



Universidad de Valladolid

Facultad de Medicina

TRABAJO DE FIN DE GRADO

**Estudio de marcadores genéticos de
evolución de la escoliosis.**

AUTORA: Celia González González

TUTOR PRINCIPAL: Francisco Ardura Aragón

COTUTOR: David Noriega González

GRADO EN MEDICINA UNIVERSIDAD DE VALLADOLID

CURSO 2019-2020

ÍNDICE

| | |
|--|-----------|
| RESUMEN..... | 3 |
| ABSTRACT | 4 |
| 1. INTRODUCCIÓN..... | 5 |
| 1.1. Anatomía..... | 5 |
| 1.2. Etiopatogenia..... | 5 |
| 1.3. Clínica, exploración física y diagnóstico..... | 5 |
| 1.4. Pronóstico..... | 6 |
| 1.5. Genética y modelos predictivos..... | 7 |
| 2. JUSTIFICACIÓN, OBJETIVOS E HIPÓTESIS DE TRABAJO..... | 8 |
| 2.1. Objetivos..... | 8 |
| 2.2. Hipótesis de trabajo..... | 8 |
| 3. MATERIAL Y MÉTODOS..... | 9 |
| 3.1. Diseño del estudio..... | 9 |
| 3.2. Variables..... | 10 |
| 3.2.1. Variable dependiente..... | 10 |
| 3.2.2. Variables independientes..... | 10 |
| 3.3. Análisis estadístico..... | 11 |
| 4. RESULTADOS..... | 11 |
| 4.1. Estadística descriptiva..... | 11 |
| 4.1.1. Frecuencias genotípicas en la muestra en su conjunto..... | 12 |
| 4.1.2. Frecuencias genotípicas en cada grupo de gravedad..... | 12 |
| 4.1.3. Proporción de la variable gravedad en la muestra..... | 13 |
| 4.2. Estadística analítica..... | 13 |
| 4.2.1. Análisis Alelos en codominancia*Gravedad..... | 14 |
| 4.2.2. Análisis Un alelo en dominancia* Gravedad..... | 15 |
| 4.2.3. Regresión logística..... | 16 |
| 5. DISCUSIÓN..... | 16 |
| 5.1. Limitaciones del estudio..... | 17 |
| 6. CONCLUSIONES..... | 18 |
| 7. ASPECTOS ÉTICOS..... | 18 |
| 8. AGRADECIMIENTOS..... | 19 |
| 9. BIBLIOGRAFÍA..... | 19 |

RESUMEN

Introducción: La escoliosis idiopática del adolescente (EIA) es una enfermedad muy heterogénea y su etiopatogenia aún no está clarificada por completo. Algunos artículos publicados sugieren que la genética se ha visto involucrada en su desarrollo y evolución. No obstante, se necesitan estudios adicionales en diferentes poblaciones para probar esos resultados.

Objetivos: Estudiar la magnitud de la escoliosis de cada paciente, valorar la proporción de casos con grado severo y analizar la asociación entre la variable gravedad y los polimorfismos.

Material y métodos: Se parte de una base de datos de 90 pacientes con secuenciación genética ya realizada para siete polimorfismos relacionados con la escoliosis, se mide la intensidad de la curva mediante el ángulo de Cobb y se definen dos grupos ("gravedad" si $>40^\circ$, "no gravedad" si $\leq 40^\circ$). Se plantean varios supuestos para cada polimorfismo: codominancia y dominancia de un alelo sobre el otro. Cada uno de los planteamientos se compara con la gravedad y se analiza su asociación.

Resultados: La proporción de gravedad es 24,7% (IC 95% 13,01-36,9). El análisis de relación realizado entre las variables gravedad y polimorfismos ha resultado no estadísticamente significativo ($p > 0,05$).

Conclusiones: No se puede afirmar que exista asociación entre la gravedad y los diferentes polimorfismos estudiados. Sin embargo, otros artículos han demostrado significación estadística con estas variantes, con lo cual se requieren más estudios para aclarar cómo intervienen en la progresión de la enfermedad. La proporción estimada de gravedad representa una gran parte de los diagnosticados, lo que impulsa a investigar en este campo.

PALABRAS CLAVE: escoliosis idiopática del adolescente, progresión de la curva, marcadores genéticos.

ABSTRACT

Introduction: Adolescent idiopathic scoliosis (AIS) is a highly heterogeneous disease and its etiopathogenesis is yet to be completely clarified. In numerous published articles it is suggested that there is a probability for genetic factors being involved in its development and evolution. However, further studies in different populations are required to prove these results.

