

# **UNIVERSIDAD DE SALAMANCA**

## **FACULTAD DE MEDICINA**

**DEPARTAMENTO DE CIRUGÍA - DEPARTAMENTO DE MEDICINA**

**CÁTEDRA EXTRAORDINARIA DEL DOLOR "FUNDACIÓN GRÜNENTHAL"**

---



### **VALORACIÓN DE LA EFECTIVIDAD DE UNA PAUTA ANALGÉSICA CON BUPRENORFINA TRANSDÉRMICA EN PACIENTES AFECTOS DE ISQUEMIA ARTERIAL CRÓNICA EVOLUCIONADA DE LAS EXTREMIDADES INFERIORES: PERFIL GENÉTICO**

**Francisco Blanco Antona**

---

**2010**

# **UNIVERSIDAD DE SALAMANCA**

## **FACULTAD DE MEDICINA**

**DEPARTAMENTO DE CIRUGÍA - DEPARTAMENTO DE MEDICINA**

**CÁTEDRA EXTRAORDINARIA DEL DOLOR "FUNDACIÓN GRÜNENTHAL"**

---

### **VALORACIÓN DE LA EFECTIVIDAD DE UNA PAUTA ANALGÉSICA CON BUPRENORFINA TRANSDÉRMICA EN PACIENTES AFECTOS DE ISQUEMIA ARTERIAL CRÓNICA EVOLUCIONADA DE LAS EXTREMIDADES INFERIORES: PERFIL GENÉTICO**

**Francisco Blanco Antona**

**DIRECTORES:**

D. Clemente Muriel Villoria, Catedrático del Departamento de Cirugía de la Universidad de Salamanca. Jefe de Departamento de Cirugía.

D. Francisco S. Lozano Sánchez, Catedrático del Departamento de Cirugía de la Universidad de Salamanca.

D. Rogelio González Sarmiento, Catedrático del Departamento de Medicina de la Universidad de Salamanca.

**D. CLEMENTE MURIEL VILLORIA, CATEDRÁTICO DEL DEPARTAMENTO DE CIRUGÍA DE LA UNIVERSIDAD DE SALAMANCA**

**D. FRANCISCO S. LOZANO SÁNCHEZ, CATEDRÁTICO DEL DEPARTAMENTO DE CIRUGÍA DE LA UNIVERSIDAD DE SALAMANCA**

**D. ROGELIO GONZÁLEZ SARMIENTO, CATEDRÁTICO DEL DEPARTAMENTO DE MEDICINA DE LA UNIVERSIDAD DE SALAMANCA**

**CERTIFICAN:**

Que el trabajo titulado **“Valoración de la efectividad de una pauta analgésica con buprenorfina transdérmica en pacientes afectos de isquemia arterial crónica evolucionada de las extremidades inferiores: perfil genético”**, que presenta D. Francisco Blanco Antona, ha sido realizado bajo su dirección en el Departamento de Cirugía, y reúne, a su juicio, originalidad y contenidos suficientes para que sea presentado ante el tribunal correspondiente y optar al Grado de Doctor por la Universidad de Salamanca.

Y para que conste, y a los efectos oportunos, expiden el presente certificado en Salamanca a 10 de Junio de 2010.

D. Clemente Muriel Villoria

D. Francisco S. Lozano Sánchez

D. Rogelio González Sarmiento

El presente proyecto doctoral ha sido financiado por la Cátedra Extraordinaria  
del Dolor “Fundación Grünenthal”

**2010**

# AGRADECIMIENTOS

A los directores de este trabajo, profesores Clemente Muriel Villoria, Francisco Lozano Sánchez y Rogelio González Sarmiento, por su dedicación, su ayuda, su orientación y sus buenos consejos.

A la Cátedra Extraordinaria del Dolor “Fundación Grünenthal” por financiar y apoyar este proyecto.

A todos los pacientes que voluntaria y generosamente quisieron participar en el estudio, y sin los cuales este trabajo de investigación no hubiera sido posible.

Al Servicio de Cirugía Vascular del Hospital Clínico de Salamanca por su buena disposición y colaboración, proporcionándonos los pacientes incluidos en este estudio.

Al equipo de enfermería de la séptima planta del Hospital Clínico de Salamanca por su amabilidad y su desinteresada colaboración.

A Teresa por su inestimable ayuda y asesoría técnica para la elaboración de este trabajo.

Al personal y a los compañeros del laboratorio por sus consejos, su tutela, su ayuda y su buen hacer.

A mis padres, María Teresa y Paco, y a mi hermana Leticia por su cariño, su ayuda, sus consejos, su confianza, su apoyo incondicional... y su paciencia infinita.

A Susana por su entusiasmo, su comprensión, su paciencia, su ánimo y su apoyo.

A mis compañeros y amigos, de España y Bélgica, por los buenos ratos que hemos compartido y por todo lo que me han aportado.

**A mi familia**

# ÍNDICE

I. PREFACIO .....	1
II. INTRODUCCIÓN.....	5
A - PATOLOGÍA VASCULAR .....	6
1. INTRODUCCIÓN.....	6
1.1 - Aspectos epidemiológicos.....	7
1.2 - Historia natural de la enfermedad arterial periférica.....	9
1.3 - Enfermedad arterial periférica: factores de riesgo.....	11
1.4 - Diagnóstico.....	13
a) Invasivos .....	14
b) No invasivos .....	16
1.5 - Pronóstico .....	19
1.6 - Impacto socio-económico.....	20
2. CLASIFICACIONES DE LA ENFERMEDAD ARTERIAL PERIFÉRICA..	21
2.1 - Clínica: Estadios de Fontaine y Categorías de Rutherford.....	21
2.2 - Clínico-hemodinámica .....	22
2.3 - Formas anatómico-clínicas .....	22
2.4 - Consensos sobre isquemia crítica.....	23
3. MEDIDA DE LOS RESULTADOS .....	24
3.1 - Criterios clínicos .....	24
3.2 - Criterios hemodinámicos .....	24
a) Índice tobillo-brazo .....	24
b) Claudicometría .....	25
3.3 - Técnicas de imagen: arteriografía y angio-resonancia.....	25
3.4 - Cuestionarios de calidad de vida.....	25
4. TRATAMIENTO DE LA ISQUEMIA CRÓNICA.....	27
4.1 - Medidas higiénicas.....	27
4.2 - Tratamiento médico.....	28
a) Prostaglandinas.....	28
b) Antihipertensivos .....	28
c) Antiagregantes .....	28
d) Vasodilatadores.....	29
e) Otros.....	29
4.3 - Tratamiento quirúrgico y endovascular .....	29
4.4 - Alternativas a la amputación .....	31
a) Simpatectomía lumbar.....	31
b) Neuroestimulación medular.....	31
c) Terapia con células madre (Stem Cells).....	32
d) Terapia génica.....	32
B - DOLOR E ISQUEMIA CRÓNICA.....	33

1. DEFINICIÓN.....	33
2. CLASIFICACIÓN Y TIPOS.....	34
3. EPIDEMIOLOGÍA.....	36
4. NEUROFISIOLOGÍA DEL DOLOR.....	36
5. ESCALAS DE MEDICIÓN DEL DOLOR.....	38
5.1 - Introducción.....	38
5.2 - Tipos de escalas.....	40
6. DOLOR VASCULAR.....	41
6.1 - Introducción.....	41
6.2 - Tratamiento analgésico.....	42
7. LA BUPRENORFINA.....	44
7.1 - Propiedades físico-químicas.....	45
7.2 - Farmacodinamia y farmacocinética.....	46
7.3 - Efectos.....	48
a) Sobre el sistema nervioso central y periférico.....	48
b) Sobre el aparato digestivo.....	49
c) Sobre el aparato respiratorio.....	49
d) Sobre el sistema cardiovascular.....	50
e) Sobre la función renal.....	50
f) Sobre el sistema inmunitario.....	51
g) Dérmicos.....	51
h) Durante el embarazo.....	52
i) Administración en pacientes ancianos.....	53
j) Administración en niños.....	53
7.4 - Contraindicaciones e interacciones.....	54
7.5 - Administración transdérmica.....	54
7.6 - Pautas de tratamiento.....	56
7.7 - Buprenorfina para el tratamiento del dolor isquémico.....	57
C - ESTUDIOS GENÉTICOS.....	59
1. BASES GENÉTICAS DEL DOLOR.....	59
1.1 - Introducción.....	59
1.2 - Polimorfismos genéticos.....	60
1.3 - Estudios de caracterización de genes.....	61
1.4 - Genética del dolor.....	62
1.5 - Farmacogenética.....	63
2. GENES ESTUDIADOS.....	64
2.1 - UGT2B7.....	64
2.2 - CYP3A4.....	65
2.3 - OPRM.....	67

---

III. OBJETIVOS .....	70
IV. PACIENTES, MATERIAL Y MÉTODO.....	72
1. CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y EXCLUSIÓN DE PACIENTES .....	73
2. DETERMINACIÓN DE LOS NIVELES DE DOLOR.....	75
3. OBTENCIÓN DE ADN A PARTIR DE LA SANGRE PERIFÉRICA .....	76
4. AMPLIFICACIÓN DE FRAGMENTOS DE ADN MEDIANTE PCR .....	78
5. DISCRIMINACIÓN ALÉLICA MEDIANTE DIGESTIÓN CON NUCLEASAS DE RESTRICCIÓN .....	78
6. ESTUDIO DEL GEN DE LA GLUCURONOSILTRANSFERASA.....	80
7. ESTUDIO DEL GEN DEL CITOCROMO P450 .....	81
8. ESTUDIO DEL GEN DEL RECEPTOR OPIOIDE <i>MU</i> .....	82
9. ANÁLISIS ESTADÍSTICO .....	84
V. RESULTADOS.....	85
1. DATOS EPIDEMIOLÓGICOS .....	86
2. RESULTADOS CLÍNICOS .....	88
2.1 - Valoración del dolor mediante EVA y escala verbal .....	88
a) Grupo estudio.....	88
b) Grupo control.....	90
c) Comparativa entre los grupos estudio y control.....	90
d) Correlación entre EVA y escala verbal.....	91
2.2 - Valoración de la calidad de vida.....	92
2.3 - Respuesta al tratamiento en función del sexo.....	93
2.4 - Respuesta al tratamiento en función de la edad .....	95
2.5 - Respuesta al tratamiento en función de antecedentes personales ....	96
a) Tablas de frecuencia .....	96
b) Análisis de la influencia de los antecedentes personales sobre la EVA inicial.....	98
c) Análisis de la influencia de los antecedentes personales sobre la respuesta al tratamiento .....	100
2.6 - Respuesta al tratamiento en función de la EAP .....	101
a) Análisis de la influencia del grado de arteriopatía .....	101
b) Análisis de la influencia del ITB.....	102

---

3. RESULTADOS DEL ANÁLISIS GENÉTICO .....	103
3.1 - Polimorfismos encontrados .....	104
3.2 - Análisis estadístico de los resultados.....	104
VI. DISCUSIÓN .....	107
VII. CONCLUSIONES .....	119
VIII. BIBLIOGRAFÍA .....	121
IX. ANEXOS .....	150
1. HOJA DE INFORMACIÓN AL PACIENTE .....	151
2. CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA EL ESTUDIO GENÉTICO.....	152
3. CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA LA PARTICIPACIÓN EN EL ESTUDIO .....	153
4. HOJA DE RECOGIDA DE DATOS.....	154

## LISTA DE FIGURAS

1. Grupos de prevalencia de la arteriopatía periférica .....	8
2. Prevalencia de la arteriopatía periférica en función de la edad.....	9
3. Supervivencia de los pacientes con claudicación intermitente y con isquemia crítica.....	11
4. Odds ratio de los factores de riesgo de EAP .....	11
5. Medida del ITB.....	16
6. Imagen obtenida mediante Dúplex .....	17
7. Pletismografía arterial .....	19
8. Componentes del dolor, factores que lo exacerban y dolor total .....	34
9. Vías de transducción, transmisión y percepción del dolor .....	38
10. Escalera analgésica de la O.M.S. ....	43
11. Polimorfismo de un solo nucleótido.....	60
12. Representación esquemática de la metabolización de morfina a glucuronil-6-morfina, y del polimorfismo del gen UGT2B7 que modifica esta vía metabolizadora .....	65
13. Mecanismo de acción del citocromo P450 por hidroxilación de una droga liposoluble, lo que aumenta la solubilidad en agua del metabolito y facilita su excreción .....	66
14. Representación esquemática del gen OPRM1 y localización de los polimorfismos más frecuentes, resaltando el polimorfismo c.118 A>G .....	69
15. Diagrama de flujo de los pacientes incluidos en el estudio .....	74
16. Escala visual analógica (EVA) .....	76
17. Proceso de amplificación de fragmentos de ADN y de discriminación alélica mediante digestión con enzimas de restricción .....	79
18. Localización del gen UGT2B7.....	80
19. Electroforesis del gen UGT2B7:	
A. Electroforesis de la PCR del gen UGT2B7 .....	81
B. Electroforesis de la digestión con enzimas de restricción de UGT2B7 .....	81
20. Localización del gen CYP3A4.....	81

---

21. Electroforesis del gen CYP3A4:	
A Electroforesis de la PCR de CYP3A4 .....	82
B. Electroforesis de la digestión con enzimas de restricción de CYP3A4 .....	82
22. Localización del gen OPRM1.....	83
23. Representación gráfica de los resultados obtenidos en el estudio mediante PCR con sondas Taqman del polimorfismo A118G (gen OPRM1) .....	84
24. Evolución de la EVA en el grupo estudio.....	89
25. Evolución de la EVA en el grupo control.....	90
26. Comparativa de la evolución de la EVA en los dos grupos.....	91
27. Comparativa de la EVA y la escala verbal del dolor en el grupo estudio.....	91
28. Comparativa de la EVA y la escala verbal del dolor en el grupo control.....	91
29. Resultados del cuestionario de calidad de vida EQ-5D en el grupo estudio..	92
30. Resultados del cuestionario de calidad de vida EQ-5D en el grupo control...	92
31. Respuesta al tratamiento en función del sexo .....	95
32. Valores de la EVA inicial en los pacientes con DM.....	99
33. Valores de la EVA inicial en los pacientes con EPOC .....	100
34. Respuesta al tratamiento en función del polimorfismo de CYP3A4 .....	105

## LISTA DE TABLAS

1. Clasificación clínica de la EAP (Estadios de Fontaine y Categorías de Rutherford).....	21
2. Clasificación clínica-hemodinámica .....	22
3. Inductores e inhibidores del citocromo P450 .....	67
4. Condiciones empleadas en el estudio del polimorfismo c.802 C>T del gen UGT2B7 .....	80
5. Condiciones empleadas en el estudio del polimorfismo c.290 A>G del gen CYP3A4 .....	82
6. Condiciones empleadas en el estudio del polimorfismo c.118 A>G del gen OPRM118.....	83
7. Pacientes incluidos en los grupos estudio y control.....	86
8. Pautas de tratamiento analgésico habituales, previas al estudio.....	87
9. Resultados de la comparación de las medianas de la EVA inicial y final en el grupo estudio.....	88
10. Resultados de la escala verbal del dolor en el grupo estudio .....	89
11. Tratamiento analgésico de rescate .....	89
12. Resultados de la comparación de las medianas de la EVA inicial y final en el grupo control .....	90
13. Resultados de la escala verbal del dolor en el grupo control.....	90
14. Tabla de frecuencia del sexo en la muestra estudiada .....	93
15. Prueba de Kolmogorov-Smirnov para la muestra .....	93
16. Chi cuadrado sobre la influencia del sexo en la percepción del dolor.....	94
17. Chi cuadrado sobre la influencia del sexo en la respuesta al tratamiento .....	94
18. Medidas direccionales, coeficiente eta .....	94
19. Correlación de Pearson entre la edad y la EVA inicial.....	95
20. Correlación de Pearson entre la edad y la respuesta al tratamiento.....	95
21. Mediana de edad dentro de cada subgrupo de antecedente personal .....	96
22. Tabla de frecuencia de la presencia de antecedente personal de HTA en la muestra.....	96

---

23. Tabla de frecuencia de la presencia de antecedente personal de IRC en la muestra.....	97
24. Tabla de frecuencia de la presencia de antecedentes quirúrgicos en la muestra .....	97
25. Tabla de frecuencia de la presencia de antecedente personal de DM en la muestra .....	97
26. Tabla de frecuencia de la presencia de antecedente personal de EPOC en la muestra.....	97
27. Influencia de la HTA sobre la EVA inicial.....	98
28. Influencia de la IRC sobre la EVA inicial.....	98
29. Influencia de los antecedentes quirúrgicos sobre la EVA inicial .....	98
30. Prueba de razón de verosimilitudes para la valoración de la influencia de la DM sobre la EVA inicial .....	98
31. Medidas direccionales, coeficiente eta .....	99
32. Chi cuadrado para la valoración de la influencia de la EPOC sobre la EVA inicial.....	99
33. Chi cuadrado para la valoración de la influencia de la HTA sobre la evolución de la EVA.....	100
34. Chi cuadrado para la valoración de la influencia de la IRC sobre la evolución de la EVA.....	100
35. Chi cuadrado para la valoración de la influencia de la DM sobre la evolución de la EVA.....	100
36. Chi cuadrado para la valoración de la influencia de la EPOC sobre la evolución de la EVA.....	101
37. Chi cuadrado para la valoración de la influencia de los antecedentes quirúrgicos sobre la evolución de la EVA.....	101
38. Correlación de Pearson entre el grado de arteriopatía y la EVA inicial.....	102
39. Correlación de Pearson entre el grado de arteriopatía y la respuesta al tratamiento .....	102
40. Correlación de Pearson entre el ITB y la EVA inicial .....	103
41. Correlación de Pearson entre el ITB y la respuesta al tratamiento .....	103
42. Resultados de la determinación de polimorfismos genéticos en el grupo estudio.....	104

---

43. ANOVA para la valoración de la influencia de UGT2B7.....	104
44. ANOVA para la valoración de la influencia de CYP3A4.....	105
45. Comparaciones múltiples para la respuesta al tratamiento en función de CYP3A4 .....	105
46. ANOVA para la valoración de la influencia de OPRM118.....	106
47. Valoración de los efectos de los tres polimorfismos sobre la respuesta al tratamiento .....	106

## **LISTA DE ABREVIATURAS Y ACRÓNIMOS**

AAS - Ácido Acetil Salicílico  
ADN – Ácido Desoxiribonucleico  
ADVP – Adicto a Drogas por Vía Parenteral  
AINEs – Anti Inflamatorios No Esteroideos  
AMPA – Ácido alfa-amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazolpropiónico  
ARN – Ácido Ribonucleico  
ARNm – Ácido Ribonucleico mensajero  
BPI – Brief Pain Inventory  
CI - Claudicación Intermitente  
CPQ – Chronic Pain Grade Questionnaire  
CYP - Citocromo  
DM - Diabetes Mellitus  
DMNID – Diabetes Mellitus No Insulino-Dependiente  
EAP- Enfermedad Arterial Periférica  
EDTA - Ácido Etilendiamino-Tetraacético  
EEII - Extremidades Inferiores  
EPO – Eritropoyetina  
EPOC – Enfermedad Pulmonar Obstructiva Crónica  
EVA – Escala Visual Analógica  
HTA - Hipertensión Arterial  
ICH - International Conference on Harmonization  
IMAO – Inhibidores de la Mono-Amino-Oxidasa  
IMC – Índice de Masa Corporal  
IRC – Insuficiencia Renal Crónica  
IECA - Inhibidores de la Enzima Convertidora de la Angiotensina  
ITB - Índice Tobillo / Brazo  
M3G – Morfina – 3 – Glucurónido  
M6G – Morfina – 6 – Glucurónido  
NCBI – National Center for Biotechnology Information

NMDA – N-Metil-D-Aspartato

OMS – Organización Mundial de la Salud

PCR – Polymerase Chain Reaction

PTFE – Poli-Tetra-Fluor-Etileno

SEACV - Sociedad Española de Angiología y Cirugía Vascular

SNC – Sistema Nervioso Central

SNP – Single Nucleotide Polymorphism

TASC - Consenso Trans-Atlántico de Sociedades

TCPO2 - Presión Transcutánea de Oxígeno

TTS – Transdermal Therapeutic System

## PREFACIO

Con esta presentación se pretende introducir al lector en el tema objeto de la tesis, facilitando la lectura del texto subsiguiente, y permitiendo con ello que el prólogo cumpla la misión que le corresponde, anteponiéndose a la obra.

No puede negarse en todo trabajo científico la inevitable influencia de antecedentes en los que basar la experimentación, pues la producción del intelecto humano conforma una interminable cadena de herencias y legados.

Así ocurre en esta y en todas las tesis doctorales, salvo singulares excepciones, donde la influencia ajena ha sido base de nuestros logros, y merecedora de agradecimiento común, pues sin tal legado no hubiera sido posible dar los pasos que hemos dado, en beneficio de los pacientes y del progreso científico.

Igualmente, como no podría ser de otra manera, esta tesis doctoral ha sido dirigida por investigadores universitarios que han sido capaces de llevar al doctorando a descubrir algo que no se enseña en la Universidad porque se desconoce, cumpliéndose así el principio básico que rige estos trabajos, de poner sobre la mesa científica hechos hasta ahora inéditos, algo que no hubiera podido lograr el autor de esta tesis sin el apoyo incondicional de sus directores; sin su ayuda desinteresada; y sin su disponibilidad permanente a resolver en todo momento las inevitables dificultades encontradas a lo largo de todo el proceso. Son ellos quienes han planificado, organizado y controlado cada una de las etapas del trabajo, mereciendo por ello la incondicional y eterna gratitud del doctorando, pues con su intervención han permitido homogeneizar y concertar todos los elementos para lograr felizmente los objetivos propuestos.

Es evidente que en la investigación han incidido aspectos relacionados con el dolor isquémico vascular, su origen, consecuencias y tratamiento; así como la incidencia que sobre él tiene la genética de los pacientes, por lo que se ha visto aconsejable la intervención cooperativa de departamentos universitarios relacionados con varias áreas de investigación. Esta situación un tanto singular no debe sorprender a nadie, dado el carácter social y participativo que necesariamente va adquiriendo la investigación científica, con el fin de favorecer el progreso interdisciplinar y profundizar en aspectos que desde una óptica parcelaria y exclusivista no sería posible hacerlo.

Hasta el primer tercio del siglo XX, los investigadores eran personas que se encerraban solos en laboratorios a experimentar las novedades que su privilegiada mente les sugería. Para el ciudadano del siglo XXI esto es algo trasnochado, carente de sentido e ineficaz para alcanzar los fines que demanda la sociedad, sean del tipo que sean.

Se inscribe esta Tesis Doctoral en el marco de las investigaciones multidisciplinares, donde se implican áreas de conocimiento pertenecientes a distintos ámbitos del saber, con fin de transversalizar los conocimientos en beneficio de un progreso científico tendente a mejorar la calidad de vida de los pacientes y el bienestar de la sociedad en que están inmersos.

El trabajo y los resultados obtenidos en la investigación llevada a cabo ha sido posible gracias a la estrecha colaboración realizada en tres especialidades clínicas de singular importancia, como son: la Anestesiología y terapéutica del dolor, la Cirugía Vascular y la Genética, representadas en la presente investigación por los máximos exponentes de las tres áreas en la Universidad de Salamanca, los catedráticos Muriel Villoria, Lozano Sánchez y González Sarmiento, respectivamente.

Fruto de este trabajo cooperativo se ha llegado a conclusiones científicas de indudable valor, tendentes a mejorar la calidad de vida de los pacientes afectados de esta patología, mejorando simultáneamente relaciones profesionales y proyectos de trabajo favorecedores de indudables éxitos futuros.

Pretendíamos inicialmente con nuestro trabajo valorar la eficacia de un tratamiento analgésico empleado ampliamente para paliar dolores crónicos, que no había sido evaluado para dolores de tipo isquémico.

La investigación realizada en esta tesis se ajusta a un doble marco que la sostiene y justifica. Por un lado, atiende al interés actual de la ciencia médica por resolver el problema del dolor isquémico en los pacientes que sufren, dirigiendo sus esfuerzos hacia la implantación de una terapia que ayude a eliminarlo. Y por el otro, se ha investigado con éxito la influencia de los factores genéticos sobre el dolor que sufren dichos pacientes, acorde con los supuestos que sustentan las teorías dominantes en este ámbito.

Los resultados de este trabajo confirman la hipótesis inicial de trabajo, comprobándose que la buprenorfina transdérmica permite un buen control analgésico de los pacientes afectados de arteriopatía periférica en grados avanzados en espera de cirugía o en aquellos pacientes no subsidiarios de tratamiento quirúrgico, evidenciándose la influencia de la genética en la respuesta a este tratamiento en nuestro grupo de pacientes.

La presente tesis consta de 6 partes bien diferenciadas:

#### PRIMERA PARTE:

En ella se exponen los fundamentos generales de la patología estudiada y se justifica la investigación que se ha llevado a cabo. Incluye una descripción del estado actual del tratamiento de la arteriopatía periférica, los mecanismos básicos del dolor, y una breve introducción a la influencia de los polimorfismos genéticos sobre los tratamientos analgésicos, en el contexto de la farmacogenética.

Por otra parte se describen los materiales y método empleados.

#### SEGUNDA PARTE:

En este apartado se incluye la primera fase de la investigación, consistente en un estudio prospectivo observacional y unicéntrico incluyendo dos series de pacientes, una de ellas recibe tratamiento con buprenorfina, y la otra el tratamiento analgésico estándar.

#### TERCERA PARTE:

Se analiza el genotipo de todos los pacientes incluidos en el grupo estudio, en relación a genes relacionados con el metabolismo y el mecanismo de acción de la buprenorfina, para determinar si existen influencias de los polimorfismos sobre la respuesta al tratamiento.

#### CUARTA PARTE:

Se exponen los resultados obtenidos tanto con la investigación clínica, como genética efectuadas y se realiza la correlación con las implicaciones que éstos puedan tener para la práctica habitual.

#### QUINTA PARTE: BIBLIOGRAFÍA

#### SEXTA PARTE: ANEXOS

Se incluyen los documentos empleados para la realización del proyecto, tanto médico-legales (consentimientos informados) como las hojas de información al paciente, y el modelo de documento de recogida de datos.

# INTRODUCCIÓN

---

## A. PATOLOGÍA VASCULAR

### 1. INTRODUCCIÓN

La isquemia o insuficiencia arterial crónica, es la consecuencia de una progresiva disminución de aporte sanguíneo (flujo arterial), en nuestro caso a las extremidades inferiores (EEII), producido por el desarrollo y evolución de lesiones estenosantes u ocluyentes a nivel de sus arterias y que, según el grado de afectación, se expresa por diferentes manifestaciones clínicas en estadios de gravedad progresiva. El desarrollo de circulación colateral hace que la isquemia tisular no se manifieste hasta que la obstrucción de la luz del vaso supera el 70%, apareciendo en ese momento el síntoma cardinal de esta patología, que es la Claudicación Intermittente (CI), durante la marcha, que es cuando los requerimientos nutricionales y de oxígeno de los tejidos son más importantes.

La enfermedad arterial periférica (EAP) es un síndrome, y como tal puede estar causada por múltiples procesos patológicos. En nuestro medio, el 90% de las lesiones arteriales estenosantes-ocluyentes crónicas de los miembros inferiores, son de origen arteriosclerótico. Esta patología es 4 veces más frecuente en varones, apareciendo en ellos alrededor de 10 años antes que en las mujeres (Estevan et al, 2000).

La arteriosclerosis ocluyente, causante de las enfermedades cardiovasculares, es el principal motivo de muerte en el mundo civilizado. Dentro de la arteriosclerosis se incluyen tres variantes morfológicas características:

- Arteriosclerosis (o aterosclerosis): caracterizada por la formación de ateromas, es decir, depósitos lipídicos focales en la túnica íntima arterial.
- Esclerosis calcificada de la túnica media (Mönckeberg): caracterizada por la calcificación de la túnica media de las arterias musculares.
- Arteriosclerosis caracterizada por el engrosamiento proliferativo fibromuscular o endotelial de las arteriolas y de las arterias de pequeño calibre.

Los dos primeros tipos suelen coexistir en pacientes de edad avanzada (Latorre et al, 1995), acelerando la progresión de las lesiones.

Se trata de una enfermedad lenta y progresiva que comienza casi al nacer y se caracteriza por la formación de un número cada vez mayor de ateromas en las arterias de grueso y mediano calibre. La lesión básica, el ateroma, consiste en una placa focal fibroadiposa que se eleva dentro de la túnica íntima y que puede llegar a estenotar o dañar la pared arterial (Latorre et al, 1995).

La arteriosclerosis se clasifica en dos tipos:

- Hialina: que consiste en un engrosamiento hialino homogéneo de la pared arteriolar con la consecuente disminución de calibre del vaso.
- Hiperplásica: asociada a la hipertensión arterial (HTA) severa de larga evolución (Latorre et al, 1995).

La EAP requiere cada vez una mayor atención de los sistemas sanitarios, ya que supone una carga considerable para los pacientes afectados, que presentan riesgo de mortalidad por infarto de miocardio y enfermedad cerebrovascular entre 3 y 5 veces superior al resto de la población (TASC II 2007). También sufren importantes limitaciones funcionales en sus actividades diarias, y los más afectados corren el riesgo de perder una extremidad. Hay, por tanto, una necesidad apremiante de brindar a los pacientes estrategias eficaces de gestión de la enfermedad.

### 1.1. Aspectos epidemiológicos

Sorprendentemente, a pesar del progresivo envejecimiento poblacional y el mejor conocimiento de la patología vascular periférica, con el consecuente aumento de la demanda asistencial en los últimos años, se disponen de pocos datos epidemiológicos sobre la EAP en comparación con los existentes sobre enfermedad coronaria o cerebro-vascular, sin embargo está claro que su prevalencia asintomática y sintomática es mayor de lo que se creía.

La arteriosclerosis a nivel de las extremidades inferiores tiene una prevalencia del 0.9 – 22 % (Dormandy et al, 1999 ; TASC, 2000) y una incidencia

de 9.9 casos/1000 habitantes/año (Hooi et al, 2001). Estudios recientes cuantifican este problema poniendo de manifiesto que el 6 % de todas las consultas en atención primaria se deben a patología vascular periférica (Martín et al, 2005). Los grupos de prevalencia de la EAP en relación con los servicios de atención primaria han sido bien establecidos (Estevan et al, 2002), como se indica en la Figura 1.

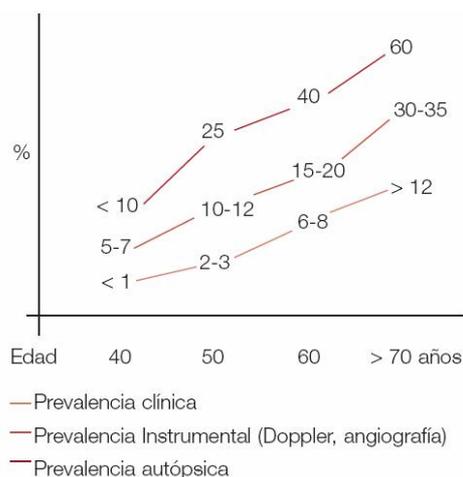


Figura 1. Grupos de prevalencia de la arteriopatía periférica (Estevan et al, 2002)

En nuestro país, el recién finalizado estudio ESTIME (Blanes et al, 2009), primero de carácter epidemiológico poblacional hecho en España, con el apoyo de la Sociedad Española de Angiología y Cirugía Vascular (SEACV), que se efectuó en 14 Servicios de Angiología y Cirugía Vascular de centros hospitalarios españoles, indica cifras aún más elevadas, con una prevalencia de la enfermedad de un 8,5 % de la población mayor de 55 años, diagnosticando la EAP mediante un índice tobillo / brazo (ITB) inferior a 0,9 (TASC II, 2007).

En los estudios más amplios y fiables, se objetiva que la prevalencia de CI en varones aumenta con la edad (Figura 2), siendo estimada para los pacientes de 60 años entre 0,6 y el 10 % (TASC II, 2007). Por su parte, la isquemia crítica de la extremidad afortunadamente es más rara, aunque tiene un pronóstico infausto, comparable al cáncer.

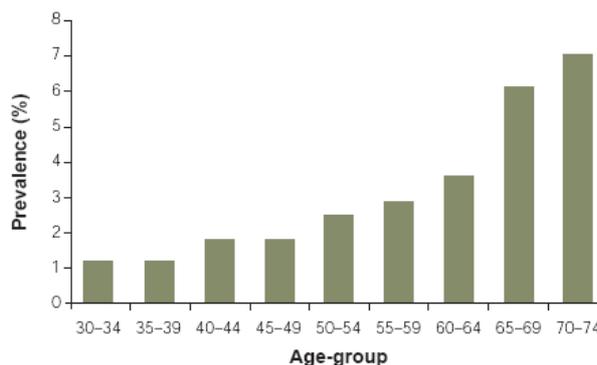


Figura 2. Prevalencia de la arteriopatía periférica en función de la edad (TASC II, 2007)

## 1.2. Historia natural de la enfermedad arterial periférica

La evolución natural de 100 pacientes con CI, controlados en una consulta, es:

- Mejoría o estabilización (75%)
- Empeoramiento sin necesidad de cirugía (18%)
- Necesidad de cirugía revascularizadora (5%)
- Amputación (2%)

Concomitantemente existen al menos 300 pacientes asintomáticos y otros 100 sintomáticos que solo acudirán al médico en situaciones más avanzadas (TASC II, 2007).

El término de “isquemia crónica crítica de la extremidad inferior” se aplica a los pacientes con isquemia arterial crónica que presentan dolor en reposo (estadio IIIb de Fontaine), úlceras o signos de gangrena (estadio IV de Fontaine), atribuibles a una enfermedad arterial oclusiva demostrada por métodos diagnósticos objetivos (ITB inferior a 0.5, presión arterial de perfusión en los dedos inferior a 30 – 50 mmHg o presión transcutánea de oxígeno (TCPO<sub>2</sub>) inferior a 30 – 50 mmHg) (TASC II, 2007). Este grupo de pacientes correspondería a un 1 – 3% de todas las arteriopatías avanzadas.

Existe escasa información sobre la incidencia de isquemia crítica, si bien se estima que al menos 500 - 1000 pacientes por millón de habitantes y año se verán afectados (TASC II, 2007). La progresión de una CI a isquemia crítica oscila entre el 3,8 y el 25 % (con un seguimiento a 5 años) (Dormandy et al, 1991) y un 41 %

(con un seguimiento a 8 años), con una tasa de amputaciones de aproximadamente un 10% (seguimiento a 10 años) (Andreozzi et al, 2002).

Se debe entender la isquemia crítica de las extremidades inferiores como el resultado último de un proceso crónico y multisistémico que es la arteriosclerosis, y que implica un pronóstico muy desfavorable no sólo para la extremidad, sino para la supervivencia de estos enfermos. El tratamiento de los pacientes con isquemia crítica de la extremidad será (TASC II, 2007):

- Revascularización quirúrgica de la extremidad, en el 50% de los casos
- Amputación de la extremidad, en un 25% de los pacientes
- El 25% restante se beneficiará de otro tipo de tratamiento médico, al no ser considerados como susceptibles de revascularización, o al no ser precisa la amputación en ese momento

La evolución a un año de un paciente con isquemia crítica de la extremidad es (TASC II, 2007):

- Fallecimiento (20%)
- Vivo con amputación (35%)
- Vivo sin amputación (45%)

La situación a los seis meses, cuando la revascularización no pudo realizarse o esta fracasó es (TASC II, 2007):

- Fallecimiento (25%)
- Vivo amputado (30%)
- En estado final o pre-amputación (20%)
- Mejoría (25%)

Cuando se compara la evolución de los pacientes con CI y con isquemia crítica, se objetiva el peor pronóstico a medio y largo plazo de los pacientes incluidos en el segundo grupo, como se puede ver en la siguiente figura:

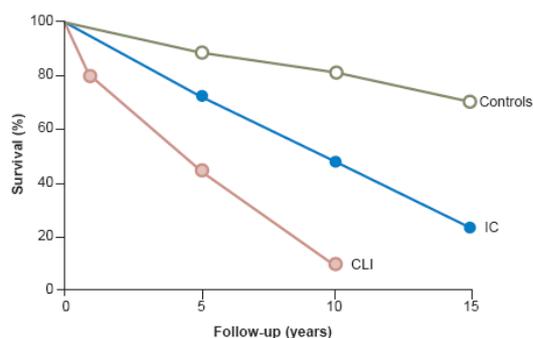


Figura 3. Supervivencia de los pacientes con claudicación intermitente (IC) y con isquemia crítica (CLI) (TASC II, 2007)

### 1.3. Enfermedad arterial periférica: factores de riesgo

Los factores de riesgo para desarrollar la EAP con sus respectivas Odds ratio, similares a los de otras enfermedades ateroscleróticas, se describen a continuación:

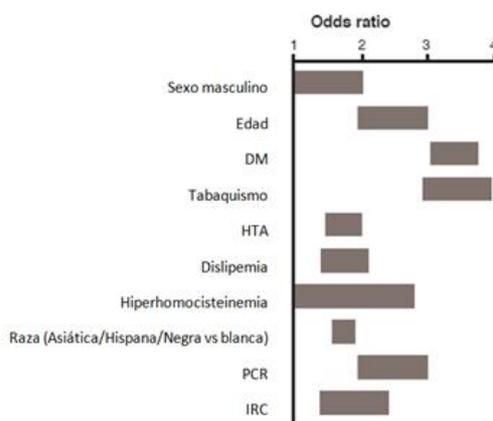


Figura 4. Odds ratio de los factores de riesgo de EAP (TASC II, 2007)

- Edad y sexo: entorno a los 60 años de edad la prevalencia de la CI en los varones es del 3 – 6 %. La prevalencia en los varones supera a la de las mujeres en todas las edades, con una proporción 1:8 (TASC II, 2007), aunque las mujeres en edades avanzadas presentan este tipo de patología de manera similar (Vavra et al, 2009). Se ha sugerido que la CI tiene una evolución más benigna en las mujeres (prevalencia varones : mujeres de 2:1) comparando series que estudian la isquemia crítica (cociente desde 3:1 hasta 13:1) (Hale et al, 1988).

Un estudio realizado en Suecia demostró que el 45 % de los amputados tenían al menos 80 años (TASC, 2000).

- Diabetes y alteración de la tolerancia a la glucosa: globalmente la CI es dos veces más frecuente en los pacientes diabéticos. Recientes estudios ponen de manifiesto que la resistencia a la insulina desempeña un papel clave dentro del “síndrome metabólico” caracterizado por la coexistencia de la Diabetes Mellitus no-insulino dependiente (DMNID), la obesidad, la hiperinsulinemia, la hiperlipemia, la HTA y la enfermedad cardiovascular (Reaven et al, 1988).

La diabetes afecta al 2 – 5 % de la población occidental, y el 40 – 45 % de las amputaciones practicadas en nuestro medio se realizan a estos pacientes. Algunos autores refieren que las amputaciones mayores son 11 veces más frecuentes en pacientes diabéticos en comparación a los no diabéticos (Da Silva et al, 1979) y a una edad más temprana (Christensen et al, 1976), e incluso que la progresión hacia la gangrena en los pacientes con isquemia crítica es un 40 % superior en los pacientes diabéticos (Kannel et al, 1994), independientemente de otros factores de riesgo, como la edad y el tabaco (Latorre et al, 1995). Sin embargo el tabaco no parece tener un efecto aditivo (Pell et al, 1997).

Por otra parte la microangiopatía diabética (enfermedad arteriolar y capilar) se combina con la neuropatía, lo que implica alteraciones a nivel de la sensibilidad al dolor, a la temperatura y a la presión, así como alteraciones autonómicas (pérdida de la sudoración con piel seca y fisurada), lo cual puede disminuir la sintomatología de alerta inicial.

