del presente estudio fue de mayo de 2013 a diciembre de 2019.

El estudio se llevó a cabo conforme con la Ley 14/2007, de 3 julio, de investigación biomédica, la Declaración de Helsinki, las normas de Buena Práctica Clínica y la legislación vigente en la materia en España conforme lo descrito en el acuerdo ministerial SAS/3470/2009 para el desarrollo de estudio observacionales. Todos los pacientes que formaron parte en el estudio firmaron su consentimiento informado clínico y el de donación de muestras a Biobanco. Los datos de todos los pacientes fueron anonimizados y el estudio fue aprobado por el Comité Ético de Investigación Clínica del Departamento de Salud Alicante – HGUA (CEIm).

3.2 Población de estudio.

Los pacientes que formaron parte del presente estudio cumplieron los siguientes criterios de inclusión:

- a) Mayores de 18 años.
- b) Diagnosticados con DCNO, tratados con opioides más de 12 meses, que acudan a UDO por DOP y que sigan un PTI para la deprescripción de opioides.
- c) Firmar el consentimiento informado para la inclusión dentro del estudio, además de haber recibido información acerca de sus objetivos y fines.
- d) Pacientes con la capacidad de cumplimentar los formularios establecidos para la recogida de datos.

Por otro lado, los criterios de exclusión son:

- a) Menores de 18 años.
- b) Diagnosticados con dolor crónico oncológico.
- c) Diagnosticados con patologías psiquiátricas, es decir, que pueda interferir con el desarrollo del presente estudio.
- d) Aquellos que no hayan firmado su consentimiento informado.

La continuidad de cada uno de los pacientes en el desarrollo del presente estudio es exclusiva del individuo, es decir, tienen derecho a retirarse del estudio cuando consideren y crean necesario, cumplimentando la revocación del consentimiento informado. Para ello, no es necesario ningún tipo de justificación.

Para analizar el genotipo de la población, se recogieron datos de pacientes que forman parte del grupo de control de UDO (n=231). Estos pacientes forman parte de una cohorte que acuden a UDO de manera ambulatoria y participaron en un estudio previo (FARMADOL) que fue precursor del presente estudio. Presentaron los mismos criterios de inclusión y exclusión, salvo el de dependencia (b-inclusión). El reclutamiento de los pacientes se llevo a cabo por médicos especialistas en dolor e investigadores precursores del presente estudio.

3.3 Variables de estudio.

Para la obtención de los datos del presente estudio se utilizó el servicio de gestión de salud Valenciano (ABUCASIS), además de cuestionarios validados, los cuales se realizaron de forma presencial a cada uno de los pacientes en sus visitas a la UDO. Todos los datos se recopilaban en un cuaderno de recogida de datos y posteriormente se almacenaron en una base de datos en Excel, la cual es individual para cada uno de los pacientes.

3.4 Variable principal.

3.4.1 Respuesta al PTI.

Para evaluar el PTI se planteó dividirlos en tres grupos: Respondedores, Altos respondedores y No respondedores. Para determinar si un paciente es Respondedor debía cumplir un único

criterio, el cual es obtener una reducción del 30% o más de la DEMD en la última visita del PTI. Para el caso de los Altos Respondedores debían tener una reducción de más del 50% de la DEMD en la última visita del PTI.

Para valorar la DEMD se realizó un registro de la medicación prescrita del paciente antes de cada una de las visitas (basal y final). Posteriormente se determinó la DEMD expresada en mg de morfina diaria. (mg/día). En este sentido, se puede llevar a cabo un registro farmacológico en el cual se puede observar las variaciones en las dosis y opioides de cada uno de los pacientes, además de determinar si el PTI es satisfactorio. Se priorizó la rotación a buprenorfina por ser agonista, antagonista opioide y a tramadol, por ser opioide menor.

3.5 Variables secundarias.

3.5.1 Variables descriptivas.

Dentro de las variables descriptivas se tomaron en cuenta los datos demográficos (edad, sexo) y el fenotipo metabólico: ML, ME y MU.

3.5.2 Variables clínicas.

Para valorar las variables clínicas se utilizaron escalas y cuestionarios validados, los cuales se cumplimentaron en cada una de las visitas a UDO. Con respecto a la intensidad de dolor y alivio, se usó una Escala Visual Analógica (EVA) la cual consiste en una línea horizontal de 0 a 100 mm, en la cual el paciente indica la intensidad tanto de dolor (0 representa ausencia de dolor y 100 el mayor dolor posible) como de alivio (0 representa ausencia de alivio y 100 el mayor alivio posible) con el tratamiento en el momento de la consulta. Para valorar la intensidad de dolor se clasifica en leve ($x < 40$), moderado ($40 < x < 70$) e intenso ($x > 70$) (Pardo, Muñoz, & Chamorro, 2006).

Con respecto a la calidad de vida se utilizó una escala denominada EVA-EQ que valora el estado de salud en el momento de la consulta en una escala de 0 a 100 mm, en donde 0 es el peor y 100 el mejor estado de salud imaginable; esta escala también conocida como EuroQol-5D es una alternativa sencilla para la calidad de vida relacionada con la salud en atención primaria (Herdman, Badia, & Berra, 2001).

Para evaluar la intensidad de la sintomatología de la abstinencia a opiáceos se utilizó la escala validada de Abstinencia a Opiáceos (OWS), la cual consta de 32 ítems valorados mediante una escala de 4 puntos (0 ausente, 1 leve, 2 moderado y 3 grave), obteniéndose una puntuación final entre 0 y 128 puntos, que representan varios signos y síntomas que pueden aparecer durante la abstinencia, mientras mayor sea la puntuación mayor es la gravedad del síndrome de abstinencia (accesible en: <https://biadmin.cibersam.es>).

Por último, para valorar la actividad psicológica, social y laboral (sin tomar en cuenta las alteraciones de la actividad por limitaciones físicas o ambientales) se utilizó la Escala de Evaluación de Actividad Global (EEAG), la cual esta puntuada de 0 a 100. Mientras mayor sea la puntuación mejor es el nivel de actividad y vida del individuo (Jones, Thornicroft, Coffey, & Dunn, 1995). Es importante mencionar que esta escala es cumplimentada por el investigador de acuerdo con su percepción acerca del paciente en el momento de la consulta.

3.5.3 Variables farmacológicas (EA y sospechas RAM).

Para determinar los EA se utilizó una lista en la cual se marcaba la presencia o ausencia de cada uno de ellos, específicamente se analizaron 18 EA, los cuales son frecuentes en pacientes que consumen opioides. Además, se determinó los sistemas afectados por la presencia de EA, esto se realizó a través de MedDRA de acuerdo con la siguiente clasificación.

Sistemas:

- Nervioso: Somnolencia, mareos, dolor de cabeza.
- Gastrointestinal: Náuseas, vómitos, estreñimiento, boca seca.
- Piel: Picor en la piel, enrojecimiento de la piel y piel seca.
- Reproductivo: Impotencia sexual.
- Psiquiátrico: Disminución del deseo sexual, depresión, insomnio y nerviosismo.
- Complementario: Cambios de peso.
- General: Edema.
- Metabólico: Falta de apetito.

Por último, se determinó la presencia o ausencia de reacciones adversas a medicamentos (RAM) en la población de estudio.

3.6 Estudio farmacogenético.

3.6.1 Obtención de la muestra biológica y extracción de ADN.

Las muestras de los pacientes se recogieron en la visita basal, cuando el paciente era atendido ambulatoriamente por rutina clínica, en la UDO. Se hizo de modo individual, una vez que fueron incluidos en el estudio en la primera visita, para ello se utilizó tubos Falcon de 25 ml con 6 ml de tampón fosfato salino (PBS). Específicamente se recogió 2 ml de saliva. Una vez obtenida la muestra biológica fue almacenada a -80 °C.

Luego de obtener las muestras de saliva, se realizó la extracción de ADN a través del Kit E.N.Z.A Forensic DNA kit (Omega bio-tek), siguiendo el protocolo de la casa comercial. Posteriormente, se cuantificó su concentración y se valoró su calidad tomando en cuenta las relaciones en las absorbancias 260/280 que determinan proteínas en la muestra y 260/230 solventes orgánicos. Para ello se usó el espectrofotómetro Nanodrop 1000 (Thermo Scientific). Seguidamente las muestras fueron almacenadas en el congelador a -20 °C.

3.6.2 Genotipado de las muestras.

Para analizar el genotipo de las muestras se determinó la presencia de diferentes SNP: 2*, 4*, 6*, 10*, 17*, 29*, 35* y 41* del gen *CYP2D6*, además se cuantificó el número de copias del gen y la delección del alelo 5*. Para ello se utilizaron los reactivos que se detallan a continuación en las Tablas 2 y 3.

<i>CYP2D6</i>	Sonda Taqman MGB® (Applied Biosystems)	Código rs	SNP <i>CYP2D6</i>
*2	C_32407252_30	rs1080385	-1584C>G
*3	C_32407232_50	rs35742686	2549delA
*4	C_27102431_D0	rs3892097	1846G>A
*6	C_32407243_20	rs5030655	1707delT

*10	C_11484460_40	rs1065852	100C>T
*17	C_34836113_20	rs28371706	1023C>T
*29	C_34816113_20	rs59421388	3183G>A
*35	C_27102444_80	rs76925	31G>A
*41	C_34816116_20	rs28371725	2988G>A
CNV (CYP2D6xN)	Hs_00010001_cn		

Tabla 2. Sondas TaqMan®, código rs y posición del SNP en el gen *CYP2D6*.

Oligonucleótidos	Secuencia de nucleótidos <i>CYP2D6</i>
DPKup	5'- GTT ATC CCA GAA GGC TTT GCA GGC TTC A -3'
DPKlow	5'- GCC GAC TGA GCC CTG GGA GGT AGG TA -3'
3'2D6*5	5'- CAG GCA TGA GCT AAG GCA CCC AGA C -3'
5'2D6*5	5'- CAC CAG GCA CCT GTA CTC CTC -3'

Tabla 3. Secuencias de los nucleótidos o primers/cebadores que se usaron para la determinación de las variantes alélicas.

El genotipo se determinó mediante la técnica de reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real (RT-PCR), utilizando el equipo Real Time PCR Rotor Gene Q (Qiagen). Para llevar a cabo esta técnica se necesitó: una muestra de ADN, primers específicos para el SNP que se requiere analizar, polimerasa de ADN, desoxiribonucleótidos (dNTP), tampón de reacción y sondas Taqman MGB® (Applied Biosystems) las cuales tienen dos fluorocromos VIC (amarillo) y FAM (verde) del SNP que se requiere analizar.

Cada muestra contenía los siguientes reactivos:

- 5 µl de Mástermix.
- 0.5 µl de Sonda TaqMan MGB® (Applied Biosystems).
- 4 µl de ADN de muestra (100 ng).