Objectives: The purpose of this investigation is to study the severity of scoliosis in each patient and its proportion. Furthermore, to analyse the association between the severity variable and different polymorphisms.

Material and methods: Starting from a database of 90 patients with genetic sequencing already done for seven scoliosis-related polymorphisms, the intensity of the curve has been measured using the Cobb angle and defining two groups ("severity" if $>40^\circ$, "no severity" if $\leq 40^\circ$). Three different assumptions were made for each polymorphism: co-dominance and dominance of one allele over the other. Each of the approaches were compared with gravity and its association was analysed.

Results: The proportion of severity is 24,7% (95% CI of 13,01 to 36,9). Severity and polymorphism were not significantly correlated.

Conclusions: It cannot be assumed that there is an association between severity and the different polymorphisms studied. However, other articles have shown statistical significance with these variants, therefore further studies are necessary to clarify how they intervene in the disease progression. The estimated proportion of severity represents a large part of those diagnosed, which prompts research in this field.

KEYWORDS: adolescent idiopathic scoliosis, genetic markers, curve progression.

1. INTRODUCCIÓN.

La American Academy of Orthopaedic Surgeons (AAOS) y la Sociedad Española de Cirugía Ortopédica y Traumatología (SECOT) definen la escoliosis idiopática del adolescente (EIA) como una deformidad tridimensional del raquis de origen desconocido, provocada por el desplazamiento lateral de más de 10°, inclinación y rotación de los cuerpos vertebrales sobre su eje longitudinal.

La EIA es más frecuente en mujeres, tiene una prevalencia del 1 - 4% en todo el mundo (1) y suele debutar en la adolescencia.

1.1. Anatomía.

La lateralidad de la curva viene determinada por la convexidad. Para poder definirla, se debe localizar la vértebra ápex, que es aquella con mayor rotación y menor inclinación y que está en el punto de máxima angulación de la curva, y las dos vértebras límite, superior e inferior, que son las más inclinadas de la curva, pero con la menor rotación.

El concepto de rotación vertebral es importante ya que si no se produce se habla de escoliosis posicional secundaria o actitud escoliótica.

1.2. Etiopatogenia.

La escoliosis se clasifica en grupos de edad (infantil, juvenil, adolescente y adulto), localización (cervical, torácica, lumbar y dobles curvas) y causa. Existen diferentes formas clínicas de escoliosis: idiopática, congénita, neuromuscular, afectaciones mesenquimales, degenerativas, secundarias a fracturas vertebrales, etc.

La etiopatogenia de la escoliosis idiopática del adolescente es, en su misma definición, desconocida. Sin embargo, se han demostrado factores implicados en el desarrollo de la EIA (2), como alteraciones del sistema nervioso, musculoesquelético y tejido conectivo y en diversas moléculas, para muchas de las cuales se han podido determinar variantes genéticas (3, 4).

1.3. Clínica, exploración física y diagnóstico.

En muchas ocasiones es un hallazgo casual (sobre todo en las curvas leves), pero puede manifestarse como deformidad estética, síntomas cardiorrespiratorios o dolor, aunque no sea frecuente al menos en el inicio.

El diagnóstico de escoliosis idiopática es de exclusión. En primer lugar, mediante la exploración física se pueden detectar deformidades en la columna vertebral. Se debe explorar al paciente valorando la asimetría entre las crestas iliacas, entre ambos

triángulos del talle y la existencia o no de giba dorsal. La asimetría también puede valorarse con distintas pruebas, como el test de Adams¹ o el test de la plomada².

Si se encuentran alteraciones en el examen físico es necesario hacer una radiografía postero anterior (PA) de columna total para analizar la morfología de la curva (se utiliza esta proyección para disminuir la irradiación del tejido mamario) (5, 6). Sobre la radiografía se pueden aplicar diferentes test (5, 6) para medir la angulación (método de Cobb y método de Ferguson), la flexibilidad de la curva (Bending test), la rotación (técnica de Nash y Moe) y la osificación (test de Risser). Asimismo, ante síntomas y signos no propios de la escoliosis idiopática del adolescente se deben considerar otras pruebas complementarias como TAC o RMN para excluir diagnósticos alternativos.

El método más habitualmente empleado para valorar la curva es la medición del ángulo de Cobb. Este método consiste en trazar una línea tangente al platillo superior de la vértebra límite superior y una línea tangente al platillo inferior de la vértebra límite inferior. El ángulo formado por ambas líneas se corresponde con el de la curva. La curva se considera dentro de la normalidad si es menor de 10° en la radiografía postero anterior de columna total.