- Tabaco: es el factor de riesgo más importante sobre el que se puede influir. Cronenwett et al. constataron que los pacientes con CI que habían fumado al menos 40 paquetes al año precisaban una cirugía vascular reconstructiva tres veces superior a los menos fumadores (Cronenwett et al, 1984). Otros autores señalan también un 11 % de

amputaciones mayores en el grupo de pacientes con CI que continúan fumando, respecto a los que no (Juergens et al, 1960).

- Hipertensión: los pacientes hipertensos presentan un riesgo dos a tres veces superior que el resto de la población de padecer la EAP. Actualmente se recomienda el tratamiento antihipertensivo de todos los pacientes con EAP, incluso en los normotensos (TASC II, 2007).
- Hiperlipidemia: el control de las cifras de colesterol (LDL-colesterol) debe ser estricto, ya que permite una reducción significativa de la mortalidad por eventos cardio-vasculares.
- Otros: han sido implicados también como factores de riesgo de evolución de la enfermedad arterial los niveles elevados del inhibidor del activador de plasminógeno, que altera la disolución de la fibrina (Tschopl et al, 1997), así como el papel de los leucocitos activados, que son anormalmente rígidos, y por lo tanto candidatos a producir oclusión microvascular. Finalmente la presencia de infecciones locales que amplifican y complican la situación vascular local debido a la liberación de toxinas bacterianas con la consecuente respuesta celular e inmunológica (Schmiel et al, 1996).

En resumen, aunque la EAP es el defecto subyacente principal en los pacientes con CI, la mala perfusión tisular provoca una serie de complejas respuestas de la microcirculación local, lo que conlleva dolor y cambios tróficos, creando unos círculos viciosos que se automultiplican.

#### 1.4. Diagnóstico

El diagnóstico de la EAP se basa en una anamnesis detallada seguida de una exploración física completa, siendo preciso interrogar al paciente acerca de sus antecedentes no sólo personales sino familiares, para identificar correctamente los factores de riesgo vascular. Debemos reseñar que actualmente el cribaje de la EAP en sujetos asintomáticos no está indicado (Estevan et al, 2004).

El síntoma fundamental de esta patología es el **dolor**, que aparece de forma progresiva con la deambulación, con intensidad creciente, que obliga al paciente a detener la marcha, desapareciendo el dolor con el reposo. La distancia de la marcha a la cual aparece el dolor suele ser constante, acortándose si la deambulación es por una pendiente ascendente o al subir escaleras, siendo este “perímetro de marcha” el que nos va a permitir clasificar a estos pacientes, como veremos posteriormente.

La exploración física debe incluir la inspección de las EEII para identificar los cambios tróficos (desaparición del vello, piel lustrosa, ulceraciones, etc...), así como la palpación de los pulsos distales y la temperatura de la extremidad. Se debe cuantificar el tiempo de relleno capilar, así como el llenado venoso mayor (Stoffers et al, 1997).

Los exámenes complementarios que permiten establecer el diagnóstico definitivo, al igual que la localización de la lesión, se dividen en:

a) Invasivos

- Angiografía convencional

La arteriografía constituye el patrón oro en el diagnóstico final de la enfermedad arterial periférica (Hirsch et al, 2005). La ventaja fundamental respecto a las nuevas técnicas de imagen no invasivas, es la posibilidad de completar el procedimiento diagnóstico con uno terapéutico (angioplastia, colocación de endoprótesis, etc...). Actualmente disponemos de dos técnicas arteriográficas:

- Arteriografía convencional: por vía translumbar, durante mucho tiempo utilizada, ha sido abandonada en favor de la técnica de Seldinger.
- Arteriografía por sustracción digital (vía endovenosa o intra-arterial): mediante la digitalización computerizada, se obtienen imágenes de gran nitidez del árbol arterial. La calidad de las imágenes que proporciona no son superiores a las obtenidas con la arteriografía convencional, pero dado que el riesgo de complicaciones y el volumen de contraste necesario son muy inferiores, resulta de gran utilidad en multitud de situaciones.

Sin embargo la arteriografía convencional presenta un cierto número de limitaciones e inconvenientes:

- Complicaciones a nivel del sitio de punción
    - o Pseudoaneurismas
    - o Hemorragias - Hematomas
    - o Fístulas arterio-venosas
    - o Infección
    - o Rotura del vaso
  - Atero-embolismos
  - Reacciones alérgicas al contraste yodado (0,1% de las arteriografías)
  - Nefrotoxicidad por el contraste yodado
  - Mortalidad (0,16% de todas las arteriografías)
- 
- Angio-resonancia

La resonancia magnética, que no precisa radiación ionizante, permite la visualización del árbol arterial, sin necesidad de emplear contraste yodado (angio-resonancia o angiografía por resonancia magnética). Por otra parte permite la reconstrucción en tres dimensiones de forma inmediata, pudiendo analizar los resultados obtenidos desde diferentes puntos de vista. Dado el carácter totalmente no invasivo de la prueba, es muy posible que en un futuro inmediato desplace en algunos sectores a la arteriografía (Cambria et al, 1997). Modernas técnicas de proyección tridimensional, permiten que la resonancia realice reconstrucciones anatómicas (Zhang et al, 2007).

- Tomografía arterial computerizada – Angio TC

El angio-TC permite obtener imágenes con una calidad similar a la resonancia magnética, aunque presenta los inconvenientes de la radiación, los artefactos producidos por la presencia de calcio y la necesidad de administración de contraste intra-venoso, por lo que no es una técnica de elección para el estudio y la planificación de la cirugía en la EAP. Si bien se emplea para la valoración del

sector aorto-iliaco y en los casos de politraumatismos con afectación vascular de las EEII (Peng et al, 2008).

b) No invasivos

Los estudios no invasivos se utilizan cada día más, ya que permiten obtener información topográfica y clínica con menos riesgos (Rudnitzky et al, 1996).

- Ultrasonografía Doppler (de emisión continua o pulsada)

La Ultrasonografía Doppler es el método no invasivo de elección por su facilidad de uso, bajo coste y la accesibilidad de los aparatos portátiles actuales, que permiten su empleo en la consulta de atención primaria (Pérez et al, 1998), siendo una exploración fiable, que requiere un pequeño entrenamiento previo. Permite fundamentalmente la determinación del ITB, para lo cual, tras localizar la presión sistólica del brazo con la sonda Doppler, se coloca el manguito neumático en la zona supramaleolar localizando con la sonda el pulso tibial posterior. A continuación se insufla en manguito por encima de la presión sistólica del paciente, vaciando lentamente hasta reaparición de la señal Doppler a nivel tibial posterior, siendo ésta la presión a nivel de dicha arteria. Del mismo modo se toman diferentes medidas descendiendo en el eje vascular.

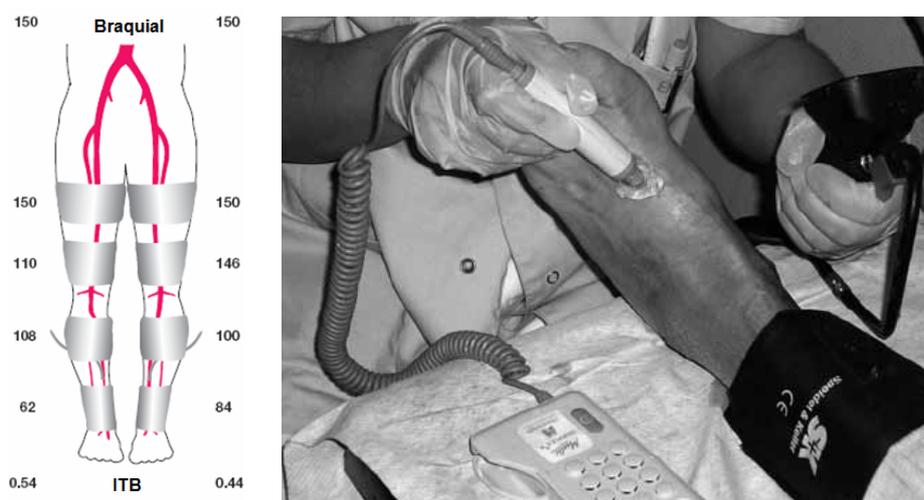


Figura 5. Medida del ITB (TASC II, 2007)

En condiciones normales el ITB es igual a 1, las cifras inferiores a 0,9 son diagnósticas de EAP (TASC II, 2007), e implican un riesgo de 3 a 6 veces mayor

de riesgo de mortalidad cardiovascular para ese paciente. Los valores entre 0,5 y 0,9 corresponden a CI, aquellos  $< 0,4$  indican obstrucción grave, y finalmente los valores inferiores a 0,3 se relacionan con la presencia de gangrena isquémica (Santilli et al, 1999). En pacientes con arteriopatía diabética se pueden obtener ITB superiores a 1,5, debido a las calcificaciones de Mönckeberg de la pared arterial (Donnelly et al, 2000). El ITB representa el factor de predicción más significativo de una posible intervención quirúrgica, cuando es inferior a 0,5 (Dormandy et al, 1991). Aquellos pacientes con un ITB  $< 0,4$  presentan un riesgo de progresión de la enfermedad a isquemia crítica o hacia la pérdida de la extremidad de un 8,5% al año (Jelnes et al, 1986).

- Test de ejercicio en banda sin fin

En el test de ejercicio en banda sin fin se determina el ITB antes y después del ejercicio, siendo diagnóstico de patología arterial un descenso de un 20% en el mismo tras el esfuerzo. En caso de no producirse un descenso en el ITB tras 5 minutos de ejercicio, se descarta la presencia de patología arterial (Santilli et al, 1999).

- Eco-Doppler (Duplex)

El Eco-Doppler (Duplex) nos ofrece información acerca de la morfología del vaso (su diámetro, las características de la pared, etc...) (Martí et al, 2009) y nos permite detectar la presencia de turbulencias en el flujo sanguíneo.

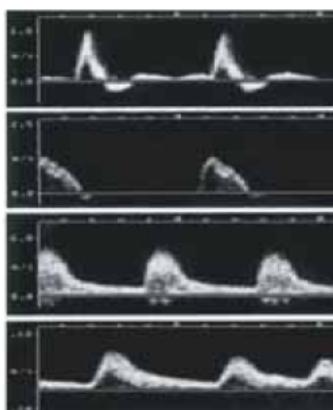


Figura 6. Imagen obtenida mediante Duplex.

En comparación a la angiografía, presenta una sensibilidad del 80% y una especificidad del 90% para la detección de lesiones a nivel de las arterias femoral y poplítea, sin embargo es mucho menos sensible para la detección de lesiones a nivel de las arterias tibiales y peroneas (Donnelly et al, 2000), por lo que la combinación de ambas técnicas es muy útil (Valecchi et al, 2009). Desde hace unos años está sustituyendo a la arteriografía como prueba diagnóstica de primera elección (London et al, 1996).

- Oscilometría y oscilografía

Es un método útil para detectar el pulso arterial en aquellos casos en los que no está accesible a la exploración física, por la presencia de importantes masas musculares, a la vez que permite objetivar en cifras los datos de pulsatilidad de las arterias. Sólo se aplica a las grandes arterias, es decir a la circulación troncular, no pudiendo ofrecer información sobre la circulación arteriolo-capilar, por lo que las valoraciones de los déficits circulatorios son bastante burdas con este método, ya que una irrigación arterial eficiente, realizada por los vasos colaterales, es compatible con un índice oscilométrico nulo. Su valor es principalmente comparativo, para evaluar la simetría entre las extremidades contralaterales.

- Pletismografía arterial

Este examen compara la presión arterial en las piernas y los brazos y, generalmente, se hace para examinar bloqueos del flujo sanguíneo en las EEII (Myers et al, 1964). Mediante la colocación de cuatro pequeños esfigmomanómetros (12,5 a 55 cm) para cada extremidad: a nivel del muslo, sobre la rodilla, bajo la rodilla y en el tobillo.

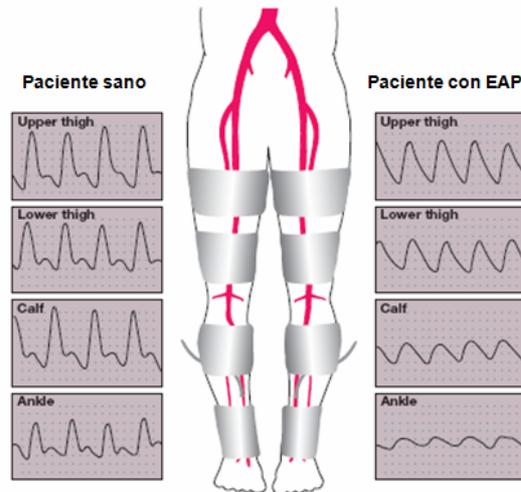


Figura 7. Pletismografía arterial.

Se conectan con 2 manguitos al equipo vascular, y se selecciona el programa que permite que los manguitos se llenen de aire, a una presión entre 45 y 60 mmHg. Por espacio de 45 segundos, se estabiliza la presión, comenzando a aparecer en la pantalla el trazado pletismográfico. Es un examen importante, que en forma rápida y sencilla evalúa el estado arterial general en las EEII. De forma sencilla se analiza morfológicamente el trazado en cada segmento de la extremidad, ya que en el caso de objetivarse un descenso superior a 20 mmHg entre dos segmentos adyacentes, se diagnosticaría una estenosis a ese nivel (TASC II, 2007). Se puede complementar esta exploración con la ecografía para detectar posibles problemas circulatorios en el flujo arterial.

- Ecografía simple

La ecografía nos ofrece información no sólo de las arterias, sino de los tejidos adyacentes, lo que permite descartar compresiones extrínsecas de los vasos arteriales o venosos, u otras afecciones no vasculares que pueden alterar la perfusión tisular.

### 1.5. Pronóstico

Si desde el punto de vista local, la CI es una enfermedad relativamente benigna, no se comporta igual desde el punto de vista sistémico. La CI es algo

más que expresión de EAP sintomática, siendo un importante signo de arteriosclerosis generalizada. Por ello, la CI se asocia a una morbilidad y mortalidad cardiovascular elevada por infarto agudo de miocardio e ictus (TASC II, 2007).

De los 100 pacientes con CI antes referidos, 30 fallecerán en menos de cinco años (16 por accidentes coronarios, 4 cerebrales, 3 por otras causas vasculares y 7 por causas no vasculares); conjuntamente de 5 a 10 presentarán accidentes no mortales, y los 55 - 60 restantes sobrevivirán a los 5 años (TASC II, 2007).

#### 1.6. Impacto socio-económico

Desde el punto de vista local, la EAP ocasiona:

- a) Merma de la capacidad para caminar e invalidez
- b) Mayor tasa de operaciones
- c) Progresión a una isquemia crítica, con incremento del número de amputaciones

Desde el punto de vista general, se relaciona con la referida morbilidad y mortalidad cardiovascular por infarto agudo de miocardio e ictus.

Por todo ello, es fácil entender como la EAP presenta importantes repercusiones sociales y económicas. La enfermedad ocasiona elevados costes directos, tangibles (indirectos) e intangibles (pérdida de calidad de vida). No existen datos globales al respecto y sólo están disponibles estudios parciales, en modelos sanitarios no comparables al nuestro (TACS, 2000).

## 2. CLASIFICACIONES DE LA ENFERMEDAD ARTERIAL PERIFÉRICA

Cada estadio, categoría o forma anatómico-clínica, presenta su tratamiento específico y su pronóstico diferenciado (Lozano, 2005).

### 2.1. Clínica: Estadios de Fontaine y Categorías de Rutherford

La disminución de aporte sanguíneo a las EEII, se refleja en una sintomatología (estadios y categorías). Cuanto más deficiente sea la perfusión tisular, más llamativas serán las manifestaciones clínicas.

Estadios de Fontaine		Categorías de Rutherford		
Estadio	Clínica	Grado	Categoría	Clínica
I	Asintomático	0	0	Asintomático
IIa	Claudicación leve	I	1	Claudicación leve
IIb	Claudicación moderada-grave	I	2	Claudicación moderada
		I	3	Claudicación grave
III	Dolor en reposo	II	4	Dolor en reposo
IV	Ulceración o gangrena	III	5	Pérdida menor de tejido
		IV	6	Pérdida mayor de tejido

Tabla 1. Clasificación clínica de la EAP (Estadios de Fontaine y Categorías de Rutherford)

## 2.2. Clínico-hemodinámica

Modifica y mejora la clasificación clínica de Fontaine:

<b>Clasificación clínico-hemodinámica</b>	
<b>Estadio I</b>	Escasa clínica
<b>Estadio II</b>	Claudicación intermitente
IIa	Perímetro de marcha > 150 metros
IIb	Perímetro de marcha < 150 metros
Claudicación a término	Perímetro de marcha < 50 metros
<b>Estadio III</b>	Dolor en reposo
IIIa	Presión tobillo > 50 mmHg
IIIb	Presión tobillo < 50 mmHg
<b>Estadio IV</b>	Lesiones tróficas
IVa	Pequeñas úlceras superficiales
IVb	Grandes gangrenas

Tabla 2. Clasificación clínico-hemodinámica

## 2.3. Formas anatómico-clínicas

La EAP tiene predilección por las EEII, por lo que desde la aorta terminal hasta los vasos tibiales es posible encontrar estenosis y/o oclusiones. Sin embargo, existen tres localizaciones predilectas, frecuentemente asociadas:

- a) Enfermedad aorto-iliaca aislada (tipos 1 y 2), y combinada (tipo 3).
- El tipo 1 (13%) limita sus lesiones a la aorta distal e iliacas primitivas. Una variante en el varón es el síndrome de Leriche.
  - El tipo 2 (20%) presenta lesiones aórticas e iliacas, tanto en las arterias iliacas comunes como externas.
  - Enfermedad aorto-iliaca y femoro-poplíteica combinada (tipo 3). Es frecuente (33%), y produce las claudicaciones más incapacitantes, y habitualmente progresa a estadios más avanzados.

- b) Enfermedad femoro-poplítea aislada: la más frecuente (50% del total), sobre todo en pacientes diabéticos. Generalmente se asocia a otras enfermedades vasculares (vasos coronarios y carótidas) lo que determina su pronóstico. Desde el punto de vista local, la CI puede permanecer estable durante muchos años, sino presenta enfermedad aorto-iliaca combinada.
- c) Enfermedad distal (tibio-peronea) aislada o combinada: la menos frecuente y propia de enfermedades agresivas (diabéticos). De los tres vasos de la pierna, el que con mayor frecuencia se mantiene permeable es la arteria peronea. Presenta el peor pronóstico, y es donde la cirugía revascularizadora tiene el mayor índice de fracasos

#### 2.4. Consensos sobre isquemia crítica

Según los Consensos Europeo (1991) y Trans-Atlántico de Sociedades I y II (2000 y 2007), el concepto de “*isquemia crítica*” estaría integrado por los pacientes de los estadios IIIb y IV (dolor en reposo, ulceración y gangrenas). Este concepto de amenaza de pérdida de la extremidad, presenta el complementario de salvamento de la misma (“*limb salvaje*”). Estas situaciones son:

- Dolor en reposo durante más de 2 semanas (con regular analgesia) y presión en el tobillo menor o igual a 50 mm Hg, o presión digital menor o igual a 30 mm Hg.
- Ulceración o gangrena digital o del pie y presión tobillo menor o igual a 50 mm Hg, o presión digital menor o igual a 30 mm Hg.

El término isquemia crítica de la extremidad, implica una enfermedad crónica de base y debe ser diferenciado de las isquemias agudas.

### 3. MEDIDA DE RESULTADOS

La anamnesis (estadios de Fontaine) y exploración física (palpación de pulsos e ITB) establecen con suficiente certeza la existencia de una isquemia crónica de las EEII, pero dicha valoración es bastante subjetiva y no cuantifica el grado de isquemia.

#### 3.1. Criterios clínicos

Según TACS II son parámetros de éxito terapéutico:

- Éxito técnico
- Ausencia de morbilidad y mortalidad del procedimiento
- Mejoría de los síntomas, es decir la desaparición del dolor de reposo
- Preservación (salvamento) de la extremidad. No necesidad de amputación
- Completa cicatrización de las lesiones cutáneas

#### 3.2. Criterios hemodinámicos

Los métodos de exploración no invasivos permiten aparte de confirmar o descartar la existencia de un proceso obliterante, realizar una evaluación hemodinámica y cuantificar objetivamente, sin riesgo para el paciente, el grado de insuficiencia arterial.

##### a) Índice tobillo / brazo (ITB)

Con la ayuda de un manguito de oclusión y un doppler de onda continua, es posible medir la presión sistólica a nivel del tobillo (arterias tibiales posterior y anterior) (Johansson et al, 2010). Al cociente entre esa presión y la humeral se la conoce como ITB. Índices por debajo de 1 son indicativos de patología arterial (Vierron et al, 2010).

Un ITB entre 0.5-0.9 es compatible con CI; el dolor en reposo suele aparecer por debajo de 0.5; las úlceras y gangrenas suelen presentar índices próximos a 0.2. Como medida objetiva de mejoría clínica se ha recomendado el aumento del ITB superior a 0.15 (TASC II, 2007).

#### b) Claudicometría

Se pueden realizar pruebas algo más complejas, que permiten cuantificar el grado de afectación, como la claudicometría, en la que se hace caminar al paciente, por un tapiz rodante, con una pendiente y velocidad conocidas (5% y 2 km/h), durante cinco minutos o hasta la aparición de los síntomas. Posteriormente se registran las presiones maleolares en decúbito, inmediatamente y cada minuto hasta alcanzar los valores en reposo. Se deben medir la distancia de claudicación absoluta, la inicial, el porcentaje de caída de presiones y el tiempo de recuperación.

### 3.3. Técnicas de imagen: arteriografía y angio-resonancia

Aportan datos anatómicos, permitiendo localizar topográficamente las lesiones, valorando la extensión de las mismas, el estado de las arterias proximales y distales, así como la existencia y el desarrollo de la circulación colateral.

Con esta información se podrá planificar correctamente el tratamiento quirúrgico. En ciertos casos esta prueba puede contraindicar la práctica quirúrgica, al poner de manifiesto que no existen posibilidades de revascularización.

### 3.4. Cuestionarios de calidad de vida

El impacto de la EAP sobre la calidad de vida de los pacientes es importante, fundamentalmente por la presencia de dolor y de invalidez física. En la mayoría de los casos el cirujano no percibe bien esta afectación, aunque el

conocimiento de la misma es fundamental para el planteamiento terapéutico, por lo que la valoración del paciente es imprescindible (Hicken et al, 2000).

Estudios realizados en nuestro medio objetivan una mejoría de la calidad de vida de los pacientes afectos de EAP con el tratamiento (médico o quirúrgico), salvo en los casos de pacientes amputados, en los que los que la incapacidad física es muy influyente (Hernández et al, 2002).

Existen cuestionarios para la valoración de la calidad de vida genéricos, como el Medical Outcomes Study Short Form 36 (MOS SF-36), y otros más específicos para la CI, como el Walking Impairment Questionnaire (WIQ).

Aunque algunos autores (Schneider et al, 1993) han adaptado el SF-36, a pacientes con isquemia de las EEII (SF-20), y éste ha sido recomendado para el análisis de la calidad de vida en estos casos (Gulati et al, 2009), en la actualidad no existe ningún cuestionario específico para la isquemia crítica.

El EuroQol-5D (EQ-5D) es un sencillo cuestionario que fue diseñado para ser autoadministrado, es decir, para que el propio paciente lea, interprete y responda a las diferentes preguntas. Contiene 5 dimensiones de salud (movilidad, cuidado personal, actividades cotidianas, dolor / malestar y ansiedad / depresión) con 3 niveles de gravedad para cada una (sin problemas, algunos problemas o problemas moderados y problemas graves), y una EVA vertical de 20 cm para la evaluación del dolor.

Este cuestionario es fácil de rellenar, lo que repercute positivamente en la cantidad y la calidad de los datos recogidos, con un menor número de respuestas perdidas o equivocadas. Desde 1999 disponemos de una versión en español de este cuestionario (Badia et al, 1999), lo que lo convierte en un instrumento útil para la evaluación de la calidad de vida en nuestro medio.

#### 4. TRATAMIENTO DE LA ISQUEMIA CRÓNICA

No existe tratamiento etiológico de la arteriosclerosis, por lo que los objetivos terapéuticos en la isquemia crítica de las EEII estarán dirigidos al control sintomático, fundamentalmente el alivio del dolor, a mejorar la calidad de vida, mejorando la función, y a evitar en lo posible que la enfermedad progrese, con la consecuente pérdida de la extremidad. Casi toda la patología vascular, tanto arterial como venosa, presenta cuadros clínicos donde el dolor no sólo está presente, sino que es preponderante, con diferentes características en función de la afectación (Lozano, 2007).

##### 4.1. Medidas higiénicas

El ejercicio físico programado y regular mejora la distancia máxima recorrida y aumenta el tiempo caminado libre de dolor en pacientes con CI (Hiatt et al, 2001).

El abandono del hábito tabáquico reduce el riesgo de infarto de miocardio y de muerte por causa vascular, pero no mejora el perímetro de marcha ni la distancia total caminada en los pacientes con CI (Girolami et al, 1999).

El control de los niveles de lípidos es beneficioso en pacientes con arteriopatía periférica, ya que reduce la progresión de la enfermedad medida por arteriografía y mejora la severidad de la CI (Leng et al, 2001). El objetivo terapéutico para estos pacientes se centra en conseguir cifras de LDL-colesterol inferiores a 100 mg/ml, y niveles de triglicéridos inferiores a 150 mg/ml (Ansell et al, 1999).

Un control estricto de los niveles de glucemia no disminuye el riesgo de amputación ni la mortalidad relacionada con la EAP (UKPDS, 1998), sin embargo está bien establecido que un buen control glucémico previene las complicaciones microvasculares y la aparición de eventos adversos cardiovasculares.

## 4.2. Tratamiento médico

Existen diversos tratamientos médicos que pueden mejorar la sintomatología de los pacientes con EAP, actuando a diferentes niveles (Mannava et al, 2007).

### a) Prostaglandinas

Diferentes prostaglandinas ( $PGE_1$  y  $PGE_2$  / Prostaciclina) son potentes vasodilatadores e inhibidores de la agregación plaquetaria. Se administran en perfusión continua por vía intravenosa y por lo tanto precisan hospitalización. Su efecto provoca una mejoría de la distancia máxima alcanzada libre de dolor, y de la calidad de vida (Milio et al, 2006). Aunque de eficacia controvertida, son un recurso, previo a la amputación (Reiter et al, 2004). Recomendación número 85 del TACS (2000) “el uso de prostaciclinas en la isquemia crítica crónica en extremidades viables no revascularizables, es una alternativa a la amputación”.

### b) Antihipertensivos

La HTA es el principal factor de riesgo relacionado con la EAP. Los  $\beta$ -bloqueantes deben ser administrados con precaución en los casos de afectación severa, ya que pueden condicionar un empeoramiento de la sintomatología (Radack et al, 1991). Los inhibidores de la enzima convertidora de la angiotensina (IECA) reducen los eventos isquémicos en este tipo de pacientes, a la vez que logran un buen control de tensión arterial (Yusuf et al, 2000), por lo que son el tratamiento de elección, junto con los diuréticos tiazídicos (TASC II, 2007). En casos de hipertensión refractaria al tratamiento se deben emplear los antagonistas del calcio (TASC II, 2007).

### c) Antiagregantes

Los pacientes con CI deben recibir tratamiento antiagregante (Girolami et al, 1999), fundamentalmente con ácido acetil salicílico (AAS) de forma continuada (75 – 300 mg/día) para prevenir la aparición de eventos cardiovasculares (Clagett et al, 2004). El Clopidogrel a dosis de 75 mg/día se muestra una alternativa eficaz en pacientes que presenten contraindicaciones para la toma de AAS (CAPRIE, 1996).

Es importante señalar que los anticoagulantes, tanto orales como heparinas, no están indicados para el tratamiento de los pacientes con CI, al no ofrecer beneficios y aumentar el riesgo de hemorragia (Cosmi et al, 2001).

#### d) Vasodilatadores

La Pentoxifilina aporta un pequeño beneficio en las distancias máximas recorridas, pero los datos son insuficientes para recomendar su uso en todos los pacientes con CI (Hoodet al, 1996).

Con el empleo del Cilostazol a dosis de 100 mg/12 h se obtiene un beneficio significativo en el alivio del dolor y en el aumento de las distancias máximas recorridas (Beebe et al, 1999).

#### e) Otros

Otros medicamentos, no comercializados en España, como el Naftidrofurilo, mejoran las distancias caminadas libres de dolor, pero carecen de efectos sobre la evolución de la enfermedad (De Backer et al, 2009).

El control de las cifras de LDL colesterol se debe realizar mediante dieta estricta y Simvastatina, que ha demostrado reducir en un 17% la mortalidad por EAP, y en un 25% y 38% la mortalidad por accidente cerebro-vascular e infarto de miocardio, respectivamente.

Finalmente señalar que la infusión de anestésicos locales epidurales constituyó una de las formas más eficaces de producir vasodilatación por medio de un bloqueo simpático (Gwathmey et al, 1963 ; Orduña et al, 2009).

### 4.3. Tratamiento quirúrgico y endovascular

Es el tratamiento definitivo no sólo de las lesiones físicas, sino del dolor, y persigue dos objetivos:

1. Mejorar la capacidad funcional del enfermo
2. Evitar la pérdida de alguna de las EEII, por la presencia de dolor en reposo y/o gangrena.

Las indicaciones quirúrgicas varían, dependiendo de tres factores:

- Clínicos: grado de isquemia (estadios de Fontaine)
- Generales: enfermedades asociadas, expectativas de vida y edad del paciente
- Locales: nivel y extensión de las lesiones arteriales

Desde un punto de vista práctico se deben contestar a dos preguntas: ¿conviene operar? (en función de la clínica) y ¿se puede operar? (en función de la situación general y local del paciente). El dolor en reposo o la presencia de lesiones tróficas (grados III y IV) son claras indicaciones quirúrgicas por el riesgo de pérdida de la extremidad.

El conjunto de enfermedades asociadas, la expectativa de vida y en menor grado la edad del paciente, pueden agruparse en un solo factor: indicación general o evaluación global del paciente para determinar su riesgo quirúrgico en el estudio preoperatorio.

Por último, está la indicación local o topográfica (obtenida de la información arteriográfica), ya que el nivel y grado de lesiones son un factor determinante. En ocasiones contraindican por si solas la cirugía, por ejemplo en un paciente con dolor de reposo, y bajo riesgo quirúrgico, pero inoperable desde el punto de vista arteriográfico.

Las técnicas revascularizadoras van desde la tromboendarterectomía al by pass, pasando por las más modernas técnicas revascularizadoras endovasculares (angioplastias con o sin colocación de stent) (Diehmn et al, 2008).

En pacientes con isquemia crítica de las EEII, un meta-análisis (TACS, 2000) sobre la permeabilidad a cinco años de los by-pass femoro-poplíteos concluye que las tasas de permeabilidad en el mejor de los casos son del 66% (utilizando vena safena). Esa cifra desciende al 47% utilizando Politetrafluoroetileno (PTFE) en anastomosis por encima de la rodilla, y al 33% si se realiza el by-pass con PTFE en anastomosis por debajo de la rodilla.

#### 4.4. Alternativas a la amputación

Cierto número de pacientes afectados de isquemia crítica, presentarán problemas locales o generales que impidan o contraindiquen la práctica de técnicas revascularizadoras como tratamiento de elección. En tales situaciones, antes de amputar la extremidad (por dolor rebelde o lesiones tróficas no controlables), se deben contemplar una serie de alternativas.

##### a) Simpatectomía lumbar

La extirpación de 3-5 ganglios de la cadena simpática lumbar, produce un efecto variable de vasodilatación periférica. Es posible realizarla mediante procedimientos clásicos (con cirugía abierta), químicos (alcoholización con fenol o alcohol absoluto) o endoscópicos (AbuRhama et al, 1994).

Su efecto fundamental es producir un aumento de flujo a nivel superficial (piel y tegumentos cutáneos), pudiendo aumentar la temperatura cutánea a nivel del pie, lo que alivia el dolor en reposo y ocasionalmente favorece la cicatrización de lesiones tróficas.

Actualmente sólo está indicada en pacientes con arteriopatía oclusiva distal sin posibilidad de revascularización directa, patrón lesional típico entre los diabéticos, ya que no ha demostrado superioridad respecto a otros tratamientos (Ruiz-Arangón et al, 2009). Es preciso tener en cuenta que muchos diabéticos de larga evolución, están autosimpatectomizados a causa de su neuropatía periférica, por lo que el Consenso Europeo (1991) contraindica la simpatectomía en estos enfermos.

##### b) Neuroestimulación medular

La estimulación eléctrica de los cordones posteriores medulares, es otra técnica hiperémica, que controlaría el dolor y permitiría cicatrizar pequeñas úlceras superficiales (Ubbink et al, 2004 ; Orduña et al, 2009). Descrita por primera vez en 1967 (Shealy et al, 1967), los avances tecnológicos actuales han favorecido su desarrollo.

Puede ser de utilidad una vez fracasadas las medidas terapéuticas habituales y antes de proceder a la amputación (Horsch et al, 1996), si bien su práctica no está recomendada al carecer de evidencia científica y presentar un elevado coste.

#### c) Terapia con células madre (Stem Cells)

La terapia con células madre se presenta como una buena alternativa para aquellos pacientes con isquemia crítica de las extremidades no subsidiarios de tratamiento quirúrgico revascularizador, con buenos márgenes de seguridad y sin efectos adversos (Lawall et al, 2010). Ha sido ya demostrado que la inyección de precursores de células endoteliales CD133+ a nivel del músculo gastrocnemio produce una mejoría de sintomatología en pacientes con isquemia crítica (Cañizo et al, 2007). Otros autores han publicado resultados favorables con terapias basadas en la aplicación de células madre de forma complementaria durante el acto quirúrgico (Kolvenbach et al, 2010). Actualmente se están realizando estudios multicéntricos con resultados alentadores (Kawamoto et al, 2009).

#### d) Terapia génica

Ha sido demostrado que la administración local de factores de crecimiento en los pacientes con isquemia crítica de la extremidad promueve el desarrollo de la neovascularización (Makinen et al, 2002) y ayuda a la recuperación de los tejidos isquémicos, por lo que ya se están realizando más estudios fase I y II (Germani et al, 2009), algunos de ellos empleando vectores virales (adenovirus) (Rajagopalan et al, 2007).

Un reciente meta-análisis ha concluido que tanto la terapia génica como la celular, mejoran la sintomatología de este tipo de pacientes, con un margen de seguridad y una tolerabilidad aceptable (De Haro et al, 2009), si bien el régimen óptimo de administración aún no ha sido establecido.

## B. DOLOR E ISQUEMIA CRÓNICA

### 1. DEFINICIÓN

El tratamiento del dolor es tan antiguo como la enfermedad, etimológicamente el origen de la palabra “paciente” deriva del latín *patior*: “el que soporta sufrimiento o dolor”, y la palabra inglesa “pain” de “poena”, que en latín significa castigo (Pérez-Cajaraville et al, 2005). En 1942, el cirujano René Leriche decía que “sin duda, es el dolor el signo de enfermedad que más angustia y sufrimiento produce en el hombre y, por tanto, el combatirlo es la misión más perentoria que el médico debe cumplir” (Leriche, 1942). Hoy en día el dolor se ha convertido en un trastorno universal, afectando a un 25% de la población adulta en Europa (Breivik et al, 2006). Se trata de un desafío para el personal sanitario que debe dar apoyo al individuo que sufre las consecuencias físicas (problemas hormonales, trastornos del sistema inmunológico, etc...) y emocionales (ansiedad, alteraciones del sueño, etc...) del dolor, que conllevan una disminución de la calidad de vida de las personas que lo padecen (Breivik et al, 2006). El dolor es el primer motivo de consulta médica en nuestro medio, un tema de salud serio y costoso, con un gasto estimado en el 2,5% del producto interior bruto (Camba et al, 2009).

La definición de dolor, establecida en 1979, es: “una experiencia sensorial y emocional desagradable asociada con daño tisular real o potencial o descrito en términos de tal daño” (Mac Farlane et al, 1997). Se trata de una percepción altamente subjetiva que se completa con experiencias físicas, psicológicas, emocionales y socio-culturales del individuo (Bayes et al, 1986) (Figura 8). Por lo tanto, podríamos decir que el dolor es el resultado final de la capacidad del individuo para percibir una alteración y de su capacidad para observarla.

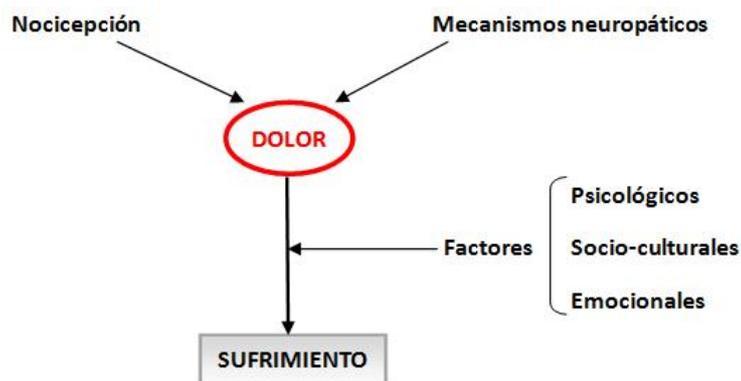


Figura 8. Componentes del dolor, factores que lo exacerbaban y dolor total.

## 2. CLASIFICACIÓN Y TIPOS

Clásicamente se definen 3 tipos de dolor, en función de la evolución del mismo (Bonica, 1990 ; Muriel, 1994):

- **Dolor agudo:** es consecuencia de una enfermedad, inflamación o lesión tisular, aparece súbitamente y suele acompañarse de ansiedad o angustia emocional, por influencia psicológica. Su causa suele ser identificada y tratada, con la consecuente mejoría de los síntomas en un corto plazo de tiempo (menos de 2 semanas), aunque en ocasiones puede evolucionar hacia la cronicidad. En la patología vascular periférica aparece en los episodios de reagudización de las isquemias arteriales crónicas, así como en las isquemias arteriales agudas, tanto de origen trombótico como embólico. Dentro del dolor agudo se incluye el dolor fisiológico, producido por la estimulación breve de los nociceptores de los tejidos en ausencia de daño tisular real, aunque la persistencia de la situación podría provocarlo. Este tipo de dolor es un mecanismo de protección necesario para la supervivencia y el bienestar del individuo.

- **Dolor crónico:** suele ser el representante mismo de la enfermedad, empeorando como consecuencia de factores ambientales y psicológicos. Este tipo de dolor persiste, por definición, durante un periodo de tiempo más largo que el agudo (más de tres meses) y es más refractario a los tratamientos médicos, al presentar un importante componente psicológico. Este tipo de dolor es el más frecuente en los pacientes con EAP,

constituyendo para algunos autores una enfermedad por sí mismo (Clark et al, 1956).

En el caso particular del dolor en las afecciones vasculares periféricas, algunos autores (Rial et al, 2001) objetivan tiempos de evolución prolongados, con una elevada frecuencia y alta intensidad del dolor, que se vive dramáticamente, asociando un importante malestar y mayores limitaciones de las actividades cotidianas, que condicionan estados emocionales negativos y depresivos; en definitiva una importante afectación de la calidad de vida.

Podemos clasificar también el dolor en función de su origen (Bonica, 1990 ; Muriel, 1994), en:

- **Dolor somático, inflamatorio o nociceptivo** cuando un estímulo en cualquier parte del cuerpo, a excepción del sistema nervioso central, activa los receptores nociceptivos.
- **Dolor neuropático**, que es el resultado de las lesiones o alteraciones en las vías nerviosas periféricas o centrales, de diversas etiologías (infecciones, traumatismos, alteraciones metabólicas, etc...). Característicamente se presenta como una sensación basal dolorosa o quemante (disestesia), con respuesta exagerada (hiperalgesia) o percepción de un estímulo cualquiera como doloroso (alodinia).
- **Dolor psicogénico o psicopático** cuando se origina en la psiquis del paciente sin causa somática aparente, con semiología dolorosa atípica, examen clínico normal y exploraciones secundarias negativas, siendo considerado por algunos autores más un estado de ánimo que un dolor (Rubin et al, 2005).