Todas las muestras se analizaron por duplicado y se usaron controles negativos para cada SNP. Las condiciones de amplificación fueron las siguientes (Figura 3).

- Pre-PCR: 60 °C durante 30 segundos.
- Desnaturalización inicial: 95 °C durante 10 minutos.
- 40 ciclos de desnaturalización: 95 °C durante 15 segundos.
- Alineamiento y elongación: 60 °C durante 1 minuto.
- Elongación final: 72 °C durante 30 segundos.

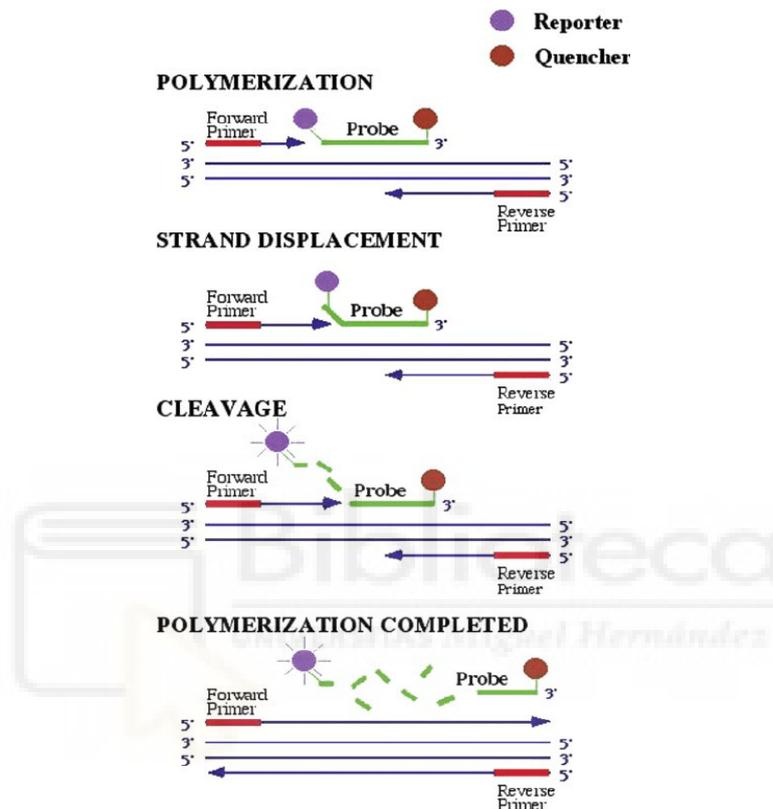


Figura 3. Esquema de la PCR en tiempo real con sondas Taqman (Schaad et al., 2003).

3.6.3 Número de copias.

Para determinar el número de copias se utilizó de igual forma un sistema basado en RT-PCR, específicamente se usó el equipo Applied Biosystem Applied Biosystems® 7500 Real-Time PCR System. Para lo cual se necesitó el ADN molde, primers específicos, polimerasa ADN, dNTPs, tampón de reacción, la referencia del número de copias (en este caso se usó la TaqMan® Copy Number Variation Reference) del gen *CYP2D6*. Específicamente los ensayos se realizaron por duplicado en una placa de 96 pocillos. Como controles se usaron muestras cuyo número de copias eran conocidas (1, 2 y 3 copias) y para analizar el ensayo se usó el software CopyCaller® v2.1 de Applied Biosystems®.

Cada una de las muestras contenían los siguientes reactivos:

- 10 µl PCR Mástermix.
- 1 µl de cada sonda.
- 4 µl de ADN de muestra (100 ng).
- 4 µl de agua destilada.

Las condiciones de amplificación fueron las mismas que en las anteriores reacciones.

3.6.4 Presencia o ausencia del alelo 5* y duplicaciones del gen *CYP2D6*.

Para determinar la delección del alelo 5* se utilizó un sistema de Reacción en Cadena de la Polimerasa Extra Larga (XL-PCR), a través de un termociclador Veriti (Thermo Fisher), seguida de una electroforesis en gel de agarosa de las muestras obtenidas.

Previamente se preparó el mix de PCR (25 µl) para cada una de las muestras con lo que se detalla a continuación:

- 0.375 µl de mix de enzimas (5U/ µl).
- 2.5 µl de buffer 3 (2,25 mM MgCl₂).
- 0.5 µl de dNTPs mix (100 mmol/L).
- 0.1 µl de primers DPKup(5'2D6*5), DPKlow(3'2D6*5) para las delecciones y 2D6Dupl-F y R (para las duplicaciones).
- 17.225 µl agua bidestilada.
- 4 µl de ADN muestra (100ng).

Las condiciones para llevar a cabo esta XL-PCR fueron las siguientes:

- Desnaturalización: 94 °C durante 2 minutos.
- 10 ciclos de Alineamiento y elongación:
 - 95 °C durante 20 segundos.
 - 68 °C durante 4 minutos.
- 20 ciclos de alineamiento y elongación:
 - 95 °C durante 20 segundos.

- 68 °C durante 4 minutos.
- Elongación final: 68 °C durante 7 minutos.

Para la elaboración de los geles de agarosa se utilizó:

- Buffer TBE 1x.
- Syber Safe 10.000x.
- Buffer de carga.

Específicamente 1.2 gr de agarosa fueron diluidos en 150 ml agua bidestilada. Seguidamente, se calentó en el microondas hasta que la agarosa se disolvió por completo. Una vez disuelta, se enfrió y se añadió 15 µl Syber Safe, el cual permitió visualizar las bandas de ADN en el gel, antes de que la agarosa se solidifique se colocó en el molde de la cámara de electroforesis y se añadió el peine que permitirá la formación de los pocillos. Tanto para el control de peso molecular (ladder 100 pb) como para las muestras obtenidas se usó como buffer de carga Blue Juice (10x). Las muestras y el control se colocaron en el gel y se dejó correr aproximadamente una hora y media, posteriormente se reveló el gel en el transiluminador ultravioleta.

Es importante mencionar que la ausencia del alelo 5* en todas copias del gen indicaría un puntaje de actividad de 0 y se podría determinar que la actividad enzimática para *CYP2D6* es nula. En caso de que exista duplicaciones se tendría que determinar la naturaleza de su actividad siendo posible obtener una actividad normal, reducida o nula y aumentada.

3.6.5 Cálculo del puntaje de actividad y análisis del fenotipo metabolizador.

Para determinar el puntaje de actividad se utilizó los resultados obtenidos en el genotipado de los alelos simples, el número de copias y la delección del alelo 5*. De esta forma cada muestra obtuvo un puntaje de actividad de acuerdo con la presencia o ausencia de alelos simples o duplicaciones de estos (Tabla 4).

Variantes Alélicas	Puntaje de actividad	Actividad enzimática
*3, *4, *4 x N, *5, *6	0	Nula
*10, *17, *29, *41	0.5	Reducida

*1, *2, *35	1	Normal
*1xN, *2xN, *35xN	2	Aumentada

Tabla 4. Puntaje de actividad de las variantes alélicas del gen *CYP2D6* en función de la actividad enzimática.

Para determinar el fenotipo metabolizador se utilizó el puntaje de actividad obtenido para cada una de las muestras y luego fueron clasificados en 3 grupos: ML, ME, MU en función del puntaje obtenido (Tabla 5).

Puntaje de actividad	Fenotipo Metabolizador
0	ML
0.5-2	ME
>2	MU

Tabla 5. Clasificación del fenotipo metabolizador en función del puntaje de actividad.

3.7 Análisis estadístico.

Las variables continuas que presentaron una distribución paramétrica se analizaron a través de medias y desviaciones estándar, en caso contrario, se analizaron a través de medianas y rangos intercuartílicos (IQR). Para determinar si los datos seguían una distribución paramétrica se utilizaron las pruebas: Shapiro-wilk en muestras $n < 30$ y Kolmogorov Smirnov en muestras $n > 30$ con la corrección de Lilliefors. Para realizar el análisis estadístico de datos en caso de presentar 2 grupos se utilizaron las pruebas: T-student (datos paramétricos) y Mann-Whitney (datos no paramétricos). En caso de presentar 3 grupos se utilizaron las pruebas: ANOVA (datos paramétricos) y Kruskal-Wallis (datos no paramétricos). Para determinar donde se encuentra la diferencia significativa entre los 3 grupos, se utilizaron las pruebas de Turkey o Bonferroni, respectivamente. En el caso de las variables categóricas los datos se analizaron a través de las pruebas: Fisher para 2 grupos y Chi-square para más de 2 grupos. En todos los análisis se utilizó la base de datos en Excel y programas estadísticos como Graphpad Prism 8 y R 3.2.0.

3.8 Cronograma.

Durante los 6 meses (octubre de 2019 a marzo de 2020), correspondientes al período de estancia para la realización del presente Trabajo de Fin de Máster en el HGUA, se desarrollaron varias tareas las cuales se encuentran detalladas en la Tabla 6.

En el mes de octubre, una vez vinculado al Laboratorio del Instituto de Investigación Sanitaria y Biomédica de Alicante (ISABIAL), se realizó una introducción teórico-práctica sobre las técnicas de laboratorio que fueron usadas para la obtención de los datos del presente estudio. Dentro de las cuales se encuentran: extracción de ADN a partir de muestras biológicas (saliva), genotipado de las diferentes variantes alélicas del gen *CYP2D6* y la recogida de datos mediante test previamente estandarizados de las variables clínicas de los pacientes que formaron parte del PTI.

En noviembre y diciembre, una vez adquirida la destreza necesaria en las técnicas y protocolos establecidos para la obtención de datos y el genotipado de las muestras, se realizó tanto la determinación del genotipo de las muestras biológicas, como la consulta para la obtención de las variables clínicas de los pacientes. Es importante mencionar que para la obtención de las variables clínicas se pasaron las visitas correspondientes a cada paciente en la UDO del HGUA.

En el mes de enero, una vez determinado el genotipo de todas las muestras, se procedió a determinar el fenotipo de cada una de ellas. Para esto se determinó el puntaje de actividad, en donde se puntuaron las variantes alélicas y el número de copias con el fin de clasificar a los individuos en: ML, ME y MU.

En el mes de febrero, se procedió a completar la base de datos, en la cual constaba toda la información que posteriormente se usó para los análisis estadísticos correspondientes, además se redactaron pósters que fueron presentados en el XVII Congreso de la Sociedad Española de Dolor 2020 como en el Congreso Sociedad Española de Farmacología 2020. En los meses de marzo y abril, se realizó el análisis estadístico y la obtención de los resultados que posteriormente se presentaron en este estudio.