De este modo, aquellas con un ángulo menor de 20° se consideran leves, entre 20°-40°, moderadas y mayor de 40°, graves. En las curvas menores de 40°, dependiendo de su gradación, desarrollo óseo y manifestaciones, puede aplicarse seguimiento mediante observación, rehabilitación e incluso ser subsidiarias de tratamiento ortopédico con corsés; y las mayores de 40° suelen requerir tratamiento quirúrgico.

1.4. Pronóstico.

La escoliosis idiopática del adolescente es una enfermedad crónica que tiene progresión en el tiempo y su tratamiento, encaminado a enlentecer dicha progresión, varía en función de la intensidad de la curva y sus complicaciones.

El sexo, la magnitud de la curva y la capacidad de crecimiento residual son algunos de los determinantes de progresión más importantes (2).

¹ Valora la asimetría del tronco desde detrás, con el paciente flexionado hacia delante. Se considera positivo cuando el torso no está completamente paralelo al suelo, sino que presenta una deformidad.

² Se coloca una plomada en la protuberancia occipital y se deja caer a lo largo de la columna. Si esta está alineada, debe caer en el pliegue interglúteo.

Esto tiene dos repercusiones muy claras. La primera, que la evolución de la escoliosis en cuanto a gravedad está ligada al crecimiento óseo de tal manera que, a mayor inmadurez ósea en el momento de aparición, más posibilidades existen de que la patología avance hasta situaciones en las que sea preciso el tratamiento quirúrgico. También hay una relación directa entre la intensidad de la curva y la progresión.

La segunda, la connotación psicológica que tiene. La evaluación de la escoliosis no debe basarse únicamente en criterios físicos, puesto que la percepción de la imagen corporal es uno de los factores más importantes de las alteraciones psicosociales en la EIA (7).

1.5. Genética y modelos predictivos.

La genética se ha visto relacionada con la patogénesis de la EIA (3, 4). En este sentido, se han identificado genes para hormonas de crecimiento, melatonina, TGF- β (8), factor de crecimiento insulínico, factores neurotróficos, calmodulina (9), factor de transcripción LBX1 (4), estrógenos, receptores de vitamina D (10), etc. (11).

Existe un panel de 53 genes que recibe el nombre de “ScoliScore” (12), cuya finalidad príncipes ha sido intentar identificar esta progresión para poder conformar modelos predictivos. Especialmente sirve para identificar pacientes con bajo riesgo de progresión, debido a su alto valor predictivo negativo en este grupo (9). El problema con este modelo es que no se ha podido demostrar reproducibilidad de los datos en estudios independientes y en distintas poblaciones (1, 12) y que, además, los autores consideran que es válido solo para adolescentes (entre 9-13 años) y no para pacientes de otras edades (12).

En algunos estudios el método ScoliScore solo ha demostrado tener relación con el ángulo de Cobb (9) (es necesario señalar que el ángulo está incluido dentro del algoritmo de ScoliScore), pero es importante tener en cuenta que no sólo hay marcadores genéticos y polimorfismos asociados al desarrollo y progresión de la escoliosis idiopática del adolescente, sino que también intervienen diversos factores ambientales y otras variables como el nivel de desarrollo óseo, edad de la menarquia, patologías asociadas, etc. Todos ellos son necesarios para crear métodos predictivos aplicables en la práctica clínica habitual y válidos para poblaciones distintas.

Cabe destacar que, en esta línea, un reciente estudio de 2019 (1) postula la necesidad de un método predictivo que considere estas múltiples variables, debido a la previamente mencionada variada etiopatogenia de la EIA. Dicho estudio ha planteado un modelo matemático de predicción multivariable en población asiática.

2. JUSTIFICACIÓN, OBJETIVOS E HIPÓTESIS DE TRABAJO.

Los polimorfismos a estudio en este trabajo de fin de grado (rs1544410, rs1800469, rs11190870, rs4782809, rs17044552, rs7975232, rs9945359) han demostrado significación estadística en otros artículos en cuanto a relación con el desarrollo o la progresión de la escoliosis (7, 9, 10, 13, 14). La mayoría de los estudios publicados sobre genética en la EIA coinciden en la necesidad de seguir investigando diferentes polimorfismos en distintas poblaciones para clarificar de una mejor manera la predicción de la evolución de la escoliosis idiopática del adolescente (1, 3, 4, 8, 11).

Es interesante poder identificar grupos de riesgo de progresión diferentes, ya que aquellos considerados como “de bajo riesgo de progresión” podrían evitar tratamientos excesivamente agresivos o reducir en ellos la iatrogenia de intervenciones o del seguimiento, y aquellos calificados como “de alto riesgo de progresión” podrían beneficiarse de tratamientos más intensos desde un primer momento, reduciendo el periodo de simple observación (16).