La arteriopatía periférica provoca fundamentalmente dolor de tipo somático, debido a las lesiones provocadas por la isquemia, con la consecuente acidosis y necrosis, aunque algunos de estos pacientes (diabéticos, amputados, etc...)

pueden presentar un componente neuropático asociado, por la afectación nerviosa acompañante.

### 3. EPIDEMIOLOGÍA

En los últimos 20 años diversos estudios, en su mayoría anglosajones, han determinado la presencia de dolor en la población general. El primer estudio realizado en España sobre prevalencia del dolor se llevó a cabo en Cataluña, en 1999 (Bassols et al, 1999), y determinó una prevalencia muy elevada de dolor en la población (78,6%), significativamente mayor en mujeres y con tendencia a aumentar con la edad, siendo la patología vascular la causa del dolor en gran parte de esta población.

La importancia del dolor desde el punto de vista social viene determinada fundamentalmente por su alta prevalencia, con importantes repercusiones laborales, económicas y administrativas. El tratamiento del dolor, tanto agudo como crónico, supone hoy en día una partida importante del gasto global de un país, no sólo por el consumo de recursos para su control, sino como consecuencia de su infratratamiento, y su significativa repercusión en forma de bajas laborales, jubilaciones, pensiones anticipadas e invalidez.

Se cree ampliamente que el dolor afecta a los hombres y a las mujeres de diferente manera (Greenspan et al, 2007). Aunque las hormonas sexuales (estrógeno y testosterona) ciertamente juegan un papel en este fenómeno (Craft et al, 2007), la influencia de la psicología y la cultura son fundamentales en cómo los individuos perciben individualmente las señales de dolor, por lo que se considera actualmente que la percepción del dolor es un fenómeno multifactorial, con una influencia genética importante (Kim et al, 2004).

### 4. NEUROFISIOLOGÍA DEL DOLOR

Para que se perciba la sensación dolorosa es necesaria la existencia de neuronas con terminaciones nerviosas libres especializadas en la recepción del dolor, denominadas nociceptores, descritas por primera vez por Charles Scott

Sherrington en 1906 en su libro "The integrative action of the nervous system". Los cuerpos de estas neuronas se encuentran en los ganglios raquídeos, a partir de los cuales surgen unas vías que permiten la transmisión del impulso hasta el sistema nervioso central (Julius et al, 2001). Los nociceptores pueden dividirse en dos grupos, los que responden a estímulos térmicos y mecánicos, que transmiten la señal a través de fibras mielínicas A $\delta$ , y los receptores polimodales, que responden a la presión, temperatura, estímulos químicos u otro tipo de estímulos y transmiten la señal a través de fibras amielínicas C. Todos estos receptores tienen en común la existencia de umbrales de excitación elevados, en comparación con los receptores del tacto y la temperatura normales, por lo que no se activan en ausencia de estimulaciones nocivas, aunque la estimulación de los nociceptores en los pacientes con arteriopatía puede ser más intensa debido a la acidez del medio (ácido láctico) (Sutherland et al, 2000) y a la elaboración de la sustancia P (Sutherland et al, 2000 ; Seybold et al, 2009).

Una vez activados, los nociceptores transmiten la información hasta las neuronas del asta posterior de la médula espinal, donde se liberan neurotransmisores, principalmente el glutamato, que actúa a nivel local sobre receptores de tipo AMPA (ácido  $\alpha$ -amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazolpropiónico) y NMDA (N-metil-D-aspartato); y diferentes neuropéptidos que no sólo actúan a nivel local sino que pueden activar neuronas alejadas de su lugar de liberación. Además, otros neurotransmisores como la sustancia P, la serotonina, las catecolaminas y, sobre todo, los péptidos opiáceos endógenos, intervienen en la modulación de la señal a este nivel.

El estímulo es transmitido desde la médula espinal a través de vías ascendentes a diferentes regiones del sistema nervioso central (SNC), principalmente al tálamo a través de los haces espinotalámico, espinoreticular y cervicotálamico; al mesencéfalo, sustancia gris periacueductal y núcleos parabraquiales a través del haz espinomesencefálico; y al hipotálamo a través del haz espinohipotálamico. La estimulación de los núcleos parabraquiales se proyecta al núcleo amigdalino implicado en el control de las emociones y se piensa que interviene en el componente afectivo del dolor. Desde el tálamo, la

información nociceptiva es transmitida a la corteza cerebral, donde se produce el procesamiento definitivo de la sensación dolorosa.

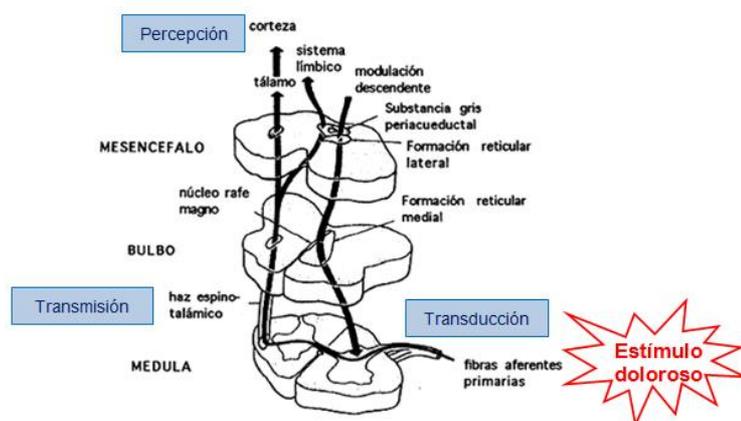


Figura 9. Vías de transducción, transmisión y percepción del dolor.

En la regulación de la sensación dolorosa intervienen fibras aferentes no nociceptivas primarias, principalmente fibras de tipo A $\beta$  de gran tamaño, y la sustancia gris periacueductal inhibe neuronas nociceptivas de la médula espinal, principalmente a través de conexiones excitatorias con neuronas de la parte rostroventral del bulbo raquídeo y, sobre todo, con neuronas serotoninérgicas del núcleo magno del rafe. Desde el locus cerúleo noradrenérgico, y diferentes núcleos del bulbo y la protuberancia parten sistemas inhibidores descendentes que modulan la actividad de las neuronas nociceptoras del asta posterior de la médula.

## 5. ESCALAS DE MEDICIÓN DEL DOLOR

### 5.1. Introducción

Uno de los avances más importantes en el estudio y tratamiento del dolor ha sido el conocimiento adquirido en relación a la forma de evaluarlo y de medirlo (Serrano-Atero et al, 2002). El tratamiento adecuado del dolor obliga a su medición; esto es válido tanto para los ensayos clínicos de nuevas drogas o técnicas analgésicas, como para la práctica clínica. Melzack define la medición

como “el proceso de asignar números a las propiedades específicas de acontecimientos, procesos, objetos o personas” (Melzack et al, 1983).

No hay manera de decir cuánto dolor tiene una persona, ninguna prueba puede medir la intensidad del dolor, ningún dispositivo radiológico o de imagen puede mostrar el dolor, y ningún instrumento puede ubicar ni medir precisamente el dolor. La intensidad del dolor y el alivio que producen las diferentes drogas empleadas son las variables que más se han utilizado para el ajuste de dosis, por lo que llegar a algún grado de estandarización en su medición ha sido de extraordinaria utilidad.

Es preciso considerar que el umbral del dolor, es decir, la intensidad mínima a partir de la cual un estímulo se percibe como doloroso, es diferente para cada paciente debido a la influencia de aspectos culturales, emocionales y la propia variabilidad interpersonal. La susceptibilidad al dolor puede también venir determinada por el abuso o la retirada de sustancias, el hipertiroidismo, las afecciones hepáticas y las renales (Wu et al, 2002).

La evaluación y la cuantificación del dolor es uno de los aspectos principales a los que hay que enfrentarse cuando se aborda su tratamiento. Debido a la subjetividad del dolor y a su multidimensionalidad, no todos los pacientes se comportan igual en cuanto a la percepción y a la duración del mismo. Por este motivo es fundamental la valoración de la intensidad del dolor para poder así prescribir de forma adecuada la medicación (Muriel, 1994).

La medición del dolor se basa en 3 aspectos básicos:

- 1) Conseguir la información subjetiva del paciente mediante la anamnesis general y referente al dolor (inicio, duración, localización, irradiación, síntomas asociados), así como los tratamientos previos y la respuesta a los mismos
- 2) La observación de la conducta del paciente
- 3) La utilización de instrumentos que permitan medir las respuestas autonómicas del dolor (aumento de la tensión arterial, taquicardia, etc...)

Las variaciones individuales en el umbral del dolor dificultan su evaluación, por lo que es preciso cuantificarlo mediante el empleo de escalas de medida, que permitan a los pacientes describir la intensidad del dolor que sienten, y así instaurar un tratamiento analgésico adecuado y monitorizar la respuesta al mismo. Estas escalas de medición deben ser sencillas para que el paciente pueda comprender bien las explicaciones del médico responsable.

## 5.2. Tipos de escalas

### a) Objetivas

La valoración de la intensidad del dolor es realizada por el médico, basándose en las reacciones del paciente (comportamiento, expresión facial, etc...) y en datos objetivos (tensión arterial, frecuencia cardiaca, etc...). Estas escalas no son muy fiables, puesto que el dolor es subjetivo, pero suponen una valoración complementaria en el abordaje del dolor.

### b) Subjetivas

#### • Unidimensionales

Consideran el dolor como una dimensión única o simple, por lo que valoran solamente su intensidad.

- Escala verbal simple o categórica
- Escala visual analógica (EVA)
- Escala numérica
- Escala de expresión facial
- Termómetro del dolor

#### • Multidimensionales

Valoran diferentes dimensiones del dolor, no sólo su intensidad. Son de aplicación más compleja, difícilmente comprensibles por los pacientes en algunas ocasiones.

- Cuestionario de McGill
- Índice de Lattinen
- Cartilla de autodescripción diaria del dolor
- Brief Pain Inventory (BPI)
- Chronic Pain Grade Questionnaire (CPQ)

Actualmente la **EVA** es de uso universal, ya que es un método relativamente simple, que ocupa poco tiempo, y aun cuando requiere de un cierto grado de comprensión y de colaboración por parte del paciente, tiene buena correlación con las escalas descriptivas, buena sensibilidad y buena confiabilidad, es decir, es fácilmente reproducible. La **escala verbal simple** es una buena alternativa, y puede ser utilizada de forma complementaria a la EVA.

## 6. DOLOR VASCULAR

### 6.1. Introducción

El dolor vascular se origina en los tejidos, debido al déficit de aporte de oxígeno y sustratos. En condiciones de isquemia se genera adenosina, que activa las fibras amielínicas aferentes, lo que produce la sensación de dolor. Por otra parte la bradiquinina, generada en el medio ácido de las vénulas por la calicreína, puede también producir dolor. En los pacientes con CI la aparición de dolor viene determinada por este daño isquémico tisular, sin embargo en los casos de isquemia crítica predomina el dolor de tipo neuropático, debido a la afectación nerviosa asociada (Rüger et al, 2008).

El tratamiento de este tipo de dolor se basa en 3 pilares: las medidas de higiene de vida, el tratamiento quirúrgico y el farmacológico. El objetivo principal es el de restaurar una correcta perfusión de los tejidos, aportando un flujo sanguíneo suficiente mediante técnicas quirúrgicas endovasculares (Inglese et al, 2000 ; Diehm et al, 2008) o abiertas de by-pass, simpatectomía (AbuRahma et al,

1994) o amputación, en los casos con gran pérdida de sustancia, ulceraciones y/o gangrena.

## 6.2. Tratamiento analgésico

La meta del manejo del dolor en los pacientes con EAP es mejorar la función, permitiendo que los pacientes realicen una vida normal, sin limitaciones. Existen muchas opciones de tratamiento, pero lo más importante es recordar siempre que el dolor es tratable.

Debido a sus múltiples mecanismos, el dolor isquémico sigue siendo un problema no resuelto. Los tratamientos farmacológicos convencionales se basan en la interacción con receptores de membrana (opioides), la inhibición de enzimas que participan en la síntesis de transmisores (AINEs), y en la manipulación farmacológica de los gradientes aniónicos en la interfase, tanto a nivel del sistema nervioso central como periférico. En un sentido amplio, el tratamiento del dolor debería estar orientado a aliviar de forma equilibrada e individualizada los distintos componentes del dolor y su interrelación.

Habitualmente se utilizan asociaciones o combinaciones de analgésicos con diferentes mecanismos de acción, orientadas a mejorar la eficacia y disminuir los efectos secundarios adversos de los tratamientos, pudiendo emplearse también fármacos coadyuvantes analgésicos (antidepresivos y algunos antiepilépticos) de forma complementaria (Wiffen et al, 2005 ; Micó et al, 2006).

En el momento actual existen variadas presentaciones farmacéuticas de analgésicos (oral, transmucosa oral, respiratoria inhalada, transdérmica y parenteral), si bien son la oral y la transdérmica las que han tenido mayor éxito terapéutico, ya que gozan de una mayor aceptación entre los pacientes. Los sistemas transdérmicos o TTS (Transdermal Therapeutic Systems) permiten un control posológico y una liberación constante, sostenida y controlada del fármaco, con la consiguiente obtención de niveles plasmáticos constantes y sostenidos. Presentan como ventaja una disminución del efecto de primer paso hepático, una disminución de los efectos secundarios adversos y, por la comodidad de

administración, un mejor cumplimiento del tratamiento por parte de los pacientes. La diferencia entre los distintos parches disponibles en el mercado radica en el sistema de almacenamiento del principio activo (reservorio o matriz), siendo más seguros los matriciales, por el riesgo de rotura del reservorio, con la consecuente toxicidad derivada de esta complicación (De la Calle et al, 2009).

El tratamiento farmacológico para el alivio del dolor isquémico debe emplearse como puente a la cirugía, para aliviar la sintomatología dolorosa antes de la reperfusión, y para los casos en los que no es posible ofrecer al paciente soluciones quirúrgicas (microangiopatía, lechos distales no permeables...), o cuando éstas han fracasado, tras haberse realizado correctamente (Lozano, 2009). Cualquiera de las opciones terapéuticas comentadas debe acompañarse de cambios en los hábitos de vida, como son la abstención del tabaquismo y la realización de ejercicio aeróbico, fundamentalmente incentivando a estos pacientes a caminar.

La Organización Mundial de la Salud (OMS) publicó en 1986 (WHO, 1986) una escala analgésica para el tratamiento del dolor crónico, inicialmente destinada para el tratamiento del dolor crónico oncológico, que permite un buen control de la sintomatología dolorosa hasta en un 80% de los casos (Puebla et al, 2005).

Escalón I	Escalón II	Escalón III	Escalón IV
Analgésicos no opioides ± Coanalgésicos	Opioides débiles ± Coanalgésicos ± Escalón I	Opioides potentes ± Coanalgésicos ± Escalón I	Métodos Invasivos ± Coanalgésicos
----- Paracetamol AINE Metamizol	----- - Codeína Tramadol	----- -- Morfina Oxicodona Fentanilo Metadona Buprenorfina	

Figura 10. Escalera analgésica de la OMS.

El tratamiento analgésico se inicia con un anti-inflamatorio no esteroideo (AINE) o con paracetamol, añadiéndose opiáceos al tratamiento en función del

control del dolor. Esta escalera analgésica sigue siendo de utilidad desde un punto de vista académico, aunque desde un punto de vista práctico es demasiado simplista, fundamentalmente para el tratamiento del dolor neuropático, por lo que algunos autores sugieren ya modificaciones (International Association for the Study of Pain, 2005).

Los pacientes afectados de isquemia arterial periférica evolucionada presentan una sintomatología dolorosa que podríamos calificar como “intensa” en la mayoría de los casos, salvo aquellos pacientes con co-morbilidades, como la Diabetes Mellitus (DM), en los que el dolor puede ser menos intenso debido a la neuropatía periférica. Esto implica en los pacientes arteriopatías la administración de varios analgésicos en combinación, no lográndose un control adecuado del mismo en gran parte de los casos debido a la mala compliancia de estos enfermos polimedcados, por lo que consultan iterativamente.

## 7. LA BUPRENORFINA

Actualmente disponemos de nuevos fármacos, tanto AINEs como opiáceos, con nuevas formas de administración, que permiten un mejor control del dolor moderado e intenso, no sólo por su actividad, sino por la facilidad de administración, lo que mejora la compliancia de los pacientes. Entre estos nuevos fármacos se encuentra la buprenorfina, y su administración transdérmica (Likar, 2006 ; Kress, 2009).

Se sigue debatiendo el empleo de opioides potentes, como la buprenorfina, para el tratamiento del dolor crónico no oncológico, como en el caso que nos ocupa, pero esta postura es cada vez más respaldada por la literatura (Portenoy, 1994 ; Sorge et al, 1997 ; Simpson, 2004 ; Kress, 2009).

La buprenorfina ha sido empleada en combinación a la analgesia epidural para el tratamiento del dolor isquémico de origen vascular (Aurilio et al, 2005), proporcionando una analgesia eficaz y duradera. Sin embargo no existen referencias de su empleo por vía transdérmica para el dolor de origen vascular.

### 7.1. Propiedades físico-químicas

La Buprenorfina es un opioide semi-sintético derivado de la tebaína, uno de los alcaloides de la morfina con más reactividad química, que presenta una potencia al menos 30 veces mayor que la morfina. Fue comercializada por primera vez en la década de 1980 como analgésico en los Estados Unidos.

La estructura de la buprenorfina es característicamente opioide, con una cadena lateral C-7 que contiene un grupo t-butilo, que contribuye a la lipofilia de la molécula, influyendo de manera importante en su farmacología (Lewis, 1985). La gran liposolubilidad e hidrosolubilidad de la buprenorfina, su bajo peso molecular (467,6 Dalton) y su configuración estructural, aumentan la penetración de las formulaciones transdérmica y transmucosa. Sin embargo esta facilidad de penetración en los tejidos es la responsable de la aparición de efectos adversos centrales y eméticos a bajas concentraciones del fármaco (Rance et al, 1977).

Se ha caracterizado a la buprenorfina como un agonista parcial del receptor opioide *mu* (Lewis, 1985 ; Kress, 2009), antagonista en el receptor opioide *kappa* (Leander, 1988) y antagonista débil en el receptor *delta* (Lewis, 1985), aunque clínicamente se comporta como un agonista de los receptores *mu* (Heel et al, 1979) al estar su eficacia relacionada con la dosis, y ser el techo para los efectos no analgésicos muy superior al rango analgésico. Con el efecto analgésico máximo (0,5 mg/kg) se produce saturación in vivo de los puntos de unión de los opioides (Dum et al, 1981); en el intervalo de dosis de 0,01 – 0,5 mg/kg se ha observado que los efectos agonistas obedecen a la interacción con los receptores *mu* y *kappa*; y, finalmente, en el intervalo de dosis antagonista (0,5 – 10 mg/kg) la interacción con los receptores *delta* es la responsable del efecto (Sadée et al, 1982). La buprenorfina presenta una acción prolongada sobre el receptor *mu*, relacionada con una disociación lenta del receptor. Microgramo a microgramo la buprenorfina transdérmica posee una potencia analgésica equivalente al fentanilo transdérmico. Comparando morfina versus fentanilo se estimó una potencia analgésica de 1:100, la comparación morfina oral versus buprenorfina transdérmica es de 1:110 (Sittl , 2005 ; Likar et al, 2008).

Cuando se han medido respuestas diferentes a la analgesia, fuera del intervalo 0,1 – 10 mg/kg, se ha observado un “efecto techo” con dosis de 16 a 32 mg/kg, siendo la curva para la depresión respiratoria fue del tipo curva de dosis-respuesta con forma de campana (Walsh et al, 1994). Sin embargo, estudios recientes sugieren que la administración de dosis elevadas de buprenorfina por vía transdérmica pueden aumentar su efecto analgésico, sin que se objetive un “efecto techo”, salvo para la depresión respiratoria (Vadivelu et al, 2008).

La íntima unión de la buprenorfina a los receptores opioides influencia en perfil farmacológico de la molécula, condicionando en primer lugar una acción prolongada del mismo, y en los casos de suspensión brusca del tratamiento rara vez se produce un síndrome de abstinencia, ya que el fármaco tarda mucho tiempo en liberarse del receptor (Kress, 2009). Por otra parte, la estrecha unión con el receptor opioide es relativamente lenta en comparación con otros opioides, como el fentanilo (Boas et al, 1985), sin embargo el inicio de la analgesia no es diferente, ya que la buprenorfina produce un efecto analgésico eficaz con una ocupación de receptores relativamente baja (5-10%) (Tyers, 1980). Estos dos hechos condicionan que el grado de analgesia no guarde una relación directa con la concentración plasmática del fármaco (Boas et al, 1985), y permite que se pueda llevar a cabo sin perjuicio para el paciente la rotación de opioides, alternándola con la morfina si es preciso (Atkinson et al, 1990).

Finalmente, como la buprenorfina no induce la internalización de los receptores opioides (Zaki et al, 2000), las probabilidades de tolerancia o dependencia después del tratamiento a corto o largo plazo pueden ser menores que con otros opioides.

## 7.2. Farmacodinamia y farmacocinética

En lo que respecta a la farmacodinamia de la buprenorfina sus propiedades físico-químicas permiten una fácil absorción cualquiera que sea la vía de administración. La biodisponibilidad si es administrada por vía intramuscular o transdérmica se acerca al 100% (Bullingham et al, 1980), lo que indica que existe poca diferencia respecto a la administración intravenosa. La buprenorfina se

absorbe bien por la mucosa oral, aunque con cierta lentitud, por lo que la analgesia se inicia entre 15 y 45 minutos después de colocar el comprimido en la boca del paciente (Bullingham et al, 1981), un periodo ligeramente inferior al de otros preparados sublinguales, por lo que se ha convertido en un valioso instrumento para el tratamiento de la dependencia a los opioides (Seow et al, 1986 ; Walsh et al, 1995).

La buprenorfina se une estrechamente a las proteínas (un 96%), en particular a las fracciones alfa y beta-globulina (Heel et al, 1979). Se metaboliza a glucurónido de buprenorfina, por la glucuronosiltransferasa, y éste es parcialmente desalquilado por la enzima 3A4 del citocromo P450 (Kobayashi et al, 1998) a un producto N-desalquilado, la N-desalquilbuprenorfina (norbuprenorfina), que se conjuga posteriormente, en la pared intestinal y el hígado (Rance et al, 1977 ; Sittl, 2005). Las concentraciones de buprenorfina a nivel hepático detectadas en los estudios son mayores cuando la administración es parenteral, respecto a la vía oral, lo que es compatible con un amplio metabolismo de primer paso (Heel et al, 1979). A diferencia del resto de opioides, que son metabolizados por oxidación a nivel hepático, el metabolismo de la buprenorfina y la morfina por glucuronidación (por las enzimas UGT1A1, UGT1A3 y UGT2B7) (Chang et al, 2009) se ve poco afectado en los casos de cirrosis, aunque la monitorización de los niveles es precisa en casos de enfermedad hepática avanzada, debido a la reducción de la actividad del citocromo P450 (Tegeeder et al, 1999).

La norbuprenorfina es detectable en el plasma tras la administración del fármaco original (Ohtani et al, 1995). Aunque este metabolito tiene una actividad analgésica leve (Ohtani et al, 1995), provoca una depresión respiratoria diez veces mayor que el compuesto original, mediando su actividad por los receptores *mu* del tejido pulmonar, y no por los encefálicos, ya que su penetración a nivel cerebral es escasa (Ohtani et al, 1997).

La excreción para eliminación de la buprenorfina es fundamentalmente biliar, independientemente de la vía de administración (Walters et al, 1995). En el ser humano, las heces contienen principalmente buprenorfina no modificada, mientras que los productos excretados por vía urinaria son los conjugados del

compuesto original, y la norbuprenorfina, ya que sólo un 15% de la dosis original se elimina por esta vía (Heel et al, 1979). En el tratamiento a corto y medio plazo con buprenorfina, la insuficiencia renal terminal no parece afectar la excreción del fármaco (McQuay et al, 1986), a diferencia de la morfina, que experimenta en estos casos una notable disminución de su depuración (Moore et al, 1984).

### 7.3. Efectos

La buprenorfina ha demostrado ampliamente su efectividad para el control del dolor crónico moderado o grave (Muriel et al, 2005 ; Kress, 2009). Los diferentes estudios que han comparado la eficacia analgésica de la buprenorfina respecto a otros analgésicos opioides potentes, como la morfina (Downing et al, 1977 ; Howell, 1977 ; Kjaer et al, 1982), la petidina (Howell, 1977), la diamorfina (Hayes et al, 1979), el fentanilo (Kay et al, 1980), la oxycodona (Tammisto et al, 1982) y la dihidrocodeína (Masson, 1981), demostraron que su eficacia era igual o superior para el tratamiento del dolor agudo y crónico, siempre con una acción más prolongada.

Debido a sus características farmacocinéticas, la buprenorfina es utilizada ampliamente desde 2001 para el tratamiento del síndrome de abstinencia (Lanier et al, 2007) y la dependencia a opioides, ya que presenta un perfil de acción similar a la metadona, pero con un efecto más rápido (Gowing et al, 2009).

En lo que respecta a los efectos adversos, éstos son semejantes en tipo, incidencia y grado a los objetivados con la mayoría de los opioides potentes, aunque con menor frecuencia (Bach et al, 1991), objetivándose hasta en un 15% de los pacientes tratados (Torres, 2003).

#### a) Sobre el sistema nervioso central y periférico

Se han descrito en la administración a corto plazo somnolencia (2 - 4%) y mareos (1 - 2%) (Torres, 2003), sin implicaciones para la práctica clínica habitual. En los casos de tratamiento crónico pueden aparecer confusión (1 - 5%) y alucinaciones (1 - 2%) (Bach et al, 1991 ; Torres, 2003), más intensos en

pacientes de edad avanzada o en aquellos tratados con benzodicepinas, por efecto sinérgico (Ibrahim et al, 2000).

b) Sobre el aparato digestivo

Las náuseas (6 - 8.8%) y los vómitos (3 - 7.4%) son los principales efectos adversos en los tratamientos a corto plazo con buprenorfina, tanto si la administración es por vía oral como si es por vía parenteral (Radbruch, 2003). La incidencia de estos acontecimientos adversos es menor con la buprenorfina que con otros opioides (Campora et al, 1991), y guarda relación tanto con la dosis administrada, como con la concentración plasmática del fármaco, así como con la velocidad de infusión intravenosa, mejorando en todos los casos con la deambulación del paciente (Budd, 1983), y con la administración de antieméticos: antagonistas de la dopamina (Budd, 1983), antagonistas de los receptores 5HT3 de la serotonina (Heffernan et al, 2000), neurolepticos (Haloperidol) (Rull et al, 2006) o combinaciones de estos fármacos.

El estreñimiento es el efecto adverso más frecuente tras la hiperémesis, siendo referido por un 1 - 2% de los pacientes tratados (Heffernan et al, 2000 ; Torres, 2003), aunque los estudios que comparan la buprenorfina con el resto de opioides ponen de manifiesto que ésta se encuentra entre los menos astringentes, fundamentalmente cuando la administración es sublingual y/o transdérmica, al no afectar los receptores *mu* del intestino (Bach et al, 1991 ; Griessinger et al, 2005).

Finalmente comentar que se han descrito casos aislados de hepatitis aguda tras la administración de buprenorfina (Hervé et al, 2004), por lo que se recomienda monitorizar la función hepática en aquellos pacientes con infección viral hepática activa (virus B y C).

c) Sobre el aparato respiratorio

La buprenorfina produce un cierto grado de depresión respiratoria, aunque en menor medida que otros opioides como la morfina, el fentanilo transdérmico, la metadona o la oxicodona (Dahan, 2006). Este efecto responde sólo parcialmente a dosis normales de naloxona (0.2 – 0.4 mg), requiriéndose dosis superiores para

una neutralización satisfactoria (Gal, 1989 ; Dahan, 2005) en los raros casos de intoxicación.

Existen pocos casos descritos de depresión respiratoria importante con la administración de dosis habituales de buprenorfina, salvo en pacientes tratados simultáneamente con depresores del sistema nervioso central, por lo que la buprenorfina se ha recomendado y utilizado para revertir los efectos del fentanilo y prolongar la analgesia después de la cirugía (Robertson et al, 1980).

Una rara complicación del tratamiento es el edema pulmonar agudo no cardiogénico, del cual se ha descrito algún caso aislado, resuelto espontáneamente tras la suspensión del tratamiento, y atribuido a una reacción alérgica a la buprenorfina (Thammakumpee et al, 1994).

#### d) Sobre el sistema cardiovascular

La buprenorfina tiene un efecto mínimo sobre el aparato cardiovascular (Melon et al, 1980 ; Torres, 2003) tanto en pacientes normales como en aquellos con patologías cardio-vasculares asociadas (Malcolm et al, 1977 ; Rosenfeldt et al, 1978 ; Hayes et al, 1979). Los pacientes tratados pueden presentar una mínima bradicardia e hipotensión, con una reducción del gasto cardiaco inferior al 5%, y sin modificación de la contractilidad del miocardio (Malcolm et al, 1977 ; Rosenfeldt et al, 1978).

Por otra parte se ha demostrado clínicamente que la buprenorfina ejerce una acción analgésica útil en pacientes con dolor miocárdico de tipo isquémico (Hayes et al, 1979).

#### e) Sobre la función renal

Las alteraciones de la función renal presentes fundamentalmente en los pacientes de edad avanzada (disminución de la filtración glomerular, de las funciones tubulares, de la excreción y absorción de los metabolitos) pueden afectar la farmacocinética de los opioides, precisando un ajuste de dosis (Mercadante et al, 2004).

Sin embargo la farmacocinética de la buprenorfina no se ve afectada por la alteración de la función renal (McQuay et al, 1986 ; Moore et al, 1994), ya que su metabolismo es fundamentalmente hepático, pudiéndose objetivar en caso de insuficiencia renal aumentos en la concentración plasmática de su metabolito, la norbuprenorfina, sin que éstos tengan consecuencias para el paciente, debido a su menor potencia y afinidad por el receptor opioide (Hand et al, 1990). Un reciente estudio realizado en pacientes con insuficiencia renal terminal tratados con buprenorfina transdérmica ha demostrado que estos pacientes no presentan cambios en los niveles plasmáticos del fármaco, por lo que no es preciso el ajuste de dosis para conseguir mantener el efecto analgésico, incluso cuando los pacientes son hemodializados (Filitz et al, 2006).

f) Sobre el sistema inmunitario

Los opioides son reguladores de las respuestas inmunitarias en pacientes con dolor, tanto agudo como crónico, debido a una alteración en las propiedades bioquímicas (menor producción de IFN-gamma y menor capacidad de fagocitosis de *Candida Albicans*) y proliferativas de los diversos componentes del sistema inmunitario (Linfocitos B y T) (Budd, 2002), por lo que los pacientes en tratamiento con opioides presentan una mayor predisposición a las infecciones bacterianas y virales (RisdaHL et al, 1998) y, en los pacientes oncológicos, una disminución de la supervivencia por un aumento de las metástasis a distancia (Yeager et al, 1991).

La buprenorfina es uno de los pocos analgésicos opioides, junto con el tramadol y la oxicodona (Budd, 2002), que no produce inmunodepresión de importancia clínica (Van Loveren et al, 1994 ; Budd, 2002 ; Sacerdote et al, 2008).

g) Dérmicos

No se han descrito efectos adversos tras la ingesta de buprenorfina oral, las referencias bibliográficas sobre complicaciones cutáneas están relacionadas con un uso incorrecto del fármaco por parte de adictos a drogas por vía parenteral (ADVP), que solubilizan los comprimidos de buprenorfina oral para su posterior inyección endovenosa, presentando diversas complicaciones, incluida la necrosis cutánea (Feeney et al, 2003).

Las complicaciones cutáneas por buprenorfina intravenosa son similares a las descritas previamente, al tratarse de adictos a drogas por vía parenteral (ADVP) con medidas de higiene precarias (Ho et al, 2009).

Respecto a la administración transdérmica, los efectos adversos a nivel de la zona de piel en la que se aplica el parche, son relativamente frecuentes, aunque de escasa importancia, atribuidos al material adhesivo del parche en la mayoría de los casos. Se han objetivado eritema y prurito, en el 12% y el 10% de los pacientes tratados, respectivamente (Sorje et al, 2004 ; Böhme et al, 2003 ; Torres, 2003 ; Callejo et al, 2005 ; Pérez-Pérez et al, 2008), sin que su aparición haya implicado la suspensión del tratamiento en la mayoría de los casos, si bien algunos autores recomiendan la sustitución de la buprenorfina por el fentanilo en los casos de dermatitis de contacto (Vander Hulst et al, 2008), ya que los parches de fentanilo han mostrado menos efectos secundarios y un mayor grado de confort en los pacientes (Schmid-Grendelmeier et al, 2006).

#### h) Durante el embarazo

No se ha demostrado que la buprenorfina tenga potencial teratógeno en el ser humano (Kayemba-Kay's et al, 2003), pero su uso está contraindicado durante el embarazo. Si bien existen casos aislados descritos en la literatura en los que el tratamiento con buprenorfina no ha tenido efectos secundarios adversos ni sobre la madre ni sobre el feto (Ebner et al, 2006).

Estudios con animales si han evidenciado un aumento en la incidencia de muertes intrauterinas y de la mortalidad neonatal, sin objetivarse anomalías en los fetos (Heel et al, 1979 ; Budd, 1983 ; Robinson et al, 2001). La buprenorfina se excreta en la leche materna, aunque recientes publicaciones concluyen que la cantidad de opioide que pasa al neonato es mínima, por lo que no se contraindica su utilización si ésta es imprescindible (Lindemalm et al, 2009).

Hacia el final del embarazo dosis altas de buprenorfina pueden inducir depresión respiratoria en el neonato incluso después de un periodo corto de administración (Kayemba-Kay's et al, 2003 ; Colombini et al, 2008), habiéndose identificado marcadores indirectos en los neonatos, como la presencia de niveles

elevados de eritropoyetina (EPO) y casos aislados de muerte súbita (Kahila et al, 2008).

La administración prolongada de buprenorfina durante los tres últimos meses de embarazo puede producir un síndrome de abstinencia en el neonato, correlacionándose la aparición de éste, con la concentración del fármaco en el meconio (Kacinko et al, 2008).

Finalmente, en aquellas pacientes drogodependientes (a opioides) se ha demostrado la superioridad de la buprenorfina respecto a la metadona para el tratamiento del síndrome de abstinencia durante el embarazo (Comer et al, 2004 ; Kakko et al, 2008), sin que las repercusiones sobre el feto sea importantes, debido a un escaso paso y metabolismo de la molécula en la placenta (Nanovskaya et al, 2002).

i) Administración en pacientes ancianos

Los estudios demográficos muestran un notable incremento de la población de ambos sexos con edades mayores de los 60 años, que de acuerdo a las clasificaciones gerontológicas, corresponden al grupo de las personas consideradas como seniles (Nicola, 1985). Según los datos del Padrón Municipal de Habitantes a 1 de enero de 2008, España presenta una cifra de población mayor o igual a 65 años de edad de 7633807 personas (IMSERSO, 2008).

Este grupo de pacientes va a experimentar en algún momento algún tipo de dolor crónico, entre los que se encuentra en dolor isquémico por arteriopatía periférica. La buprenorfina ha demostrado que puede ser empleada para el tratamiento del dolor crónico de los pacientes ancianos, con una buena efectividad y un margen de seguridad suficiente (Nasar et al, 1986 ; Griessinger et al, 2005 ; Likar et al, 2006 ; Muriel et al, 2007 ; Pergolizzi et al, 2008 ; Likar et al, 2008 ; Vadivelu et al, 2008 ; Kress et al, 2009), si bien los pacientes ancianos tienen una menor percepción de dolor (Ramírez-Maestre et al, 2001).

j) Administración en niños

La buprenorfina ha sido empleada en niños para tratamiento de dolor agudo, incluso post-operatorio, habiéndose mostrado eficaz y segura,

independientemente de la vía de administración (Maunuksela et al, 1988 ; Hayes et al, 2008). La formulación transdérmica se presenta como un analgésico ideal para edades pediátricas, al ser no invasiva, proporcionando una buena administración del fármaco, si bien no existen estudios actualmente que la avalen, por lo que su uso en pacientes menores de 18 años no se encuentra aceptado.

#### 7.4. Contraindicaciones e interacciones

La buprenorfina está contraindicada (Rull, 2006) en pacientes con hipersensibilidad conocida al fármaco, o a alguno de los excipientes del parche (en la presentación transdérmica), en pacientes con importantes afecciones del sistema respiratorio o miastenia gravis, en pacientes tratados activamente (en los últimos 14 días) con medicamentos inhibidores de la mono-amino-oxidasa (IMAO) (Gillman, 2005), en los casos de delirium tremens, durante el embarazo y la lactancia.

Se debe tener precaución en los pacientes febriles, con sudoración, ya que presentan una permeabilidad cutánea aumentada, por lo que la dosis administrada de manera transdérmica puede ser mayor (Rull, 2006). En los casos de tratamiento simultáneo con inhibidores (antidepresivos, antibióticos macrólidos, antirretrovirales (Baker et al, 2010)) o activadores del citocromo P450-CYP3A4 (antiepilépticos, corticoides, rifampicina) la eficacia de la buprenorfina TTS y de los otros fármacos pueden verse intensificadas o debilitadas, debido a las interacciones sobre la enzima (Umehara et al, 2002 ; Zhang et al, 2003 ; Torres, 2003).

#### 7.5. Administración transdérmica

Los analgésicos opioides ideales para ser administrados por vía transdérmica deben ser muy lipofílicos, tener un peso molecular inferior a 1000 Dalton y ser muy eficaces (Berner et al, 1994). La buprenorfina, como hemos visto previamente, cumple todas estas características, por lo que hace 10 años se comercializó en Alemania y Suiza (Muriel, 2001 ; Böhme et al, 2002).

La vía transdérmica para la administración de la buprenorfina evita el metabolismo hepático de primer paso, permite controlar la velocidad de liberación del medicamento de la matriz y proporciona concentraciones plasmáticas estables, evitando los picos de concentraciones máximas y mínimas que caracterizan la administración oral o endovenosa / intramuscular de medicamentos. La menor fluctuación de las concentraciones plasmáticas garantiza un alivio constante y duradero del dolor, con analgesia de más calidad y reducción de los efectos adversos (Muriel, 2001 ; Sittl et al, 2003).

Los parches de buprenorfina para liberación transdérmica existen en 3 presentaciones (35, 52.5 y 70 µg/h). La presentación más pequeña contiene 20 mg de buprenorfina incorporados homogéneamente en una matriz polimérica adhesiva con una superficie de 25 cm<sup>2</sup>, y liberan el fármaco a una velocidad de 35 µg/h, durante un máximo de 96 horas, gracias al gradiente de concentración entre el parche y la piel. Al fraccionar el parche con una tijera no se altera la liberación controlada, pues no se producen escapes del principio activo, lo que permite administrar dosis bajas durante el ajuste inicial.

Este sistema permite alcanzar concentraciones plasmáticas analgésicas a partir de las primeras 24 - 72 horas de tratamiento, debido a que éstas se alcanzan en forma lenta, se debe mantener la pauta analgésica previa durante al menos las primeras 12 - 24 horas después de colocar el primer parche. La buprenorfina se libera en cantidades suficientes durante un periodo máximo de 96 horas, esto significa que para garantizar un alivio continuo del dolor, el parche se debe cambiar al menos dos veces a la semana. El nuevo parche de reemplazo debe aplicarse sobre un área cutánea diferente, pudiendo volver a colocar un parche en la misma zona de piel tras 2 aplicaciones (6 días) (Grünenthal, 2002). Habitualmente se realiza en cambio tras 72 horas, pero recientes estudios demuestran que realizar el cambio al cuarto día no afecta la eficacia analgésica, ni la satisfacción del paciente (Likar et al, 2007 ; Kress et al, 2009). El estado de equilibrio se alcanza tras la aplicación del tercer parche, con posterioridad, no se observan fluctuaciones en la concentración plasmática (Budd, 2003 ; Sorje et al, 2004).