Actividades	2019			2020			
	10	11	12	1	2	3*	4*
1. Introducción teórico-práctica de las técnicas de laboratorio.	x						
2. Asistencia a las consultas en la UDO, con trato directo con los pacientes y seguimiento telefónico para obtener las variables clínicas pertinentes.	x	x	x	x			
3. Obtención de las muestras de los pacientes.		x	x				
3.1 Extracción de ADN (n=40).		x	x				
3.2 Genotipado de <i>CYP2D6</i> (n=38).		x	x				
3.2.1 Genotipado variantes alélicas.		x	x				
3.2.2 Genotipado número de copias.		x	x				
3.2.3 Análisis de la delección del gen del alelo 5.			x	x			
4. Recogida de datos de los pacientes (variables clínicas y farmacológicas) (n=40).				x			
5. Determinación del fenotipo de cada una de las muestras biológicas (n=40).				x	x		
6. Análisis estadísticos preliminares.					x		
7. Seguimiento telefónico para obtener las variables clínicas pertinentes a largo plazo y muestras de saliva adicionales.					x	x	
8. Redacción Póster para el XVII Congreso de la Sociedad Española de Dolor 2020.					x		
9. Análisis estadístico y redacción del presente estudio.						x	x
10. Redacción Póster para el CONGRESO SEFC 2020.					x		

Tabla 6. Cronograma de actividades donde he trabajado como investigador del presente Trabajo de Fin de Máster. * Estado de Alarma Covid-19 y finalización de la inclusión - análisis de sujetos.

4 RESULTADOS.

4.1 Análisis de la población de estudio.

Durante el período de inclusión del presente estudio se detectaron 138 personas con DOP que ingresaron a un PTI, representando una ratio de incidencia de 0.6% (alrededor de 4000 pacientes/año fueron atendidos por DCNO por la UDO del HGUA). De este grupo de pacientes se logró determinar el fenotipo metabólico a 115 individuos, debido a que durante la estandarización de los protocolos se perdieron muestras biológicas de los pacientes. Además, es importante mencionar que se produjo la pérdida de seguimiento de 21 pacientes (15%), de los cuales 18 no acudieron a las visitas de seguimiento, 2 por ausencia de muestras biológicas y 1 “exitus” debido a una neumatosis intestinal (Figura 4).

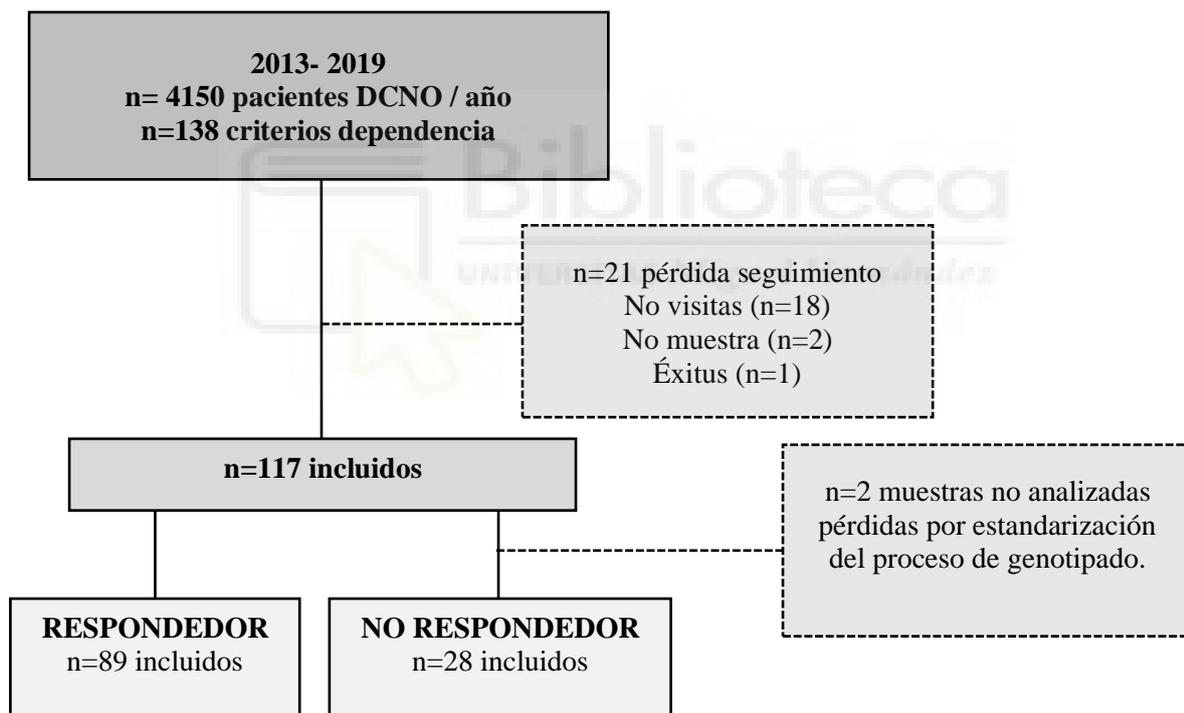


Figura 4. Diagrama de flujo de la muestra incluida.

4.2 Análisis descriptivo.

Las características de la muestra de estudio presentaron una edad media de 54 ± 13 años y una mayor prevalencia de mujeres ($n = 87$; 65%) al contrario de hombres ($n = 47$; 35%), ambos grupos 100% de origen caucásicos. Con respecto al análisis tomando en cuenta el fenotipo metabólico, se agruparon en 3 grupos diferentes de la siguiente forma: a) ML ($n = 7$; 6%); b) ME ($n = 98$; 85%); c) MU ($n = 10$; 9%). En este sentido se puede observar que tanto para hombres y mujeres la distribución del fenotipo metabolizador se ajusta a la muestra caucásica, siendo el de mayor prevalencia el ME, en el caso de las mujeres ($n = 63$; 83%) y en el de los hombres ($n = 34$; 90%). Además, no se encontró ninguna influencia del perfil metabólico en cuanto a la respuesta al PTI (p -valor = 0.5199) (Tabla 7).

	Total	Fenotipo <i>CYP2D6</i>			p-valor
		ML	ME	MU	
Mujeres	67 %	7 %	83 %	10 %	0.0001***
Hombres	33 %	5 %	90 %	5 %	0.0001***
	p-valor	1.0000	0.4158	0.4919	
Edad (años)	54 ± 13	47 ± 12	54 ± 13	59 ± 14	0,1694
No Respondedor (n = 23)	22 %	5 %	90 %	5 %	0.0001***
Respondedor (n = 28)	27 %	4 %	75 %	21 %	0.0001***
Alto Respondedor (n = 52)	51 %	6 %	79 %	15 %	0.0001***
	p-valor	0.9018	0.3092	0.2211	

Tabla 7. Datos demográficos (edad, sexo) y de respuesta al protocolo terapéutico individualizado (PTI) de acuerdo con el fenotipo metabolizador: lento (ML), extensivo (ME) y ultra rápido (MU). *** $P < 0.001$.

4.3 Análisis de variable de respuesta al PTI.

4.3.1 Dosis equivalente de morfina diaria.

Para determinar si la respuesta al PTI fue satisfactoria se realizó un análisis farmacológico, en el cual se determinó la DEMD en la visita basal y final de toda la muestra de estudio. En la Tabla 8., se puede observar que existe una disminución del 33% de la mediana de la DEMD en la visita final del PTI.

DEMD (mg/día)	Visita basal Mediana (IQR)	Visita final Mediana (IQR)	p-valor
Total	120 (80 - 202)	40 (0 - 120)	0.0001***

Tabla 8. Dosis equivalente de morfina diaria (DEMD) en la visita basal y final del Protocolo terapéutico individualizado. *** P < 0.001.

Posteriormente se determinó la DEMD para cada uno de los fenotipos metabolizadores (Tabla 9) y de igual forma para el sexo (Tabla 10) sin observarse diferencias significativas entre las visitas basal y final.

DEMD (mg/día)	Visita basal Mediana (IQR)	Visita final Mediana (IQR)
ML	120 (60 - 233)	40 (7 - 65)
ME	123 (80 - 229)	40 (0 - 120)
MU	40 (20 - 123)	80 (0 - 150)
p-valor	0.1079	0.9222

Tabla 9. Dosis equivalente de morfina diaria (DEMD) de acuerdo con el perfil metabólico: lento (ML), extensivo (ME) y ultrarrápido (MU).

DEMD (mg/día)	Total		Visita basal		Visita final	
	Hombres	Mujeres	Hombres	Mujeres	Hombres	Mujeres
Mediana (IQR)	80 (8 - 166)	80 (20 - 160)	134 (75 - 212)	120 (80 - 204)	50 (0 - 120)	40 (0 - 119)
p-valor	0.8942		0.7975		0.9466	

Tabla 10. Dosis equivalente de morfina diaria (DEMD) en la visita basal y final de acuerdo con el sexo.

4.4 Análisis clínico.

4.4.1 Efectividad.

Para el análisis de la efectividad del PTI se usaron las variables clínicas de la muestra de estudio tomando en cuenta la visita basal y final. En la Tabla 11., se puede observar que no existen diferencias significativas en ninguna de estas variables, lo que sugiere que el PTI logró deprescribir opioides sin la modificación de estas (intensidad y alivio del dolor, calidad de vida y funcionalidad) y sin presentar síndrome de abstinencia. Además, se analizó el porcentaje de pacientes en tratamiento con opioides y se observó una disminución significativa al final del PTI (Figura 5).

Población total	Visita basal	Visita final	p-valor
Intensidad dolor (EVA, 0-100 mm)	60 ± 27	59 ± 27	0.9637
Alivio dolor (EVA, 0-100 mm)	37 ± 29	40 ± 28	0.3235
Calidad de vida (EVA-EQ, 0-100 mm)	45 ± 24	43 ± 22	0.6550
Abstinencia (OWS, 0-128 puntos)	32 ± 19	32 ± 20	0.9992
Funcionalidad (EEAG, 0-100 puntos)	71 ± 15	69 ± 16	0.5530
Población en tratamiento con opioides (%)	100%	58%	0.0001***

Tabla 11. Análisis de las variables clínicas de la muestra de estudio en la visita basal y final del protocolo terapéutico individualizado. *** P < 0.001.

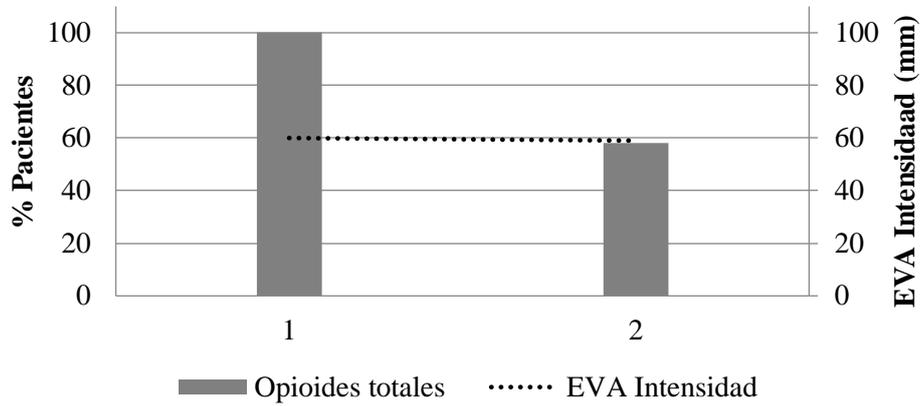


Figura 5. Uso de opioides totales e intensidad de dolor en la visita basal (1) y final (2) del protocolo terapéutico individualizado. EVA: Escala visual análoga 100 milímetros.

a) Variable de efectividad de acuerdo con el fenotipo CYP2D6.