Se hace, por tanto, necesaria la elaboración de modelos predictivos. Estos tendrían como objetivo ayudar al profesional sanitario a tomar decisiones sobre el manejo y tratamiento de la enfermedad y la posibilidad añadida de minimizar costes, directos o indirectos.

2.1. Objetivos.

- a. Estudiar la intensidad de la escoliosis de cada paciente basada en la medición del ángulo de Cobb y/o de la necesidad de cirugía correctora.
- b. Valorar la proporción de casos que presentan grado severo de EIA.
- c. Separar por grupos de gravedad y compararlos entre sí en función del genotipo de cada paciente, analizando si existe asociación entre las dos variables.

2.2. Hipótesis de trabajo.

Se establece la hipótesis nula (H_0) de que no existe asociación entre las variables genotípicas y la variable gravedad.

Se plantea como hipótesis alternativa (H_1) la existencia de asociación entre las variables genotípicas y la variable gravedad.

3. MATERIAL Y MÉTODOS.

3.1. Diseño del estudio.

Este trabajo ha sido aprobado por el CEIm Área de Salud Valladolid Este (Hospital Clínico Universitario de Valladolid) con el código PI 20- 1779.

Es un estudio observacional analítico retrospectivo que se ha desarrollado en el ámbito del Hospital Clínico Universitario de Valladolid (HCUV). Se ha dispuesto desde el inicio de una base de datos perteneciente al servicio de Traumatología y Cirugía Ortopédica del HCUV, en la cual hay datos pertenecientes a pacientes tanto del HCUV como del Hospital Universitario Río Hortega de Valladolid (HURH).

Este conjunto de datos fue recogido previamente al inicio de este trabajo de fin de grado, salvo el ángulo de Cobb. Dicha base alberga 90 casos índices, todos diagnosticados de escoliosis idiopática del adolescente. A los pacientes se les incluyó en la base de datos previo consentimiento informado y selección para la misma.

A dichos pacientes se les tomaron muestras genéticas previas al inicio de este trabajo de fin de grado para la secuenciación de determinados polimorfismos (rs1544410, rs1800469, rs11190870, rs4782809, rs17044552, rs7975232, rs9945359). Los datos de los diferentes alelos han sido proporcionados por el Instituto de Biología y Genética Molecular (IBGM) de Valladolid.

La base de datos se ha completado con la medición del ángulo de Cobb sobre una telerradiografía postero anterior de columna vertebral. Se han realizado dos mediciones consecutivas, aplicando la media aritmética entre ambas y utilizando el dato resultante para clasificar a los casos de la muestra en dos grupos. Estos son denominados “gravedad” versus “no gravedad”. Se define como “grupo de gravedad” aquel cuyos casos índice tienen un ángulo de Cobb $> 40^\circ$ y/o han sido sometidos a intervención quirúrgica, y como “grupo de no gravedad” aquel cuyos casos índice tienen un ángulo de Cobb $\leq 40^\circ$.

El ángulo se ha medido en la radiografía de columna total más reciente que existía en el momento en el que se tomaron las medidas, obtenida de su historia clínica hospitalaria. Se han tenido en cuenta las radiografías ya realizadas y su validez para el fin de este estudio, con el objetivo de no someter a los pacientes a pruebas innecesarias.

Tras la secuenciación genética, medición del ángulo y clasificación, se comparan los grupos entre sí en función de su genotipo (y en los supuestos explicados en la sección siguiente) para determinar si existe asociación entre dichos marcadores genéticos y la gravedad de la escoliosis. En la misma línea, se describen las frecuencias genotípicas de la muestra.

3.2. Variables.

Tanto la variable dependiente como las independientes son cualitativas categóricas o nominales.

3.2.1. Variable dependiente.

Se determina como variable dependiente la gravedad de la curva. Es una variable dicotómica (gravedad, no gravedad).