## 7.6. Pautas de tratamiento

Al igual que con otros opioides, el inicio del tratamiento con buprenorfina debe ser lento, utilizando dosis bajas, que se deben incrementar hasta obtener el efecto deseado. En pacientes de edad avanzada o muy debilitados o que no han sido tratados previamente con opioides se debe iniciar con medio parche (17,5 µg/h). Los pacientes deben controlarse después de 24 horas de iniciado el tratamiento con buprenorfina transdérmica, con el fin de evaluar la analgesia y la presencia e intensidad de efectos adversos. Si se presenta dolor intercurrente mientras el paciente es tratado con buprenorfina transdérmica, se deben administrar fármacos analgésicos coadyuvantes, como el paracetamol o AINEs, e incluso opioides de liberación inmediata y acción corta como rescate (Sorje et al, 2004). Si se constata que el paciente ha requerido con frecuencia dosis analgésicas suplementarias y/o de rescate, es preferible aumentar la dosis de buprenorfina transdérmica, pasando a un parche completo de 35 µg/h, o administrando uno de mayor dosificación. Nunca se deberán aplicar más de dos parches simultáneamente, independientemente de su concentración.

Es importante señalar que en los casos de dolor crónico intenso (fundamentalmente dolor oncológico), en los que es necesario rotar opioides, la buprenorfina TTS es una buena opción a la morfina o el fentanilo (Freye et al, 2007), ya que al realizar el cambio de morfina o fentanilo TTS a dosis equipotentes por buprenorfina TTS, no se ha observado un periodo refractario entre el inicio de la acción de buprenorfina y la desaparición del efecto de la morfina o del fentanilo (Mercadante et al, 2009); tampoco se ha observado un efecto antagonista que teóricamente podría reducir la analgesia o inducir síntomas de abstinencia (Atkinson et al, 1990 ; Kress et al, 2009).

A efectos prácticos se acepta que el efecto analgésico producido por un parche de 35 µg/h de buprenorfina, es similar al producido por 60 mg/día de morfina oral o un parche de 25 µg/h de fentanilo. Al suspender el tratamiento con buprenorfina TTS se debe recordar que la disociación desde el receptor es muy lenta, por lo que su efecto persistirá varias horas después de retirar el parche; por consiguiente, si el paciente se encuentra libre de dolor no se debe administrar un

nuevo opioide durante las primeras 12-24 horas después de retirado el parche (Sittl et al, 2005).

La efectividad del fármaco administrado en parches transdérmicos es buena, consiguiendo un control del dolor crónico en al menos un 50% de los pacientes tratados (Evans et al, 2003), llegando hasta en un 81% de los casos en algunos estudios (Griessinger et al, 2005), con una mejoría sustancial de su calidad de vida, incluidas las horas de sueño (Sittl et al, 2003 ; Radbruch et al, 2003 ; Sittl, 2005), y con grado de satisfacción de un 94,6% entre los pacientes tratados, que consideraron al tratamiento cómodo y fácil de seguir (Torres, 2003 ; Radbruch et al, 2003 ; Sittl, 2005).

#### 7.7. Buprenorfina para el tratamiento del dolor isquémico

La utilidad clínica de la buprenorfina TD ha sido bien estudiada para el tratamiento del dolor crónico de tipo oncológico mediante ensayos clínicos controlados, con seguimiento a corto y largo plazo (Sittl, 2003 ; Sorge et al, 2004 ; Böhme et al, 2003 ; Griessinger et al, 2005 ; Likar et al, 2006 ; Pace et al, 2007 ; Poulain et al, 2008 ; Pergolizzi et al, 2009), en los que se demuestra un buen nivel de evidencia de la seguridad y de la eficacia del fármaco, sin desarrollo de tolerancia a largo plazo. Del mismo modo algunos autores han puesto de manifiesto su eficacia para el tratamiento del dolor neuropático (Likar et al, 2005 ; Rodriguez et al, 2004 ; Sittl, 2005 ; Kress et al, 2009).

Sin embargo, a pesar de que las sociedades científicas (Lorente et al, 2003) y la Federación Europea de Sociedades del Dolor (Kalso et al, 2003) aceptan y avalan la utilización de la buprenorfina transdérmica para el tratamiento del dolor crónico no oncológico, existen pocas evidencias de su utilización (Landau et al, 2007 ; Barutell et al, 2008 ; Kress et al, 2009), fundamentalmente de los pacientes con dolor isquémico, objeto de nuestro estudio.

Los pacientes con EAP presentan un dolor crónico de intensidad moderada o severa, por lo que se debe iniciar el tratamiento con buprenorfina TD, a la menor dosis disponible (35 µg/h), asociando analgésicos de rescate hasta la titulación

correcta de la dosis de buprenorfina, adaptando ésta última a la situación peculiar de cada paciente, para conseguir aliviar el dolor, sin que aparezcan efectos secundarios adversos (Rull, 2006). Si el paciente está siendo tratado previamente con algún analgésico (AINEs, Paracetamol, etc...) se debe mantener como mínimo este tratamiento durante 24 horas.

La mayoría de los pacientes con dolor crónico isquémico por arteriopatía son de edad avanzada y polimedicados, por lo que se debe ser muy cauto con la posología, iniciando el tratamiento con dosis bajas, valorando las posibles interacciones medicamentosas y aumentando la dosis gradualmente si fuera preciso (Freire et al, 2003). En el caso de aparecer efectos adversos secundarios, fundamentalmente anticolinérgicos, se recomienda suspender en primer lugar el analgésico coadyuvante y dejar para un segundo tiempo el cambio de opioide, si fuera preciso (Rull, 2006).

Respecto al tratamiento analgésico de rescate las opciones son múltiples, para algunos autores se debe emplear la buprenorfina por vía sublingual (Rull, 2006), otros han utilizado el Paracetamol (Bullingham et al, 1981 ; Witjes et al, 1992 ; McNicol et al, 2005) o AINEs (Witjes et al, 1992 ; McNicol et al, 2005), con resultados favorables similares. Como norma general de tratamiento, se acepta que es necesario aumentar la dosis de buprenorfina TTS cuando el paciente demanda la medicación de rescate tres o más veces al día (Rodríguez, 2003).

## C. ESTUDIOS GENÉTICOS

### 1. BASES GENÉTICAS DEL DOLOR

#### 1.1. Introducción

La percepción del dolor es un proceso complejo, influenciado por una gran variedad de factores ambientales y genéticos (Mogil et al, 1999). Si bien la influencia de la genética ha sido estudiada en animales, mediante la experimentación, estimándose ésta en un 28 – 76% (Mogil et al, 1999), la influencia de los factores genéticos en la percepción del dolor en los seres humanos no está aún definida.

El progreso alcanzado por la biología molecular ha dado un gran impulso a nuevas técnicas, entre las que se encuentra la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) desarrollada en 1985 (Saiki et al, 1985) y la secuenciación de bases del ADN (Sanger et al). Apoyados en estas técnicas se inició en 1990 el Proyecto Genoma Humano, cuyo objetivo era descifrar la secuencia completa del ADN humano, publicándose su resultado en 2004 (International Human Genoma, 2004). Gracias a este proyecto se conoce que el genoma humano contiene entre 20000 y 25000 genes, y que sólo un 5% participa en la codificación de información, mientras que la función del resto es aún desconocida.

Por otra parte, se reveló la existencia de aproximadamente 10 millones de variaciones en la secuencia de nucleótidos de un gen, que aparece con una frecuencia superior al 1% de la población y que se denominan polimorfismos de nucleótido único (SNP). Actualmente estos polimorfismos se encuentran catalogados en una base de datos (Sherry et al, 2001). En algunos casos estos polimorfismos pueden modificar la secuencia de aminoácidos de la proteína, modificando su función.

## 1.2. Polimorfismos genéticos

Los polimorfismos de un solo nucleótido (*Single Nucleotide Polymorphism* – SNP) tienen 2 alelos, los cuales están representados por la sustitución de una base por otra (Figura 11). Los alelos se clasifican en principal o “silvestre” y raro o “mutante”, en función de la frecuencia con la cual se observan en las poblaciones. Debido a que los humanos son diploides, un individuo puede tener uno de tres posibles genotipos dependiendo de los alelos: homocigoto para el alelo más frecuente, heterocigoto, u homocigoto para el alelo menos frecuente.

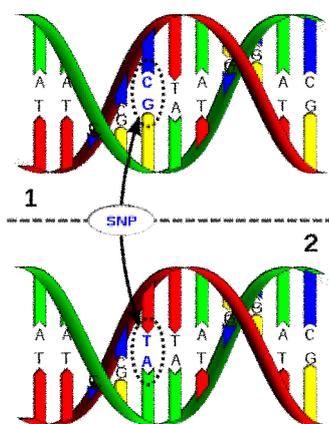


Figura 11. Polimorfismo de un solo nucleótido (SNP)

Los SNP, presentes en regiones codificantes, que provocan un cambio en un aminoácido son denominados “no sinónimos”. Puesto que este tipo de polimorfismos pueden afectar directamente la función de la proteína, muchos investigadores han centrado su atención en estudios de asociación genética de este tipo de variaciones (Botstein et al, 2003).

Así mismo, existen variaciones que pueden estar asociadas con alguna enfermedad o susceptibilidad a ésta, localizándose en la región promotora del gen, con influencia sobre la actividad transcripcional del gen (modulando la unión de factores de transcripción), en intrones (modulando la estabilidad de la proteína), en regiones de “splicing” (regiones de eliminación de intrones y unión de exones) o en regiones intra-génicas (Betticher et al, 1995). Por otra parte, los polimorfismos que no modifican la secuencia de aminoácidos se denominan “sinónimos” o silenciosos (Duan et al, 2003).

A diferencia de otro tipo de marcadores, como los microsatélites, los SNP presentan una tasa menor de mutaciones, por lo que son de gran ayuda en estudios de genética de poblaciones para tratar de explicar fenómenos biológicos, como la susceptibilidad al dolor o la respuesta a tratamientos farmacológicos.

### 1.3. Estudios de caracterización de genes

La caracterización de genes asociados con procesos funcionales o patológicos se lleva a cabo mediante diversas técnicas (Mogil et al, 2000), aunque habitualmente se utilizan dos aproximaciones complementarias (Mogil et al, 1999):

- Estudios de ligamiento o de “escaneo genómico”: en los que se realiza una búsqueda aleatoria en el genoma para tratar de encontrar los genes asociados a una enfermedad, normalmente mediante un estudio de los polimorfismos de las secuencias de ADN que están próximos a, o dentro de un gen de interés para identificar, en una misma familia, la segregación de una mutación en un gen determinado.
- Estudios de asociación: buscan establecer la relación estadística entre variables genéticas poblacionales y un fenotipo determinado. Se trata generalmente de estudios de cohortes prospectivas o de tipo casos-contróles. Habitualmente, se utilizan como marcadores genéticos los polimorfismos simples puntuales (SNP).

Se pueden practicar pruebas directas e indirectas a partir de los estudios de asociación. En un estudio de prueba directa, el supuesto SNP responsable de una enfermedad es genotificado directamente, para ello se debe predecir o determinar a priori cuáles SNP son los responsables del fenotipo de interés. Los estudios indirectos de asociación genética difieren de las pruebas directas porque el estudio de los SNP no son probados directamente, pues este tipo de estudios se basa en un análisis de ligamiento genético el cual utiliza “marcadores neutrales”, y no hace predicciones sobre la localización del gen responsable de la enfermedad en estudio. Los estudios de asociación indirecta son más frecuentes en estudios de casos-control (Crawford et al, 2005).

#### 1.4. Genética del dolor

Muchos estudios han confirmado la existencia de grandes diferencias individuales respecto a la percepción del dolor, a su tolerancia, a la respuesta a los diferentes tratamientos, así como a la tolerancia y/o aparición de efectos secundarios de los analgésicos (Clark et al, 1956 ; Chapman et al, 1990 ; Klepstad et al, 2005).

Actualmente sabemos que estas variaciones fenotípicas son el reflejo de diferencias a nivel genético y de influencias del entorno (Mogil et al, 1996 ; Nielsen et al, 2008), que llegan a condicionar fenómenos de agregación familiar de síndromes dolorosos (Turk et al, 1987 ; Flor et al, 1987). Analizando la percepción del dolor entre dos grupos de gemelos, Mac Gregor (Mac Gregor et al, 1997) observó una ligera diferencia en las respuestas, lo que sugería que factores genéticos podrían estar implicados en las diferencias de sensibilidad al dolor. No obstante, estos resultados no han sido confirmados en estudios posteriores (Peroutka, 1998).

Mediante los estudios de ligamento y de asociación se han podido identificar variantes alélicas de diferentes genes asociados al dolor (Mogil et al, 2000 ; Armero et al, 2005 ; Persson et al, 2008; Foulkes et al, 2008), creándose incluso una base de datos que incluye todos los genes relacionados con el dolor (Lacroix-Fralish et al, 2007), lo que facilita el planteamiento del tratamiento en estos pacientes (Webster, 2008). Actualmente se conocen al menos 23 genes asociados con el dolor experimental y clínico, así como con los analgésicos, excluyendo aquellos descritos para la migraña y las cefaleas (Lacroix-Fralish et al, 2009).

El riesgo de desarrollar síndromes dolorosos particulares está asociado a determinados genotipos, como ha sido demostrado en el caso de la migraña (Colson et al, 2007), la fibromialgia (Buskila et al, 2007) o el dolor lumbar (Tegeder, 2009), del mismo modo que la severidad del dolor es controlada por las variantes genéticas que afectan la expresión o la función de los diferentes componentes del sistema nociceptivo (Lötsch et al, 2007 ; Lacroix-Fralish et al, 2009).

## 1.5. Farmacogenética

En lo que respecta al tratamiento del dolor, es sabido que la genética de cada paciente es responsable de la variabilidad en la respuesta a un fármaco hasta en un 95% (Evans et al, 2003), influenciando su mecanismo de acción, su absorción, su metabolismo y su excreción (Evans et al, 1999 y 2003 ; Kosarac et al, 2009). Estos factores genéticos, a diferencia de otros, permanecen estables a lo largo de la vida de una persona, por lo que los estudios genéticos tienen cada vez una mayor utilidad en la elección y el ajuste de los tratamientos analgésicos en los pacientes con dolor, en lo que se ha denominado farmacogenética (Flores et al, 2001 ; Ikeda et al, 2005 ; Campa et al, 2008 ; Lötsch et al, 2009).

Existen también factores epigenéticos, como la metilación de citosinas del ADN, la remodelación de la cromatina o la capacidad de los ARN no codificantes para impedir la traducción del ARNm, que están siendo investigados actualmente, lo que está permitiendo desarrollar nuevas estrategias terapéuticas frente al dolor (Röhl et al, 2006).

Estos estudios permiten establecer perfiles de genes específicos para cada fármaco (metabolización, excreción, mecanismo de acción, etc...) y para cada paciente, lo que propiciará en un futuro próximo el desarrollo de una medicina individualizada, optimizando la terapéutica analgésica, con un mejor control del dolor (Campa et al, 2008 ; Lötsch et al, 2009). La utilidad clínica de estos enfoques individualizados tendrá que ser demostrada por estudios adecuados y análisis farmacoeconómicos (Samer et al, 2005).

Teniendo en cuenta que las variantes genéticas más comunes presentan una frecuencia del 10-50%, que cada paciente presenta varios polimorfismos simultáneamente, que cada polimorfismo de manera independiente puede influir en el fenotipo de cada paciente de manera sinérgica o antagonística con los demás polimorfismos (Lötsch et al, 2009), que existen factores no genéticos (Fillingim et al, 2005) (étnicos (Greenwald et al, 1991), sexuales (Berkley et al, 1997), familiares (Violon et al, 1984) y socio-culturales (Neaves et al, 2008)) que influyen el fenotipo, y que actualmente sólo conocemos una pequeña proporción de los genes que influyen la percepción y el tratamiento del dolor,

resulta difícil determinar la funcionalidad real de cada polimorfismo sobre el fenotipo del paciente, lo que dificulta la interpretación de este tipo de estudios.

## 2. GENES ESTUDIADOS

### 2.1. UGT2B7

La UDP-glucuronosiltransferasa es una enzima de fase II que se localiza en el retículo endoplasmático y la membrana nuclear de las células en el hígado, los riñones, el cerebro, las células epiteliales y las del tracto intestinal (Strassburg et al, 2000), que presenta dos subfamilias (UGT1 y 2) (Maruo et al, 2005). La primera, UGT1, cataliza la conjugación de una variedad de fenoles xenobióticos y de la bilirrubina. La UGT2 cataliza fundamentalmente la glucuronidación de los esteroides y ácidos biliares, además de diversos fármacos.

Inicialmente los estudios genéticos se centraron en el metabolismo de los diferentes opioides (Evans et al, 2003), como es el caso de la morfina, metabolizada en el hígado a morfina-6-glucurónido (M6G) y a morfina-3-glucurónido (M3G) mayoritariamente (Milne et al, 1996) por la enzima UDP-glucuronosiltransferasa 2B7 (Coffman et al, 1997 ; Coller et al, 2009). La M6G ha demostrado ser un potente analgésico, potenciando las propiedades de la morfina (Christrup,1997), sin embargo la M3G contrarresta la acción de la morfina y la M6G (Smith et al, 1990 ; Christrup, 1997) y es la responsable de la aparición de los efectos secundarios tras la administración de morfina a altas dosis (hiperalgesia, halodinia, mioclonias, etc...).

La actividad de esta enzima puede ser alterada con la administración concomitante de otros fármacos, como el diclofenaco (Tighe et al, 1999), los antidepresivos tricíclicos (la amitriptilina y la clomipramina) (Wahlstrom et al, 1994), el tamoxifeno, el tacrólimus, las benzodiacepinas, y el ketoconazol (Takeda et al, 2206) que alteran in vivo las concentraciones de morfina (Grancharov et al, 2001).

La enzima UGT2B7 es codificada por el gen UGT2B7 en el cromosoma 4q13 (Riedy et al, 2000). Este gen presenta varios polimorfismos que han sido descritos en la literatura (Bhasker et al, 2000 ; Innocenti et al, 2008 ; Holthe et al,

2003 ; Maruo et al, 2005), y que son variables entre las diferentes etnias (Saito et al, 2006 ; Mehlotra et al, 2007).

Los polimorfismos del gen UGT2B7 que se asocian con alteraciones de las concentraciones plasmáticas de los opioides y de sus metabolitos (Innocenti et al, 2008), aunque según señalan algunos autores no sólo estos polimorfismos serían los responsables de la variabilidad en el metabolismo de los opioides (Holthe et al, 2003). Uno de estos polimorfismos, en el nucleótido 802 (c.802 C>T) es responsable de una modificación en la secuencia de aminoácidos (posición 268 Histidina por Tirosina), que altera la función de la proteína, aumentando diez veces su actividad in vitro (Coffman et al, 1998), con la consecuente variación de la respuesta al tratamiento con morfina.

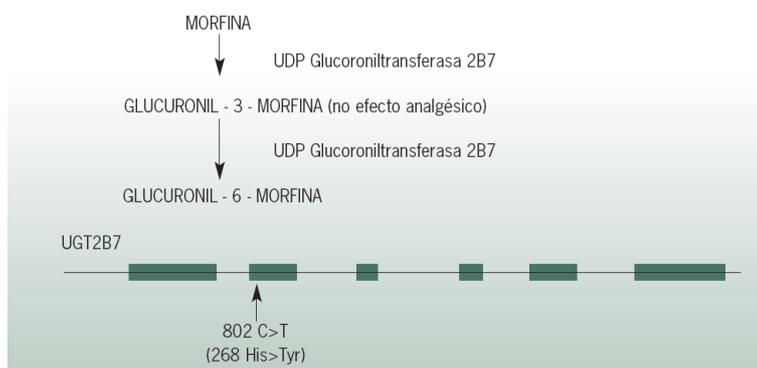


Figura 12. Representación esquemática de la metabolización de morfina a glucuronil-6 morfina, y del polimorfismo del gen UGT2B7 que modifica esta vía metabolizadora (González, 2009).

La buprenorfina es metabolizada a nivel de los microsomas en el hígado. En el contexto de los estudios de farmacogenética, recientes publicaciones han demostrado la influencia de las diferentes isoformas de esta enzima en el metabolismo de la buprenorfina (Rouguieg et al, 2010).

## 2.2. CYP3A4

El citocromo P450 es una enorme y diversa superfamilia de hemoproteínas encontradas en procariontes (bacterias) y eucariotes que realizan funciones enzimáticas (mono-oxigenasas), utilizando un amplio rango de compuestos exógenos (fármacos) y endógenos (colesterol, esteroides y lípidos) como

sustratos de sus reacciones (Nelson et al, 1996), y que se encuentran en diversos tejidos del organismo, fundamentalmente el hígado.

Fue identificado en 1958 como un pigmento celular reducido y unido a membrana en los hepatocitos, con un pico de absorción inusual a los 450 nm (Klingerber, 1958 ; Garfinkel, 1958). Posteriormente, en 1964, se sugiere el nombre de Citocromo P450 por Omura y Sato, nombre por el que se conoce actualmente (Omura et al, 1964), ya que se trata de proteínas celulares (cito) coloreadas (cromo), con un pigmento que absorbe luz a una longitud de onda de 450 nanómetros (donde el hierro del grupo hemo es reducido y forma complejos con el monóxido de carbono).

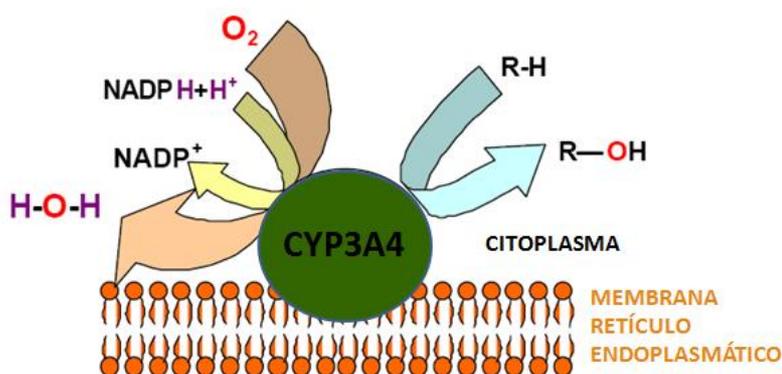


Figura 13. Mecanismo de acción del citocromo P450 por hidroxilación de una droga liposoluble, lo que aumenta la solubilidad en agua del metabolito y facilita su excreción.

Actualmente existen más de 11500 polimorfismos del complejo CYP descritos, recogidos todos ellos en una base de datos (Nelson et al, 2009). Los polimorfismos de las enzimas del citocromo P450 afectan el metabolismo de diversos medicamentos, entre los que se encuentran los opiáceos, por lo que pueden aumentar o disminuir su efectividad, en función de la actividad relativa de los metabolitos respecto a la molécula original, como ha sido demostrado para el tratamiento del dolor post-operatorio con fentanilo (Zhang et al, 2010). Del mismo modo la actividad de estas enzimas se ve afectada por múltiples fármacos (Samer et al, 2005 ; Choi et al, 2009) y productos herbales naturales (Lee et al, 2007), como se indica a continuación:

INDUCTORES	INHIBIDORES
Carbamacepina	Cimetidina
Barbitúricos	Eritromicina
Fenitoína	Ketoconazol
Rifampicina	Fluconazol
	Estradiol
	Progestágenos

Tabla 3. Inductores e inhibidores del citocromo P450.

La enzima responsable del metabolismo de la buprenorfina ha sido identificado como la P450 3A4, que cataboliza el fármaco a norbuprenorfina mediante N-dealquilación (Kobayashi et al, 1998 ; Samer et al, 2005 ; Coller et al, 2009). Esta enzima constituye un 20-40% de todos los CYP hepáticos, y presenta un polimorfismo en la posición 290, con cambio de Adenina por Guanina en la región promotora 5', que se asocia con una menor expresión y actividad de la enzima (Sata et al, 2000). Tanto la buprenorfina como su metabolito, la norbuprenorfina, son inhibidores de CYP2D6 y CYP3A4, aunque a dosis terapéuticas este efecto no tiene implicaciones para la clínica (Umehara et al, 2002 ; Zhang et al, 2003).

### 2.3. OPRM

Actualmente la investigación en farmacogenética se ha ampliado al estudio no sólo de la afectación de los polimorfismos genéticos sobre las vías de metabolización de los fármacos, sino sobre los mecanismos de acción de éstos (Evans et al, 2003), como es el caso de los receptores opioides (Han et al, 2004), descritos por primera vez en 1976 por Martin (Martin et al, 1976).

Los receptores opioides *mu* son el principal objetivo de la acción de los analgésicos opioides (Matthes et al, 1996); producen una analgesia más profunda, pudiendo provocar euforia, depresión respiratoria, dependencia física y bradicardia. Se localizan pre y post-sinápticamente (Olive et al, 1997) en la región de la sustancia gris periacueductal y superficialmente en las astas de los cordones posteriores de la médula espinal (específicamente en la sustancia gelatinosa de Rolando) (Abbadie et al, 2001), aunque también se encuentran en el bulbo olfativo, el núcleo accumbens, en el cortex cerebral (Lewis et al, 1983), y

en los núcleos de las amígdalas y del tracto solitario (Pickel et al, 1999); finalmente se ubican fuera del sistema nervioso central en las terminaciones nerviosas de la piel (Ständer et al, 2002) y del tracto intestinal, por lo que los agonistas  $\mu$  provocan una inhibición del peristaltismo, condicionando estreñimiento (DeHaven-Hudkins et al, 2008).

El gen OPRM1 que codifica el receptor opioide  $\mu$ , localizado en el cromosoma 6q24-25 (Pan et al, 2005), presenta más de 1700 polimorfismos recogidos en la base de datos NCBI SNP (Sherry et al, 2001), y aunque algunos de ellos presentan frecuencias mayores al 5% de la población, sus implicaciones clínicas son escasas o nulas (Uhl et al, 1999 ; Lötsch et al, 2006), salvo el polimorfismo 118A>G, que codifica un receptor tres veces más activo (Shabalina et al, 2009).

Este polimorfismo modifica los efectos de la morfina y sus derivados, ya que los homocigotos para el alelo G en el nucleótido 118, que presentan Asparagina en lugar de Ácido Aspártico en la posición 40 de la proteína (Bergen et al, 1997) en el exón 1, tienen una delección de un sitio de glicosilación extracelular, lo que condiciona una menor expresión del receptor opioide (Zhang et al, 2005) o de su señal (Oertel et al, 2009). Diversos trabajos han concluido que estos pacientes requieren mayores dosis de morfina para conseguir el efecto analgésico, tanto en estudios experimentales (Beyer et al, 2004 ; Oertel et al, 2006), como clínicos (Chou et al, 2006 ; Campa et al, 2008 ; Hayashida et al, 2008), sin que éstas dosis provoquen más efectos adversos (náuseas, vómitos y depresión respiratoria) (Oertel et al, 2006), sin implicaciones para el abuso de drogas (Arias et al, 2006) y con efectos protectores frente a la toxicidad por metabolitos de la morfina-6- glucurónido (Lötsch et al, 2002), resultados corroborados por un reciente meta-análisis (Walter et al, 2009).

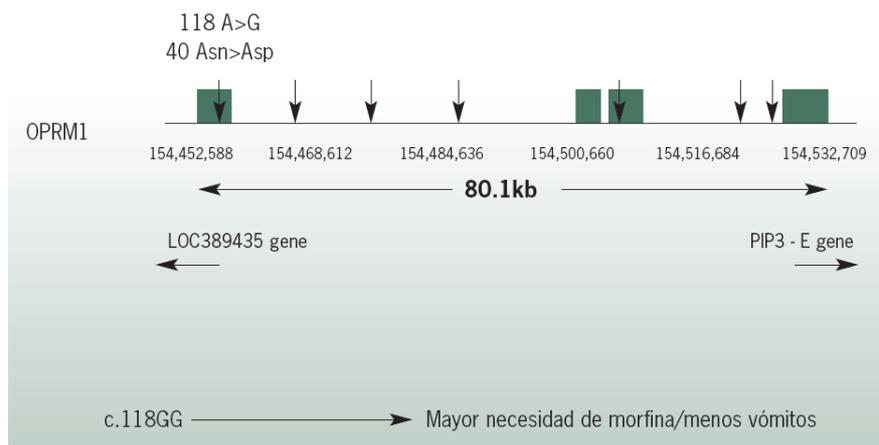


Figura 14. Representación esquemática del gen OPRM1 y localización de los polimorfismos más frecuentes, resaltando el polimorfismo c.118 A>G (González, 2009).

## **OBJETIVOS**

---

El alivio del dolor en los pacientes afectados de isquemia arterial crónica es un pilar fundamental en el tratamiento de esta patología, no sólo para mejorar la calidad de vida de los pacientes afectados, sino también para facilitar los demás tratamientos médicos y quirúrgicos de esta enfermedad.

Los objetivos del estudio son:

1. Valorar la eficacia de una pauta analgésica con buprenorfina transdérmica para el control del dolor isquémico en los pacientes con arteriopatía grado III-IV de Fontaine de las extremidades inferiores, en espera de intervención quirúrgica o en aquellos no subsidiarios de cirugía, y su impacto sobre la calidad de vida de estos enfermos.
2. Evaluar la dependencia del umbral del dolor y de la respuesta al tratamiento, respecto a los antecedentes personales, el sexo y la edad de los pacientes estudiados.
3. Analizar la influencia que tiene el perfil genético de los pacientes en el control del dolor por el analgésico opioide, mediante el estudio de los polimorfismos de UGT2B7, CYP3A4 y OPRM1.

## **PACIENTES, MATERIAL Y MÉTODO**

---

## 1. CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y EXCLUSIÓN DE PACIENTES

Durante un periodo de dos años se ha realizado un estudio prospectivo, observacional y unicéntrico en el que se han incluido 207 pacientes con arteriopatía grado III-IV de Fontaine ingresados en el Servicio de Cirugía Vascular del Hospital Clínico Universitario de Salamanca.

Los criterios de inclusión aplicados fueron los siguientes:

1. Pacientes con EAP grado III-IV de Fontaine que refieran dolor, y en los que esté indicado el tratamiento con buprenorfina transdérmica, en espera de intervención quirúrgica.
2. Pacientes con isquemias inoperables pero estables.
3. Pacientes post-amputados.
4. Pacientes con "Pie diabético".
5. Pacientes que otorguen su consentimiento informado para la recogida de sus datos para el estudio.

Fueron excluidos del estudio los pacientes que presentaron:

1. Hipersensibilidad conocida al principio activo buprenorfina o a cualquiera de los excipientes.
2. Mujeres embarazadas.
3. Pacientes con miastenia gravis.
4. Pacientes opioide-dependientes, o en tratamiento de abstinencia de narcóticos.
5. Pacientes con afecciones en las que la función y el centro respiratorio estén gravemente dañadas o puedan estarlo.
6. Pacientes con delirium tremens.

Todos los pacientes incluidos fueron debidamente informados de la naturaleza y objetivos del estudio (Anexo 1) y a todos ellos se les solicitó su autorización, mediante firma de un consentimiento informado, tanto para la

extracción de una muestra de sangre periférica de 10 ml para la realización del estudio genético (Anexo 2), como para la administración de la pauta analgésica con buprenorfina transdérmica (Anexo 3). En todo momento se han seguido las normas establecidas en la Ley Orgánica 15/1999 de 13 de diciembre, de “Protección de Datos de Carácter Personal”.

El estudio se ha realizado de acuerdo con los principios de la Declaración de Helsinki, y con el protocolo y los procedimientos normalizados de trabajo que aseguran el cumplimiento de las normas de buena práctica clínica, tal como se describe en las Normas Tripartitas Armonizadas de la International Conference on Harmonization (ICH) para buena práctica clínica de 1996. Finalmente el proyecto ha sido evaluado por el Comité de Ética del Hospital Clínico Universitario de Salamanca.

Se han incluido 207 pacientes con dolor de tipo isquémico, de los cuales 107 han sido adscritos al grupo estudio, realizándose la extracción de sangre para el estudio genético y siendo tratados con buprenorfina transdérmica (35 µg cada 72 horas), y los otros 100 sujetos se han beneficiado del tratamiento analgésico parenteral estándar, basado en Paracetamol, AINEs (Metamizol fundamentalmente) y opioides (petidina clorhidrato), para el grupo control.

El número final de pacientes incluidos en el estudio fue de 192, distribuidos según se detalla en el siguiente diagrama de flujo.

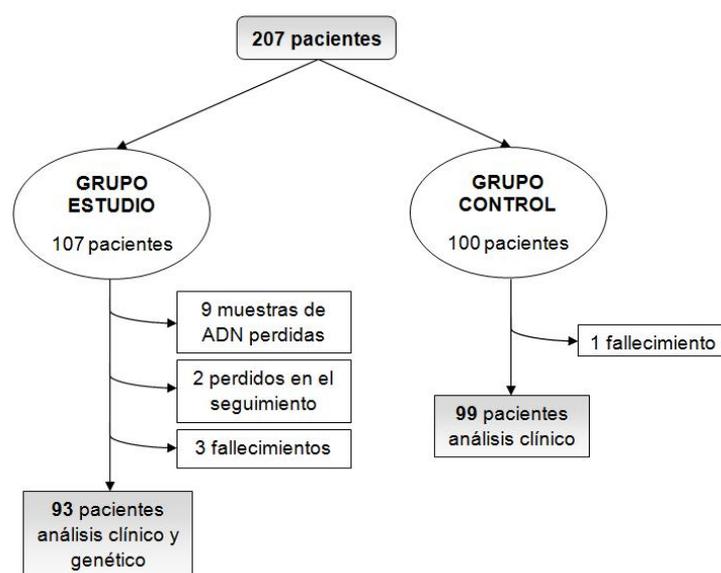


Figura 15. Diagrama de flujo de los pacientes incluidos en el estudio.

En el anexo 4 se muestran los datos relativos a los pacientes, en la que se incluyen datos relativos a la historia clínica (la edad, el sexo, los antecedentes personales, las alergias medicamentosas y el tratamiento actual), a la patología vascular (grado de la arteriopatía, intervenciones previas e ITB) y al dolor (EVA, escala verbal y cuestionario EQ-5D).

## 2. DETERMINACIÓN DE LOS NIVELES DE DOLOR

Para la estimación de la intensidad del dolor de cada uno de nuestros pacientes se utilizó la **EVA**, tras explicación de la misma, y una **escala verbal**. Los pacientes cuantificaron el dolor en el momento del ingreso, así como al cuarto día de tratamiento, tras haberse realizado el primer cambio de parche transdérmico.

La EVA (Figura 16) consiste en una línea horizontal o vertical de 10 centímetros de longitud y con dos caras diferenciadas. Una que se muestra al paciente es una línea continua no dividida y en uno de cuyos extremos se puede leer: “no dolor” y en el otro extremo: “dolor insoportable”, y otra cara, que se muestra a quien presenta la escala, dividida en 10 segmentos de 1 centímetro. El paciente debe mover una guía móvil o marcar un punto en la cara que se le muestra y señalar entre “no dolor” y “dolor insoportable” donde cree que está situado el suyo; no tiene referencia numérica ni división en centímetros; por la otra cara, el sanitario puede leer una cifra medida en centímetros que corresponde a la intensidad numérica cuantificada. Por lo general, se considera un dolor leve el que se marca entre “sin dolor” y la señal correspondiente a 3 cm, dolor moderado el incluido entre los 3 y los 6 cm, y dolor intenso el que comprende valores por encima de los 6 cm hasta el límite superior: 10 cm o “dolor insoportable”.

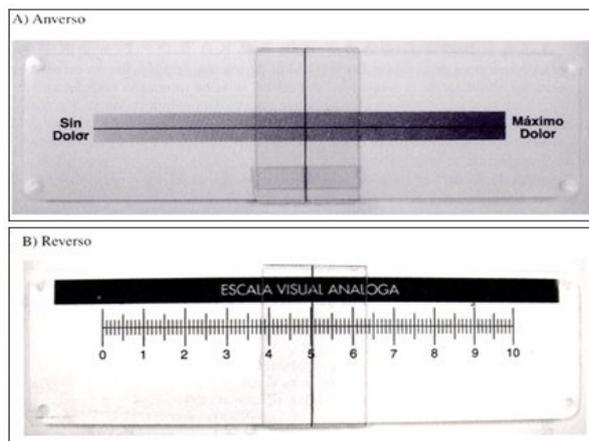


Figura 16. Escala visual analógica (EVA)

La escala verbal simple o categórica evalúa la intensidad del dolor y el grado de mejoría que experimenta el paciente con el tratamiento analgésico a partir de palabras que expresan diversos grados de intensidad del dolor, sea creciente o decreciente. Los términos usados son: leve (dolor 1 – 3), moderado (4 – 6), intenso (7 – 8) y muy intenso insoportable (9 - 10). Es fácil de usar y de entender por los pacientes, pero tiene una baja sensibilidad por el escaso rango de respuestas que ofrece.

Para nuestro estudio efectuamos una correlación entre las mismas, estableciendo que dolor leve equivale a una EVA de 1 - 3, dolor moderado a 4 - 6, dolor intenso a 7 - 8, y dolor muy intenso a valores de la EVA de 9 - 10.

Por otra parte se evaluó también la percepción de la calidad de vida de todos los pacientes incluidos en el estudio, mediante el cuestionario EQ-5D, elegido por su sencillez de aplicación y facilidad de interpretación, tanto al inicio como al cuarto día de tratamiento.

### 3. OBTENCIÓN DEL ADN A PARTIR DE SANGRE PERIFÉRICA

Se obtuvieron 10 ml de sangre periférica por venopunción, conservando la misma en solución con EDTA (ácido etilendiamino-tetraacético) concentración final 10 mM. Las células nucleadas de la sangre se aislaron mediante centrifugación repetida y lisis eritrocitaria con solución hipotónica (centrifugación de la sangre total en 50 ml de ddH<sub>2</sub>O durante 30 minutos, 1500 rpm, a 4 °C). Tras

la recuperación de la interfase y lisis de los glóbulos rojos con agua destilada, se lavaron las células mononucleadas en tampón Fornace (0.25 M Sacarosa; 50 mM Tris-HCl pH: 7.5; 25 mM KCl; 5 mM MgCl<sub>2</sub>) y se precipitaron mediante centrifugación a 580 g durante 20 minutos. El botón de células nucleadas de la sangre se resuspendió en tampón Fornace a una concentración estimada de  $5 \times 10^6$  células / ml, tras lo cual se añadió EDTA, SDS (Dodecil Sulfato Sódico, concentración final 1 %) y Proteinasa K (Boehringer Mannheim, concentración final 50 µg / ml). La mezcla se incubó a 55 °C durante 8-16 horas. Tras la incubación, se procedió a purificar el ADN con fenol y cloroformo.

La concentración y el grado de contaminación proteica del ADN así obtenido, se calcularon tras medir su absorbancia a 260 y 280 nm, respectivamente, en un espectrofotómetro (GeneQuant, Pharmacia) por medio de la siguiente fórmula:

$$\mu\text{g de DNA / ml} = (\text{D.O.}_{260}) \times (\text{factor de dilución}) \times (50)$$

*Nota:* 50 es un factor de corrección introducido, ya que una unidad de densidad óptica con una luz incidente de 260 nm es el valor de absorbancia que tienen 50 µg de ADN / ml.

El cociente  $\text{D.O.}_{260} / \text{D.O.}_{280}$  se utiliza para determinar el grado de contaminación proteica, considerando como valores adecuados un cociente entre 1.65 y 2.0. Valores inferiores a los señalados indican contaminación por proteínas o por solventes orgánicos, realizándose en estos casos una nueva purificación del ADN. Valores superiores parecen indicar un exceso de ARN, el cual se eliminó tratando la solución de ADN con RNAsa y purificando nuevamente según el método antes descrito.