A continuación, se procedió a comparar y analizar las variables clínicas de la muestra de estudio de acuerdo con el fenotipo metabólico. Como se puede observar en la Tabla 12., no se encontraron diferencias significativas entre los grupos.

Fenotipo CYP2D6	Visita basal				p-valor	Visita final				p-valor	p-valor		
	ML	ME	MU	p-valor		ML	ME	MU	p-valor		basal vs final		
											ML	ME	MU
Intensidad dolor (EVA, 0-100 mm)	63 ± 22	61 ± 27	62 ± 29	0.9749	47 ± 6	58 ± 29	62 ± 21	0.4395	0.2500	0.7798	0.9920		
Alivio dolor (EVA, 0-100 mm)	28 ± 31	36 ± 30	42 ± 31	0.6708	57 ± 21	41 ± 30	39 ± 22	0.6277	0.1977	0.2046	0.8060		
Calidad de vida (EVA EQ, 0-100 mm)	38 ± 26	46 ± 25	46 ± 21	0.7485	52 ± 8	43 ± 23	36 ± 12	0.4557	0.4190	0.4624	0.2816		
Abstinencia (OWS, 0-128 Puntos)	35 ± 25	32 ± 18	33 ± 29	0.9504	10 ± 0	30 ± 20	46 ± 10	0.0675	0.4113	0.5453	0.2767		
Funcionalidad (EEAG, 0-100 puntos)	74 ± 17	70 ± 14	80 ± 21	0.3251	90 ± 0	69 ± 16	69 ± 13	0.4303	0.4320	0.7995	0.2826		

Tabla 12. Análisis de las variables clínicas de la muestra en función del fenotipo metabolizador: lento (ML), extensivo (ME) y ultra rápido (MU) en la visita basal y final del protocolo terapéutico individualizado.

b) *Variable de efectividad de acuerdo con el sexo.*

Posteriormente se realizó el análisis de acuerdo con el sexo comparando la visita basal y la final. En la Tabla 13., se puede observar que no existen diferencias significativas entre hombres y mujeres, sin embargo, entre la visita basal y final en el grupo de hombres se observó una disminución significativa con respecto a la calidad de vida (p-valor = 0.0493).

Población total	Visita basal		p-valor	Visita final		p-valor
	Hombre	Mujer		Hombre	Mujer	
Intensidad dolor (EVA, 0-100 mm)	58±27	60±27	0.5360	61±28	58±27	0.6704
Alivio dolor (EVA, 0-100 mm)	35±28	38±30	0.5831	42±29	39±28	0.8629
Calidad de vida (EVA EQ, 0-100 mm)	49±24*	43±24	0.1598	38±23*	46±21	0.1865
Abstinencia (OWS, 0-128 puntos)	29±16	35±20	0.1380	30±18	34±21	0.5707
Funcionalidad (EEAG, 0-100 puntos)	71±16	71±14	1.0000	68±15	70±17	0.8259

Tabla 13. Análisis de las variables clínicas de acuerdo con el sexo en la visita basal y final del protocolo terapéutico individualizado. * P < 0.05.

4.5 Análisis farmacológico.

4.5.1 Seguridad.

a) *Eventos y reacciones adversas.*

Por otra parte, para analizar la seguridad del PTI se determinó la presencia y prevalencia de un total de 18 EA de la muestra de estudio, una vez evaluados se observó que existe un aumento considerable tanto de boca seca (57%) e insomnio (55%) en todas las visitas de los pacientes que formaron parte del estudio. Sin embargo, como se puede observar en la Figura 6., existen otros EA que tienen un alto porcentaje de prevalencia de acuerdo con el fenotipo metabolizador. Por lo que se evaluó la prevalencia de EA relacionados con el fenotipo metabolizador.

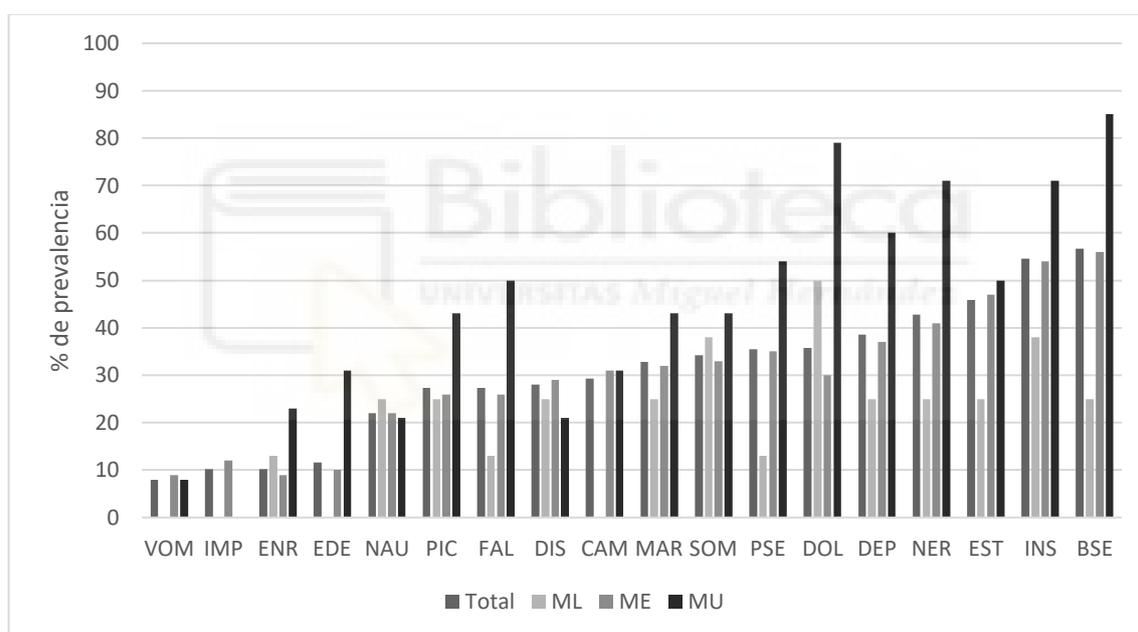


Figura 6. Porcentaje de presencia de eventos adversos en la muestra de estudio total y por fenotipo metabolizador: lento (ML), extensivo (ME) y ultra rápido (MU). Vómitos (VOM), Impotencia sexual (IMP), Enrojecimiento (ENR), Edema (EDE), Náuseas (NAU), Picor (PIC), Falta de apetito (FAL), Disfunción sexual (DIS), Cambio de peso (CAM), Mareos (MAR), Somnolencia (SOM), Piel seca (PSE), Dolor de cabeza (DOL), Depresión (DEP), Nerviosismo (NER), Estreñimiento (EST), Insomnio (INS), Boca seca (BSE).

En este sentido, se registraron los EA totales (Figura 7A) tanto en la visita basal (EA=500) como final (EA=467), ambas visitas con un promedio de 5 EA/paciente (Tabla 14). Sin embargo, al analizar el promedio de EA por fenotipo se observó diferencias significativas en la visita final del fenotipo ML vs MU (Tabla 14 y Figura 7B). Seguidamente se procedió a

determinar la presencia de RAM de acuerdo con el fenotipo metabolizador. Como se puede observar en la Tabla 14., existen diferencias significativas (p-valor = 0.0001), es decir que la distribución de RAM en los pacientes es diferente en los tres perfiles metabólicos, siendo el ME el de mayor prevalencia de RAM.

Eventos adversos	Visita basal	Visita final	p-valor	RAM
	Mediana (IQR)	Mediana (IQR)		
Total	5 (2-8)	5 (2 - 8)	0.5272	14
ML	4 (2 - 10)	2 (0 - 3)	0.2521	1 (7%)
ME	6 (3 - 8)	5 (2 - 8)	0.4809	13 (93%)
MU	7 (3 - 14)	7 (6 - 11)	0.9539	0 (0%)
p-valor	0.3408	0.0281*₁		0.0001***

Tabla 14. Promedio de eventos adversos totales y porcentaje de presencia de reacciones adversas a medicamentos (RAM) de acuerdo con el fenotipo metabolizador: lento (ML), extensivo (ME) y ultra rápido (MU) en las visitas basal y final del protocolo terapéutico individualizado. * P < 0.05. *** P < 0.001. ₁ ML vs MU 0.0328*.

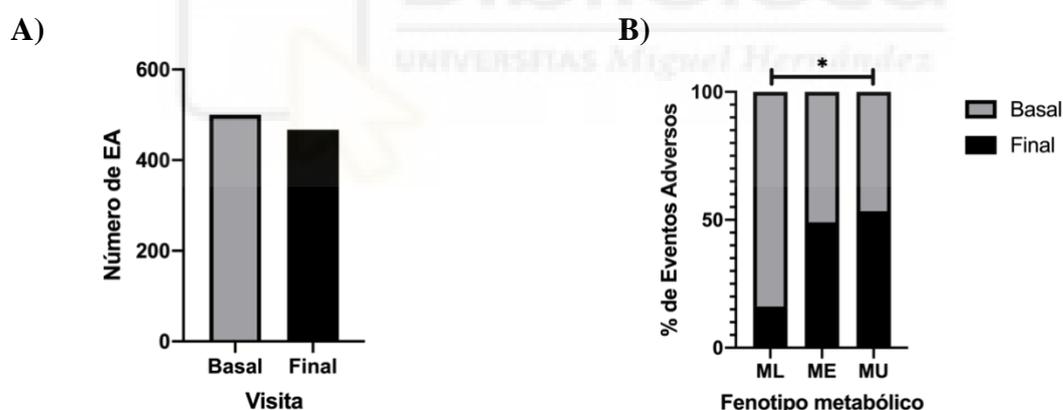


Figura 7. Eventos adversos (EA) totales en las visitas basal y final (A) y porcentaje de eventos adversos de acuerdo con el fenotipo metabolizador: lento (ML), extensivo (ME) y ultra rápido (MU) en las visitas basal y final del protocolo terapéutico individualizado (B). * P < 0.05.

i) Eventos adversos de acuerdo con el fenotipo CYP2D6.