3.2.2. Variables independientes.

Se definen como variables independientes los distintos polimorfismos conjugados con los supuestos (tres en cada polimorfismo) que se enuncian a continuación. Se dispone de siete variantes genéticas a evaluar (polimorfismos 1 a 7). De esta manera se forman las siguientes variables:

- Para el polimorfismo 1 (rs1544410):
 - Suponiendo codominancia (GG vs GA vs AA).
 - Suponiendo dominancia G (GG+GA vs AA).
 - Suponiendo dominancia A (AA+GA vs GG).
- Para el polimorfismo 2 (rs1800469):
 - Suponiendo codominancia (CC vs CT vs TT).
 - Suponiendo dominancia C (CC+CT vs TT).
 - Suponiendo dominancia T (TT+CT vs CC).
- Para el polimorfismo 3 (rs11190870):
 - Suponiendo codominancia (CC+CT vs TT).
 - Suponiendo dominancia C (CC+CT vs TT).
 - Suponiendo dominancia T (TT+CT vs CC).
- Para el polimorfismo 4 (rs4782809):
 - Suponiendo codominancia (CC vs CG vs GG).
 - Suponiendo dominancia C (CC+CG vs GG).
 - Suponiendo dominancia G (GG+CG vs CC).
- Para el polimorfismo 5 (rs17044552):
 - Suponiendo codominancia (GG vs AG vs AA).
 - Suponiendo dominancia G (GG+AG vs AA).
 - Suponiendo dominancia A (AA+GA vs GG).
- Para el polimorfismo 6 (rs7975232):
 - Suponiendo codominancia (GG vs TG vs TT).
 - Suponiendo dominancia G (GG+TG vs TT).
 - Suponiendo dominancia T (TT+TG vs GG).

- Para el polimorfismo 7 (rs9945359):
 - Suponiendo codominancia (GG vs AG vs AA).
 - Suponiendo dominancia G (GG+AG vs AA).
 - Suponiendo dominancia A (AA+GA vs GG).

Se establecen, por tanto, 21 variables independientes. Las variables de “codominancia” son politómicas, mientras que las de “dominancia” son dicotómicas.

En aras de explicar el porqué de este análisis se ha de comentar el desconocimiento sobre la dominancia alélica y sobre cómo se comportan estas variantes en la población de la que se ha obtenido la muestra. Como consecuencia se proponen los planteamientos anteriormente enunciados. Asimismo, se presupone una penetrancia completa.

3.3. Análisis estadístico.

El análisis estadístico se ha realizado mediante el programa IBM® SPSS® (Statistical Package for the Social Sciences) versión 24 y Microsoft Excel®.

Se han descrito las frecuencias genotípicas de la muestra en su conjunto y en cada grupo de gravedad por separado. Seguidamente se ha comparado la distribución de los alelos en cada grupo de gravedad/no gravedad para cada polimorfismo y supuestos estudiados. Se ha evaluado su posible asociación mediante el test de chi-cuadrado (χ^2) y la razón de verosimilitud, el test exacto de Fisher y la odds ratio.

Para intentar predecir el resultado la variable “gravedad” en función del resto de variables independientes se ha utilizado el modelo de regresión logística binaria. Para el análisis de este modelo se han estipulado variables indicadoras o “*dummy*”, debido a que las variables “suponiendo codominancia” son politómicas con tres valores.

Se acepta como resultado estadísticamente significativo un p valor <0,05.

4. RESULTADOS.

4.1. Estadística descriptiva.

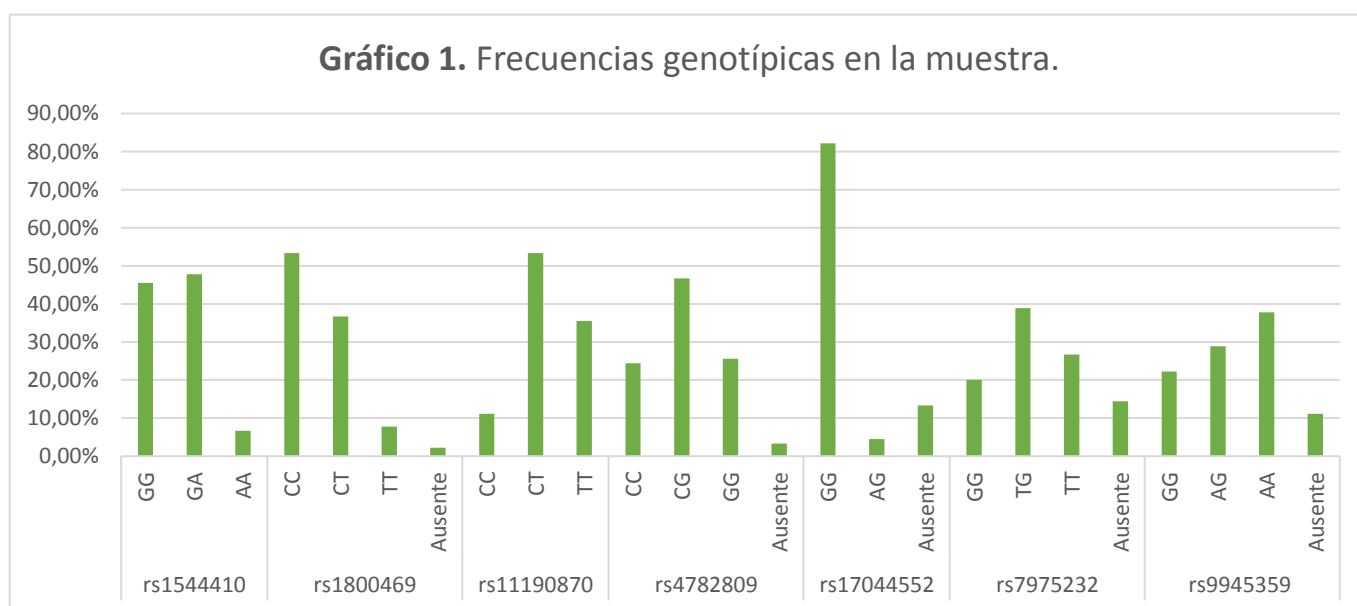
Para plasmar la distribución del genotipo en la muestra se han generado tablas de contingencia, tanto para la muestra en su conjunto como especificando por grupo de gravedad. Ambas descripciones se han representado mediante gráficos de barras en forma de porcentajes.