La muestra de ADN con una concentración aproximada entre 1,000 y 1,500 µg / ml, se almacenó en tubos Eppendorf® a -20 °C, con el fin de evitar tanto la degradación progresiva del ADN como su posible contaminación por microorganismos.

#### 4. AMPLIFICACIÓN DE FRAGMENTOS DE ADN MEDIANTE POLYMERASE CHAIN REACTION (PCR)

Las reacciones de amplificación se realizaron con el producto comercial de PCR Master Mix (Promega) y se emplearon entre 1  $\mu$ l y 2  $\mu$ l de la mezcla de los dos oligonucleótidos flanqueantes y 0,5  $\mu$ L del ADN obtenido por el método anteriormente descrito (concentración = 0,1 - 0,2  $\mu$ g / ml).

Para asegurar que no existía contaminación y que las reacciones eran específicas para cada muestra de partida, se preparó como control una reacción conteniendo todos los reactivos antes citados excepto el ADN. Todas las reacciones de amplificación se llevaron a cabo en un termociclador automático y la manipulación post-PCR se realizó en un laboratorio distinto de donde se llevó a cabo la extracción del ADN.

#### 5. DISCRIMINACIÓN ALÉLICA MEDIANTE DIGESTIÓN CON NUCLEASAS DE RESTRICCIÓN

Incubamos 4  $\mu$ l del producto de PCR con 10 unidades (1  $\mu$ l) de la endonucleasa de restricción correspondiente y 1  $\mu$ l de tampón de digestión a la temperatura específica de cada enzima durante un tiempo que varía entre 3 y 7 horas. Posteriormente, los alelos se identificaron mediante su visualización por electroforesis en gel de agarosa (al 2 – 3 %) previamente teñido con Syber Safe.

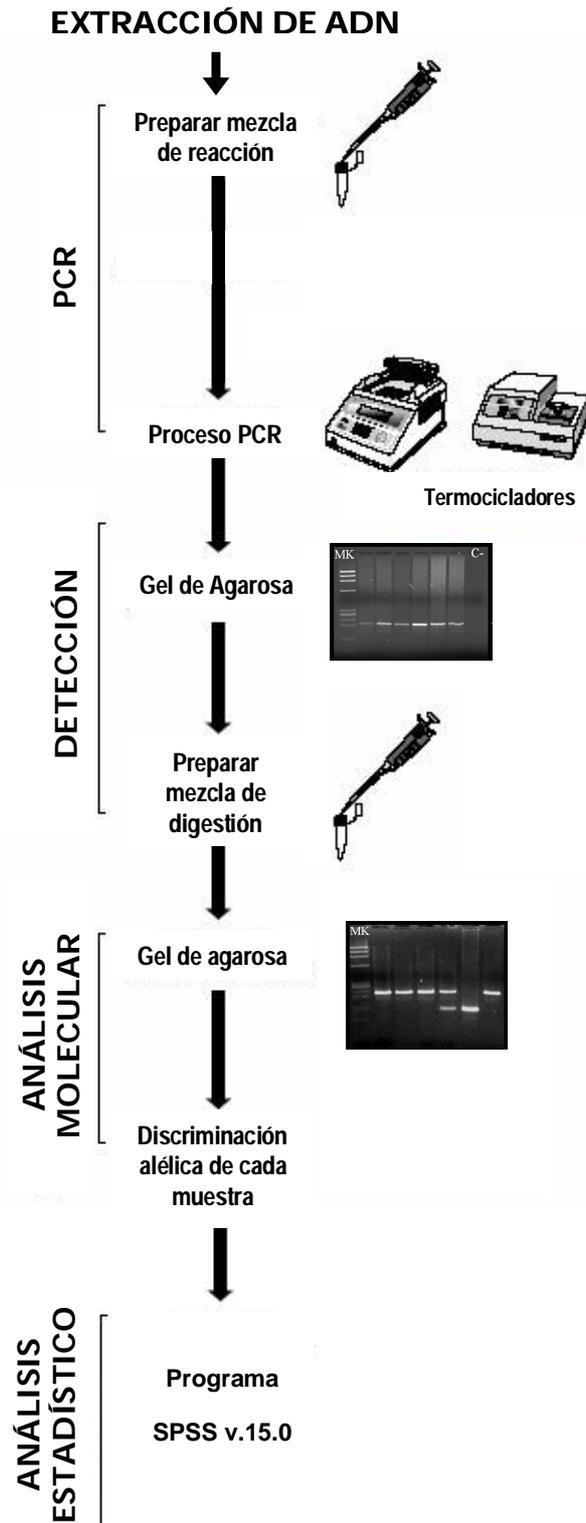


Figura 17. Proceso de amplificación de fragmentos de ADN y de discriminación alélica mediante digestión con enzimas de restricción.

## 6. ESTUDIO DEL GEN DE LA GLUCURONOSILTRANSFERASA (UGT2B7)

El gen del UGT2B7 se localiza en el cromosoma 4q13.2 (Figura 18), y codifica la enzima glucuronosiltransferasa encargada de la glucuronidación de la buprenorfina a nivel hepático. En nuestro estudio nos centramos en el polimorfismo del nucleótido 802 de este gen (c.802 C>T), responsable de una modificación en la secuencia de aminoácidos (posición 268 Histidina por Tirosina), que altera la función de la proteína, aumentando 10 veces su actividad in vitro.

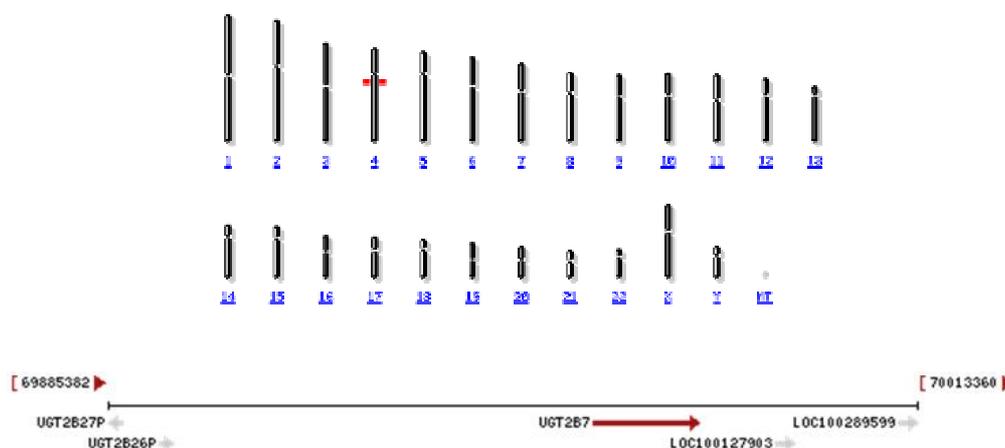


Figura 18. Localización del gen UGT2B7.

La amplificación de fragmentos mediante PCR se realizó en las siguientes condiciones (Lin G 2005):

<b>Cebadores</b>	
<b>Sentido:</b> 5'-GACAATGGGGAAAGCTGACG-3'	
<b>Antisentido:</b> 5'-GTTTGGCAGGTTTGCAGTG-3'	
<b>Programa</b>	
1 ciclo: 94°C 10 minutos (DESNATURALIZACIÓN)	
35 ciclos: 94°C 0,5 minutos (AMPLIFICACIÓN)	
65°C 0,5 minutos	
72°C 0,5 minutos	
1 ciclo: 72°C 10 minutos (EXTENSIÓN)	
<b>Fragmento: 116 pb</b>	
<b>Enzima: Bse GI (FokI)</b>	<b>Digestión: 55 °C / 5 horas</b>
<b>Alelos</b>	
<b>G/G:</b> 116 pb	
<b>G/A:</b> 116 y ~ 60 pb	
<b>A/A:</b> ~ 60 pb	

Tabla 4. Condiciones empleadas en el estudio del polimorfismo c.802 C>T del gen UGT2B7.

Tras la PCR se obtuvo un fragmento de 116 pb (Figura 19A) y como resultado de la digestión se obtuvieron dos fragmentos de 56 y 60 pb (Figura 19B), dependiendo del genotipo.

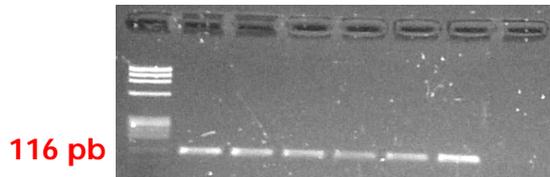


Figura 19A. Electroforesis de la PCR del gen UGT2B7

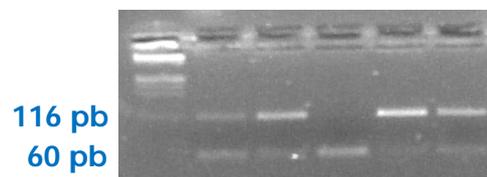


Figura 19B. Electroforesis de la digestión con enzimas de restricción de UGT2B7

## 7. ESTUDIO DEL GEN DEL CITOCROMO P450 3A4 (CYP3A4)

El gen del CYP3A4 se encuentra en el brazo largo del cromosoma 7q21.1, y codifica el citocromo responsable del metabolismo hepático de la buprenorfina a norbuprenorfina, mediante N-dealquilación.

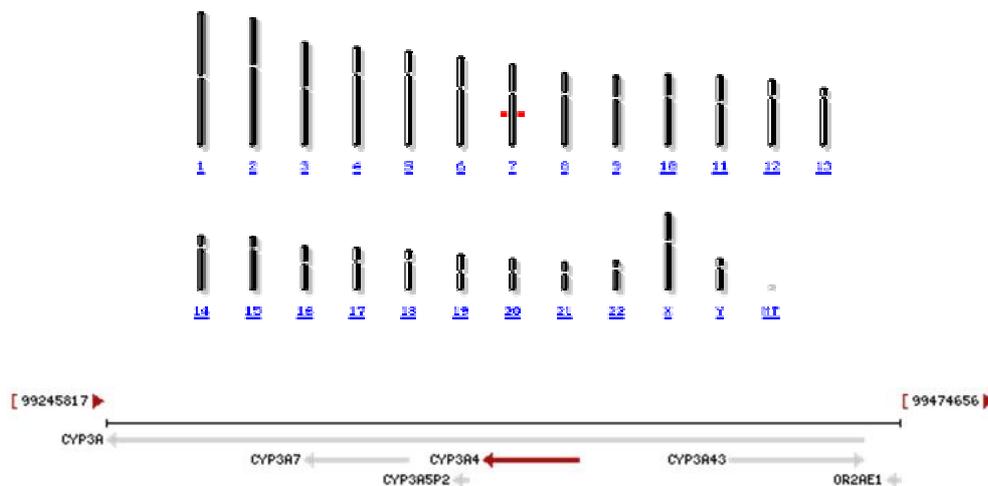


Figura 20. Localización del gen CYP3A4.

La amplificación de fragmentos mediante PCR se realizó en las siguientes condiciones (Cavalli 2001):

Cebadores	
<b>Sentido:</b>	5'-GGAATGAGGACAGCCATAGAGACAAGCGGA-3'
<b>Antisentido:</b>	5'-CCTTTCAGCTCTGTGTTGCTCTTTGCTG-3'
Programa	
1 ciclo:	98 °C 10 minutos (DESNATURALIZACIÓN)
35 ciclos:	95 °C 1 minuto (AMPLIFICACIÓN)
	60 °C 1,5 minutos
	72 °C 2 minutos
1 ciclo:	72 °C 10 minutos (EXTENSIÓN)
Fragmento: pb	
<b>Enzima:</b>	Mbo II
	Digestión: 37 °C / 4 horas
Alelos	
<b>G/G:</b>	210 y 175 pb
<b>G/A:</b>	210, 175 y 169 (y 41 pb)
<b>A/A:</b>	175 y 169 (y 41 pb)

Tabla 5. Condiciones empleadas en el estudio del polimorfismo c.290 A>G del gen CYP3A4.

Tras realizar la electroforesis de la PCR en gel de agar (Figura 21A), se procede a realizar la digestión con enzimas de restricción (Figura 21B), obteniéndose 3 fragmentos de 210, 175 y 169 pb respectivamente.



Figura 21A. Electroforesis de la PCR de CYP3A4

Figura 21B. Electroforesis de la digestión con enzimas de restricción de CYP3A4

## 8. ESTUDIO DEL GEN DEL RECEPTOR OPIOIDE $\mu$ (OPRM)

El gen del receptor opioide  $\mu$  (OPRM), localizado en el cromosoma 6q24-25 (Figura 22), presenta un polimorfismo en la posición 118A>G, en el que los pacientes homocigotos para el alelo G en del nucleótido 118 (Asparagina en lugar de Ácido Aspártico en la posición 40 de la proteína en el exón 1), pierden un sitio de glicosilación extracelular, lo que condiciona una menor expresión del receptor opioide o de su señal, con una menor actividad del mismo.

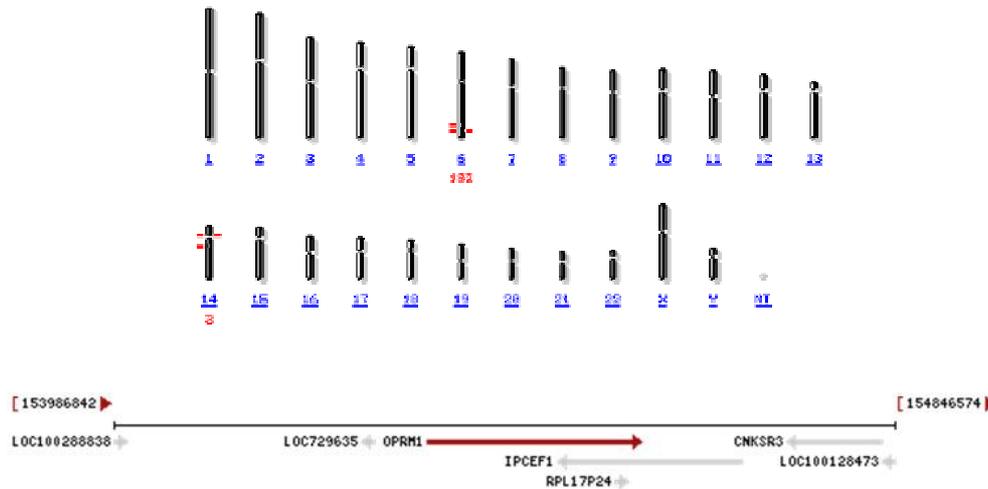


Figura 22. Localización del gen OPRM1.

Se estudió mediante PCR con sondas Taqman el polimorfismo A118G, situado en la región promotora del gen OPRM1, empleando las siguientes condiciones:

Referencia del ensayo AB para el estudio del polimorfismo A118G	
C_8950074_1	
Programa	
1 ciclo:	50 °C 3 minutos (DESNATURALIZACIÓN)
30 ciclos:	95 °C 0,5 minutos (AMPLIFICACIÓN)
	60 °C 0,5 minutos
	72 °C 1 minuto
Fragmento: 304 pb	
Enzima: Bse GI (FokI)	Digestión: 55 °C / 5 horas

Tabla 6. Condiciones empleadas en el estudio del polimorfismo c.118A>G del gen OPRM1.

Tras el análisis de la detección de fluoresceína obtuvimos la siguiente representación gráfica de los resultados (Figura 23):

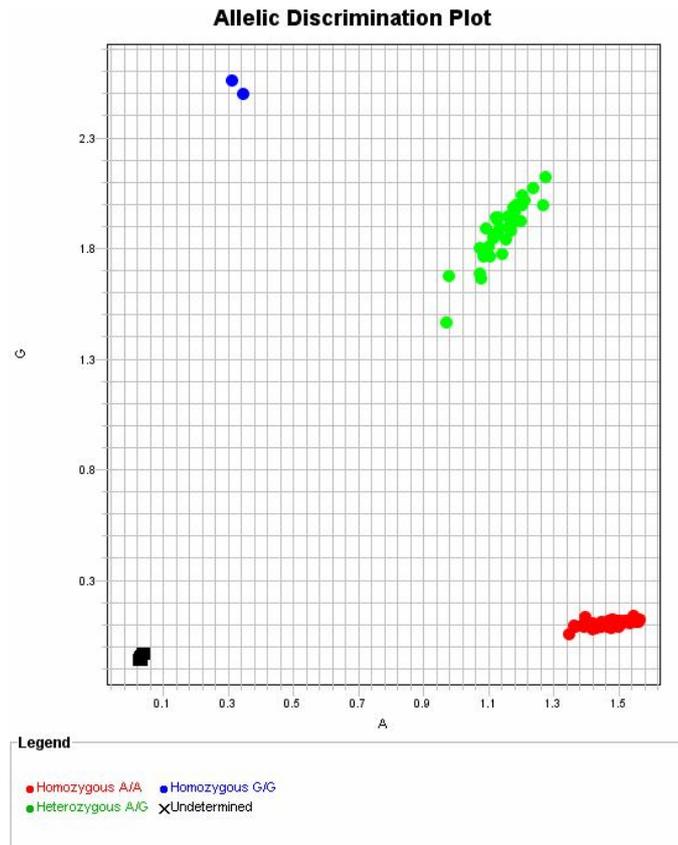


Figura 23. Representación gráfica de los resultados obtenidos en el estudio mediante PCR con sondas Taqman del polimorfismo A118G (gen OPRM1)

## 9. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

El análisis estadístico se realizó con el programa SPSS v.15.0 para PC. Se realizaron estudios estadísticos de contraste con Chi-cuadrado ( $\chi^2$ ) utilizando tablas de contingencia, estudios de análisis de la varianza (ANOVA) y coeficientes de correlación de Pearson.

## **RESULTADOS**

---

## 1. DATOS EPIDEMIOLÓGICOS

Se han incluido un total de 207 pacientes, 107 en el grupo estudio y 100 en el grupo control, siendo las dos fracciones homogéneas y sin diferencias estadísticamente significativas al compararlas. Las características de los pacientes incluidos en ambas agrupaciones se detallan en la siguiente tabla:

Características de los pacientes	Grupo estudio	Grupo control	p
<b>Hombres</b>	86	83	NS
<b>Mujeres</b>	21	17	NS
<b>Edad</b>	Mediana 73,78 años (rango: 42 - 98)	Mediana 75,15 años (rango: 51 - 97)	NS
Edad hombres	Mediana 71,54 años (rango: 42 - 92)	Mediana 72,25 años (rango: 51 - 91)	NS
Edad mujeres	Mediana 82,21 años (rango: 65 - 98)	Mediana 80,92 años (rango: 67 - 97)	NS
<b>Índice de Masa Corporal (IMC)</b>	Mediana 25,46 kg/m <sup>2</sup> (rango: 17,3 - 34,1)	Mediana 23,72 kg/m <sup>2</sup> (rango: 19 - 31,9)	NS
<b>Antecedentes personales</b>			
<b>Enfermedades previas</b>			
DM	40	31	NS
HTA	66	41	NS
EPOC	20	17	NS
IRC	17	11	NS
<b>Alergias medicamentosas</b>	12	9	NS
<b>Perdidos durante el estudio</b>	2	0	NS
<b>Fallecimientos durante el estudio</b>	3	1	NS
<b>Antecedentes EAP</b>			
<b>Estadio de Fontaine</b>			
Estadio III	50	45	NS
Estadio IV	57	55	NS
<b>Tiempo de evolución de la arteriopatía</b>	18,4 meses (3 - 150)	23,3 meses (4 - 200)	NS
<b>ITB</b>			
< 0,3	50	46	NS
< 0,4	67	58	NS
0,5 - 0,9	24	22	NS
> 1	16	20	NS

<b>Intervenciones vasculares previas</b>			
Ninguna	79	67	NS
By-pass aorto-bifemoral	2	3	NS
By-pass fémoro-poplíteo	9	11	NS
Amputación transmetatarsiana	2	3	NS
Amputación infra-condílea	1	0	NS
Amputación supra-condílea	6	9	NS
By-pass y posterior amputación	4	4	NS
Stent iliaco	1	0	NS

Tabla 7. Pacientes incluidos en los grupos estudio y control (p = NS)

Del total de pacientes, 21 presentaban alergia a antibióticos (beta-lactámicos y quinolonas), contraste yodado, AINEs (diclofenaco e ibuprofeno) y tramadol, pero ninguno de ellos a la buprenorfina.

Se perdieron de seguimiento 2 pacientes del grupo estudio durante la investigación, uno de ellos por alta voluntaria al no aceptar el tratamiento quirúrgico propuesto, y el otro por traslado a otra comunidad autónoma, argumentando motivos personales.

El tratamiento analgésico previo seguido por los pacientes antes de su inclusión en el estudio, fue el siguiente:

<b>Pauta analgésica previa al estudio</b>	<b>Número de pacientes grupo estudio</b>	<b>Número de pacientes grupo control</b>	<b>p</b>
Paracetamol	5	3	NS
Metamizol	27	32	NS
AINE	3	7	NS
Tramadol	3	5	NS
Fentanilo transdérmico (TTS)	2	4	NS
Buprenorfina TTS	0	3	NS
Paracetamol y Metamizol	9	5	NS
Paracetamol y AINE	1	3	NS
Paracetamol y Tramadol	4	6	NS
Metamizol y AINE	1	5	NS
Metamizol y Tramadol	5	2	NS
Sin tratamiento	47	25	NS

Tabla 8. Pautas de tratamiento analgésico habituales, previas al estudio.

## 2. RESULTADOS CLÍNICOS

Uno de los objetivos del estudio es la valoración de la respuesta al tratamiento con buprenorfina transdérmica, y la comparación de ésta respecto al tratamiento analgésico habitual utilizado en el Servicio de Cirugía Vasculard de nuestro centro. Se presentan a continuación los resultados relativos a la respuesta clínica al tratamiento analgésico presentada por los pacientes con EAP incluidos en el estudio.

### 2.1. Valoración del dolor mediante EVA y Escala verbal.

La respuesta al tratamiento de los 207 pacientes incluidos en el proyecto se valoró mediante EVA, escala verbal de dolor y cuestionario EQ-5D, en el momento de la inclusión en el estudio y al cuarto día de tratamiento. Se presentan los resultados obtenidos en los dos grupos y la comparativa entre ambos.

#### a) Grupo estudio.

La respuesta al tratamiento analgésico aplicado fue evaluada mediante una EVA, obteniéndose datos completos de 102 pacientes del grupo estudio, pues 3 de ellos fallecieron durante los 4 días siguientes al ingreso y 2 se perdieron en el seguimiento, como ya se ha señalado. La EVA mediana al inicio del tratamiento analgésico con buprenorfina fue de 6,80 y la EVA mediana final de 3,37. Al aplicar la prueba de los signos de Wilcoxon para comparar las medianas, se objetiva que este descenso es estadísticamente significativo ( $p < 0,05$ ).

Estadísticos de contraste <sup>b</sup>	
	EVA_2 - EVA
Z	-8,381 <sup>a</sup>
Sig. asintót. (bilateral)	,000

a. Basado en los rangos positivos.

b. Prueba de los rangos con signo de Wilcoxon

Tabla 9. Resultados de la comparación de las medianas de la EVA inicial y la final en el grupo estudio ( $p < 0,05$ )

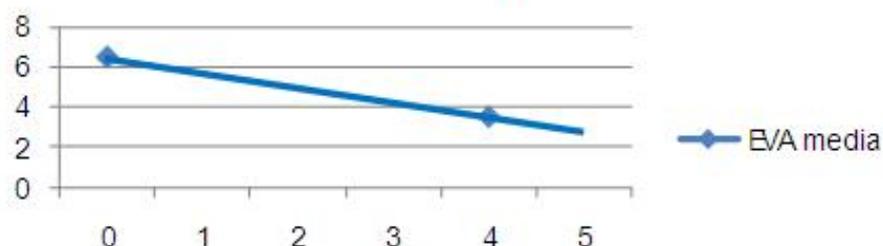


Figura 24. Evolución de la EVA en el grupo estudio ( $p < 0,05$ )

A continuación se describen los resultados obtenidos mediante la escala verbal del dolor en el grupo estudio:

	LEVE (1 – 3)	MODERADO (4- 6)	INTENSO (7 - 8)	MUY INTENSO (9 – 10)
INICIAL (Día 0)	0	31	53	23
FINAL (Día 4)	60	41	3	0

Tabla 10. Resultados de la escala verbal del dolor en el grupo estudio.

Los requerimientos analgésicos de rescate de los pacientes del grupo estudio se describen en la Tabla 11. De los 102 pacientes incluidos, 90 requirieron tratamiento analgésico suplementario.

Tratamiento analgésico de rescate	Número de pacientes (%)
Buprenorfina TTS solamente	12 (11,9)
Paracetamol asociado durante 24 horas	29 (28,5)
Paracetamol asociado durante 48 horas	32 (31,3)
Paracetamol asociado durante 72 horas	10 (9,8)
OTROS:	
Paracetamol y Metamizol durante 24 horas	8 (7,8)
Paracetamol y Metamizol durante 48 horas	6 (5,9)
Petidina clorhidrato asociada durante 24 horas	3 (2,9)
Cloruro mórfico asociado durante 24 horas	2 (1,9)

Tabla 11. Tratamiento analgésico de rescate.

Se objetivaron **efectos secundarios** en 9 pacientes: uno de ellos refirió mareos, bien tolerados, y 8 presentaron náuseas, bien controladas con medicación (metoclopramida) en 7 de los casos, precisando 2 de ellos la suspensión del tratamiento.

## b) Grupo control.

En lo que respecta al grupo control, se recogieron datos completos de 99 pacientes, dado que uno de ellos falleció durante el estudio. La EVA mediana al inicio del tratamiento fue de 6.32 y la EVA mediana final fue de 4.01. Al aplicar la prueba de los signos de Wilcoxon para comparar las medianas, se objetiva que este descenso es estadísticamente significativo ( $p < 0,05$ ).

**Estadísticos de contraste<sup>b</sup>**

	EVA 2 - EVA
Z	-2,060
Sig. asintót. (bilateral)	,039

Tabla 12. Resultados de la comparación de las medianas de la EVA inicial y la final en el grupo control ( $p < 0,05$ )

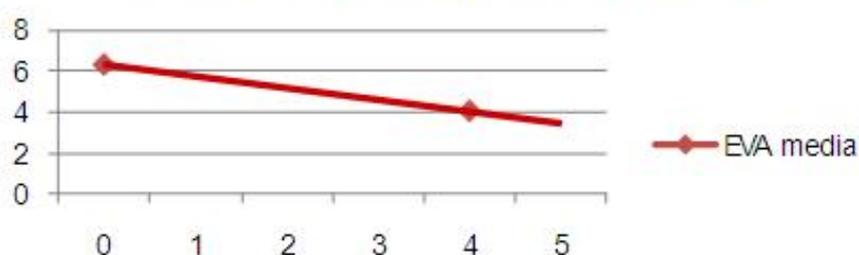


Figura 25. Evolución de la EVA en el grupo control ( $p < 0,05$ )

Los resultados relativos a la escala verbal del dolor en los pacientes del grupo control se detallan en la Tabla 13.

	LEVE (1 - 3)	MODERADO (4- 6)	INTENSO (7 - 8)	MUY INTENSO (9 - 10)
INICIAL (Día 0)	0	27	55	18
FINAL (Día 4)	62	35	2	0

Tabla 13. Resultados de la escala verbal del dolor en el grupo control.

## c) Comparativa entre los grupos estudio y control.

Cuando se comparan las medianas de EVA inicial y final de los dos grupos mediante la prueba de los signos de Wilcoxon, no se encuentran diferencias estadísticamente significativas respecto a la evolución de la EVA.

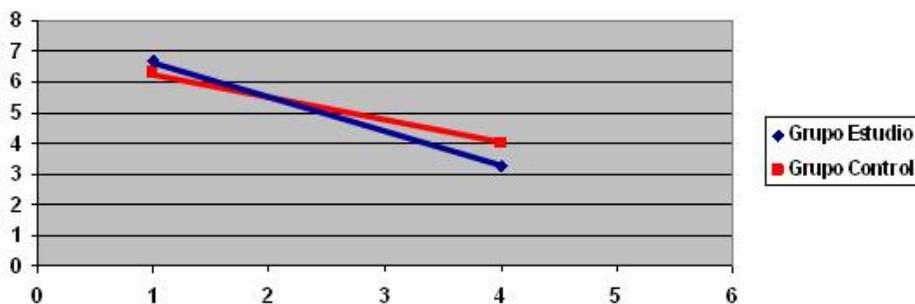


Figura 26. Comparativa de la evolución de la EVA entre los dos grupos (p = NS)

d) Correlación entre EVA y escala verbal.

Los resultados de la EVA se correlacionan con los obtenidos mediante la escala verbal, en ambos conjuntos, como se puede observar en las Figs. 27 y 28.

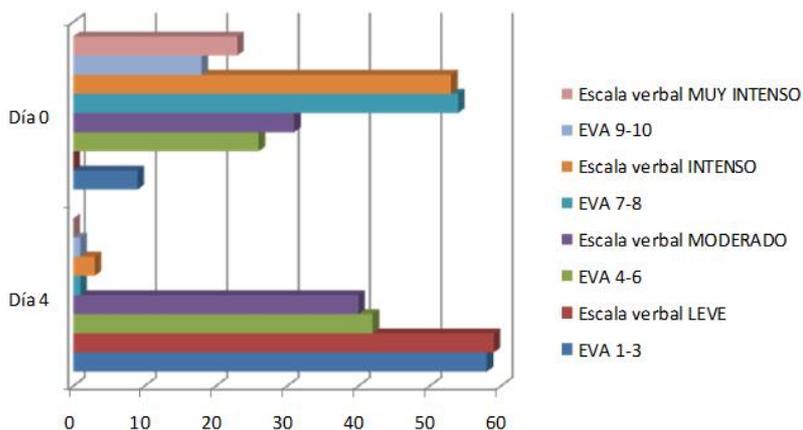


Figura 27. Comparativa de la EVA y escala verbal del dolor en el grupo estudio.

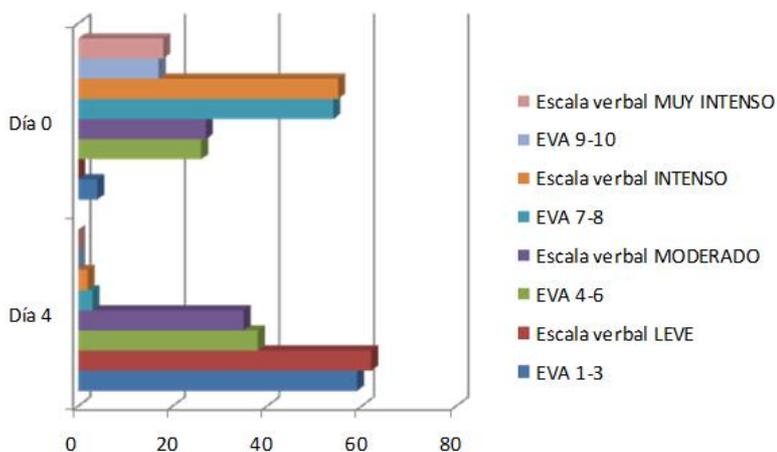


Figura 28. Comparativa EVA y escala verbal del dolor en el grupo control.

## 2.2. Valoración de la calidad de vida.

Los resultados respecto a calidad de vida, tras analizar las respuestas al cuestionario EQ-5D en ambas agrupaciones se detallan a continuación.

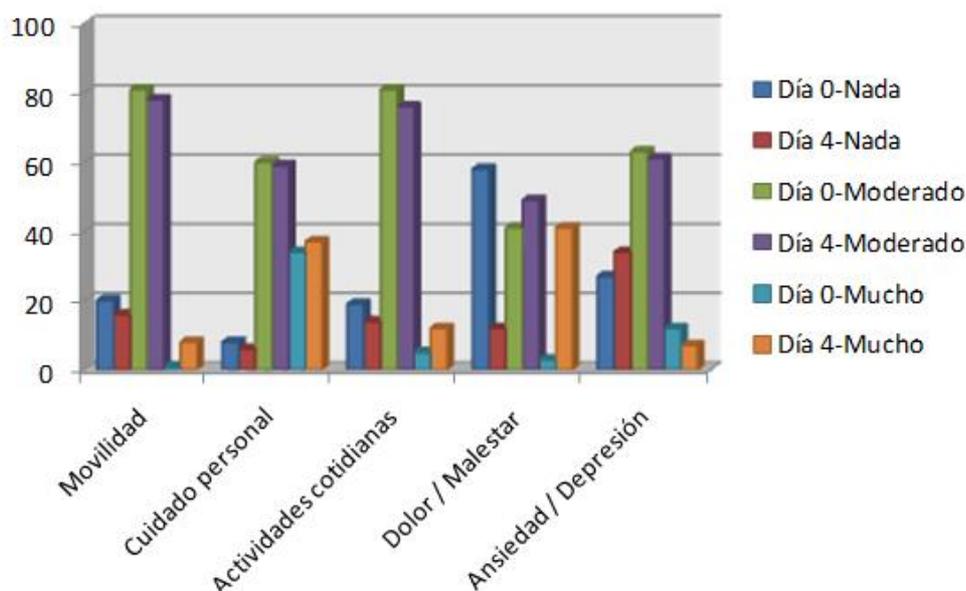


Figura 29. Resultados del cuestionario de calidad de vida EQ-5D en el grupo estudio.

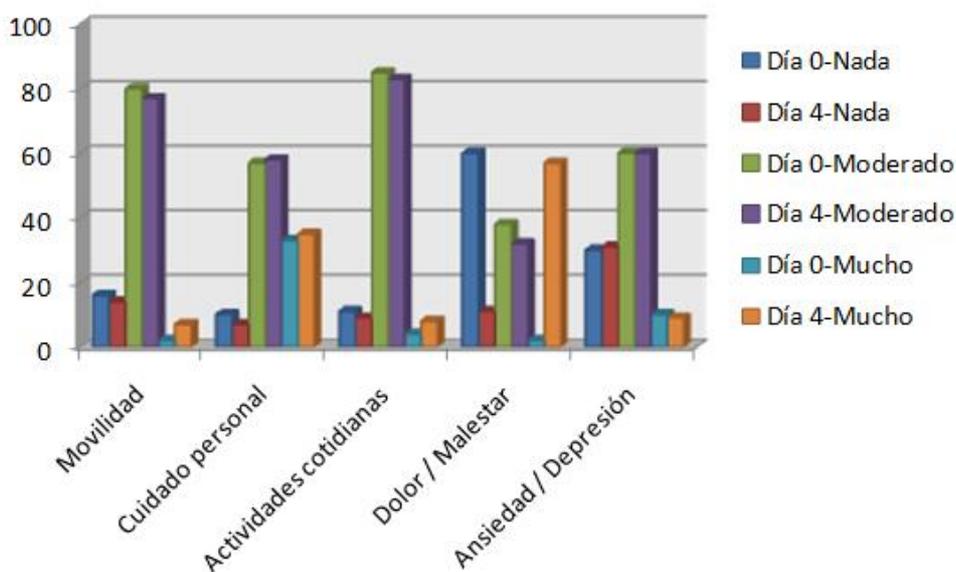


Figura 30. Resultados del cuestionario de calidad de vida EQ-5D en el grupo control.

Se objetiva una mejoría en las respuestas tras el inicio de tratamiento fundamentalmente en lo que respecta al dolor, coincidiendo con los resultados obtenidos mediante el análisis de la EVA. Sin embargo respecto a la movilidad, al

cuidado personal, a la realización de las actividades cotidianas y a la ansiedad y/o depresión que siente el paciente no se obtiene una mejoría significativa.

### 2.3. Respuesta al tratamiento en función del sexo.

Se realiza el análisis estadístico con el programa SPSS versión 15, incluyendo para los cálculos a todos los pacientes del grupo estudio de los cuales se obtuvieron datos completos, excluyendo los pacientes fallecidos, los perdidos en el seguimiento durante el estudio y aquellos de los que no se obtuvo muestra de ADN para el estudio genético, es decir un total de 93 pacientes.

Se ha calculado una variable que representa la mejoría o variación del dolor de los pacientes, utilizando el tanto por ciento de diferencia de valores de la EVA final con respecto a la EVA inicial (denominada: POR\_DIF\_EVA1). Para cualquier estudio inferencial se aplica un nivel de significación  $\alpha = 0,05$ .

La tabla de frecuencia respecto al sexo se describe a continuación:

SEXO					
		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válidos	H	73	78,5	78,5	78,5
	M	20	21,5	21,5	100,0
	Total	93	100,0	100,0	

Tabla 14. Tabla de frecuencia de sexo en la muestra estudiada.

Para poder hacer estudios estadísticos posteriores en estadística paramétrica (prueba t de Student y análisis de la varianza) se ha de saber si esta variable sigue una distribución normal. Se utiliza una prueba de Kolmogorov-Smirnov con hipótesis nula "la distribución de la que proceden los datos es normal". Con una significación de  $p = 0,128 (> 0,05)$  se acepta la hipótesis nula y la variable a tratar es normal, como se refleja en la Tabla:

	PORC_DIF_EVA1
N	93
Z de Kolmogorov-Smirnov	1,172
Sig. asintót. (bilateral)	,128

Tabla 15. Prueba de Kolmogorov-Smirnov para la muestra.

Referente a la influencia del sexo sobre la percepción del dolor, se realiza un test Chi-cuadrado que no objetiva diferencias estadísticamente significativas, con una  $p = 0,727 (> 0,05)$ , por lo que se acepta la hipótesis nula de independencia:

	Valor	gl	Sig. asintótica (bilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	5,285	8	,727
N de casos válidos	93		

Tabla 16. Chi cuadrado sobre la influencia del sexo en la percepción del dolor.

Se estudia la influencia del sexo en la respuesta al tratamiento instaurado mediante una prueba Chi-cuadrado y el coeficiente eta, que mide el grado de dependencia entre una variable cualitativa nominal y una cuantitativa, siendo la hipótesis nula la independencia. La prueba Chi-cuadrado demuestra con una  $p = 0,019 (< 0,05)$  que se rechaza la hipótesis nula, es decir que existe una dependencia entre el sexo y la evolución del dolor:

	Valor	gl	Sig. asintótica (bilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	26,993	14	,019
N de casos válidos	93		

Tabla 17. Chi cuadrado sobre la influencia del sexo en la respuesta al tratamiento.

El coeficiente eta = 0,220 (cuyos valores están comprendidos entre 0 y 1, variando de menor a mayor grado de dependencia) indica que la dependencia no es muy grande:

			Valor
Nominal por intervalo	Eta	PORC_DIF_EVA1 dependiente	,220

Tabla 18. Medidas direccionales, coeficiente eta.

Representando gráficamente estos datos, se puede observar que los hombres presentan una mejor respuesta al tratamiento con buprenorfina, respecto a las mujeres, con un mayor porcentaje de disminución de la EVA final respecto a la inicial:

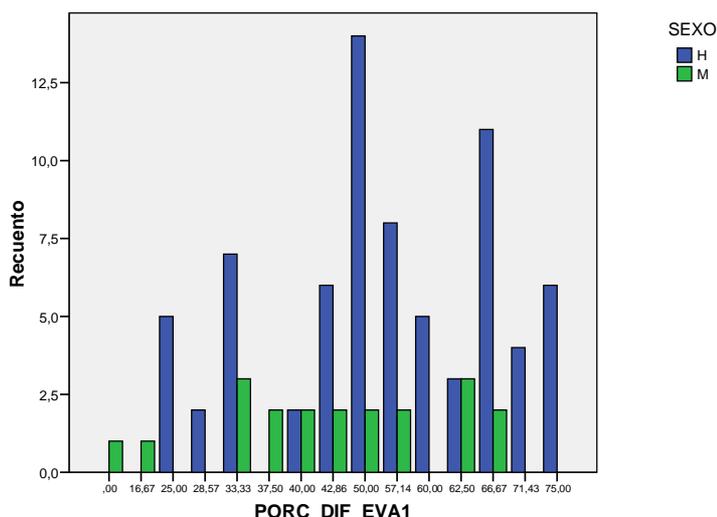


Figura 31. Respuesta al tratamiento en función del sexo.