Una vez realizado el análisis total de los EA en toda la muestra, se procedió a determinar si existen diferencias significativas en la prevalencia de cada uno de ellos frente a los diferentes fenotipos metabólicos (Tabla 15). En este sentido, se observó diferencias significativas únicamente en la visita final para: dolor de cabeza, edema, boca seca y nerviosismo. Además,

se observó una disminución significativa de mareos en los ME entre la visita basal y final (p-valor = 0.0310).

Con respecto al dolor de cabeza (Figura 8A), se determinó que la diferencia significativa se encuentra entre los MU y ME (p-valor = 0.0009). En la prevalencia de edema (Figura 8B), se observó diferencias significativas entre los MU y ME y (p-valor = 0.0249). En cuanto a la prevalencia de boca seca (Figura 8C), se encontró diferencias significativas entre los MU frente a ML (p-valor = 0.0119) y ME (p-valor = 0.0393). De igual forma para nerviosismo (Figura 8D), se observó diferencias significativas de los MU frente ML (p-valor = 0.0333) y ME (p-valor = 0.0395). Es importante mencionar que, para estos dos últimos EA, el incremento del porcentaje de prevalencia aumenta de acuerdo con la velocidad de metabolización (MU>ME>ML).

EA (%)	Visita basal			p-valor	Visita final			p-valor
	ML	ME	MU		ML	ME	MU	
Dolor de Cabeza	60	26	57	0.0924	33	33	100	0.0025** ¹
Edema	0	11	14	0.7011	0	9	50	0.0122* ²
Boca seca	40	57	71	0.5524	0	55	100	0.0138* ^{3 4}
Nerviosismo	40	42	57	0.7272	0	40	86	0.0210* ^{5 6}
Depresión	40	34	43	0.8762	0	39	75	0.0501
Somnolencia	40	31	29	0.9089	33	34	57	0.4904
Mareo	40	43#	43	0.9934	0	23#	43	0.3170
Nausea	40	26	14	0.6026	0	18	29	0.5648
Vómito	0	9	14	0.6961	0	8	0	0.6856
Estreñimiento	40	45	57	0.8079	0	48	43	0.2641
Picor	40	25	43	0.4850	0	27	43	0.3665
Disfunción sexual	20	28	29	0.9230	33	30	14	0.6790
Cambio de peso	0	35	43	0.2382	0	28	17	0.4892
Enrojecimiento de piel	20	8	14	0.5813	0	9	33	0.1643
Piel seca	20	31	43	0.6984	0	38	67	0.1428
Insomnio	40	52	71	0.5163	33	55	71	0.5178
Falta de apetito	20	28	43	0.6517	0	23	57	0.0891

Impotencia sexual	0	9	0	0.5416	0	14	0	0.4859
Total, EA	26	369	63		5	355	72	

Tabla 15. Porcentaje de prevalencia de eventos adversos (EA) registrados en la visita basal y final del protocolo terapéutico individualizado en función del perfil metabólico: lento (ML), extensivo (ME) y ultra rápido (MU). * P < 0.05; ** P < 0.01; *** P < 0.001; ₁ MU vs ME 0.0009***; ₂ MU vs ME 0.0249*; ₃ MU vs ML 0.0119*; ₄ MU vs ME 0.0393*; ₅ MU vs ML 0.0333*; ₆ MU vs ME 0.0395*. # P-valor = 0.0310 (visita basal vs final, ME).

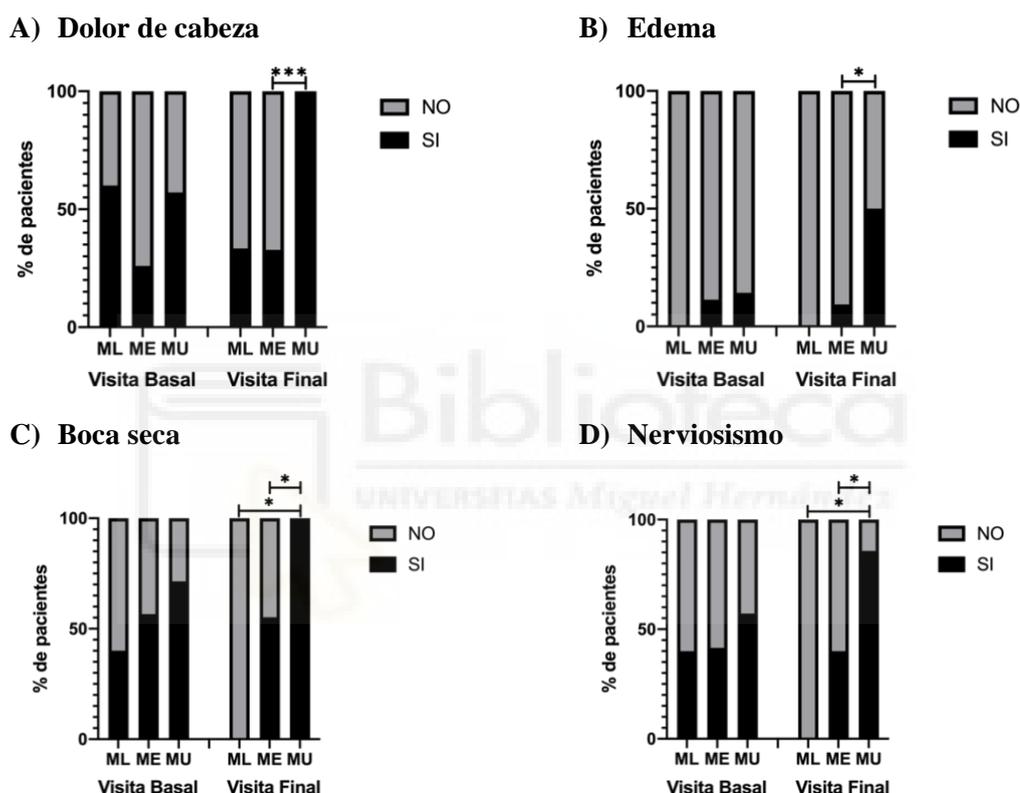


Figura 8. Porcentaje de pacientes con dolor de cabeza (A), edema (B), boca seca (C), nerviosismo (D) en la visita basal y final de acuerdo con el fenotipo metabólico: lento (ML), extensivo (ME) y ultra rápido (MU). * P < 0.05, ** P < 0.01, *** P < 0.001.

ii) *Eventos adversos a través de sistemas MedDRA de acuerdo con el fenotipo CYP2D6.*

Para determinar los sistemas afectados por los EA según el fenotipo metabólico se procedió a realizar el análisis a través de sistemas MedDRA (Tabla 16), en donde se halló diferencias significativas únicamente en las visitas finales de los sistemas general y gastrointestinal. Con respecto al sistema general (Figura 9A), se halló diferencias significativas únicamente entre los

MU y ME (p-valor = 0.0249), en cuanto al sistema gastrointestinal (Figura 9B), se observó diferencias significativas de los ML frente a los ME (p-valor = 0.0106) y MU (p-valor = 0.0016). Es importante mencionar que no se observaron diferencias en los sistemas nervioso y psiquiátrico esto podría en parte deberse a que estos se ven influenciados por otros EA como la somnolencia y mareos en caso del sistema nervioso y disfunción sexual, depresión e insomnio en el caso del sistema psiquiátrico, en este sentido esta podría ser la razón por la cual no se observaron diferencias en estos sistemas que involucran el dolor de cabeza y nerviosismo.

Sistemas (%)	Visita basal			p-valor	Visita final			p-valor
	ML	ME	MU		ML	ME	MU	
General	0	13	14	0.6851	0	9	50	0.0122* ₁
Gastrointestinal	80	75	71	0.9445	0	71	100	0.0064** _{2 3}
Piel	60	44	57	0.6805	0	44	71	0.1074
Reproductivo	0	9	0	0.5416	0	14	0	0.4920
Psiquiátrico	40	74	86	0.1878	33	72	100	0.0663
Complementario	0	35	43	0.2382	0	27	17	0.4997
Nervioso	80	63	86	0.3914	33	58	100	0.0599
Metabolismo	20	28	43	0.6517	0	23	57	0.0847

Tabla 16. Porcentaje de prevalencia de eventos adversos (EA) mediante sistemas MedDRA registrados en la visita basal y final del protocolo terapéutico individualizado en función del perfil metabólico: lento (ML), extensivo (ME) y ultra rápido (MU). * P < 0.05; ** P < 0.01; ₁ MU vs ME 0.0249*; ₂ ML vs ME 0.0106*; ₃ ML vs MU 0.0016**.

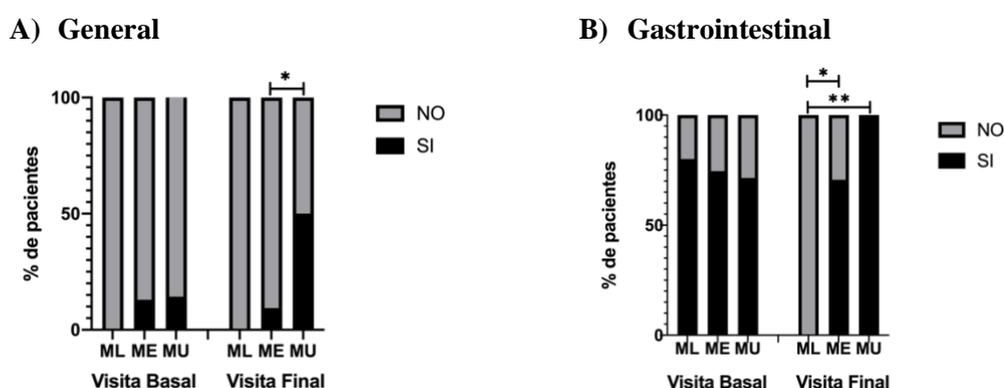


Figura 9. Porcentaje de pacientes con eventos adversos en el sistema general (A), gastrointestinal (B) en la visita basal y final de acuerdo con el fenotipo metabólico: lento (ML), extensivo (ME) y ultra rápido (MU). * P < 0.05; ** P < 0.01.

iii) *Eventos y reacciones adversos a medicamentos de acuerdo con el sexo.*

Seguidamente, se analizó el total de EA en la visita basal y final por sexo. En la visita basal la prevalencia de EA/paciente en hombres fue de 5 y en mujeres de 6. En el caso de la visita final en hombres fue de 4 y en mujeres de 5 (Tabla 17). Es importante mencionar que no se registraron diferencias significativas.

Sexo	Visita basal Mediana (IQR)	Visita final Mediana (IQR)	p-valor
Hombres	5 (2 - 8)	4 (0 - 7)	0.1804
Mujeres	6 (3 - 8)	5 (2 - 8)	0.2882

Tabla 17. Promedio de eventos adversos por sexo en la visita basal y final.

Posteriormente, se determinó la presencia de RAM de acuerdo con el sexo y se encontró que existen diferencias significativas (p-valor = 0.0230*), esto se debe a que los pacientes hombres presentaron una cantidad mayor de reacciones adversas a medicamentos que las mujeres (Tabla 18).