Sólo se ha realizado la estadística descriptiva para los supuestos de “codominancia”, puesto que este planteamiento incluye las formas genotípicas observadas en la realidad de la muestra a estudio. Los supuestos de dominancia del primer alelo sobre el segundo (y viceversa) son conjeturas con vistas a la estadística inferencial y, por tanto, no descriptivos de la realidad observada.

De modo idéntico, se ha creado una tabla de frecuencias para evaluar la proporción de la gravedad en esta muestra.

4.1.1. Frecuencias genotípicas en la muestra en su conjunto.

El análisis descriptivo sobre las frecuencias genotípicas (supuesto de codominancia) de la muestra se realizó con 90 casos válidos, si bien para ciertas variantes algunos pacientes presentaban ausencia de los alelos estudiados, tal y como se representa en forma de porcentajes en el *Gráfico 1*. Los valores absolutos pueden encontrarse en la *Tabla 1*.

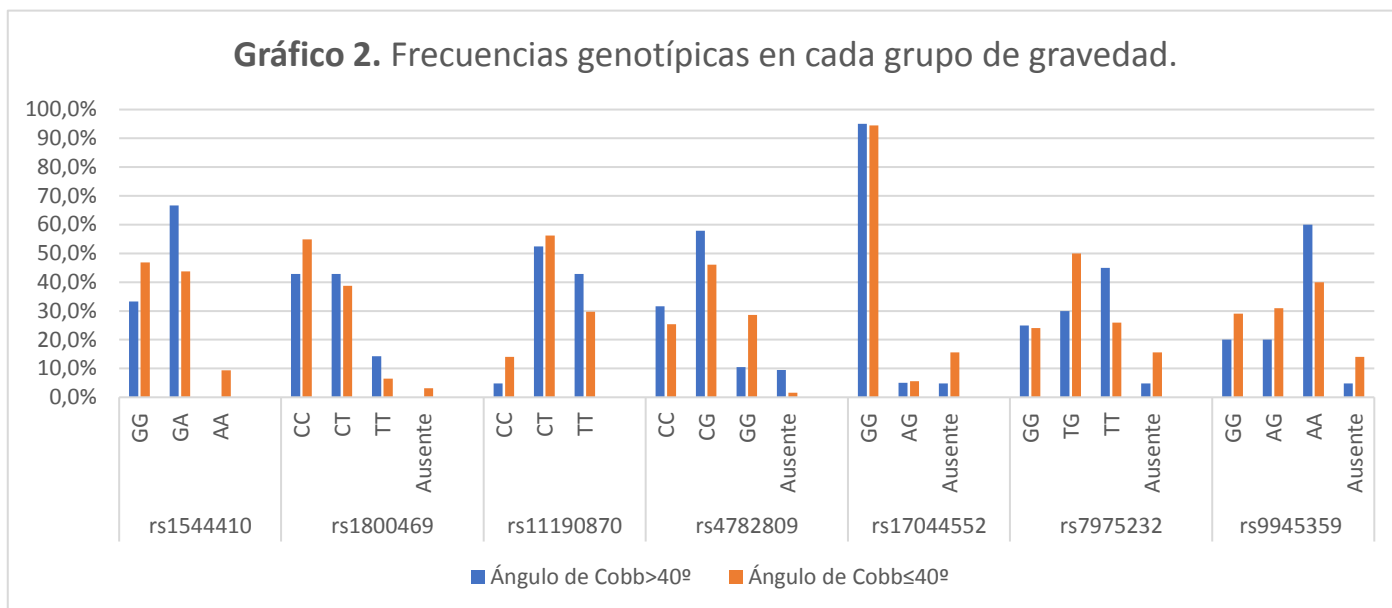


4.1.2. Frecuencias genotípicas en cada grupo de gravedad.

El análisis descriptivo sobre las frecuencias genotípicas (supuesto de codominancia) en cada grupo de gravedad se realizó con 85 casos válidos. Esto se fundamenta en que en cinco pacientes no se pudo acceder a las radiografías de columna total en sus historias clínicas, bien porque no se disponía de su número de historia, porque no se podía acceder a los resultados de esta prueba en concreto o bien porque no la tenían realizada. Al igual que en el punto anterior, el análisis genético de ciertos pacientes no mostraba datos para alguno de los alelos estudiados (*Gráfico 2*).

En la misma línea, tres pacientes con una medición $<40^\circ$ habían sido sometidos a cirugía de corrección (y en consecuencia son considerados parte del grupo de gravedad). Los valores absolutos pueden verse reflejados en la *Tabla 1*.

Gráfico 2. Frecuencias genotípicas en cada grupo de gravedad.



4.1.3. Proporción de la variable gravedad en la muestra.

En cuanto a la variable gravedad, la proporción de un ángulo de Cobb $>40^\circ$ (grupo de gravedad) es de 24,7% y de 75,3% para ángulo de Cobb $\leq 40^\circ$.

4.2. Estadística analítica.

Dado que tanto la variable dependiente como las variables independientes son cualitativas nominales, se han utilizado el test de chi cuadrado, la razón de verosimilitud del chi cuadrado y el test exacto de Fisher (cuando el recuento esperado de alguna de las casillas resulta menor a cinco) para evaluar si existe o no asociación entre ellas. De forma individual, se ha analizado cada uno de los siete polimorfismos en sus tres supuestos (codominancia, dominancia del alelo 1, dominancia del alelo 2) frente a gravedad o no gravedad, codificando de forma numérica todas las combinaciones en el programa SPSS. En las *Tablas 1 y 2* se resumen de forma conjunta los distintos análisis y pruebas utilizadas.