#### 2.4. Respuesta al tratamiento en función de la edad.

Valoramos la influencia de la edad sobre la percepción del dolor, así como sobre la respuesta al tratamiento analgésico instaurado, mediante el coeficiente de correlación de Pearson, utilizando como hipótesis nula la no relación entre las dos variables, obteniendo los resultados detallados en las Tablas 19 y 20. La conclusión es que no se objetiva influencia de la edad sobre la EVA inicial ( $p = 0,672$ ), ni sobre la respuesta al tratamiento ( $p = 0,603$ ).

		EDAD	EVA
EDAD	Correlación de Pearson	1	,044
	Sig. (bilateral)		,672
	N	93	93
EVA	Correlación de Pearson	,044	1
	Sig. (bilateral)	,672	
	N	93	93

Tabla 19. Correlación de Pearson entre la edad y la EVA inicial ( $p = NS$ )

		EDAD	PORC_DIF_EVA1
EDAD	Correlación de Pearson	1	-,055
	Sig. (bilateral)		,603
	N	93	93
PORC_DIF_EVA1	Correlación de Pearson	-,055	1
	Sig. (bilateral)	,603	
	N	93	93

Tabla 20. Correlación de Pearson entre la edad y la respuesta al tratamiento ( $p = NS$ )

## 2.5. Respuesta al tratamiento en función de los antecedentes personales.

La presencia de patologías previas puede jugar un papel importante tanto en la percepción del dolor como en la respuesta a un tratamiento analgésico, por la enfermedad concomitante en si misma o por los tratamientos que el paciente recibe. Analizamos a continuación la influencia que los antecedentes personales de nuestros pacientes tienen sobre el dolor.

### a) Tablas de frecuencia de los antecedentes personales estudiados

Se estudia la posible influencia de la HTA, la IRC, los antecedentes quirúrgicos (AP\_QUIR), la DM y la EPOC. En las Tablas 22 a 26 de muestran las frecuencias de dichos antecedentes en nuestra serie.

Las medianas de edad en función de cada antecedente personal, se detallan a continuación:

Antecedente personal	Grupo estudio	Grupo control	p
<b>DM</b>	Mediana: 72,71 años (rango: 42 – 88 años)	Mediana: 74,27 años (rango: 53 – 79 años)	NS
<b>HTA</b>	Mediana: 76 años (rango: 53 – 98 años)	Mediana: 75,65 años (rango: 61 – 75 años)	NS
<b>EPOC</b>	Mediana: 74,22 años (rango: 62 – 87 años)	Mediana: 72,43 años (rango: 55 – 76 años)	NS
<b>IRC</b>	Mediana: 75,06 años (rango: 51 – 94 años)	Mediana: 74,66 años (rango: 59 – 91 años)	NS

Tabla 21. Mediana de edad dentro de cada subgrupo de antecedente personal.

### HTA

	Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válidos Sí	57	61,3	61,3	61,3
No	36	38,7	38,7	100,0
Total	93	100,0	100,0	

Tabla 22. Tabla de frecuencia de la presencia de antecedentes personales de HTA en la muestra.

## IRC

		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válidos	Sí	15	16,1	16,1	16,1
	No	78	83,9	83,9	100,0
	Total	93	100,0	100,0	

Tabla 23. Tabla de frecuencia de la presencia de antecedentes personales de IRC en la muestra.

## AP\_QUIR

		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válidos	No	35	37,6	37,6	37,6
	Laparotomía	26	28,0	28,0	65,6
	Otra	32	34,4	34,4	100,0
	Total	93	100,0	100,0	

Tabla 24. Tabla de frecuencia de la presencia de antecedentes quirúrgicos en la muestra.

## DM

		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válidos	Sí	34	36,6	36,6	36,6
	No	59	63,4	63,4	100,0
	Total	93	100,0	100,0	

Tabla 25. Tabla de frecuencia de la presencia de antecedentes personales de DM en la muestra.

## EPOC

		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válidos	Sí	19	20,4	20,4	20,4
	No	74	79,6	79,6	100,0
	Total	93	100,0	100,0	

Tabla 26. Tabla de frecuencia de la presencia de antecedentes personales de EPOC en la muestra.

b) Análisis de la influencia de los antecedentes personales sobre la EVA inicial.

Al estudiar independientemente la influencia de cada antecedente personal sobre la valoración del dolor en el momento de la inclusión en el estudio, mediante la EVA inicial, no objetivamos ninguna asociación estadísticamente significativa para la HTA, la IRC ni las intervenciones quirúrgicas previas.

	Valor	gl	Sig. asintótica (bilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	10,183	8	,252
N de casos válidos	93		

Tabla 27. Influencia de la HTA sobre la EVA inicial (p = NS)

	Valor	gl	Sig. asintótica (bilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	6,364	8	,606
N de casos válidos	93		

Tabla 28. Influencia de la IRC sobre la EVA inicial (p = NS)

	Valor	gl	Sig. asintótica (bilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	11,626	16	,769
N de casos válidos	93		

Tabla 29. Influencia de los antecedentes quirúrgicos sobre la EVA inicial (p = NS)

Sin embargo se concluye una influencia estadísticamente significativa de la DM sobre los valores de la EVA inicial, con una  $p = 0,047$  ( $< 0,05$ ) en la prueba de razón de verosimilitudes (Tabla 30), observándose unos valores más bajos de la EVA en la evaluación inicial en los pacientes afectos de DM.

	Valor	gl	Sig. asintótica (bilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	13,795	8	,087
Razón de verosimilitudes	15,713	8	,047
N de casos válidos	93		

Tabla 30. Prueba de razón de verosimilitudes para valoración de la influencia de la DM sobre a EVA inicial ( $p < 0,05$ )

Aunque con una dependencia muy baja ( $\eta = 0,061$ ):

			Valor
Nominal por intervalo	Eta	EVA dependiente	,061

Tabla 31. Medidas direccionales, coeficiente eta.

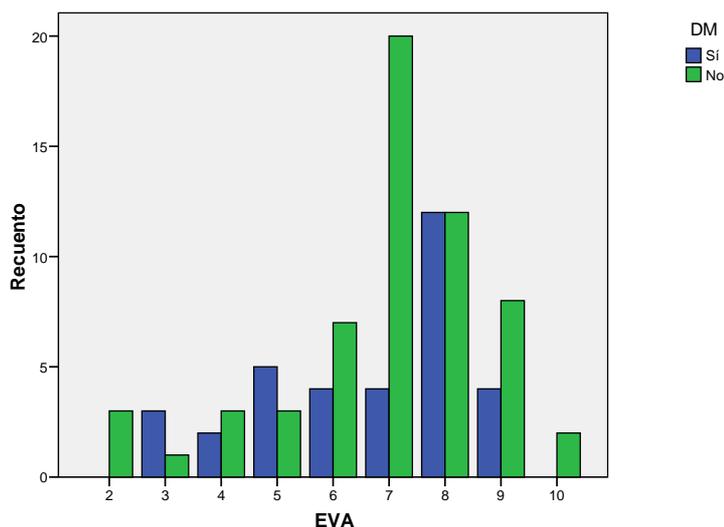


Figura 32. Valores de la EVA inicial en los pacientes con DM.

Los pacientes con antecedentes personales de EPOC presentan resultados similares a los afectos de DM, encontrándose una significación estadística al realizar el test de Chi-cuadrado, poniendo de manifiesto que este grupo de pacientes presenta una menor percepción del dolor, con valores de la EVA inicial más bajos.

	Valor	gl	Sig. asintótica (bilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	16,134	8	,040
Razón de verosimilitudes	15,724	8	,047
N de casos válidos	93		

Tabla 32. Chi cuadrado para valoración de la influencia de la EPOC sobre a EVA inicial ( $p < 0,05$ )

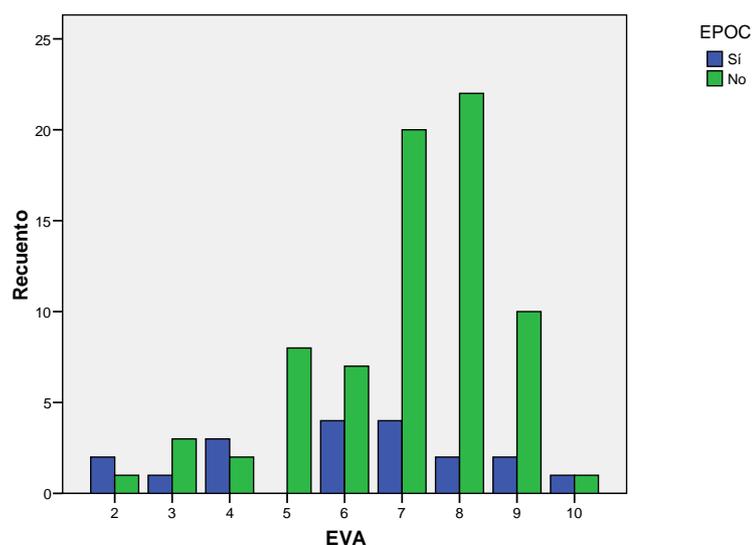


Figura 33. Valores de la EVA inicial en los pacientes con EPOC.

- c) Análisis de la influencia de los antecedentes personales sobre la respuesta al tratamiento.

Al examinar la influencia de los antecedentes personales de cada paciente en relación con su respuesta al tratamiento, mediante la medida del porcentaje de disminución de la EVA final respecto a la inicial, no se encuentra un relación estadísticamente significativa para ninguno de los antecedentes estudiados (HTA, IRC, DM, EPOC y antecedentes quirúrgicos).

	Valor	gl	Sig. asintótica (bilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	16,128	14	,306
N de casos válidos	93		

Tabla 33. Chi cuadrado para valoración de la influencia de la HTA sobre la evolución de la EVA (p = NS)

	Valor	gl	Sig. asintótica (bilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	16,350	14	,292
N de casos válidos	93		

Tabla 34. Chi cuadrado para valoración de la influencia de la IRC sobre la evolución de la EVA (p = NS)

	Valor	gl	Sig. asintótica (bilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	15,866	14	,322
N de casos válidos	93		

Tabla 35. Chi cuadrado para valoración de la influencia de la DM sobre la evolución de la EVA (p = NS)

	Valor	gl	Sig. asintótica (bilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	19,845	14	,135
N de casos válidos	93		

Tabla 36. Chi cuadrado para valoración de la influencia de la EPOC sobre la evolución de la EVA (p = NS)

	Valor	gl	Sig. asintótica (bilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	18,450	28	,914
N de casos válidos	93		

Tabla 37. Chi cuadrado para valoración de la influencia de los antecedentes quirúrgicos sobre la evolución de la EVA (p = NS)

## 2.6. Respuesta al tratamiento en función de la EAP.

Se ha estudiado previamente la influencia de los antecedentes personales médicos sobre la valoración del dolor por parte de los pacientes, así como la respuesta al tratamiento en los diferentes subgrupos. A continuación se exponen los resultados referentes a la influencia de los antecedentes de patología vascular de los pacientes del grupo estudio, centrándonos en el grado de arteriopatía y el ITB.

### a) Análisis de la influencia del grado de arteriopatía.

En el estudio se han incluido pacientes con arteriopatía periférica evolucionada, es decir en estadios III y IV de Fontaine. Valoramos si el estadio evolutivo de la EAP tiene influencia sobre el dolor percibido y sobre la respuesta al tratamiento con buprenorfina.

#### - Sobre la EVA inicial

Al tratarse de una variable cuantitativa, utilizamos el coeficiente de correlación de Pearson para estimar la asociación entre el estadio de Fontaine y la percepción del dolor en el momento de la inclusión en el estudio. La hipótesis nula propuesta es la no relación entre ambas variables. Siendo el resultado del análisis:

		EVA	grado de arteriopatía
EVA	Correlación de Pearson	1	-,204*
	Sig. (bilateral)		,050
	N	93	93
grado de arteriopatía	Correlación de Pearson	-,204*	1
	Sig. (bilateral)	,050	
	N	93	93

\*. La correlación es significativa al nivel 0,05 (bilateral).

Tabla 38. Correlación de Pearson entre el grado de arteriopatía y la EVA inicial ( $p = 0,05$ )

Con una  $p = 0,05$  se rechaza la hipótesis nula, por lo que se puede considerar estadísticamente significativa la relación entre el grado de la arteriopatía (estadio de Fontaine) y la EVA inicial, es decir que a mayor estadio de Fontaine mayor EVA inicial.

- Sobre la respuesta al tratamiento

Al considerar la relación entre el grado de la EAP y la respuesta al tratamiento, constatamos que no existe correlación estadísticamente significativa entre las dos variables ( $p = 0,432$ ), lo que significa que el estadio de Fontaine tiene influencia sobre la respuesta al tratamiento con buprenorfina en nuestra serie.

		PORC_DIF_ EVA1	grado de arteriopatía
PORC_DIF_EVA1	Correlación de Pearson	1	,082
	Sig. (bilateral)		,432
	N	93	93
grado de arteriopatía	Correlación de Pearson	,082	1
	Sig. (bilateral)	,432	
	N	93	93

Tabla 39. Correlación de Pearson entre el grado de arteriopatía y la respuesta al tratamiento ( $p = NS$ )

b) Análisis de la influencia del ITB

El ITB representa el factor de predicción más significativo de una posible intervención quirúrgica, pero no se ha establecido aún si existe correlación entre sus valores y la severidad del dolor percibido, así como la respuesta al tratamiento analgésico que van a presentar estos pacientes.

- Sobre la EVA inicial

Explorando la influencia del ITB sobre la percepción del dolor mediante el coeficiente de correlación de Pearson, obtenemos una  $p = 0,415 (> 0,05)$  que nos permite aceptar la hipótesis nula de ausencia de relación entre las dos variables:

		EVA	índice tobillo-brazo
EVA	Correlación de Pearson	1	,086
	Sig. (bilateral)		,415
	N	93	93
índice tobillo-brazo	Correlación de Pearson	,086	1
	Sig. (bilateral)	,415	
	N	93	93

Tabla 40. Correlación de Pearson entre el ITB y la EVA inicial ( $p = NS$ )

- Sobre la respuesta al tratamiento

En lo que afecta a la relación entre el ITB y la respuesta al tratamiento con buprenorfina, al aplicar el coeficiente de correlación de Pearson obtenemos una  $p = 0,532 (> 0,05)$ , por lo que se descarta la influencia del ITB sobre la evolución de la EVA.

		PORC_DIF_EVA1	índice tobillo-brazo
PORC_DIF_EVA1	Correlación de Pearson	1	-,066
	Sig. (bilateral)		,532
	N	93	93
índice tobillo-brazo	Correlación de Pearson	-,066	1
	Sig. (bilateral)	,532	
	N	93	93

Tabla 41. Correlación de Pearson entre el ITB y la respuesta al tratamiento ( $p = NS$ )

### 3. RESULTADOS DEL ANÁLISIS GENÉTICO

En la investigación se analizan los resultados del estudio genético de 93 pacientes, al no poderse obtener ADN en 9 muestras, por problemas técnicos y de conservación.

### 3.1. Polimorfismos encontrados

En la siguiente Tabla pueden verse los polimorfismos encontrados:

GEN	Homocigoto AA	Homocigoto GG	Heterocigoto AG	TOTAL
UGT2B7	28	35	30	93
CYP3A4	56	29	8	93
OPRM118	51	4	38	93

Tabla 42. Resultados de la determinación de polimorfismos genéticos en el grupo estudio.

### 3.2. Análisis estadístico de los resultados (correlación clínica – genética)

La influencia de los polimorfismos genéticos sobre la respuesta al tratamiento se estudia mediante un análisis de la varianza de un factor. Se valora si hay dependencia en la variación del dolor con UGT2B7, CYP3A4 y OPRM118. Se realizan los cálculos estadísticos sobre los 93 pacientes con determinación genética de los diferentes polimorfismos.

Puesto que la variable dependiente PORC\_DIF\_EVA1 es normal y mediante la prueba de Levene se demuestra que existe homogeneidad de varianzas en los tres genotipos (homocigoto 1, homocigoto 2 y heterocigoto) a estudiar en los tres genes, se realiza el ANOVA de un factor.

El estudio de la influencia del polimorfismo de UGT2B7, empleando como hipótesis nula que la media de la variación del dolor en los tres genotipos es igual (la variación del dolor no depende del genotipo) obtenemos una  $p = 0,107 (> 0,05)$ , por lo que se acepta la hipótesis nula y en ningún grupo hay diferencias.

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	1092,284	2	546,142	2,288	,107
Intra-grupos	21480,821	90	238,676		
Total	22573,105	92			

Tabla 43. ANOVA para la valoración de la influencia de UGT2B7 ( $p = NS$ )

Con CYP3A4 la hipótesis nula es que la media de la variación del dolor en los tres genotipos es igual (la variación del dolor no depende del genotipo),  $p = 0,002 (< 0,05)$ , por lo que se rechaza la hipótesis nula, lo que implica que en algún genotipo hay diferencias.

PORC\_DIF\_EVA1

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	2875,147	2	1437,573	6,568	,002
Intra-grupos	19697,958	90	218,866		
Total	22573,105	92			

Tabla 44. ANOVA para la valoración de la influencia de CYP3A4 ( $p < 0,05$ )

Para determinar en qué genotipo hay diferencias utilizamos las pruebas a posteriori o post hoc que aparecen en la tabla:

Variable dependiente: PORC\_DIF\_EVA1

Scheffé

(I) CYP3A4	(J) CYP3A4	Diferencia de medias (I-J)	Error típico	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
HOMOCIGOTO 1	HOMOCIGOTO 2	12,05853*	3,38459	,003	3,6341	20,4830
	HETEROCIGOTO	7,75625	5,59165	,386	-6,1617	21,6742
HOMOCIGOTO 2	HOMOCIGOTO 1	-12,05853*	3,38459	,003	-20,4830	-3,6341
	HETEROCIGOTO	-4,30228	5,90808	,768	-19,0078	10,4032
HETEROCIGOTO	HOMOCIGOTO 1	-7,75625	5,59165	,386	-21,6742	6,1617
	HOMOCIGOTO 2	4,30228	5,90808	,768	-10,4032	19,0078

\* La diferencia de medias es significativa al nivel .05.

Tabla 45. Comparaciones múltiples para la respuesta al tratamiento en función de CYP3A4.

Objetivamos que la diferencia es significativa entre homocigoto 1 y homocigoto 2, por lo que la respuesta al tratamiento se subdividiría en los grupos {homocigoto 1} y {homocigoto 2, heterocigoto}, siendo los pacientes con el genotipo {homocigoto 1} los que presentan una mejor respuesta al tratamiento, como puede verse aquí:

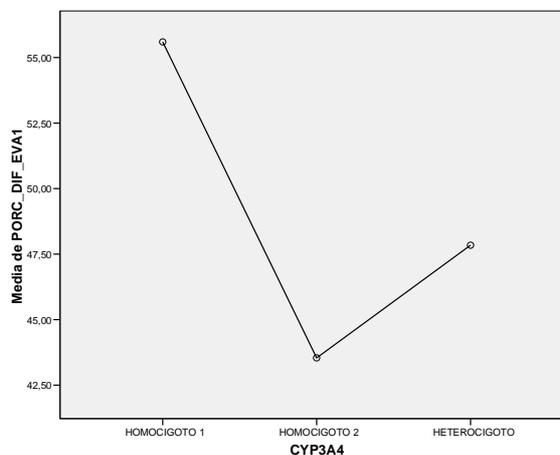


Figura 34. Respuesta al tratamiento en función del polimorfismo de CYP3A4.

Al estudiar OPRM118 utilizando como hipótesis nula que la media de la variación del dolor en los tres genotipos es igual – es decir, que la variación del dolor no depende del genotipo -, obtenemos mediante el Test de ANOVA una  $p = 0,178$  ( $> 0,05$ ), por lo que se acepta la hipótesis nula, y en ningún grupo hay diferencias respecto a la respuesta al tratamiento.

PORC\_DIF\_EVA1

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	849,543	2	424,771	1,760	,178
Intra-grupos	21723,562	90	241,373		
Total	22573,105	92			

Tabla 46. ANOVA para la valoración de la influencia de OPRM118 ( $p = NS$ )

Al explorar los efectos de los polimorfismos sobre la respuesta al tratamiento analgésico instaurado observamos que CYP3A4 tiene efectos altamente significativos ( $p = 0$ ) con respecto a la variación del dolor y la intersección de CYP3A4 con OPRM118 ( $p = 0,026$ ) y CYP3A4 con UGT2B7 ( $p = 0,045$ ) también, aunque de manera menos significativa que la intersección anterior. Sin embargo los tres polimorfismos juntos no tienen ningún efecto sobre la respuesta al tratamiento, como puede verse a continuación:

Variable dependiente: PORC\_DIF\_EVA1

Fuente	Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Significación
Modelo corregido	8562,138	19	450,639	2,348	,005
Intersección	61393,842	1	61393,842	319,874	,000
CYP3A4	4139,575	2	2069,787	10,784	,000
OPRM118	1052,318	2	526,159	2,741	,071
UGT2B7	160,327	2	80,164	,418	,660
CYP3A4 * OPRM118	1882,639	3	627,546	3,270	,026
CYP3A4 * UGT2B7	1976,742	4	494,185	2,575	,045
OPRM118 * UGT2B7	167,288	2	83,644	,436	,648
CYP3A4 * OPRM118 * UGT2B7	500,162	3	166,721	,869	,461
Error	14010,966	73	191,931		
Total	266082,436	93			
Total corregida	22573,105	92			

Tabla 48. Valoración de los efectos de los tres polimorfismos sobre la respuesta al tratamiento.

## **DISCUSIÓN**

---

Hemos centrado nuestro estudio en tres aspectos fundamentales de singular importancia que justifican los objetivos propuestos, conforman la totalidad del trabajo realizado y fundamentan las conclusiones obtenidas. En primer lugar, analizamos la percepción del dolor isquémico en pacientes afectados de arteriopatía periférica evolucionada, a partir de datos obtenidos de los pacientes con instrumentos básicos de recogida de información. A continuación ensayamos con éxito una nueva pauta analgésica para mejorar la sintomatología dolorosa de estos pacientes y, en consecuencia, su calidad de vida. Finalmente, hemos valorado la influencia de 3 polimorfismos genéticos sobre el tratamiento con buprenorfina transdérmica.

Habitualmente los pacientes con EAP que presentan dolor en las extremidades inferiores se benefician de tratamientos analgésicos por vía oral, fundamentalmente basados en administración de AINEs, como puede observarse en nuestros enfermos. Pero este tipo de pautas presenta el inconveniente de obligar a quienes sufren dolor a realizar varias tomas medicamentosas a lo largo del día, haciendo que en muchos casos disminuya la compliancia de los pacientes en el cumplimiento diario del tratamiento, con la consecuencia de un mal control del dolor de tipo isquémico, que repercute negativamente en el éxito terapéutico.

Planteamos nuestro estudio introduciendo un tratamiento analgésico que ha probado ampliamente su eficacia en el control del dolor crónico en otros ámbitos, pero que no ha sido previamente evaluado para el dolor isquémico. Se trata de la buprenorfina TTS. Este tratamiento presenta la ventaja de su aplicación transdérmica, no precisando el cambio del parche hasta pasados al menos tres días, aunque recientes publicaciones recomiendan regímenes de tratamiento con recambio al cuarto día (Likar et al, 2007), lo que mejora el seguimiento del tratamiento por parte de los arteriopatías, al evitarles la ingesta de analgésicos varias veces al día.

Para valorar el nivel de dolor percibido por estos pacientes, así como el grado de respuesta al tratamiento con buprenorfina, empleamos tres instrumentos de recogida de información: dos escalas de valoración del dolor (EVA y escala verbal) y un cuestionario de calidad de vida (EQ-5D).

La EVA es una escala subjetiva unidimensional reconocida internacionalmente, simple y fácilmente reproducible, por lo que es habitualmente utilizada en todo tipo de estudios relacionados con el dolor. En nuestro caso correlacionamos los resultados obtenidos de la EVA con los referidos por los pacientes mediante una escala verbal simple de percepción del dolor que incluye 4 categorías (leve, moderado, intenso, muy intenso), con el fin de garantizar una correcta recogida de los datos.

Entre todos los cuestionarios de calidad de vida disponibles al uso no existe ninguno específico para la valoración de ésta en los pacientes con EAP, por lo que hemos elegido el EuroQol-5D (EQ-5D) dada su sencillez, facilidad de comprensión y asequible aplicación.

Tanto el grupo de estudio como el de control, son homogéneos en número y en características de pacientes incluidos: edad, sexo, IMC, antecedentes personales médicos y quirúrgicos, antecedentes vasculares y tratamiento analgésico habitual, correspondiéndose estos datos con la epidemiología habitual de la EAP descrita en la literatura (TASC II, 2007).

Tal y como refiere Estevan, la EAP es cuatro veces más frecuente en varones que en mujeres, como sucede en nuestros dos grupos (86 y 83 varones versus 21 y 17 mujeres, respectivamente), y con una edad media de aparición de la enfermedad 10 años menor en los hombres (82,21 versus 71,54 años y 80,92 versus 72,25 años).

Una parte importante de pacientes (43,9 % en el grupo estudio y 20 % en el control) no recibían tratamiento analgésico pautado hasta el momento de la inclusión en la investigación. El resto de pacientes del proyecto seguían pautas de tratamiento similares en los dos grupos, basadas en la administración de AINEs, fundamentalmente metamizol.

En cuanto a la aparición de efectos secundarios, fundamentalmente mareos y náuseas, observamos que se presentaron en un 1 % y un 7,5 % de los pacientes de los grupos respectivos, porcentajes similares a los descritos en la literatura (Torres, 2003 ; Radbruch et al, 2003). Añadiremos al respecto que se precisó la suspensión del tratamiento con buprenorfina transdérmica en sólo 2

casos del total, por persistencia de la sintomatología emética a pesar del tratamiento sintomático con metoclopramida.

Sin embargo no objetivamos en nuestra serie pacientes con estreñimiento ni efectos adversos a nivel dérmico, a pesar de su elevada frecuencia según la literatura (Torres, 2003 ; Sorje et al, 2004). Probablemente este hecho es debido a que se re-evaluó a los pacientes al cuarto día de inicio del tratamiento, tras el primer recambio del parche.

Al estudiar la percepción que los pacientes tenían del dolor en el momento de su inclusión en el estudio constatamos que no existen diferencias estadísticamente significativas entre los grupos estudio y control, presentando una EVA media similar (6,8 y 6,3 respectivamente), correlacionándose estos valores numéricos con los expresados en la escala verbal referida por los pacientes.

Valoramos si los antecedentes personales de los pacientes del grupo estudio afectan tanto a la sensación de dolor, como la eficacia del tratamiento con buprenorfina. Se incorporan antecedentes médicos (DM, HTA, EPOC e IRC) y quirúrgicos. Aclaremos que se han incluido en el análisis los antecedentes de intervenciones quirúrgicas previas de los pacientes, por si éstas pudieran influir la percepción del dolor y/o la respuesta a la buprenorfina, ya que representaban un antecedente doloroso claro. Sin embargo no se ha analizado la posible influencia de la hepatopatía sobre la respuesta al tratamiento, ya que sólo dos pacientes de los 107 incluidos en el grupo estudio estaban diagnosticados de esta patología, y que, según refieren Tegeder et al, este antecedente tiene escasa influencia sobre la respuesta a la buprenorfina.

Al analizar en detalle el grupo estudio, se constata que algunos de los antecedentes personales afectan la percepción del dolor, objetivándose una influencia estadísticamente significativa de la DM (prevalencia: 37,4 %) y la EPOC (prevalencia: 18,7 %), refiriendo estos pacientes cifras de EVA iniciales inferiores.

Sin embargo, el sexo no se presenta como factor diferencial en cuanto a la valoración inicial del dolor, aunque debemos tener en cuenta el escaso número de mujeres incluidas en la muestra, debido a la poca incidencia de la EAP en el sexo femenino, lo que puede representar un sesgo para el análisis.

En el caso de la DM se pueden atribuir estos valores a la afectación de las terminaciones nerviosas en el contexto de la polineuropatía diabética y del síndrome metabólico, ya referido desde 1988 por Reaven. La afectación nerviosa en los diabéticos comienza por un aumento del umbral de la sensibilidad a la vibración y a la temperatura (fibras C), para posteriormente afectar al resto de fibras sensitivas del nervio (fibras A delta), lo que conlleva una menor percepción del dolor y menores requerimientos analgésicos, como ocurre en nuestros pacientes.

La influencia de la EPOC viene probablemente determinada por el tratamiento que requiere esta patología, y no por la enfermedad en sí misma, ya que todos los pacientes con EPOC incluidos en el estudio se encontraban bajo tratamiento con corticoides inhalados de forma crónica, y el efecto antiinflamatorio de estas sustancias podría influir la percepción del dolor, si bien esta hipótesis debería ser analizada con estudios específicos orientados. Por otra parte los pacientes con EPOC suelen ser varones de más de 60 años, como sucede en nuestro estudio, y como veremos posteriormente tanto el sexo masculino como la edad avanzada se caracterizan por una mayor tolerancia al dolor crónico.

La evaluación de la respuesta al tratamiento con buprenorfina transdérmica se realiza mediante la comparación de la EVA al inicio del estudio, y tras 4 días de tratamiento, una vez que se ha cambiado el primer parche. La pauta analgésica empleada en el estudio implica el recambio del parche cada 3 días, aunque recientes publicaciones han evidenciado una eficacia similar con un recambio cada 4 días (Likar R y Lorenz V 2007). Para la realización de los cálculos estadísticos se ha creado una nueva variable que representa el porcentaje de reducción de la EVA final respecto a la inicial, considerando que cuánto más grande sea este porcentaje, mejor es la respuesta al tratamiento con buprenorfina.

En ambos grupos se evidencia una reducción estadísticamente significativa de la EVA a partir de la instauración de un tratamiento hospitalario, es decir la buprenorfina en el grupo estudio y un tratamiento basado en AINEs pautados para el grupo control. Sin embargo no se objetivan diferencias estadísticamente significativas entre los pacientes tratados con buprenorfina y el grupo control

respecto a la mejoría de la sintomatología, ya que con ambas pautas se logra una reducción similar de la EVA.

Si bien nuestros resultados no demuestran diferencias estadísticamente significativas entre los grupos estudio y control, debemos tener en cuenta que el grado de cumplimiento del tratamiento en el grupo control es total, al encontrarse los pacientes ingresados en una unidad específica de hospitalización, en la cual el equipo de enfermería administra los fármacos a su debido tiempo y de forma sistemática. Esta situación difiere de la domiciliaria habitual, en la que es el propio paciente o su entorno más inmediato el que debe asegurar una correcta administración de los analgésicos, hecho que puede representar un sesgo para la respuesta en el grupo control, porque no siempre se cumplen rigurosamente las pautas terapéuticas con analgésicos orales prescritas.

Estudiamos a continuación si el sexo influye en la respuesta al tratamiento con buprenorfina, encontrando una evidencia estadística de esta asociación, ya que los varones refieren una mayor disminución de la EVA respecto a las mujeres, es decir, responden mejor al tratamiento con buprenorfina. La influencia del sexo sobre la percepción del dolor ha sido descrita ampliamente en la literatura (Ramírez-Maestre et al, 2001 ; Greenspan et al, 2007 ; Craft et al, 2007 ; Kim et al, 2004), y viene determinada no sólo por las hormonas, fundamentalmente los estrógenos, sino por la presencia de factores psicológicos y socio-culturales, e incluso raciales, que tienen como consecuencia final la presencia de mecanismos neuronales de percepción del dolor, diferentes entre ambos sexos.

Los resultados obtenidos en situaciones de dolor experimental indican que los hombres tienen una mayor tolerancia al dolor que las mujeres, sin que existan diferencias en el umbral, como demuestra en su estudio Ramírez-Maestre (Ramírez-Maestre et al, 2001), no pudiendo dilucidar si esta diferencia es propia del sexo o es fruto del proceso de socialización diferencial entre hombres y mujeres.

Según describen Greenspan et al. en el consenso sobre diferencias en dolor y analgesia en función del sexo y del género, publicado en 2007, debemos diferenciar en primer lugar sexo de género, refiriéndose el sexo a las diferencias

biológicas entre los individuos, y género las diferencias sociales, es decir “masculinidad” y “feminidad”. En cuanto a la influencia del sexo sobre el dolor, estos autores señalan que en los pacientes pre-púberes no se objetivan diferencias de percepción del dolor entre los dos sexos, apareciendo éstas a la par que el desarrollo sexual, fundamentalmente atribuidas a los cambios hormonales que se producen (ciclo menstrual, ritmos circadianos de secreción...), presentando las mujeres una mayor incidencia de patología dolorosa, asociada a una mayor prevalencia de ansiedad en el sexo femenino.

Se ha establecido que los antecedentes de dolor crónico y de enfermedades concomitantes influyen en la percepción del dolor, siendo las mujeres las que presentan una mayor afectación respecto a un estímulo similar. Las diferencias físicas y biológicas que existen entre hombres y mujeres condicionan que la respuesta a un tratamiento, así como la aparición y severidad de efectos secundarios, sean diferentes a favor del sexo masculino, como sucede en nuestro estudio, ya que por lo general los varones pesan más que las mujeres, pero la mayor parte de las dosis de los medicamentos no se corrigen según el peso corporal; las mujeres presentan mayor porcentaje de grasa corporal que los varones, lo que puede afectar el volumen de distribución de ciertas drogas; del mismo modo que las mujeres presentan una prolongación significativa del tiempo de residencia gástrica de los fármacos con cubierta entérica, y un marcado retardo de la absorción con las comidas, en comparación con los hombres.

Al investigar la influencia de la edad sobre el dolor y la respuesta al tratamiento no obtenemos significación estadística. Los diferentes estudios al respecto presentan resultados contradictorios, aunque como refiere Ramírez-Maestre (Ramírez-Maestre et al, 2001), la mayoría coinciden en señalar que las personas de mayor edad tienen un umbral del dolor superior a las personas jóvenes, fundamentalmente respecto al dolor crónico, ya que el tiempo durante el cual se ha padecido el dolor es de gran relevancia por el impacto que tiene sobre las variables psicológicas y emocionales de la experiencia dolorosa. Debemos tener en cuenta no sólo que la mediana de edad de la muestra de pacientes incluidos en el estudio es elevada (73,78 y 75,15 años en los grupos estudio y control respectivamente), sino también que la desviación estándar es pequeña,

por lo que los pacientes de menor edad de la muestra no son jóvenes, en otras palabras se trata de una muestra que estudia pacientes de edad avanzada, como corresponde a la patología estudiada.

Cuando se analiza si los antecedentes personales afectan la respuesta al tratamiento, es decir si las enfermedades previas de los pacientes inducen una mayor reducción de la EVA entre el primer y el cuarto día de tratamiento, no se objetivan influencias estadísticamente significativas de ninguna de las patologías médicas estudiadas (DM, IRC, HTA y EPOC) ni de los antecedentes quirúrgicos.

El tratamiento con buprenorfina se ha mostrado al menos tan eficaz como los tratamientos habituales con AINEs, administrados intrahospitalariamente de forma pautaada, pero la administración transdérmica requiere al menos 24 - 48 horas para que las concentraciones circulantes del fármaco sean efectivas como se indica en su ficha técnica (Grünenthal, 2002), por lo que en nuestro protocolo se contempla como analgésico de rescate el paracetamol por vía parenteral.

Del total de pacientes incluidos en el grupo estudio sólo un 11,9% no solicitaron ningún analgésico de rescate. La gran mayoría solicitó en algún momento paracetamol, fundamentalmente durante las primeras 48 horas. De los 19 pacientes que requirieron otro analgésico diferente o suplementario al paracetamol, debemos señalar que los 5 que precisaron opioides mayores (petidina clorhidrato y cloruro mórfico) presentaban arteriopatías grado IV, con extensas zonas de gangrena, siendo intervenidos entre el tercer y el quinto día de ingreso, precisando 3 de ellos amputaciones mayores al no existir posibilidades de revascularización.

Cuando se valora la calidad de vida de los pacientes y la repercusión que el tratamiento analgésico tiene sobre ella, mediante el cuestionario EQ-5D, se constata que los pacientes presentan una importante afectación de su calidad de vida en el momento del ingreso, basada fundamentalmente en el dolor referido y en las dificultades para la movilidad.

El tratamiento analgésico en ambos grupos sólo mejora la afectación en la calidad de vida referente al dolor, sin encontrarse mejoría para el resto de items estudiados (movilidad, cuidado personal y realización de actividades cotidianas),

---

objetivándose incluso un empeoramiento en lo referente a la ansiedad y/o depresión de los pacientes.

La justificación encontrada para estos resultados radica en que los enfermos con arteriopatía periférica avanzada presentan claudicación intermitente, con dificultades para la marcha y la movilización, anteriores al estudio. En casos más evolucionados, 28 en el grupo estudio y 33 en el control, han sido intervenidos previamente, con 12 amputaciones en el primer grupo y 16 en el segundo, lo que condiciona una merma en las capacidades de movilidad, cuidado personal y realización de las actividades cotidianas. El empeoramiento de la ansiedad y/o depresión percibidas por los pacientes se atribuye al estrés que supone el ingreso hospitalario, y al planteamiento terapéutico que se propone a estos pacientes, quirúrgico en la mayoría de los casos.

Desde un punto de vista clínico es interesante valorar la repercusión que el grado de arteriopatía tiene sobre el dolor en los pacientes con EAP. Para ello evaluamos tanto la percepción inicial del dolor, como la respuesta al tratamiento en función del grado de arteriopatía (Fontaine III y IV) y del ITB.

Los resultados en relación al estadio clínico de arteriopatía son consecuentes con la evolución de la enfermedad, al objetivarse una relación estadísticamente significativa entre el grado de arteriopatía y las cifras de EVA, en el momento de la inclusión en el estudio. Estos resultados son concordantes con la historia de la EAP y los datos publicados en la literatura, ya que los pacientes con estadio IV de Fontaine presentan una mayor afectación de las extremidades, con cambios tróficos en las piernas, signos de gangrena, e incluso pérdida de sustancia. A diferencia del estadio III, en el cual los pacientes presentan estenosis críticas, con deficiente perfusión tisular, que condiciona una claudicación a término (con perímetro de marcha inferior a 50 metros) o dolor en reposo, cuando la extremidad no se encuentra en posición declive.

Sin embargo cuando se evalúa la respuesta al tratamiento con buprenorfina en función del estadio de Fontaine, no se evidencia asociación estadística. Independientemente del estadio de arteriopatía se obtiene con el tratamiento un porcentaje de reducción similar de la EVA entre el día de inclusión en el estudio y

el cuarto día de tratamiento, aunque los valores finales de la EVA en el grupo de pacientes con arteriopatía estadio IV son mayores que en los de estadio III.

El ITB es la relación entre la presión arterial a nivel maleolar y a nivel braquial, y se considera el mejor indicador de la EAP, presentando incluso un valor pronóstico, como se ha explicado previamente. Al realizar el análisis estadístico no se encuentra una relación entre los valores del ITB con la evaluación inicial del dolor, ni con la respuesta al tratamiento. La explicación a estos sorprendentes resultados puede encontrarse en la muestra de pacientes incluidos en el estudio. Al analizar los datos epidemiológicos relativos al grupo estudio, se puede constatar que existe un gran número de pacientes con un ITB superior a 1 (14,9 %), es decir pacientes con calcificaciones de Mönckeberg en las paredes arteriales, pertenecientes al grupo de diabéticos, que aún presentando un estadio clínico de arteriopatía evolucionada, no tienen expresión de dicha afectación a nivel del ITB, y esto puede condicionar los resultados obtenidos.

Finalmente nos centramos en la farmacogenética del proyecto, mediante la interpretación de los resultados relativos al análisis de los polimorfismos genéticos de los pacientes incluidos en el grupo estudio.