Total de RAM (n = 125)	Hombres (n = 44)	Mujeres (n = 81)	p-valor
16 (13%)	10 (23%)	6 (7%)	0.0230*

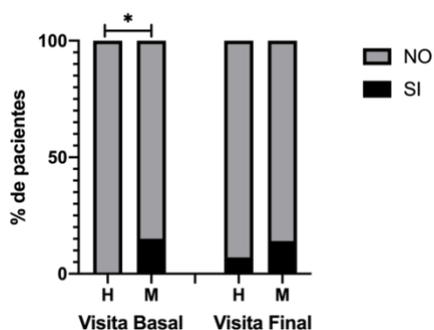
Tabla 18. Reacciones adversas a medicamentos (RAM) de acuerdo con el sexo. * P < 0.05.

A continuación, se determinó la prevalencia individual de cada EA de acuerdo con el sexo. Como se puede observar en la Tabla 19., existen diferencias significativas en edema, boca seca, nerviosismo, impotencia sexual y mareo. Con respecto a la presencia de edema (Figura 10A), las diferencias significativas se observaron en la visita basal (p-valor = 0.0457), al igual que boca seca (Figura 10B; p-valor = 0.0170) y nerviosismo (Figura 10C; p-valor = 0.0287). Por el contrario, la prevalencia de impotencia sexual (Figura 10D), se localizó en la visita final (p-valor = 0.0050). Es necesario mencionar que respecto a la prevalencia de mareo (Figura 10E), existió diferencias significativas en la visita basal (p-valor = 0.0063) y una disminución significativa en la presencia de este EA únicamente en mujeres (p-valor = 0.0352).

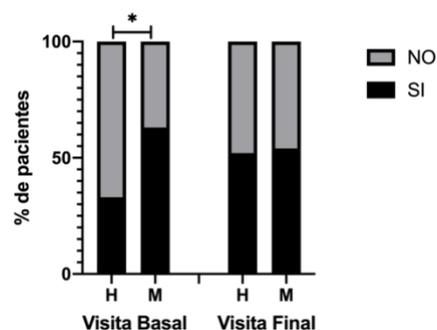
Eventos adversos (%)	Visita basal		p-valor	Visita final		p-valor
	Hombres	Mujeres		Hombres	Mujeres	
Edema	0	15	0.0457*	7	14	0.4858
Boca seca	33	63	0.0170*	52	54	1.0000
Nerviosismo	22	50	0.0287*	38	40	1.0000
Impotencia sexual	11	4	0.3315	25	4	0.0050**
Mareo	15	47#	0.0063**	28	23#	0.7911
Somnolencia	19	38	0.1250	38	35	0.8159
Nausea	22	26	0.7887	17	17	1.0000
Vomito	15	8	0.4347	11	5	0.3905
Estreñimiento	33	44	0.4722	40	39	1.0000
Picor en la piel	33	21	0.2806	24	26	1.0000
Disminución del deseo sexual	30	21	0.4184	38	18	0.0613
Cambio de peso	15	34	0.1109	18	28	0.4256
Dolor de cabeza	26	38	0.3280	36	40	0.8150
Enrojecimiento de la piel	11	6	0.4057	4	14	0.2603
Piel seca	19	32	0.2903	32	37	0.8111
Depresión	19	40	0.0763	38	38	1.0000
Insomnio	44	55	0.4796	53	51	1.0000
Falta de apetito	15	31	0.1738	29	24	0.7926

Tabla 19. Porcentaje de prevalencia de eventos adversos (EA) de acuerdo con el sexo registrados en la visita basal y final del protocolo terapéutico individualizado. * P < 0.05; ** P < 0.01. # P-valor = 0.0352 (visita basal vs final, mujeres).

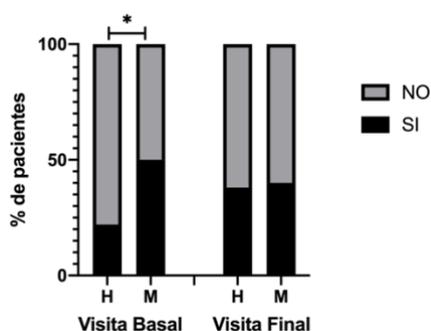
A) Edema



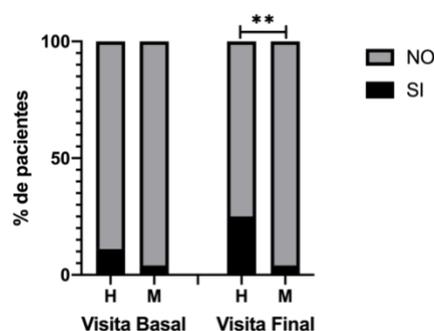
B) Boca seca



C) Nerviosismo



D) Impotencia sexual



E) Mareo

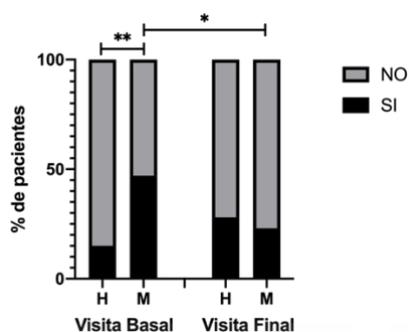


Figura 10. Porcentaje de pacientes con edema (A), boca seca (B), nerviosismo (C), impotencia sexual (D) y mareo (E) en la visita basal y final de acuerdo con el sexo: hombres (H) y mujeres (M). * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$.

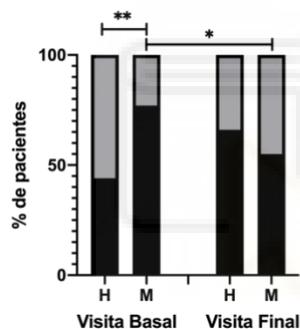
iv) *Eventos adversos a través de sistemas MedDRA de acuerdo con el sexo.*

Una vez que se determinaron los EA de acuerdo con el sexo se procedió a determinar mediante sistemas MedDRA (Tabla 20). De esta forma se hallaron diferencias significativas en los sistemas nervioso, reproductivo, gastrointestinal y general. Con respecto al sistema nervioso (Figura 11A), se observó una mayor presencia en la visita basal en mujeres ($n = 41$; 77%) en comparación con los hombres ($n = 12$; 44%; p -valor = 0.0055), sin embargo, comparando la visita basal y final únicamente en mujeres se observó una reducción significativa de este EA (p -valor = 0.0168). Por otro lado, la afectación del sistema reproductivo (Figura 11B) en la visita final del PTI fue significativamente mayor en hombres ($n = 7$; 25%; p -valor = 0.0047). Por último, se observó que las mujeres presentaron mayor prevalencia tanto en el sistema gastrointestinal (Figura 11C; $n = 42$; 78%; p -valor = 0.0228) como en el general (Figura 11D; $n = 9$; 17%; p -valor = 0.0249) en la visita basal del PTI.

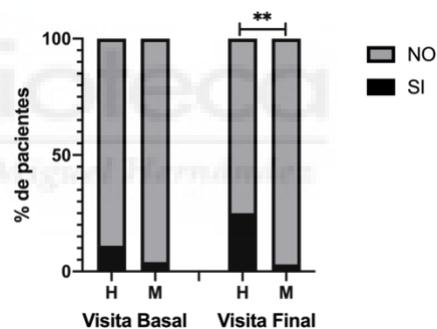
Sistemas (%)	Visita basal		p-valor	Visita final		p-valor
	Hombres	Mujeres		Hombres	Mujeres	
Nervioso	44	77#	0.0055**	66	55#	0.4889
Reproductivo	11	4	0.3315	25	3	0.0047**
Gastrointestinal	52	78	0.0228*	67	65	1.0000
General	0	17	0.0249*	7	14	0.4858
Piel	44	40	0.8108	38	44	0.6501
Psiquiátrico	70	70	1.0000	67	67	1.0000
Complementario	15	34	0.1109	18	27	0.4279
Metabolismo	15	31	0.1738	29	24	0.7922

Tabla 20. Porcentaje de prevalencia de los eventos adversos (EA) mediante sistemas MedDRA registrados en la visita basal y final del protocolo terapéutico individualizado en función del sexo (hombres vs mujeres). * P < 0.05; ** P < 0.01. # P-valor = 0.0168 (visita basal vs final, mujeres).

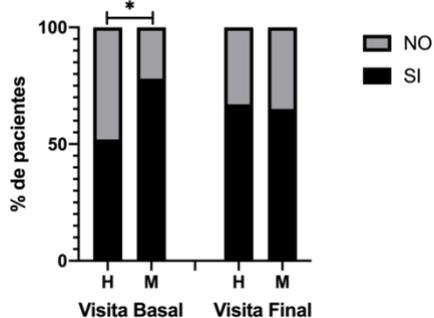
A) Nervioso



B) Reproductivo



C) Gastrointestinal



D) General

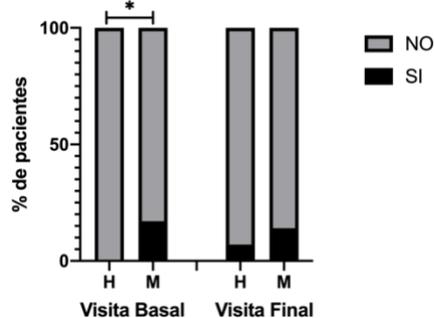


Figura 11. Porcentaje de pacientes con eventos adversos que afectan al sistema: nervioso (A), reproductivo (B), gastrointestinal (C) y general (D) en la visita basal y final de acuerdo con el sexo: hombres (H) y mujeres (M). * P < 0.05; ** P < 0.01.

v) Reacciones adversas a través de sistemas MedDRA.

Por ultimo se realizó la clasificación a través de sistemas MedDRA de los síntomas notificados en las 16 RAM, en total se registraron 24 síntomas como se puede observar en la Tabla 21, existe una predominancia de los sistemas psiquiátrico y reproductivo.

Sistemas	Síntomas	Prevalencia
Psiquiátrico	9	36%
Reproductivo	6	24%
General	3	12%
Piel	1	4%
Musculo esquelético	1	4%
Gastrointestinal	1	4%
Ocular	1	4%
Nervioso	1	4%
Vascular	1	4%
Metabolismo	1	4%

Tabla 21. Clasificación y porcentaje de prevalencia de los síntomas de las reacciones adversas a medicamentos (RAM) a través de sistemas MedDRA.

5 DISCUSIÓN.

El estudio logró una reducción del 33% de la DEMD en la población con DOP remitida a la UDO. Esto se llevó a cabo sin cambios significativos en la aparición de abstinencia o en las variables clínicas analizadas, como el dolor. Sin embargo, se observó que la DEMD fue mayor en la población con fenotipo MU *CYP2D6*. Además, este fenotipo presentó un mayor número de EA, sobre todo de dolor de cabeza, boca seca, nerviosismo y edema, con una mayor alteración de los sistemas general y gastrointestinal. De acuerdo con el sexo tanto en hombres como en mujeres la DEMD fue similar.