Se estima una proporción de gravedad de 24,7% (IC al 95% 13,01-36,9) (Error estándar de 4,67, calculado a partir de esta muestra).

4.2.1. Análisis Alelos en codominancia*Gravedad.

En la comparación entre la gravedad de la curva y las frecuencias genotípicas considerando codominancia de los polimorfismos estudiados no se observaron diferencias estadísticamente significativas, de tal manera que no se puede establecer que haya asociación entre las variantes genéticas y la gravedad. En la *Tabla 1* se expresan las frecuencias genotípicas (supuesto de codominancia) en cada grupo de gravedad y el nivel de significación.

Tabla 1. Tabla de contingencia entre “Gravedad” y “polimorfismos suponiendo codominancia”, y análisis de asociación entre ellas.

| | | Gravedad | | | |
|------------------------------------|----|--------------------|--------------------|-------|--------------------|
| | | Ángulo de Cobb>40° | Ángulo de Cobb≤40° | Total | Significación |
| rs1544410 suponiendo codominancia | GG | 7 | 30 | 37 | ,058 ^a |
| | GA | 14 | 28 | 42 | |
| | AA | 0 | 6 | 6 | |
| rs1800469 suponiendo codominancia | CC | 9 | 34 | 43 | ,463 ^a |
| | CT | 9 | 24 | 33 | |
| | TT | 3 | 4 | 7 | |
| rs11190870 suponiendo codominancia | CC | 1 | 9 | 10 | ,328 ^a |
| | CT | 11 | 36 | 47 | |
| | TT | 9 | 19 | 28 | |
| rs4782809 suponiendo codominancia | CC | 6 | 16 | 22 | ,230 ^a |
| | CG | 11 | 29 | 40 | |
| | GG | 2 | 18 | 20 | |
| rs17044552 suponiendo codominancia | GG | 19 | 51 | 70 | 1,000 ^b |
| | AG | 1 | 3 | 4 | |
| rs7975232 suponiendo codominancia | GG | 5 | 13 | 18 | ,222 ^a |
| | TG | 6 | 27 | 33 | |
| | TT | 9 | 14 | 23 | |
| rs9945359 suponiendo codominancia | GG | 4 | 16 | 20 | ,305 ^c |
| | AG | 4 | 17 | 21 | |
| | AA | 12 | 22 | 34 | |

^a Razón de verosimilitud de Chi cuadrado
^b Prueba exacta de Fisher
^c Chi cuadrado de Pearson

4.2.2. Análisis Un alelo en dominancia* Gravedad.

De forma similar al análisis anterior, no se ha demostrado asociación estadísticamente significativa entre la gravedad y los planteamientos de dominancia, tanto del alelo 1 sobre el 2, como del 2 sobre el 1. En la *Tabla 2* se expresan las frecuencias genotípicas (supuestos de dominancia) en cada grupo de gravedad y la significación obtenida.