La distribución de los polimorfismos en nuestros pacientes no puede ser comparada con las cifras de prevalencia publicadas en la literatura, ya que no existen estudios específicos de las frecuencias de los polimorfismos de los tres genes estudiados en este proyecto, es decir, en poblaciones españolas.

Se ha incluido el estudio de tres polimorfismos en el proyecto, dos de ellos afectan directamente al metabolismo de la buprenorfina, la glucuronosiltransferasa y el citocromo P450, y uno de ellos a su modo de acción, el receptor opioide *mu*. Al igual que con el resto de variables se estudia la influencia de las diferentes variantes alélicas sobre la respuesta al tratamiento.

Mediante análisis de la varianza (ANOVA), al tratarse de tres genotipos diferentes por gen, se evidencia una influencia estadísticamente significativa de los polimorfismos de CYP3A4 sobre el porcentaje de reducción de la EVA. Para determinar en qué genotipo hay diferencias se utilizan las pruebas a posteriori o

post hoc, poniendo de manifiesto que el genotipo que se asocia a una mayor reducción de la EVA, es decir a una mejor respuesta al tratamiento con buprenorfina transdérmica en nuestro grupo de pacientes, es el homocigoto salvaje (AA) para CYP3A4. Los pacientes homocigotos presentan una reducción media de un 55% entre los dos valores de EVA inicial y final.

Como ha sido descrito previamente por Kobayashi et al, el citocromo está implicado en el metabolismo de la buprenorfina, al catabolizar el fármaco mediante N-dealquilación a norbuprenorfina. Según refieren Umehara et al, tanto el compuesto original como su metabolito son inhibidores del CYP3A4, si bien a dosis terapéuticas este efecto no tiene implicaciones para la práctica clínica habitual. Nuestros resultados no demuestran concordancia con estas descripciones, ya que constatamos que los pacientes homocigotos salvajes presentan una mejor respuesta, es decir, sí existe una implicación para la práctica clínica habitual.

Sin embargo, no se objetivan influencias estadísticamente significativas para los polimorfismos de UGT2B7 ni de OPRM118 de forma aislada, aunque cuando se asocian los 3 genotipos, como sucede in vivo en los pacientes, ya que los genes no se presentan de manera separada, se constata que la influencia favorable que los homocigotos salvajes para CYP3A4 ejercen sobre la respuesta a la buprenorfina, se hacen extensibles a las asociaciones de genotipo que incluyan a los homocigotos AA de CYP3A4, con UGT2B7 y con OPRM118.

Los resultados obtenidos en nuestro estudio no son concordantes con la literatura, ya que la implicación de los polimorfismos de UGT2B7 sobre el metabolismo de la opioides ha sido descrita previamente. Autores como Coffman et al. refieren que la modificación en la posición 268 de Histidina por Tirosina, es responsable de una alteración en la función de la proteína, que aumenta diez veces su actividad in vitro. Otros autores, como Rouguieg et al, han investigado recientemente la influencia de los polimorfismos de UGT2B7 sobre el metabolismo de la buprenorfina, identificando a esta enzima como responsable de un 41% de la glucuronidación del fármaco, por lo que los polimorfismos de este gen serían responsables de alteraciones a nivel de la respuesta analgésica de los

pacientes. El pequeño tamaño muestral de nuestro estudio podría justificar esta discrepancia con los resultados de los autores citados.

Así mismo, el polimorfismo de OPRM (c.118 A>G) provoca la delección de un sitio de glicosilación extracelular, condicionando una menor expresión del receptor y de su señal, como han publicado Zhang et al. y Oertel et al. Los pacientes portadores de este polimorfismo requieren mayores dosis de opioides para conseguir el efecto analgésico deseado, y no presentan mayores tasas de efectos secundarios, como náuseas y depresión respiratoria. Sin embargo en los pacientes estudiados en nuestro trabajo no se objetiva influencia estadísticamente significativa del polimorfismo de este gen sobre la respuesta clínica, si bien la tendencia objetivada al analizar los requerimientos analgésicos suplementarios por parte de los pacientes es concordante con lo descrito en la literatura, ya que los pacientes homocigotos GG y heterocigotos AG para OPRM118 han solicitado más dosis de paracetamol y durante más tiempo (hasta 72 horas en ocho casos), y otros doce enfermos con estos polimorfismos demandaron más analgésicos, siendo precisa la administración de AINEs (metamizol).

Estos resultados abren paso a nuevas posibilidades de planteamiento terapéutico, ya que se podría programar un tratamiento analgésico personalizado orientado en función del genotipo del paciente. Se trataría concretamente de determinar, mediante el análisis genético, el genotipo del gen CYP3A4, para predecir si el paciente va a presentar un buen control de su dolor isquémico con la buprenorfina transdérmica. No obstante, la estimación económica del análisis genético es compleja debido a variables difíciles de objetivar, como factores relacionados con el tiempo empleado en la determinación de los polimorfismos, productos utilizados en la reacción en cadena de la polimerasa y las digestiones, así como la influencia de factores humanos aleatorios. Todo ello aconseja llevar a cabo estudios posteriores para cuantificar los costes del análisis con el fin de valorar su rentabilidad en la aplicación del tratamiento.

## **CONCLUSIONES**

---

En relación con la población incluida en nuestro estudio, concluimos que:

1. La buprenorfina transdérmica es eficaz para el control del dolor isquémico en los pacientes con arteriopatía grado III-IV de las extremidades inferiores, teniendo un escaso impacto favorable sobre la calidad de vida de estos enfermos.
2. Los pacientes con antecedentes personales de DM y EPOC presentan un umbral del dolor isquémico más alto. El sexo masculino presenta una mejor respuesta al tratamiento con buprenorfina transdérmica. La edad de los enfermos no influye en la percepción del dolor, ni en la respuesta al tratamiento analgésico.
3. Los homocigotos salvajes para el gen CYP3A4 presentan una mejor respuesta al tratamiento con buprenorfina transdérmica. Los polimorfismos de los genes UGT2B7 y OPRM118 no influyen sobre la respuesta al tratamiento analgésico instaurado.

## BIBLIOGRAFÍA

---

1. Abbadie C, Pasternak GW, Aicher SA. Presynaptic localization of the carboxy-terminus epitopes of the mu opioid receptor splice variants MOR-1C and MOR-1D in the superficial laminae of the rat spinal cord. *Neuroscience* 2001;106:833-842
2. AbuRahma AF, Robinson PA, Powell M, Bastug D, Boland JP. Sympathectomy for reflex sympathetic dystrophy: factors affecting outcome. *Ann Vasc Surg* 1994;8:372-379
3. Andreozzi GM, Martini R. Evolución final de la extremidad con claudicación intermitente. *Eur Heart J Supplements* 2002;4:41-45
4. Ansell BJ, Watson KE, Fogelman AM. An evidence-based assessment of the NCEP Adult Treatment Panel II guidelines. *National Cholesterol Education Program. JAMA* 1999;282:2051-2057
5. Arias A, Feinn R, Kranzler HR. Association of an Asn40Asp (A118G) polymorphism in the mu-opioid receptor gene with substance dependence: a meta-analysis. *Drug Alcohol Depend* 2006;83:262-268
6. Armero P, Muriel C, Santos J, Sánchez-Montero FJ, Rodríguez RE, González-Sarmiento R. COMT (Val158Met) polymorphism is not associated to neuropathic pain in a Spanish population. *Eur J Pain* 2005 Jun;9(3):229-232
7. Atkinson RE, Schofield P, Mellor P. The efficacy in sequential use of buprenorphine and morphine in advanced cancer pain. En: Doyle D (ed). *Opioids in the Treatment of Cancer Pain*. London: Royal Society of Medicine, 1990:81-87
8. Aurilio C, Pace MC, Passavanti MB. Transdermal buprenorphine combined with spinal morphine and naropine for pain relief in chronic peripheral vasculopathy. *Minerva Anesthesiol* 2005;71:445-449
9. Bach V, Kamp-Jensen M, Jensen N-H, Eriksen J. Buprenorphine and sustained release morphine-effect and side-effects in chronic use. *Pain Clinic* 1991;4:87-93
10. Badia X, Roset M, Montserrat S, Herdman M, Segura A. The Spanish version of EuroQol: a description and its applications. *European Quality of Life scale. Med Clin* 1999;112:79-85
11. Baker J, Rainey PM, Moody DE, Morse GD, Ma Q, McCance-Katz EF. Interactions between buprenorphine and antiretrovirals: Nucleos(t)ide Reverse Transcriptase Inhibitors (NRTI) Didanosine, Lamivudine, and Tenofovir. *Am J Addict* 2010;19:17-29

12. Barutell C, Camba A, González-Escalada JR, Rodríguez M; Opioid Group of the Spanish Society for the Study of Pain. High dose transdermal buprenorphine for moderate to severe pain in spanish pain centres - a retrospective multicenter safety and efficacy study. *Pain Pract* 2008;8:355-361
13. Bassols A, Bosh F, Campillo M, Cañellas M, Baños JE. An epidemiological comparison of pain complaints in the general population of Catalonia (Spain). *Pain* 1999;83:9-16
14. Bayes R. Aspectos psicológicos del dolor. *JANO* 1986;39:111-122
15. Beebe HG, Dawson DL, Cutler BS, Herd JA, Strandness DE Jr, Bortey EB, Forbes WP. A new pharmacological treatment for intermittent claudication: results of a randomized, multicenter trial. *Arch Intern Med* 1999;159:2041-2050
16. Bergen AW, Kokoszka J, Peterson R, Long JC, Virkkunen M, Linnoila M, Goldman D. Mu opioid receptor gene variants: lack of association with alcohol dependence. *Mol Psychiatry* 1997;2:490-494
17. Berkley KJ. Sex differences in pain. *Behav Brain Sci.* 1997;20:371-380
18. Berner B, John VA. Pharmacokinetic characterization of transdermal delivery systems. *Clin Pharmacokinet* 1994;26:212-234
19. Betticher DC, Thatcher N, Altermatt HJ, Hoban P, Ryder WD, Heighway J. Alternate splicing produces a novel cyclin D1 transcript. *Oncogene* 1995;11:1005-1011
20. Beyer A, Koch T, Schröder H, Schulz S, Höllt V. Effect of the A118G polymorphism on binding affinity, potency and agonist-mediated endocytosis, desensitization, and resensitization of the human mu-opioid receptor. *J Neurochem* 2004;89:553-560
21. Bhasker CR, McKinnon W, Stone A, Lo AC, Kubota T, Ishizaki T, Miners JO. Genetic polymorphism of UDP-glucuronosyltransferase 2B7 (UGT2B7) at amino acid 268: ethnic diversity of alleles and potential clinical significance. *Pharmacogenetics* 2000;10:679-685
22. Blanes JI, Cairols MA, Marrugat J. ESTIME. Prevalence of peripheral artery disease and its associated risk factors in Spain: The ESTIME Study. *Int Angiol* 2009;28:20-25
23. Boas RA, Villiger JW. Clinical actions of fentanyl and buprenorphine: the significance of receptor binding. *Br J Anaesth* 1985;57:192-196

24. Böhme K, Likar R. Efficacy and tolerability of a new opioid analgesic formulation, buprenorphine transdermal therapeutic system (TDS), in the treatment of patients with chronic pain. A randomised, double-blind, placebo-controlled study. *The Pain Clinic* 2003;15:193-202
25. Böhme K. Buprenorphine in a transdermal therapeutic system. A new option. *Clin Rheumatol* 2002;Suppl 1:13-16
26. Bonica JJ. Definitions and taxonomy of pain. En: *The management of pain*. 2<sup>nd</sup> edition. Philadelphia: Lea & Febiger (eds.),1990:18-27
27. Bonica JJ. Postoperative pain. En: Bonica JJ. *The management of pain*. Tomo I, 2<sup>a</sup> ed. Philadelphia: Lea & Febinger 1990;461-480
28. Botstein D, Risch N. Discovering genotypes underlying human phenotypes: past successes for mendelian disease, future approaches for complex disease. *Nat Genet* 2003;33 Suppl:228-237
29. Breivik H, Collett B, Ventafridda V, Cohen R, Gallacher D. Survey of chronic pain in Europe: prevalence, impact on daily life, and treatment. *Eur J Pain* 2006;10:287-333
30. Budd K. Buprenorphine. *Clinis Anaesthesiol* 1983;1:147-179
31. Budd K. Immunosuppressive effects induced by opioid analgesics. *IMRAPT* 2002;14:3-7
32. Bullingham RES, McQuay HJ, Dwyer D, et al. Sublingual buprenorphine used postoperatively: clinical observations and preliminary pharmacokinetic analysis. *Br J Clin Pharmacol* 1981;12:117-122
33. Bullingham RES, McQuay HJ, Moore A, Bennett MRD. Buprenorphine kinetics. *Clin Pharmacol Ther* 1980;28:667-672
34. Bullingham RES, McQuay HJ, Moore RA, Weir L. An oral buprenorphine and paracetamol combination compared with paracetamol alone: a single dose double-blind postoperative study. *Br J Pharca* 1981;12:863-867
35. Buskila D, Sarzi-Puttini P, Ablin JN. The genetics of fibromyalgia syndrome. *Pharmacogenomics* 2007;8:67-74
36. Callejo Melgosa AM, Martínez JC, Fuentes MJ, Martín C. Allergic contact dermatitis from buprenorphine. *Allergy* 2005;60:1217-1218
37. Camba A. Situación actual en el tratamiento del dolor según la escalera de la OMS. En: *Farmacoterapia para el control del dolor: Pautas de uso*. Reunión de Expertos. Fundación Grünenthal (ed.),2009:123-125

38. Cambria RP, Kaufman JA, L'Italien GJ, Gertler JP, LaMuraglia GM, Brewster DC, et al. Magnetic resonance angiography in the management of lower extremity arterial occlusive disease: a prospective study. *J Vasc Surg* 1997;25:380-389
39. Campa D, Gioia A, Tomei A, Poli P, Barale R. Association of ABCB1/MDR1 and OPRM1 gene polymorphisms with morphine pain relief. *Clin Pharmacol Ther* 2008;83:559-566
40. Campora E, Merlini L, Pace M, Bruzzone M, Luzzani M, Gottlieb A, et al. The incidence of narcotic-induced emesis. *J Pain Symptom Manage* 1991;6:428-430
41. Cañizo MC, Lozano F, González-Porras JR, Barros M, López-Holgado N, Briz E, Sánchez-Guijo FM. Peripheral endothelial progenitor cells (CD133 +) for therapeutic vasculogenesis in a patient with critical limb ischemia. One year follow-up. *Cytotherapy* 2007;9:99-102
42. CAPRIE Steering Committee. A randomised, blinded, trial of clopidogrel versus aspirin in patients of risk of ischaemic events (CAPRIE). *Lancet* 1996;348:1329-1339
43. Cargill M, Altshuler D, Ireland J, Sklar P, Ardlie K, Patil N, et al. Characterization of single-nucleotide polymorphisms in coding regions of human genes. *Nat Genet* 1999;22:231-238
44. Cavalli SA, Hirata MH, Hirata RD. Detection of MbolI polymorphism at the 5' promoter region of CYP3A4. *Clin Chem* 2001;47:348-351
45. Chang Y, Moody DE. Glucuronidation of buprenorphine and norbuprenorphine by human liver microsomes and UDP-glucuronosyltransferases. *Drug Metab Lett* 2009;3:101-107
46. Chapman CR, Hill HF, Saeger L, et al. Profiles of opioid analgesia in humans after intravenous bolus administration: alfentanil, fentanyl and morphine compared on experimental pain. *Pain* 1990;43:47-55
47. Choi I, Kim SY, Kim H, Kang NS, Bae MA, Yoo SE, Jung J, No KT. Classification models for CYP450 3A4 inhibitors and non-inhibitors. *Eur J Med Chem* 2009;44:2354-2360
48. Chou WY, Wang CH, Liu PH, Liu CC, Tseng CC, Jawan B. Human opioid receptor A118G polymorphism affects intravenous patient-controlled analgesia morphine consumption after total abdominal hysterectomy. *Anesthesiology* 2006;105:334-337

49. Christensen S. Lower extremity amputations in the county of Aalborg 1961-1971. Population study and follow-up. *Acta Orthop Scand* 1976;47:329-334
50. Christrup LL. Morphine metabolites. *Acta Anaesthesiol Scand* 1997;41:116-122
51. Clagett GP, Sobel M, Jackson MR, Lip GY, Tangelder M, Verhaeghe R. Antithrombotic therapy in peripheral arterial occlusive disease: the Seventh ACCP Conference on Antithrombotic and Thrombolytic Therapy. *Chest* 2004;126:609S-626S
52. Clark JW, Bindra D. Individual differences in pain thresholds. *Can J Psychol* 1956;10:69-76
53. Coffman BL, King CD, Rios GR, Tephly TR. The glucuronidation of opioids, other xenobiotics, and androgens by human UGT2B7Y(268) and UGT2B7H(268). *Drug Metab Dispos* 1998;26:73-77
54. Coffman BL, Rios GR, King CD, Tephly TR. Human UGT2B7 catalyzes morphine glucuronidation. *Drug Metab Dispos* 1997;25:1-4
55. Coller JK, Christrup LL, Somogyi AA. Role of active metabolites in the use of opioids. *Eur J Clin Pharmacol* 2009;65:121-139
56. Colombini N, Elias R, Busuttill M, Dubuc M, Einaudi MA, Bues-Charbit M. Hospital morphine preparation for abstinence syndrome in newborns exposed to buprenorphine or methadone. *Pharm World Sci* 2008;30:227-34
57. Colson NJ, Fernandez F, Lea RA, Griffiths LR. The search for migraine genes: an overview of current knowledge. *Cell Mol Life Sci* 2007;64:331-344
58. Comer VG, Annitto WJ. Buprenorphine: a safe method for detoxifying pregnant heroin addicts and their unborn. *Am J Addict* 2004;13:317-8
59. Cosmi B, Conti E, Coccheri S. Anticoagulants (heparin, low molecular weight heparin and oral anticoagulants) for intermittent claudication. *Cochrane Database Syst Rev* 2001;3:CD001999
60. Craft R. Modulation of pain by estrogens. *Pain* 2007;132(Suppl 1):S3-12
61. Crawford DC, Akey DT, Nickerson DA. The patterns of natural variation in human genes. *Annu Rev Genomics Hum Genet* 2005;6:287-312
62. Cronenwett JL, Warner KG, Zelenock GB, Whitehouse WM Jr, Graham LM, Lindenauer M, Stanley JC. Intermittent claudication. Current results of nonoperative management. *Arch Surg* 1984;119:430-436

63. Da Silva A, Widmer LK, Ziegler HW, Nissen C, Schweizer W. The Basle longitudinal study: report on the relation of initial glucose level to baseline ECG abnormalities, peripheral artery disease, and subsequent mortality. *J Chronic Dis* 1979;32:797-803
64. Dahan A. Opioid-induced respiratory effects: new data on buprenorphine. *Palliat Med* 2006;20:3-8
65. De Backer T, Vander Stichele R, Leheret P, Van Bortel L. Naftidrofuryl for intermittent claudication: meta-analysis based on individual patient data. *BMJ* 2009;338:603
66. De Haro J, Acin F, Lopez-Quintana A, Florez A, Martinez-Aguilar E, Varela C. Meta-analysis of randomized, controlled clinical trials in angiogenesis: gene and cell therapy in peripheral arterial disease. *Heart Vessels* 2009;24:321-328
67. De la Calle JL. Sistemas y vías para el uso de analgésicos. En: *Farmacoterapia para el control del dolor: Pautas de uso. Reunión de Expertos. Fundación Grünenthal (ed.), 2009:41-49*
68. DeHaven-Hudkins DL, DeHaven RN, Little PJ, Techner LM. The involvement of the mu-opioid receptor in gastrointestinal pathophysiology: therapeutic opportunities for antagonism at this receptor. *Pharmacol Ther* 2008;117:162-187
69. Diehm N, Pattynama PM, Jaff MR, Cremonesi A, Becker GJ, Hopkins LN, et al. Clinical endpoints in peripheral endovascular revascularization trials: a case for standardized definitions. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 2008;36:409-419
70. Dormandy J, Heeck L, Vig S. Peripheral arterial occlusive disease: clinical data for decision making. Introduction. *Semin Vasc Surg* 1999;12:95
71. Dormandy JA, Murray GD. The fate of the claudicant – a prospective study of 1969 claudicants. *Eur J Vasc Surg* 1991;5:131-133
72. Dormandy JA, Rutherford RB. Management of peripheral arterial disease (PAD). TASC Working Group. TransAtlantic Inter-Society Consensus (TASC). *J Vasc Surg* 2000;31:S1-S296
73. Downing JW, Leary WP, White ES. Buprenorphine: a new potent long-acting synthetic analgesic. Comparison with morphine. *Br J Anaesth* 1977;49:251-255
74. Duan J, Wainwright MS, Comeron JM, Saitou N, Sanders AR, Gelernter J, Gejman PV. Synonymous mutations in the human dopamine receptor D2 (DRD2) affect mRNA stability and synthesis of the receptor. *Hum Mol Genet* 2003;12:205-216

75. Dum JE, Herz A. In vivo receptor binding of the opiate partial agonist, buprenorphine, correlated with its agonistic and antagonistic actions. *Br J Pharmacol* 1981;74:627-633
76. Ebner E, Wiedmann M. Transdermal buprenorphine during pregnancy. *Schmerz* 2006;20:334-337
77. Estevan J. Aspectos epidemiológicos de las enfermedades vasculares periféricas. En: Actualización en patología vascular para el médico en atención primaria. Módulo 1. Barcelona: Doyma (ed), 2002
78. Estevan JM. Guía de actuación en patología vascular para atención primaria. Madrid: Adadali (eds),2004:25-28
79. Estevan Solano JM. En: Protocolos de patología vascular para Atención Primaria. Oviedo: INSALUD de Asturias (ed), 2000
80. Evans HC, Easthope SE. Transdermal buprenorphine. *Drugs* 2003;63:1999-2010
81. Evans WE, McLeod HL. Pharmacogenomics - drug disposition, drug targets, and side effects. *N Engl J Med* 2003;348:538-549
82. Evans WE, Relling MV. Pharmacogenomics: translating functional genomics into rational therapeutics. *Science* 1999;286:487-491
83. Feeney GF, Fairweather P. Groin tissue necrosis requiring skin graft following parenteral abuse of buprenorphine tablets. *Drug Alcohol Rev* 2003;22:359-361
84. Filitz J, Griessinger N, Sittl R, Likar R, Schüttler J, Koppert W. Effects of intermittent hemodialysis on buprenorphine and norbuprenorphine plasma concentrations in chronic pain patients treated with transdermal buprenorphine. *Eur J Pain* 2006;10:743-748
85. Fillingim RB. Individual differences in pain responses. *Curr Rheumatol Rep* 2005;7:342-347
86. Flor H, Turk DC, Rudy TE. Pain and families. II. Assessment and treatment. *Pain* 1987;30:29-45
87. Flores CM, Mogil JS. The pharmacogenetics of analgesia: toward a genetically-based approach to pain management. *Pharmacogenomics* 2001;2:177-194
88. Foulkes T, Wood JN. Pain genes. *PLoS Genet.* 2008 Jul 25;4(7):e1000086

- 
89. Freire E, Camba MA. Tratamiento con opiáceos en el paciente geriátrico. En: Manual práctico sobre la utilización de opiáceos potentes en el tratamiento del dolor crónico. SED (ed). La Coruña, 2003:183-203
  90. Freye E, Anderson-Hillemacher A, Ritzdorf I, Levy JV. Opioid rotation from high-dose morphine to transdermal buprenorphine (Transtec) in chronic pain patients. *Pain Pract* 2007;7:123-129
  91. Gal TJ. Naloxone reversal of buprenorphine-induced respiratory depression. *Clin Pharmacol Ther* 1989;45:66-71
  92. Garfinkel D. Studies on pig liver microsomes. I. Enzymic and pigment composition of different microsomal fractions. *Arch Biochem Biophys* 1958;77:493-509
  93. Germani A, Di Campli C, Pompilio G, Biglioli P, Capogrossi MC. Regenerative therapy in peripheral artery disease. *Cardiovasc Ther* 2009;27:289-304
  94. Gillman PK. Monoamine oxidase inhibitors, opioid analgesics and serotonin toxicity. *Br J Anaesth* 2005;95:434-441
  95. Girolami B, Bernardi E, Prins MH, Ten Cate JW, Hettiarachchi R, Prandoni P, et al. Treatment of intermittent claudication with physical training, smoking cessation, pentoxifylline, or nafronyl: a meta-analysis. *Arch Intern Med* 1999;159:337-345
  96. Girolami B, Bernardi E, Prins MH, ten Cate JW, Prandoni P, Hettiarachchi R, et al. Antithrombotic drugs in the primary medical management of intermittent claudication: a meta-analysis. *Thromb Haemost* 1999;81:715-722
  97. González R. Genética y fármacos analgésicos. En: Farmacoterapia para el control del dolor: Pautas de uso. Reunión de Expertos. Fundación Grünenthal (ed.), 2009:127-134
  98. Gowing L, Ali R, White JM. Buprenorphine for the management of opioid withdrawal. *Cochrane Database of Systematic Reviews* 2009, Issue 3. Art. No.: CD002025
  99. Grancharov K, Naydenova Z, Lozeva S, Golovinsky E. Natural and synthetic inhibitors of UDP-glucuronosyltransferase. *Pharmacol Ther* 2001;89:171-186
  100. Greenspan JD, Craft RM, LeResche L, Arendt-Nielsen L, Berkley KJ, Fillingim RB, Gold MS, Holdcroft A, Lautenbacher S, Mayer EA, Mogil JS, Murphy AZ, Traub RJ; Consensus Working Group of the Sex, Gender, and Pain SIG of the IASP. Studying sex and gender differences in pain and analgesia: a consensus report. *Pain* 2007;132(Suppl 1):S26-45

101. Greenwald HP. Interethnic differences in pain perception. *Pain* 1991;44:157-163
102. Griessinger N, Sittl R, Likar R. Transdermal buprenorphine in clinical practice--a post-marketing surveillance study in 13,179 patients. *Curr Med Res Opin* 2005;21:1147-56
103. Grünenthal GmbH. Transtect<sup>®</sup> scientific monograph. Aachen: Grünenthal GmbH, 2002.
104. Guía del tratamiento del dolor en Cirugía Mayor Ambulatoria. Recomendaciones de la Asociación Española de Cirugía Mayor Ambulatoria (ASECMA), 2001.
105. Gulati S, Coughlin PA, Hatfield J, Chetter IC. Quality of life in patients with lower limb ischemia; revised suggestions for analysis. *J Vasc Surg* 2009;49:122-126
106. Gwathmey O, Walker T, Byrd CW. Continuous epidural sympathetic block as a diagnostic and therapeutic aid for peripheral arterial diseases. *Ann Surg* 1963;157:989-1000
107. Hale WE, Marks RG, May FE, Moore MT, Stewart RB. Epidemiology of intermittent claudication: evaluation of risk factors. *Age Ageing* 1988;17:57-60
108. Han W, Ide S, Sora I, Yamamoto H, Ikeda K. A possible genetic mechanism underlying individual and interstrain differences in opioid actions: focus on the mu opioid receptor gene. *Ann N Y Acad Sci* 2004;1025:370-375
109. Hand CW, Sear JW, Uppington J. Buprenorphine disposition in patients with renal impairment: single and continuous dosing, with special reference to metabolites. *Br J Anaesth* 1990;64:276-282
110. Hayashida M, Nagashima M, Satoh Y, Katoh R, Tagami M, Ide S, et al. Analgesic requirements after major abdominal surgery are associated with OPRM1 gene polymorphism genotype and haplotype. *Pharmacogenomics* 2008;9:1605-1616
111. Hayes BD, Klein-Schwartz W, Doyon S. Toxicity of buprenorphine overdoses in children. *Pediatrics* 2008;121:782-786
112. Hayes MJ, Fraser AR, Hampton JR. Randomised trial comparing buprenorphine and diamorphine for chest pain in suspected myocardial infarction. *BMJ* 1979;2:300-302

- 
113. Heel RC, Brogden RN, Speight TM, Avery GS. Buprenorphine: a review of its pharmacological properties and therapeutic efficacy. *Drugs* 1979;17:81-1193
114. Heel RC, Brogden RN, Speight TM, Avery GS. Buprenorphine: a review of its pharmacological properties and therapeutic efficacy. *Drugs* 1979;17:81-110
115. Heffernan AM, Rowbotham DJ. Postoperative nausea and vomiting – time for balanced antiemesis? *Br J Anaesth* 2000;85:675-677
116. Hernández E, Martí X, Barjau E, Riera S, Cairols MA. Pacientes con isquemia crítica de extremidades inferiores: impacto del tratamiento en la calidad de vida. *Angiología* 2002;54:5-11
117. Hervé S, Riachi G, Noblet C, Guillement N, Tanasescu S, Gorla O, et al. Acute hepatitis due to buprenorphine administration. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2004;16:1033-1037
118. Hiatt WR. Medical treatment of peripheral arterial disease and claudication. *N Engl J Med* 2001;344:1608-1621
119. Hicken GJ, Lossing AG, Ameli M. Assessment of generic health-related quality of life in patients with intermittent claudication. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 2000;20:336-341
120. Hirsch AT, Haskal ZJ, Hertzler NR, Bakal CW, Creager MA, Halperin JL, et al. ACC/AHA 2005 guidelines for the management of patients with peripheral arterial disease (lower extremity, renal, mesenteric, and abdominal aortic): a collaborative report. Bethesda (MD): American College of Cardiology Foundation;2005:192 p
121. Ho RC, Ho EC, Mak A. Cutaneous complications among i.v. buprenorphine users. *J Dermatol* 2009;36:22-29
122. Holthe M, Rakvåg TN, Klepstad P, Idle JR, Kaasa S, Krokan HE, Skorpen F. Sequence variations in the UDP-glucuronosyltransferase 2B7 (UGT2B7) gene: identification of 10 novel single nucleotide polymorphisms (SNPs) and analysis of their relevance to morphine glucuronidation in cancer patients. *Pharmacogenomics J* 2003;3:17-26
123. Hood SC, Moher D, Barber GG. Management of intermittent claudication with pentoxifylline: meta-analysis of randomized controlled trials. *CMAJ* 1996;155:1053-1059
124. Hooi JD, Kester AD, Stoffers HE, Overdijk MM, van Ree JW, Knottnerus JA. Incidence of and risk factors for asymptomatic peripheral arterial occlusive disease: a longitudinal study. *Am J Epidemiol* 2001;153:666-672

125. Horsch S, Aroboiro R, Morante J, Guijo I, Navarro A. Papel de la estimulación de la médula espinal en el tratamiento de la arteriopatía oclusiva periférica no reconstruible. *Anales de Cirugía Cardíaca y Cirugía Vascul* 1996;2:192-198
126. Howell BC, Ward AE. Pain relief in the post-operative period: a comparative trial of morphine and a new analgesic buprenorphine. *J Int Med Res* 1977;5:417-421
127. Howell BC. Comparison of buprenorphine, pethidine and pentazocine for the relief of pain after operation. *Br J Anaesth* 1977;49:913-916
128. Hunt SM, McEwen J, McKenna SP. Measuring health status: a new tool for clinicians and epidemiologists. *JR Coll, Gen Pract* 1985;35:185-188.
129. Ibrahim R, Wilson JG, Thorsby ME. Excessive CNS depression due to the combination of buprenorphine and benzodiazepines is most likely due to additive or synergistic pharmacologic effects unrelated to a pharmacokinetic interaction between the drugs. *Life Sci* 2000;66:1293-1298
130. Ikeda K, Ide S, Han W, Hayashida M, Uhl GR, Sora I. How individual sensitivity to opiates can be predicted by gene analyses. *Trends Pharmacol Sci* 2005;26:311-317
131. IMSERSO. Las personas mayores en España. Datos estadísticos estatales y por Comunidades Autónomas. Informe 2008. Tomo I
132. Inglese L, Graziani L, Tarricone R. Percutaneous treatment of peripheral obstructive arteriopathy: the reasons for a choice. *Ital Heart J Suppl* 2000;1:1138-1147
133. Innocenti F, Liu W, Fackenthal D, Ramírez J, Chen P, Ye X, et al. Single nucleotide polymorphism discovery and functional assessment of variation in the UDP-glucuronosyltransferase 2B7 gene. *Pharmacogenet Genomics* 2008;18:683-697
134. Intensive blood-glucose control with sulphonylureas or insulin compared with conventional treatment and risk of complications in patients with type 2 diabetes (UKPDS 33). UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) Group. *Lancet* 1998;352:837-853
135. International Human Genome Sequencing Consortium. Finishing the euchromatic sequence of the human genome. *Nature* 2004;431:931-945
136. Jelnes R, Gaardsting O, Hougaard K, Baekgaard N, Tønnesen KH, Schroeder T. Fate in intermittent claudication: outcome and risk factors. *Br Med J (Clin Res Ed)* 1986;293:1137-1140

- 
137. Johansson K, Behre C, Bergström G, Schmidt C. Ankle-Brachial Index, Should be Measured in Both the Posterior and the Anterior Tibial Arteries in Studies of Peripheral Arterial Disease. *Angiology*. 2010 Apr 14. [Epub ahead of print]
138. Juergens JL, Barker NW, Hines EA Jr. Arteriosclerosis obliterans: review of 520 cases with special reference to pathogenic and prognostic factors. *Circulation* 1960;21:188-195
139. Julius D, Basbaum AI. Molecular mechanisms of nociception. *Nature* 2001;413:203-210
140. Kacinko SL, Jones HE, Johnson RE, Choo RE, Huestis MA. Correlations of maternal buprenorphine dose, buprenorphine, and metabolite concentrations in meconium with neonatal outcomes. *Clin Pharmacol Ther* 2008 Nov;84:604-612
141. Kahila H, Stefanovic V, Loukovaara M, Alfthan H, Hämäläinen E, Halmesmäki E. Prenatal buprenorphine exposure: effects on biochemical markers of hypoxia and early neonatal outcome. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2008;87:1213-1219
142. Kakko J, Heilig M, Sarman I. Buprenorphine and methadone treatment of opiate dependence during pregnancy: comparison of fetal growth and neonatal outcomes in two consecutive case series. *Drug Alcohol Depend* 2008;96:69-78
143. Kalso E, Allan L, DelleMijn PL, Faura C. Recommendations for using opioids in chronic non-cancer pain. Abstract V Congreso EFIC. Praga 2003.
144. Kannel WB. Risk factors for atherosclerotic cardiovascular outcomes in different arterial territories. *J Cardiovasc Risk* 1994;1:333-339
145. Kawamoto A, Katayama M, Handa N, Kinoshita M, Takano H, Horii M, et al. Intramuscular transplantation of G-CSF-mobilized CD34(+) cells in patients with critical limb ischemia: a phase I/IIa, multicenter, single-blinded, dose-escalation clinical trial. *Stem Cells* 2009;27:2857-2864
146. Kay B. A double-blind comparison between fentanyl and buprenorphine in analgesic-supplemented anaesthesia. *Br J Anaesth* 1980;52:453-457
147. Kayemba-Kay's S, Laclede JP. Buprenorphine withdrawal syndrome in newborns: a report of 13 cases. *Addiction* 2003;98:1599-1604
148. Kim H, Neubert JK, San Miguel A, Xu K, Krishnaraju RK, Iadarola MJ, et al. Genetic influence on variability in human acute experimental pain sensitivity

- associated with gender, ethnicity and psychological temperament. *Pain* 2004;109:488-496
149. Kjaer M, Henriksen H, Knudsen J. A comparative study of intramuscular buprenorphine and morphine in the treatment of chronic pain of malignant origin. *Br J Clin Pharmacol* 1982;13:487-492
150. Klepstad P, Dale O, Borchgrevink PC, Kaasa S, Skorpen F. Genetic variation- important for the clinical effect of opioids? *Tidsskr Nor Laegeforen* 2005;125:2655-2658
151. Klingerberg M. Pigments of rat liver microsomes. *Arch Biochem Biophys* 1958;75:376-386
152. Kobayashi K, Yamamoto T, Chiba K, Tani M, Shimada N, Ishizaki T, et al. Human buprenorphine N-dealkylation is catalyzed by cytochrome P450 3A4. *Drug Metab Dispos* 1998;26:818-821
153. Kobayashi K, Yamamoto T, Chiba K, Tani M, Shimada N, Ishizaki T, Kuroiwa Y. Human buprenorphine N-dealkylation is catalyzed by cytochrome P450 3A4. *Drug Metab Dispos* 1998;26:818-821
154. Kolvenbach R, Kreissig C, Cagiannos C, Afifi R, Schmaltz E. Intraoperative adjunctive stem cell treatment in patients with critical limb ischemia using a novel point-of-care device. *Ann Vasc Surg* 2010;24:367-372
155. Kosarac B, Fox AA, Collard CD. Effect of genetic factors on opioid action. *Curr Opin Anaesthesiol* 2009;22:476-482
156. Kress HG. Clinical update on the pharmacology, efficacy and safety of transdermal buprenorphine. *Eur J Pain* 2009;13:219-230
157. Lacroix-Fralish ML, Ledoux JB, Mogil JS. The Pain Genes Database: An interactive web browser of pain-related transgenic knockout studies. *Pain* 2007;131:1-4
158. Lacroix-Fralish ML, Mogil JS. Progress in genetic studies of pain and analgesia. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 2009;49:97-121
159. Landau CJ, Carr WD, Razzetti AJ, Sessler NE, Munera C, Ripa SR. Buprenorphine transdermal delivery system in adults with persistent noncancer-related pain syndromes who require opioid therapy: a multicenter, 5-week run-in and randomized, double-blind maintenance-of-analgesia study. *Clin Ther* 2007;29:2179-2193

- 
160. Lanier RK, Umbricht A, Harrison JA, Nuwayser ES, Bigelow GE. Evaluation of a transdermal buprenorphine formulation in opioid detoxification. *Addiction* 2007;102:1648-1656
161. Latorre Vilallonga J, Viver Manresa E. En: *Isquemia crónica en miembros inferiores*. Madrid: Jarpyo D.L. (eds), 1995
162. Lawall H, Bramlage P, Amann B. Stem cell and progenitor cell therapy in peripheral artery disease. A critical appraisal. *Thromb Haemost* 2010;19:103-104
163. Leander JD. Buprenorphine is a potent  $\kappa$ -opioid receptor antagonist in pigeons and mice. *Eur J Pharmacol* 1988;151:457-461
164. Lee SS, Zhang B, He ML, Chang VS, Kung HF. Screening of active ingredients of herbal medicine for interaction with CYP450 3A4. *Phytother Res* 2007;21:1096-1099
165. Leng GC, Papacosta O, Whincup P, Wannamethee G, Walker M, Ebrahim S, et al. Femoral atherosclerosis in an older British population: prevalence and risk factors. *Atherosclerosis* 2000;152:167-174
166. Leriche R. *Cirugía del dolor*. Morata Ed, Barcelona 1942
167. Lewis JW. Buprenorphine. *Drug Alcohol Depend* 1985;14:363-372
168. Lewis ME, Pert A, Pert CB, Herkenham M. Opiate receptor localization in rat cerebral cortex. *J Comp Neurol* 1983;216:339-358
169. Likar R, Kayser H, Sittl R. Long-Term Management of Chronic Pain with Transdermal Buprenorphine: A Multicenter, Open-Label, Follow-Up Study in Patients from Three Short-Term Clinical Trials. *Clin Ther* 2006;28:943-952
170. Likar R, Krainer B, Sittl R. Challenging the equipotency calculation for transdermal buprenorphine: four case studies. *Int J Clin Pract* 2008;62:152-156
171. Likar R, Lorenz V, Korak-Leiter M, Kager I, Sittl R. Transdermal buprenorphine patches applied in a 4-day regimen versus a 3-day regimen: a single-site, Phase III, randomized, open-label, crossover comparison. *Clin Ther* 2007;29:1591-606
172. Likar R, Sittl R. Transdermal buprenorphine for treating nociceptive and neuropathic pain: four case studies. *Anesth Analg* 2005;100:781-785
173. Likar R, Vadlau EM, Breschan C, Kager I, Korak-Leiter M, Ziervogel G. Comparable analgesic efficacy of transdermal buprenorphine in patients over and under 65 years of age. *Clin J Pain* 2008;24:536-543