Otro resultado del estudio fue que el sexo de los pacientes con DOP influyó en el perfil de seguridad del tratamiento analgésico, En el caso de las mujeres los sistemas mas afectados fueron el nervioso, gastrointestinal y general, mientras que, en los hombres el reproductivo. Sin embargo, a pesar de que las mujeres presentaron el mismo número de EA que los hombres, notificaron tres veces menos sospechas de RAM. Por otra parte, se observó que el fenotipo con mayor prevalencia de RAM fue el ME, luego de realizar el análisis de los síntomas de las RAM a través de sistemas MedDRA se determinó que los sistemas mas afectados fueron el psiquiátrico y el reproductivo.

Es importante mencionar que en la muestra de estudio se observó una mayor prevalencia de mujeres sobre los hombres lo que sugiere que podría existir un sesgo de sexo (Fillingim, 2017; Ruiz, Blasco, Chilet, & Peiró, 2020), además de indicar que el fenotipo de mayor prevalencia fue el ME, lo que concuerda con estudios realizados previamente (Bradford, 2002). Con respecto al análisis entre el fenotipo y la respuesta del PTI no se observaron diferencias significativas, lo que indica que la respuesta individual al PTI no se encuentra influenciada por el fenotipo, sin embargo, es importante mencionar que para asegurar esto se recomienda aumentar la muestra de estudio ya que los porcentajes de pacientes con fenotipo ML y MU fueron significativamente menores que el ME.

Luego de finalizar los análisis de las variables clínicas se corroboró la efectividad del PTI, el cual no presentó cambios entre las visitas de acuerdo con el fenotipo y el sexo, pero si una disminución significativa en el consumo de opioides lo que favorece a su efectividad. Sin embargo, con respecto a la calidad de vida los hombres presentaron una disminución al finalizar el PTI, la cual aunque se encuentra dentro de la categoría moderada podría deberse a la

presencia de EA relacionados con el sistema reproductivo, hoy en día se conoce a profundidad los efectos negativos de los opioides en el sistema reproductivo masculino (Drobnis & Nangia, 2017).

Con respecto a la seguridad del PTI, una vez concluidos los análisis se observó que en la visita basal y final el promedio de EA fue similar (5EA/paciente), sin embargo, de acuerdo con el fenotipo metabólico la presencia de EA es directamente proporcional a la velocidad de metabolización, obteniendo como resultado que los MU fueron los que presentaron más EA seguidos de los ME y por último los ML, esta situación en parte podría deberse a la influencia del metabolismo de los fármacos en la farmacocinética de los opioides (Brennan, 2012). En este sentido, se puede mencionar que la variabilidad genética en el complejo enzimático del citocromo P450, específicamente en el *CYP2D6*, podría estar involucrado con la toxicidad de varios medicamentos y su relación entre el genotipo y el fenotipo puede ser una herramienta molecular útil para manejar el tratamiento clínico en pacientes que presenten este tipo de problemas (Dean, 2017).

Después de analizar los EA individualmente para cada uno de los fenotipos metabolizadores se observó que los MU presentaron una mayor prevalencia de dolores de cabeza, boca seca, edema y nerviosismo al final del PTI. En este sentido, se podría corroborar lo mencionado anteriormente, que la prevalencia de EA depende de la velocidad de metabolización (ML<ME<MU). Posteriormente, se analizó a través de sistemas MedDRA, obteniendo como resultado EA que afectaban los sistemas general y gastrointestinal. De igual forma las diferencias se encontraron en su velocidad de metabolización.

Una vez determinado que el fenotipo metabólico intervenía en la prevalencia y presencia de EA, se analizó la influencia del sexo, en este sentido no se observó diferencias significativas en el promedio de EA en las visitas. Sin embargo, al analizar por sexo cada uno de los EA, se observaron diferencias significativas al inicio del PTI, siendo las mujeres las más afectadas puesto que presentaron una mayor prevalencia de edema, boca seca, nerviosismo y mareos, al contrario de los hombres que solo presentaron un aumento en la prevalencia de impotencia sexual al final del PTI. Es necesario mencionar que se observó una disminución significativa de mareos al final del PTI en mujeres. De igual forma, se analizaron los sistemas afectados por los EA y se observó que las mujeres presentaron EA que afectaban los sistemas nervioso, gastrointestinal y general al contrario de los hombres los cuales solo presentaron EA que

afectaban el sistema reproductivo. En este sentido se podría decir que la respuesta analgésica y la seguridad de los tratamientos dependen en parte del sexo, por lo que es necesario realizar más estudios tomando en cuenta este aspecto (Mogil, 2020; Ruiz et al., 2020).

Para implementar un marcador farmacogenético en la práctica clínica se debe demostrar que existe una relación genotipo-fenotipo y que su respuesta tiene valor en la respuesta farmacológica. El presente estudio aporta datos interesantes para valorar esta relación con respecto a la seguridad y efectividad, sin embargo, es necesario realizar más ensayos (clínicos controlados) y estudios (costo-efectividad) que permitan demostrar la relevancia de la implementación de este marcador. Además, se debe demostrar que los ensayos pueden ser extrapolables a varias poblaciones. El valor de la inclusión de fenotipos metabólicos para el análisis de la efectividad y seguridad de tratamientos actualmente tiene valor, puesto que permitiría mejorar la calidad de vida de los pacientes, disminuir los problemas relacionados con el tratamiento e implementar una medicina personalizada. Es importante mencionar que un estudio sobre la presencia de EA infantiles derivados del tratamiento para el dolor en el postparto, sugirió que a pesar de que el genotipado no genere ahorro en los costes de la farmacoterapia, evitar los EA generaría una buena relación calidad - precio en poblaciones específicas (Moretti et al., 2018) beneficiando de esta forma a la implementación de estos marcadores. No obstante, es necesario mencionar que hoy en día los mecanismos de la percepción del dolor son desconocidos por lo que dificultan su comprensión y manejo clínico.

6 LIMITACIONES Y FORTALEZAS.

La principal limitación es por el hecho de ser un estudio observacional en el “mundo real” que no permite el control de sesgos, además de ser unicéntrico lo que puede condicionar la validez externa. Otra limitación es el no poder determinar la prevalencia de la DOP, puesto que sólo se contó con los pacientes derivados por este problema a la consulta de la UDO. De igual forma es necesario mencionar que el PTI estaba en fase de validación y que el tamaño muestral para algunos fenotipos fue bajo.

Con respecto al sexo se podría mencionar que durante el período 2014-2016 existió un proyecto de investigación de derivación de pacientes a andrología con problemas de disfunción eréctil y esto pudo influir en los resultados obtenidos respecto a las diferencias entre hombres y mujeres. Además, no se analizó el patrón de prescripción entre hombres y mujeres, salvo la DEMD,

asumiendo que deberían ser similares. En el mismo sentido, muchos EA / RAM podrían deberse al tratamiento concomitante para el dolor u otras patologías, y al no obtenerse con escalas validadas y sólo por preguntar al paciente, podrían incluir otros sesgos no controlados en el presente estudio.

Por otra parte, el tema de la DOP es muy actual, pese a que el estudio se inició en el año 2013, la epidemia norteamericana en esta patología fue decretada alrededor del año 2017. En este sentido, nuestra UDO contaba con datos y publicaciones que avalaban el PTI en una población de nuestro entorno. Esto da una base para el diseño de otros estudios que están en marcha como la identificación de marcadores de riesgo a presentar DOP en nuestra UDO (proyecto pre-DESOPi, aprobado por nuestro CEIm en abril 2020) y al seguimiento de las personas a largo plazo (proyecto DESOPi-LONG, aprobado por nuestro CEIm en el año 2019). Del mismo modo, la experiencia en trabajar con una población dependiente a opiodes, ha abierto en nuestro centro otra línea de investigación con la UMH, para aplicarla a personas deportistas con amplio consumo de analgésicos (proyecto AddiSPORT, colaboración con el Dr. Zandonai, en valoración por nuestro CEIm) del cual se solicitó una ayuda al Instituto de Salud Carlos III, liderado por el Dr. Lozano, anestesista de nuestro centro, que está desarrollando su tesis doctoral en este campo.

7 CONCLUSIONES.

- El PTI logró una reducción del 33% la DEMD de modo significativo, sin cambios en la aparición de abstinencia o en las variables clínicas analizadas. El fenotipo metabolizador y el sexo no influyeron en la DEMD final, aunque si se observó un incremento de esta de acuerdo con la velocidad de metabolización siendo mayor en el fenotipo MU *CYP2D6*.
- El fenotipo MU *CYP2D6* presentó un mayor número de EA, sobre todo de dolor de cabeza, boca seca, nerviosismo y edema, con una mayor alteración de los sistemas general y gastrointestinal. Esta distribución fue diferente en función del sexo, siendo los sistemas más afectados en mujeres el nervioso, general y gastrointestinal, mientras que, en hombres el reproductivo.

- La detección de sospechas RAM varió en función del fenotipo metabólico *CYP2D6* siendo los más afectados los ME y en función del sexo los hombres. Las mujeres presentaron el mismo número de EA, sin embargo, notificaron tres veces menos sospechas RAM frente a los hombres, siendo los sistemas psiquiátrico y reproductivo los más afectados.
- La determinación del fenotipo metabolizador *CYP2D6* podría ser de ayuda para comprender la amplia variabilidad interindividual relacionada con la seguridad farmacológica, más si cabe en las mujeres. Se requieren estudios con perspectiva de sexo para orientar una terapia individualizada en la medicina del dolor.