174. Likar R. Transdermal buprenorphine in the management of persistent pain - safety aspects. *Ther Clin Risk Manag* 2006;2:115-25
175. Lin GF, Guo WC, Chen JG, Qin YQ, Golka K, Xiang CQ, et al. An association of UDP-glucuronosyltransferase 2B7 C802T (His268Tyr) polymorphism with bladder cancer in benzidine-exposed workers in China. *Toxicol Sci* 2005;85:502-506
176. Lindemalm S, Nydert P, Svensson JO, Stahle L, Sarmen I. Transfer of buprenorphine into breast milk and calculation of infant drug dose. *J Hum Lact* 2009;25:199-205
177. London NJ, Sensier Y, Hartshorne T. Can lower limb ultrasonography replace arteriography? *Vasc Med* 1996;1:115-119
178. Lorente L, Rull M, Samper D. Opioides y dolor crónico no oncológico. Hacia un documento de consenso. *Rev Esp Anesthesiol Reanim* 2003;50:374-375
179. Lötsch J, Flühr K, Neddermayer T, Doehring A, Geisslinger G. The consequence of concomitantly present functional genetic variants for the identification of functional genotype-phenotype associations in pain. *Clin Pharmacol Ther* 2009;85:25-30
180. Lötsch J, Geisslinger G, Tegeder I. Genetic modulation of the pharmacological treatment of pain. *Pharmacol Ther* 2009;124:168-184
181. Lötsch J, Geisslinger G. Current evidence for a modulation of nociception by human genetic polymorphisms. *Pain* 2007;132:18-22
182. Lötsch J, Geisslinger G. Relevance of frequent mu-opioid receptor polymorphisms for opioid activity in healthy volunteers. *Pharmacogenomics J* 2006;6:200-210
183. Lötsch J, Zimmermann M, Darimont J, Marx C, Dudziak R, Skarke C, Geisslinger G. Does the A118G polymorphism at the mu-opioid receptor gene protect against morphine-6-glucuronide toxicity? *Anesthesiology* 2002;97:814-819
184. Lozano F, Muriel C. Dolor de origen vascular periférico. En: *Dolor Crónico de Muriel C*. Editorial Arán. Madrid 2007:189-206
185. Lozano F. Isquemia arterial crónica de las extremidades. En: *Cuadernos de Angiología y Cirugía Vascular (Volumen 2) de Lozano F*. Editorial Arán. Madrid 2005:85-130

- 
186. Lozano FS. Control farmacológico del dolor vascular. En: Farmacoterapia para el control del dolor: Pautas de uso. Reunión de Expertos. Fundación Grünenthal (ed.), 2009:103-108
187. Mac Farlane BV, Wright A, O'Callaghan J et al. Chronic Neuropathic pain and its control by drugs. *Pharmacol Ther* 1997;77:1-19
188. Mac Gregor AJ, Griffiths GO, Baker J, et al. Determinants of pressure pain threshold in adult twins: evidence that shared environmental influences predominate. *Pain* 1997;73:253-257
189. Mäkinen K, Manninen H, Hedman M, Matsi P, Mussalo H, Alhava E, Ylä-Herttua S. Increased vascularity detected by digital subtraction angiography after VEGF gene transfer to human lower limb artery: a randomized, placebo-controlled, double-blinded phase II study. *Mol Ther* 2002;6:127-133
190. Malcolm AD, Coltart DJ. Cardiocirculatory effects of strong analgesic agents. En: Marcus AW, Smith R, Whittle B (eds). *Pain-New Perspectives in Measurement and Management*. Edinburgh: Churchill-Livingstone, 1977:41-54
191. Mannava K, Money SR. Current management of peripheral arterial occlusive disease: a review of pharmacologic agents and other interventions. *Am J Cardiovasc Drugs* 2007;7:59-66
192. Martí Mestre X, Cairols Castellote MA, Vila Coll R, Romera Villegas A. Arterial mapping with Duplex ultrasound: diagnostic-therapeutic strategy in patients with critical lower-limb ischemia. *Int Angiol* 2009;28:209-214
193. Martín A, Ortega JM, Fernández R, Fernández MC, Vaquero F. Frecuentación por patología vascular en atención primaria. *Angiología* 2005;57:237-242
194. Martin WR, Eades CG, Thomson JA, et al. The effects of morphine- and nalorphine-like drugs in the nondependent and morphine-dependent chronic spinal dog. *J Pharmacol Exp Ther* 1976;197:517-532
195. Maruo Y, Iwai M, Mori A, Sato H, Takeuchi Y. Polymorphism of UDP-glucuronosyltransferase and drug metabolism. *Curr Drug Metab* 2005;6:91-99
196. Masson AHB. Sublingual buprenorphine versus oral dihydrocodeine in post-operative pain. *J Int Med Res* 1981;9:506-510
197. Matthes HW, Maldonado R, Simonin F, Valverde O, Slowe S, Kitchen I, et al. Loss of morphine-induced analgesia, reward effect and withdrawal symptoms in mice lacking the mu-opioid-receptor gene. *Nature* 1996;383:819-823

198. Maunuksela EL, Korpela R, Olkkola KT. Double-blind, multiple-dose comparison of buprenorphine and morphine in postoperative pain of children. *Br J Anaesth* 1988;60:48-55
199. McNicol E, Strassels SA, Goudas L, Lau J, Carr DB. NSAIDs or paracetamol, alone or combined with opioids, for cancer pain. *Cochrane Database Syst Rev* 2005 Jan 25;(1):CD005180
200. McQuay HJ, Moore RA, Bullingham RES. Buprenorphine kinetics. En: Foley KM, Inturrisi CE (eds). *Advances in Pain Research and Therapy*. New York : Raven Press,1986;8:271-278
201. Mehlotra RK, Bockarie MJ, Zimmerman PA. Prevalence of UGT1A9 and UGT2B7 nonsynonymous single nucleotide polymorphisms in West African, Papua New Guinean, and North American populations. *Eur J Clin Pharmacol* 2007;63:1-8
202. Melon E, Lienhart A, Viars P. Buprenorphine. Haemodynamic study (author's transl). *Anesth Analg (Paris)* 1980;37:121-125
203. Melzack R, ed. *Pain measurement and assessment*. New York: Raven Press, 1983.
204. Mercadante S, Arcuri E. Opioids and renal function. *J Pain* 2004;5:2-19
205. Mercadante S, Casuccio A, Tirelli W, Giarratano A. Equipotent doses to switch from high doses of opioids to transdermal buprenorphine. *Support Care Cancer* 2009;17:715-718
206. Micó JA, Ardid D, Berrocoso E, Eschalié A. Antidepressants and pain. *Trends Pharmacol Sci* 2006;27:348-354
207. Milio G, Coppola G, Novo S. The effects of prostaglandin E-1 in patients with intermittent claudication. *Cardiovasc Hematol Disord Drug Targets* 2006;6:71-76
208. Milne RW, Nation RL, Somogyi AA. The disposition of morphine and its 3- and 6-glucuronide metabolites in humans and animals, and the importance of the metabolites to the pharmacological effects of morphine. *Drug Metab Rev* 1996;28:345-472
209. Mogil JS, McCarson KE. Identifying pain genes: bottom-up and top-down approaches. *J Pain* 2000;1:66-80
210. Mogil JS, Sternberg WF, Marek P, Sadowski B, Belknap JK, Liebeskind JC. The genetics of pain and pain inhibition. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1996;93:3048-3055

- 
211. Mogil JS. The genetic mediation of individual differences in sensitivity to pain and its inhibition. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999;96:7744-7751
212. Moore A, Sear J, Baldwin D, et al. Morphine kinetics during and after renal transplantation. *Clin Pharmacol Ther* 1984;35:641-645
213. Moore RA, Sear JW, Mc Quay HJ. Renal failure: effects on morphine and buprenorphine kinetics in man. *Pain* 1994;Suppl 2:398
214. Muriel C, Failde I, Micó JA, Neira M, Sánchez-Magro I. Effectiveness and tolerability of the buprenorphine transdermal system in patients with moderate to severe chronic pain: a multicenter, open-label, uncontrolled, prospective, observational clinical study. *Clin Ther* 2005;27:451-462
215. Muriel C, Madrid JL. Medición y valoración del dolor. Sistemas de inteligencia de aplicación en el dolor. En: *Estudio y Tratamiento del Dolor Agudo y Crónico*. Grupo Arán (ed.), 1994:77-140
216. Muriel C, Pérez-Castejón JM, Sánchez I, Neira M. Effectiveness and safety of transdermal buprenorphine for chronic pain treatment in the elderly: a prospective observational study. *Med Clin* 2007;128:204-210
217. Muriel C. Presentación novedosa de la buprenorfina por la vía transdérmica. V Reunión de la SED y jornada de actualización en dolor 2001
218. Muriel Villoria C, Madrid Arias JL. Medición y valoración del dolor. Sistemas de inteligencia de aplicación del dolor. En: Muriel Villoria C, Madrid Arias JL. *Estudio y tratamiento del dolor agudo y crónico*. Tomo I, Editorial libro del año SL. Madrid: ELA grupo Arán 1994;3:77-140
219. Myers K. The investigation of peripheral arterial disease by strain gauge plethysmography. *Angiology* 1964;15:293-304
220. Nanovskaya T, Deshmukh S, Brooks M, Ahmed MS. Transplacental transfer and metabolism of buprenorphine. *J Pharmacol Exp Ther* 2002;300:26-33
221. Nasar MA, McLeavy MA, Knox J. An open study of sublingual buprenorphine in the treatment of chronic pain in the elderly. *Curr Med Res Opin* 1986;10:251-255
222. Neaves TT, Eriator I, Seitz HH, Cosby AG, McMillen RC. The sociocultural dimensions of pain in the mid-South. *South Med J* 2008;101:853
223. Nelson DR, Koymans L, Kamataki T, Stegeman JJ, Feyereisen R, Waxman DJ, et al. P450 superfamily: update on new sequences, gene mapping, accession numbers and nomenclature. *Pharmacogenetics* 1996;6:1-42
224. Nelson DR. The cytochrome p450 homepage. *Hum Genomics* 2009;4:59-65

225. Nicola P. Geriatria. Aspectos generales del envejecimiento. Aumento de la población anciana. Ed. El Manual Moderno 1985;cap 1:1-15
226. Nielsen CS, Stubhaug A, Price DD, Vassend O, Czajkowski N, Harris JR. Individual differences in pain sensitivity: genetic and environmental contributions. *Pain* 2008;136:21-29
227. Norgren L, Hiatt WR, Dormandy JA, Nehler MR, Harris KA, Fowkes FG; TASC II Working Group. Inter-Society Consensus for the Management of Peripheral Arterial Disease (TASC II). *J Vasc Surg* 2007;45:S5-67
228. Oertel BG, Kettner M, Scholich K, Renné C, Roskam B, Geisslinger G, Schmidt PH, Lötsch J. A common human micro-opioid receptor genetic variant diminishes the receptor signaling efficacy in brain regions processing the sensory information of pain. *J Biol Chem* 2009;284:6530-6535
229. Oertel BG, Schmidt R, Schneider A, Geisslinger G, Lötsch J. The mu-opioid receptor gene polymorphism 118A>G depletes alfentanil-induced analgesia and protects against respiratory depression in homozygous carriers. *Pharmacogenet Genomics* 2006;16:625-636
230. Ohtani M, Kotaki H, Nishitaten K, et al. Kinetics of respiratory depression in rats, induced by buprenorphine and its metabolite, norbuprenorphine. *J Pharmacol Exp Ther* 1997;281:428-433
231. Ohtani M, Kotaki H, Sawada Y, Iga T. Comparative analysis of buprenorphine and norbuprenorphine-induced analgesic effects based on pharmacokinetic-pharmacodynamic modeling. *J Pharmacol Exp Ther* 1995;272:505-510
232. Olive MF, Anton B, Micevych P, Evans CJ, Maidment NT. Presynaptic versus postsynaptic localization of mu and delta opioid receptors in dorsal and ventral striatopallidal pathways. *J Neurosci* 1997;17:7471-7479
233. Omura T, Sato R. The Carbon Monoxide-binding Pigment of Liver Microsomes. I. Evidence for its hemoprotein nature. *J Biol Chem* 1964;239:2370-2378
234. Omura T, Sato R. The Carbon Monoxide-binding Pigment of Liver Microsomes. II. Solubilization, Purification, and Properties. *J Biol Chem* 1964;239:2379-2385
235. Orduña MJ, López C, Cambor E, López M. Tratamiento del dolor en isquemia vascular periférica (I). *Rev Soc Esp Dolor* 2009;16:101-111
236. Orduña MJ, López C, Cambor E, López M. Tratamiento del dolor en isquemia vascular periférica. Parte II. Revisión bibliográfica basada en la

- evidencia del tratamiento epidural en la isquemia vascular periférica. *Rev Soc Esp Dolor* 2009;16:160-181
237. Pace MC, Passavanti MB, Grella E, Mazzariello L, Maisto M, Barbarisi M, et al. Buprenorphine in long-term control of chronic pain in cancer patients. *Front Biosci* 2007;12:1291-1299
238. Pain Clinical Updates. International Association for the Study of Pain. Time to modify the WHO analgesic Ladder, 2005;5:1-4
239. Pan L, Xu J, Yu R, Xu MM, Pan YX, Pasternak GW. Identification and characterization of six new alternatively spliced variants of the human mu opioid receptor gene, *Oprm*. *Neuroscience* 2005;133:209-220
240. Pell JP, Fowkes FG, Lee AJ. Indications for arterial reconstruction and major amputation in the management of chronic critical lower limb ischaemia. The Scottish and Northern Vascular Audit Groups. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 1997;13:315-321
241. Peng PD, Spain DA, Tataria M, Hellinger JC, Rubin GD, Brundage SI. CT angiography effectively evaluates extremity vascular trauma. *Am Surg* 2008;74:103-107
242. Pérez Suárez MC, Díaz Escandón C. Uso del índice tobillo/brazo (t/b) obtenido por eco-Doppler como método diagnóstico en arteriopatías periféricas en atención primaria. *Aten Primaria* 1998;21:101-104
243. Pérez-Cajaraville J, Abejón D, Ortiz JR, Pérez JR. El dolor y su tratamiento a través de la historia. *Rev Soc Esp Dolor* 2005;12:373-384
244. Pérez-Pérez L, Cabanillas M, Loureiro M, Fernández-Redondo V, Labandeira J, Toribio J. Allergic contact dermatitis due to transdermal buprenorphine. *Contact Dermatitis* 2008;58:310-312
245. Pergolizzi J, Böger RH, Budd K, Dahan A, Erdine S, Hans G, et al. Opioids and the management of chronic severe pain in the elderly: consensus statement of an International Expert Panel with focus on the six clinically most often used World Health Organization Step III opioids (buprenorphine, fentanyl, hydromorphone, methadone, morphine, oxycodone). *Pain Pract* 2008;8:287-313
246. Pergolizzi JV Jr, Mercadante S, Echaburu AV, Van den Eynden B, Fragoso RM, Mordarski S. The role of transdermal buprenorphine in the treatment of cancer pain: an expert panel consensus. *Curr Med Res Opin.* 2009 Jun;25:1517-1528
247. Peroutka SJ. Genetic basis of migraine. *Clin Neurosci* 1998;5:34-37

248. Persson E, Rhodin A. Genetics and pain. *J Pain Palliat Care Pharmacother.* 2008;22(3):232-235
249. Pickel VM, Colago EE. Presence of mu-opioid receptors in targets of efferent projections from the central nucleus of the amygdala to the nucleus of the solitary tract. *Synapse* 1999;33:141-152
250. Portenoy RK. Opioid therapy for chronic non-malignant pain: current status. En: Fields HL, Liebeskind JC (eds). *Progress in Pain Research and Management*, vol 1. Seattle: IASP Press,1994:247-287
251. Poulain P, Denier W, Douma J, Hoerauf K, Samija M, Sopata M, et al. Efficacy and safety of transdermal buprenorphine: a randomized, placebo-controlled trial in 289 patients with severe cancer pain. *J Pain Symptom Manage* 2008;36:117-125
252. Puebla F. Tipos de dolor y escala terapéutica de la O.M.S. Dolor iatrogénico. *Oncología* 2005;28:139-143
253. Radack K, Deck C. Beta-adrenergic blocker therapy does not worsen intermittent claudication in subjects with peripheral arterial disease. A meta-analysis of randomized controlled trials. *Arch Intern Med* 1991;151:1769-1776
254. Radbruch L, Vielvoye-Kerkmeer A. Buprenorphine TDS: the clinical development rationale and results. *Int J Clin Pract Suppl* 2003;133:15-18
255. Radbruch L. Buprenorphine TDS: Use in daily practice, benefits for patients. *Int J Clin Pract* 2003;133:19-22
256. Rajagopalan S, Olin J, Deitcher S, Pieczek A, Laird J, Grossman PM, et al. Use of a constitutively active hypoxia-inducible factor-1-alpha transgene as a therapeutic strategy in no-option critical limb ischemia patients: phase I dose-escalation experience. *Circulation* 2007;115:1234-1243
257. Ramírez-Maestre C, Esteve R, López-Martínez AE, Anarte MT. Diferencias en la percepción del dolor relacionadas con las variables sexo y edad. *Rev Soc Esp Dol* 2001;8:562-568
258. Rance MJ, Shillingford JS. The metabolism of phenolic opiates by rat intestine. *Xenobiotica* 1977;7:529-536
259. Reaven GM. Banting lecture 1988. Role of insulin resistance in human disease. *Diabetes* 1988;37:1595-1607
260. Reiter M, Bucek RA, Stümpflen A, Minar E. Prostanoids for intermittent claudication. *Cochrane Database Syst Rev.* 2004;1:CD000986

- 
261. Rial N, Quiñones M, Lima B, Pacheco G, Sistachs V, Ruiz a, et al. El dolor en afecciones vasculares periféricas. Factores psicosociales asociados. Rev Cubana Angiol y Cir Vasc 2001;2:102-106
262. Riedy M, Wang JY, Miller AP, Buckler A, Hall J, Guida M. Genomic organization of the UGT2b gene cluster on human chromosome 4q13. Pharmacogenetics 2000;10:251-260
263. Risdahl JM, Khanna KV, Peterson PK, Molitor TW. Opiates and infection. J Neuroimmunol 1998;83:4-18
264. Robertson DH, Laing AW. Intravenous buprenorphine (Temgesic): use following fentanyl analgesic anaesthesia. Clin Trials J 1980;17:51-55
265. Robinson SE, Wallace MJ. Effect of perinatal buprenorphine exposure on development in the rat. J Pharmacol Exp Ther 2001;298:797-804
266. Rodríguez MJ. Sistematización en la administración de opioides. En: Manual práctico sobre la utilización de opiáceos potentes en el tratamiento del dolor crónico. SED (ed). La Coruña, 2003:61-74
267. Rodríguez MJ. The Opioid Study Group of the Spanish Pain Society. Transdermal buprenorphine in neuropathic pain. Rev Soc Esp Dolor 2004;Suppl 5:11-21
268. Röhl T, Kurreck J. RNA interference in pain research. J Neurochem 2006;99:371-380
269. Rosenfeldt FL, Houston B, Dussek J, et al. Haemodynamic effects of a new analgesic agent, buprenorphine. Proceedings of the BPS conference, 4-6 Jan 1978:362P
270. Rouguieg K, Picard N, Sauvage FL, Gaulier JM, Marquet P. Contribution of the different UDP-glucuronosyltransferase (UGT) isoforms to buprenorphine and norbuprenorphine metabolism and relationship with the main UGT polymorphisms in a bank of human liver microsomes. Drug Metab Dispos 2010;38:40-45
271. Rubin JJ. Psychosomatic pain: new insights and management strategies. South Med J 2005;98:1099-1110
272. Rudnitzky O, Davezac V, Martínez T, Jorge S, Vidal A, Cordido F. Los estudios no invasivos pueden sustituir a la arteriografía pre-operatoria. Anales de Cirugía Cardíaca y Cirugía Vascul 1996;2:199-204

273. Rüger LJ, Irnich D, Abahji TN, Crispin A, Hoffmann U, Lang PM. Characteristics of chronic ischemic pain in patients with peripheral arterial disease. *Pain* 2008;139:201-208
274. Ruiz-Aragón J, Márquez Calderón S. Effectiveness of lumbar sympathectomy in the treatment of occlusive peripheral vascular disease in lower limbs: Systematic review. *Med Clin (Barc)*. 2009. [Epub ahead of print]
275. Rull M, Puig R. Manejo de buprenorfina transdérmica en pacientes que no han usado previamente opioides. *Rev Soc Esp Dolor* 2006;2:108-113
276. Sacerdote P. Opioid-induced immunosuppression. *Curr Opin Support Palliat Care* 2008;2:14-18
277. Sadée W, Rosenbaum JS, Herz A. Buprenorphine: differential interaction with opiate receptor subtypes in vivo. *J Pharmacol Exp Ther* 1982;223:157-162
278. Saiki RK, Scharf S, Faloona F, Mullis KB, Horn GT, Erlich HA, Arnheim N. Enzymatic amplification of beta-globin genomic sequences and restriction site analysis for diagnosis of sickle cell anemia. *Science* 1985;230:1350-1354
279. Saito K, Moriya H, Sawaguchi T, Hayakawa T, Nakahara S, Goto A, et al. Haplotype analysis of UDP-glucuronocyltransferase 2B7 gene (UGT2B7) polymorphisms in healthy Japanese subjects. *Clin Biochem* 2006;39:303-308
280. Samer CF, Piguet V, Dayer P, Desmeules JA. Genetic polymorphism and drug interactions: their importance in the treatment of pain. *Can J Anaesth* 2005;52:806-821
281. Santilli JD, Santilli SM. Chronic Critical Limb Ischemia: Diagnosis, treatment and Prognosis. *American Family Physician* 1999;59:1899-1908
282. Sata F, Sapone A, Elizondo G, Stocker P, Miller VP, Zheng W, Raunio H, Crespi CL, Gonzalez FJ. CYP3A4 allelic variants with amino acid substitutions in exons 7 and 12: evidence for an allelic variant with altered catalytic activity. *Clin Pharmacol Ther* 2000;67:48-56
283. Schmid-Grendelmeier P, Pokorny R, Gasser UE, Richarz U. A comparison of the skin irritation potential of transdermal fentanyl versus transdermal buprenorphine in middle-aged to elderly healthy volunteers. *Curr Med Res Opin* 2006;22:501-509
284. Schneider JR, McHorney CA, Malenka DJ, McDaniel MD, Walsh DB, Cronenwett JL. Functional health and well-being in patients with severe atherosclerotic peripheral vascular occlusive disease. *Ann Vasc Surg* 1993;7:419-428

- 
285. Second European Consensus Document on Chronic Critical Leg Ischemia. European Working Group on Chronic Critical Leg Ischaemia. *Circulation* 1991;84:IV1-26
286. Seow SSW, Quigley AJ, Ilett KF, et al. Buprenorphine : a new maintenance opiate ? *Med J Aust* 1986;144:407-411
287. Serrano-Atero MS, Caballero J, Cañas A, García-Saura PL, Serrano-Álvarez C, Prieto J. Valoración del dolor (I). *Rev Soc Esp Dolor* 2002;9:94-108
288. Serrano-Atero MS, Caballero J, Cañas A, García-Saura PL, Serrano-Álvarez C, Prieto J. Valoración del dolor (II). *Rev Soc Esp Dolor* 2002;9:109-121
289. Seybold VS. The role of peptides in central sensitization. *Handb Exp Pharmacol* 2009;194:451-491
290. Shabalina SA, Zaykin DV, Gris P, Ogurtsov AY, Gauthier J, Shibata K, et al. Expansion of the human mu-opioid receptor gene architecture: novel functional variants. *Hum Mol Genet* 2009;18:1037-1051
291. Shealy CN, Mortimer JT, Reswick JB. Electrical inhibition of pain by stimulation of the dorsal columns: preliminary clinical report. *Anesth Analg* 1967;46:489-491
292. Sherry ST, Ward MH, Kholodov M, Baker J, Phan L, Smigielski EM, Sirotkin K. dbSNP: the NCBI database of genetic variation. *Nucleic Acids Res* 2001;29:308-311
293. Simpson KH. Opioids for persistent non-cancer pain: recommendations for clinical practice. *Br J Anaesth* 2004;92:326-8
294. Sittl R, Griessinger N, Likar R. Analgesic efficacy and tolerability of transdermal buprenorphine in patients with inadequately controlled chronic pain related to cancer and other disorders: a multicenter, randomized, double-blind, placebo controlled trial. *Clin Ther* 2003;25:150-168
295. Sittl R, Likar R, Poulsen B. Equipotent doses of transdermal fentanyl and transdermal buprenorphine in patients with cancer and noncancer pain: results of a retrospective cohort study. *Clin Ther* 2005; 27:225-237
296. Sittl R. Transdermal buprenorphine in clinical practice. En: *Buprenorphine: The unique opioid analgesic: pharmacology an clinical application*. Budd K and Raffa R (eds). Stuttgart, Thieme 2005
297. Sittl R. Transdermal buprenorphine in the treatment of chronic pain. *Expert Rev Neurother* 2005;5:315-323

298. Smith MT, Watt JA, Cramond T. Morphine-3-glucuronide - a potent antagonist of morphine analgesia. *Life Sci* 1990;47:579-585
299. Sorge J, Sittl R. Transdermal buprenorphine in the treatment of chronic pain: results of a phase III, multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled study. *Clin Ther* 2004;26:1808-1820
300. Sorge J, Werry C, Pichlmayr I. Strong opioids for treatment of chronic pain: a meta-analysis. *Schmerz* 1997;11:400-410
301. Ständer S, Gunzer M, Metze D, Luger T, Steinhoff M. Localization of mu-opioid receptor 1A on sensory nerve fibers in human skin. *Regul Pept* 2002;110:75-83
302. Stoffers HE, Kester AD, Kaiser V, Rinkens PE, Knottnerus JA. Diagnostic value of signs and symptoms associated with peripheral arterial occlusive disease seen in general practice: a multivariable approach. *Med Decis Making* 1997;17:61-70
303. Strassburg CP, Kneip S, Topp J, Obermayer-Straub P, Barut A, Tukey RH, Manns MP. Polymorphic gene regulation and interindividual variation of UDP-glucuronosyltransferase activity in human small intestine. *J Biol Chem* 2000;275:36164-36171
304. Sutherland SP, Cook SP, McCleskey EW. Chemical mediators of pain due to tissue damage and ischemia. *Prog Brain Res* 2000;129:21-38
305. Takeda S, Kitajima Y, Ishii Y, Nishimura Y, Mackenzie PI, Oguri K, Yamada H. Inhibition of UDP-glucuronosyltransferase 2b7-catalyzed morphine glucuronidation by ketoconazole: dual mechanisms involving a novel noncompetitive mode. *Drug Metab Dispos* 2006;34:1277-1282
306. Tammisto T, Tigerstedt I. Narcotic analgesics in postoperative pain relief in adults. *Acta Anaesthesiol Scand* 1982;74(Suppl):161-164
307. Tegeder I, Lotsch J, Geisslinger G. Therapy with opioids in liver or renal failure. *Schmerz* 1999;13:183-195
308. Tegeder I. Current evidence for a modulation of low back pain by human genetic variants. *J Cell Mol Med* 2009;13:1605-1619
309. Thammakumpee G, Sumpatanukule P. Noncardiogenic pulmonary edema induced by sublingual buprenorphine. *Chest* 1994;106:306-308
310. Tighe KE, Webb AM, Hobbs GJ. Persistently high plasma morphine-6-glucuronide levels despite decreased hourly patient-controlled analgesia morphine use after single-dose diclofenac: potential for opioid-related toxicity. *Anesth Analg* 1999;88:1137-1142

- 
311. Torres LM. Uso, indicaciones y experiencia con buprenorfina en parche transdérmico. *Dolor* 2003;18:109-114
312. Tschopl M, Tsakiris DA, Marbet GA, Labs KH, Jäger K. Role of hemostatic risk factors for restenosis in peripheral arterial occlusive disease after transluminal angioplasty. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1997;17:3208-3214
313. Turk DC, Flor H, Rudy TE. Pain and families. I. Etiology, maintenance, and psychosocial impact. *Pain* 1987;30:3-27
314. Tyers MB. A classification of opiate receptors that mediate antinociception in animals. *Br J Pharmacol* 1980;69:503-512
315. Ubbink D T, Vermeulen H. Spinal cord stimulation for non-reconstructable chronic critical leg ischaemia. *Cochrane Database Syst Rev*. 2005;(3):CD004001
316. Uhl GR, Sora I, Wang Z. The mu opiate receptor as a candidate gene for pain: polymorphisms, variations in expression, nociception, and opiate responses. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1999;96:7752-7755
317. Umehara K, Shimokawa Y, Miyamoto G. Inhibition of human drug metabolizing cytochrome P450 by buprenorphine. *Biol Pharm Bull* 2002;25:682-685
318. Umehara K, Shinokawa Y, Miyamoto G. Inhibition of human drug metabolizing cytochrome P450 by buprenorphine. *Biol Pharm Bull* 2002;25:682-685
319. Vadivelu N, Hines RL. Management of chronic pain in the elderly: focus on transdermal buprenorphine. *Clin Interv Aging* 2008;3:421-430
320. Valecchi D, Bacci D, Gulisano M, Conti AA, Sibilio M, Lipoma M, et al. Evaluation of the pattern of proximal and distal occlusion and collateral circulation of lower limb arteries using combined contrast arteriography and color doppler ecography. *Ital J Anat Embryol* 2009;114:121-127
321. Van Loveren H, Gianotten N, Hendriksen CFM, et al. Assessment of immunotoxicity of buprenorphine. *Lab Anim* 1994;28:355-363
322. Vander Hulst K, Parera Amer E, Jacobs C, Dewulf V, Baeck M, Pujol Vallverdú, et al. Allergic contact dermatitis from transdermal buprenorphine. *Contact Dermatitis* 2008;59:366-369
323. Vavra AK, Kibbe MR. Women and peripheral arterial disease. *Womens Health (Lond Engl)* 2009;5:669-683

324. Vierron E, Halimi JM, Giraudeau B. Ankle-brachial index and peripheral arterial disease. *N Engl J Med* 2010;362:471
325. Violon A, Giurgea D. Familial models for chronic pain. *Pain* 1984;18:199-203
326. Wahlström A, Lenhammar L, Ask B, Rane A. Tricyclic antidepressants inhibit opioid receptor binding in human brain and hepatic morphine glucuronidation. *Pharmacol Toxicol* 1994;75:23-27
327. Walsh SL, June HL, Schuh KJ, et al. Effects of buprenorphine and methadone in methadone-maintained subjects. *Psychopharmacol* 1995;119:268-276
328. Walsh SL, Preston KL, Stitzer ML, et al. Clinical Pharmacology of buprenorphine: ceiling effects at high doses. *Clin Pharmacol Ther* 1994;55:569-580
329. Walter C, Lötsch J. Meta-analysis of the relevance of the OPRM1 118A>G genetic variant for pain treatment. *Pain* 2009;146:270-275
330. Walters DS, Inturrisi CE. Absorption, distribution, metabolism and excretion of buprenorphine in animals and humans. En: Cowan A, Lewis JW (eds). *Buprenorphine: Combating Drug Abuse with a Unique Opioid*. New York: Wiley-Liss Inc, 1995:113-135
331. Webster LR. Pharmacogenetics in pain management: the clinical need. *Clin Lab Med* 2008;28:569-579
332. Wiffen PJ, Collins S, McQuay H, Carroll D, Jadad A, Moore A. Anticonvulsant drugs for acute and chronic pain. *Cochrane Database Syst Rev*. 2005a;(3):CD001133
333. Witjes WP, Crul BJ, Vollaard EJ, Joosten HJ, Von Egmond J. Application of sublingual buprenorphine in combination with naproxen or paracetamol for post-operative pain relief in cholecystectomy patients in a double-blind study. *Acta Anaesthesiol Scand* 1992;36:323-327
334. World Health Organization. *Cancer Pain Relief*. Geneva 1986. *Anesthesia & Analgesia* 1988;67:11:59-116
335. Wu CL, Caldwell MD. Effect of post-operative analgesia on patient morbidity. *Best Practice and Research Clinical Anaesthesiology* 2002;16:549-563
336. Yeager MP, Colacchio TA. Effect of morphine on growth of metastatic colon cancer in vivo. *Arch Surg* 1991;126:454-456
337. Yusuf S, Sleight P, Pogue J, Bosch J, Davies R, Dagenais G. Effects of an angiotensin-converting-enzyme inhibitor, ramipril, on cardiovascular events in

- 
- high-risk patients. The Heart Outcomes Prevention Evaluation Study Investigators. *N Engl J Med* 2000;342:145-153
338. Zaki PA, Keith DE, Brine GA, et al. Ligand-induced changes in surface mu-opioid receptor number: relationship to G-protein activation? *J Pharmacol Exp Ther* 2000;292:1127-1134
339. Zhang H, Maki JH, Prince MR. 3D contrast-enhanced MR angiography. *J Magn Reson Imaging* 2007;25:13-25
340. Zhang W, Chang YZ, Kan QC, Zhang LR, Li ZS, Lu H, et al. CYP3A4\*1G genetic polymorphism influences CYP3A activity and response to fentanyl in Chinese gynecologic patients. *Eur J Clin Pharmacol* 2010;66:61-66
341. Zhang W, Ramamoorthy Y, Tyndale RF. Interaction of buprenorphine and its metabolite norbuprenorphine with cytochromes P450 in vitro. *Drug Metab Dispos* 2003;31:768-772
342. Zhang Y, Wang D, Johnson AD, Papp AC, Sadée W. Allelic expression imbalance of human mu opioid receptor (OPRM1) caused by variant A118G. *J Biol Chem* 2005;280:32618-32624

**ANEXOS**

---

---

## **ANEXO 1: HOJA DE INFORMACIÓN PARA EL PACIENTE**

### **Valoración de la efectividad de una pauta analgésica con buprenorfina transdérmica en pacientes afectos de isquemia arterial crónica evolucionada de las extremidades inferiores: perfil genético**

El servicio de Cirugía Vascular está realizando un estudio sobre el tratamiento del dolor isquémico de las extremidades inferiores con buprenorfina transdérmica, al cual le invita a participar.

#### **Objetivo del estudio:**

El objetivo de este estudio es valorar la efectividad de un nuevo tratamiento analgésico, la buprenorfina transdérmica. Para ello es necesario que un grupo de pacientes con dolor de tipo isquémico en las extremidades inferiores colabore en dicho estudio.

Si usted accede a participar en este estudio debe acceder a que su médico recopile datos ya presentes en su historia clínica. Su médico le preguntará por la intensidad de su dolor el día de inicio y tras cuatro días de tratamiento. Se le realizará una extracción de sangre periférica para efectuar un análisis de su perfil genético el día de su inclusión en el estudio.

Una adecuada valoración de la efectividad de buprenorfina transdérmica puede contribuir en el futuro a un mejor conocimiento, manejo y tratamiento de los pacientes que padecen como usted dolor.

**Su participación es totalmente voluntaria.** Es usted libre de rechazar colaborar en este estudio sin que por ello se vea afectada su futura atención médica.

#### **Confidencialidad.**

Sus datos serán objeto de un tratamiento disociado, de modo que la información que se obtenga no pueda asociarse a persona identificada o identificable. Todos sus datos se mantendrán estrictamente confidenciales y exclusivamente su médico conocerá su identidad. Ningún dato personal que permita su identificación será accesible a ninguna persona que no sea su médico, ni podrán ser divulgados por ningún medio. Los resultados del estudio serán recogidos y guardados de forma anónima y disociada, vinculándose a un código (número de paciente), de manera que únicamente su médico puede conocer su identidad.

Si desea hacer alguna pregunta o aclarar algún tema relacionado con el estudio, no dude en ponerse en contacto con:

Nombre del médico: Francisco BLANCO ANTONA

Número de teléfono: 923-291392

El investigador le agradece su inestimable colaboración

**ANEXO 2: CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA EL ESTUDIO GENÉTICO**

D.....

Se me va a extraer una muestra de sangre para realizar un estudio genético. Se me ha explicado por parte de D. Francisco BLANCO ANTONA, y he entendido que:

1.- El objetivo de dicho estudio es analizar los genes que pueden estar implicados en la patología: *Dolor e isquemia vascular*. Del tipo y número de genes que pueden intervenir no se conoce nada en la actualidad, por lo que este estudio debe ser considerado de investigación sin ninguna repercusión práctica a corto plazo.

2.- La Unidad de Medicina Molecular del Departamento de Medicina de la Universidad de Salamanca realizará los estudios genéticos y preservará el anonimato de la muestra, guardando confidencialidad sobre la identidad del paciente.

3.- Los resultados obtenidos podrán ser utilizados para una posible publicación científica, guardando estricta confidencialidad sobre la identidad del paciente.

4.- Mi ADN sin identificación se podrá utilizar como control en otros estudios genéticos:  
**SI / NO** (*táchese lo que no proceda*)

He sido informado adecuadamente de los puntos anteriores y de los temas que de ellos se derivan por el facultativo D. Francisco BLANCO ANTONA.

En Salamanca, a..... de ..... de 200...

Firma del paciente  
Firma del testigo o representante legal<sup>1</sup>

Firma del investigador

---

<sup>1</sup> Firma del testigo en caso que el paciente no pudiera firmar el consentimiento informado, y del representante legal en caso que el paciente esté incapacitado.

---

**ANEXO 3: CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA LA PARTICIPACIÓN EN EL ESTUDIO**

**Valoración de la efectividad de una pauta analgésica con buprenorfina transdérmica en pacientes afectos de isquemia arterial crónica evolucionada de las extremidades inferiores: perfil genético**

Yo, .....

- He leído la hoja de información que se me ha entregado.
- He podido hacer preguntas sobre el estudio.
- He recibido suficiente información sobre el estudio.

He hablado con D. Francisco BLANCO ANTONA

Comprendo que mi participación es voluntaria.

Comprendo que puedo retirarme del estudio:

- Cuando quiera
- Sin tener que dar explicaciones
- Sin que ello repercuta en mis cuidados médicos

Por todo ello presto libremente mi conformidad para participar en el estudio.

Firma del paciente  
Firma del testigo o representante legal<sup>1</sup>

Firma del investigador

En Salamanca, a..... de ..... 200.....

---

<sup>1</sup> Firma del testigo en caso que el paciente no pudiera firmar el consentimiento informado, y del representante legal en caso que el paciente esté incapacitado.

**ANEXO 4. HOJA DE RECOGIDA DE DATOS (FileMaker Pro 8®)****HOJA DE RECOGIDA DE DATOS PARA PACIENTES DEL ESTUDIO DE DOLOR INSOUÉMICO**

Nombre  Apellidos   
 NHC  Edad  años Sexo  Peso  kg Número de teléfono

Antecedentes personales   
 AP Médicos   
 AP Quirúrgicos   
 Trabajo   
 Patología dolorosa previa  Tipo de patología dolorosa previa

Antecedentes vasculares   
 Grado de Fontaine   
 Grado de Rutherford   
 Tiempo de evolución de la arteriopatía  meses  
 Intervenciones vasculares previas

Antecedentes familiares   
 Tratamiento actual   
 Tratamiento analgésico actual   
 Alergias   
 Alérgico a

**EXPLORACIÓN**

EVA  Escala verbal 1   
 Índice tobillo / brazo  EQ5D 1

**SEGUIMIENTO**

EVA 2  Escala verbal 2  EQ5D 2   
 Efectos secundarios del parche  Necesidad de retirar parche   
 Necesidad de otro analgésico   
 Tipo de analgésico

**GENÉTICA**

Número de laboratorio Genético   
 OPRM118   
 CYP3A4   
 UGT2B7