8 BIBLIOGRAFÍA.

- Bartley, E. J., & Fillingim, R. B. (2013). Sex differences in pain: a brief review of clinical and experimental findings. *British journal of anaesthesia*, *111*(1), 52-58. doi:10.1093/bja/aet127
- Beledo, J. F., Simón, J. A. A., & Martínez, Á. M. (2013). *Farmacología humana*: Elsevier Health Sciences Spain. (429-445). Fecha de acceso: 15/05/2020.
- Bertilsson, L., Dahl, M. L., Dalén, P., & Al-Shurbaji, A. (2002). Molecular genetics of CYP2D6: clinical relevance with focus on psychotropic drugs. *British Journal of Clinical Pharmacology*, *53*(2), 111-122. doi:10.1046/j.0306-5251.2001.01548.x
- Bradford, L. (2002). CYP2D6 allele frequency in European Caucasians, Asians, Africans and their descendants. *Pharmacogenomics*, *3*, 229-243. doi:10.1517/14622416.3.2.229
- Brennan, M. J. (2012). The clinical implications of cytochrome p450 interactions with opioids and strategies for pain management. *Journal of pain and symptom management*, *44*(6), 15-22. doi:doi.org/10.1016/j.jpainsymman.2012.08.012
- Dean, L. (2017). Codeine therapy and CYP2D6 genotype. In *Medical Genetics Summaries* (Bethesda (MD): National Center for Biotechnology Information (US)). (1-17). Fecha de acceso: 13/05/2020.
- Del Tredici, A. L., Malhotra, A., Dedek, M., Espin, F., Roach, D., Zhu, G. D., *et al.* (2018). Frequency of CYP2D6 Alleles Including Structural Variants in the United States. *Frontiers in pharmacology*, *9*, 305-305. doi:10.3389/fphar.2018.00305
- Drobnis, E. Z., & Nangia, A. K. (2017). Pain Medications and Male Reproduction. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, *1034*, 39-57. doi:10.1007/978-3-319-69535-8_6

- Eriksen, J., Sjøgren, P., Bruera, E., Ekholm, O., & Rasmussen, N. K. (2006). Critical issues on opioids in chronic non-cancer pain: an epidemiological study. *Pain*, *125*(1-2), 172-179. doi:10.1016/j.pain.2006.06.009
- Filligim, R. B. (2017). Chapter 33 - Sex, Gender, and Pain. In *Principles of Gender-Specific Medicine (Third Edition)* (San Diego: Academic Press). (481-496). Fecha de acceso: 15/06/2020.
- Foley, K. M. (2003). Opioids and Chronic Neuropathic Pain. *New England Journal of Medicine*, *348*(13), 1279-1281. doi:10.1056/NEJMe030014
- Garcia del Pozo, J., Carvajal, A., Vilorio, J. M., Velasco, A., & Garcia del Pozo, V. (2008). Trends in the consumption of opioid analgesics in Spain. Higher increases as fentanyl replaces morphine. *European Journal of Clinical Pharmacology*, *64*(4), 411-415. doi:10.1007/s00228-007-0419-9
- Gervasinil, G., Carrillo, J. A., & Benítez, J. (2004). Importancia del citocromo P-450 en terapéutica farmacológica. *Monografías de la Real Academia Nacional de Farmacia*.
- Glass, S. M., Martell, C. M., Oswalt, A. K., Osorio-Vasquez, V., Cho, C., Hicks, M. J., et al. (2018). CYP2D6 Allelic Variants *34, *17-2, *17-3, and *53 and a Thr309Ala Mutant Display Altered Kinetics and NADPH Coupling in Metabolism of Bufuralol and Dextromethorphan and Altered Susceptibility to Inactivation by SCH 66712. *Drug Metabolism and Disposition*, *46*(8), 1106-1117. doi:10.1124/dmd.117.079871
- Herdman, M., Badia, X., & Berra, S. (2001). EuroQol-5D: a simple alternative for measuring health-related quality of life in primary care. *Atención Primaria*, *28*(6), 425-430. doi:10.1016/s0212-6567(01)70406-4
- Hutchinson, K., Moreland, A. M. E., de Williams, A. C. C., Weinman, J., & Horne, R. (2007). Exploring beliefs and practice of opioid prescribing for persistent non-cancer pain by general practitioners. *European Journal of Pain*, *11*(1), 93-93. doi:10.1016/j.ejpain.2006.01.003
- Jones, S. H., Thornicroft, G., Coffey, M., & Dunn, G. (1995). A brief mental health outcome scale-reliability and validity of the Global Assessment of Functioning (GAF). *The British journal of psychiatry : the journal of mental science*, *166*(5), 654-659. doi:10.1192/bjp.166.5.654
- Juurlink, D. N., & Dhalla, I. A. (2012). Dependence and addiction during chronic opioid therapy. *Journal of Medical Toxicology*, *8*(4), 393-399. doi:10.1007/s13181-012-0269-4

- López, M., Penide, L., Portalo, I., Rodríguez, J., Sánchez, N., & Arroyo, V. (2014). Dolor crónico no oncológico. *Boletín Farmacoterapéutico de Castilla-La Mancha*, XV:1.
- Lötsch, J., Skarke, C., Liefhold, J., & Geisslinger, G. (2004). Genetic predictors of the clinical response to opioid analgesics: clinical utility and future perspectives. *Clinical Pharmacokinetics*, 43(14), 983-1013. doi:10.2165/00003088-200443140-00003
- Manchikanti, L., Abdi, S., Atluri, S., Balog, C. C., Benyamin, R. M., Boswell, M. V., et al. (2012). American Society of Interventional Pain Physicians (ASIPP) guidelines for responsible opioid prescribing in chronic non-cancer pain: Part 2 guidance. *Pain Physician*, 15(3 Suppl), S67-116.
- Margarit, C., Roca, R., Inda, M. D., Muriel, J., Ballester, P., Moreu, R., et al. (2019). Genetic Contribution in Low Back Pain: A Prospective Genetic Association Study. *Pain Practice*, 19(8), 836-847. doi:10.1111/papr.12816
- Martel, M. O., Wasan, A. D., Jamison, R. N., & Edwards, R. R. (2013). Catastrophic thinking and increased risk for prescription opioid misuse in patients with chronic pain. *Drug and Alcohol Dependence*, 132(1), 335-341. doi:10.1016/j.drugalcdep.2013.02.034
- Miyazaki, R., & Yamamoto, T. (2009). Sex and/or gender differences in pain. *The Japanese journal of anesthesiology*, 58(1), 34-39.
- Mogil, J. S. (2020). Qualitative sex differences in pain processing: emerging evidence of a biased literature. *Nature Reviews Neuroscience*, 21(7), 353-365. doi:10.1038/s41583-020-0310-6
- Moretti, M. E., Lato, D. F., Berger, H., Koren, G., Ito, S., & Ungar, W. J. (2018). A cost-effectiveness analysis of maternal CYP2D6 genetic testing to guide treatment for postpartum pain and avert infant adverse events. *The Pharmacogenomics Journal*, 18(3), 391-397. doi:10.1038/tpj.2017.33
- Muriel, J., Margarit, C., Barrachina, J., Ballester, P., Flor, A., Morales, D., et al. (2019). Pharmacogenetics and prediction of adverse events in prescription opioid use disorder patients. *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology*, 124(4), 439-448. doi:10.1111/bcpt.13155
- Muriel, J., Margarit, C., Planelles, B., Serralta, M. J., Puga, C., Inda, M. D., et al. (2018). OPRM1 influence on and effectiveness of an individualized treatment plan for prescription opioid use disorder patients. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1425(1), 82-93. doi:10.1111/nyas.13735

- Pardo, C., Muñoz, T., & Chamorro, C. (2006). Monitorización del dolor: Recomendaciones del grupo de trabajo de analgesia y sedación de la SEMICYUC. *Medicina Intensiva*, 30, 379-385. doi:10.1016/S0210-5691(06)74552-1
- Pasternak, G. W., & Pan, Y. X. (2013). Mu opioids and their receptors: evolution of a concept. *Pharmacological reviews*, 65(4), 1257-1317. doi:10.1124/pr.112.007138
- Peiró, A. M. (2018). Pharmacogenetics in Pain Treatment. *Advances in Pharmacology*, 83, 247-273. doi:10.1016/bs.apha.2018.04.004
- Planelles, B., Margarit, C., Ajo, R., Sastre, Y., Muriel, J., Inda, M. D., *et al.* (2019). Health benefits of an adverse events reporting system for chronic pain patients using long-term opioids. *Acta Anaesthesiologica Scandinavica*, 63(2), 248-258. doi:10.1111/aas.13243
- Planelles, B., Margarit, C., Inda, M. D., Ballester, P., Muriel, J., Barrachina, J., *et al.* (2020). Gender based differences, pharmacogenetics and adverse events in chronic pain management. *The Pharmacogenomics Journal*, 20(2), 320-328. doi:10.1038/s41397-019-0118-9
- Reeve, E., Gnjidic, D., Long, J., & Hilmer, S. (2015). A systematic review of the emerging definition of 'deprescribing' with network analysis: implications for future research and clinical practice. *British Journal of Clinical Pharmacology*, 80(6), 1254-1268. doi:10.1111/bcp.12732
- Ruiz, M., Blasco, M., Chilet, E., & Peiró, A. M. (2020). Gender bias in therapeutic effort: from research to health care. *Farmacia hospitalaria*, 44, 109-113. doi:10.7399/fh.11394
- Schaad, N. W., Frederick, R., Shaw, J., Schneider, W., Hickson, R., Petrillo, M., *et al.* (2003). Advances in Molecular-Based Diagnostics in Meeting Crop Biosecurity and Phytosanitary Issues. *Annual review of phytopathology*, 41, 305-324. doi:10.1146/annurev.phyto.41.052002.095435
- Schwartz, J. B. (1999). Gender differences in response to drugs: pain medications. *The journal of gender-specific medicine*, 2(5), 28-30.
- Taylor, D. J., Lichstein, K. L., Durrence, H. H., Reidel, B. W., & Bush, A. J. (2005). Epidemiology of Insomnia, Depression, and Anxiety. *Sleep*, 28(11), 1457-1464. doi:10.1093/sleep/28.11.1457
- Torrance, N., Elliott, A. M., Lee, A. J., & Smith, B. H. (2010). Severe chronic pain is associated with increased 10 year mortality. A cohort record linkage study. *European Journal of Pain*, 14(4), 380-386. doi:10.1016/j.ejpain.2009.07.006
- Vega, I., Ferrándiz, M., Genové, M., Santeularia, T., & Catala, E. (2019). Administración inadecuada de opioides en dolor crónico no oncológico. Una realidad en nuestro entorno.

Dolor: Investigación, clínica & terapéutica, 34(2), 86-90.
doi:10.20986/resed.2017.3550/2016

- Velázquez, I., Muñoz, M., Sánchez, M., Zenner, A., & Velázquez, L. (2012). Trastornos del sueño e incidencia de ansiedad y depresión en pacientes con dolor crónico no maligno tratados con opioides potentes. *Revista de la Sociedad Española del Dolor*, 19(2), 49-58.
- Volkow, N. D., & Li, T. K. (2005). The neuroscience of addiction. *Nature Neuroscience*, 8(11), 1429-1430. doi:10.1038/nn1105-1429
- Volkow, N. D., Wang, G. J., Fowler, J. S., & Tomasi, D. (2012). Addiction circuitry in the human brain. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, 52, 321-336. doi:10.1146/annurev-pharmtox-010611-134625
- Waldhoer, M., Bartlett, S. E., & L., W. J. (2004). Opioid Receptors. *Annual Review of Biochemistry*, 73(1), 953-990. doi:10.1146/annurev.biochem.73.011303.073940
- Wood, J. D., & Galligan, J. J. (2004). Function of opioids in the enteric nervous system. *Neurogastroenterology & Motility*, 16, 17-28. doi:10.1111/j.1743-3150.2004.00554.x