Por otro lado, cabe señalar que ningún valor de la odds ratio calculada para los diferentes planteamientos resultó significativo.

Tabla 2. Tabla de contingencia entre “Gravedad” y “polimorfismos suponiendo dominancias”, y análisis de asociación entre ellas.

| | | Gravedad | | | |
|------------------------------------|------------|---------------------|---------------------|-------|--------------------|
| | | Ángulo de Cobb >40° | Ángulo de Cobb ≤40° | Total | Significación |
| rs1544410 suponiendo dominancia G | Fenotipo G | 21 | 58 | 79 | ,329 ^a |
| | Fenotipo A | 0 | 6 | 6 | |
| rs1544410 suponiendo dominancia A | Fenotipo A | 14 | 34 | 48 | ,273 ^b |
| | Fenotipo G | 7 | 30 | 37 | |
| rs1800469 suponiendo dominancia C | Fenotipo C | 18 | 58 | 76 | ,362 ^a |
| | Fenotipo T | 3 | 4 | 7 | |
| rs1800469 suponiendo dominancia T | Fenotipo T | 12 | 28 | 40 | ,342 ^b |
| | Fenotipo C | 9 | 34 | 43 | |
| rs11190870 suponiendo dominancia C | Fenotipo C | 12 | 45 | 57 | ,265 ^b |
| | Fenotipo T | 9 | 19 | 28 | |
| rs11190870 suponiendo dominancia T | Fenotipo T | 20 | 55 | 75 | ,439 ^a |
| | Fenotipo C | 1 | 9 | 10 | |
| rs4782809 suponiendo dominancia C | Fenotipo C | 17 | 45 | 62 | ,136 ^a |
| | Fenotipo G | 2 | 18 | 20 | |
| rs4782809 suponiendo dominancia G | Fenotipo G | 13 | 47 | 60 | ,594 ^b |
| | Fenotipo C | 6 | 16 | 22 | |
| rs17044552 suponiendo dominancia G | Fenotipo G | 20 | 54 | 74 | ^c |
| rs17044552 suponiendo dominancia A | Fenotipo A | 1 | 3 | 4 | 1,000 ^a |
| | Fenotipo G | 19 | 51 | 70 | |
| rs7975232 suponiendo dominancia G | Fenotipo G | 11 | 40 | 51 | ,115 ^b |
| | Fenotipo T | 9 | 14 | 23 | |

| | | | | | |
|--|------------|----|----|----|--------------------|
| rs7975232 suponiendo dominancia T | Fenotipo T | 15 | 41 | 56 | 1,000 ^a |
| | Fenotipo G | 5 | 13 | 18 | |
| rs9945359 suponiendo dominancia G | Fenotipo G | 8 | 34 | 42 | ,110 ^b |
| | Fenotipo A | 12 | 22 | 34 | |
| rs9945359 suponiendo dominancia A | Fenotipo A | 16 | 39 | 55 | ,422 ^b |
| | Fenotipo G | 4 | 16 | 20 | |
| ^a Prueba exacta de Fisher ^b Chi cuadrado de Pearson ^c "rs17044552 suponiendo dominancia G" es una constante | | | | | |

4.2.3. Regresión logística.

En virtud de lo ya expuesto en la introducción de este trabajo, se hace necesario buscar predictores de evolución de enfermedad. Debido a las numerosas variables independientes polimórficas de este estudio, mediante el modelo de regresión logística se intenta descubrir si, con estos datos, se puede predecir la progresión de la escoliosis, y ver si el cambio en las variables independientes (supuesto de codominancia) origina cambios en la variable resultado.

No obstante, ningún valor ha conseguido la significación estadística debido a que se han obtenido valores de $p > 0,05$. Por lo tanto, no se puede afirmar que las variables independientes predigan de alguna forma la variable gravedad.

5. DISCUSIÓN.

En la población estudiada, la proporción calculada de la gravedad de la escoliosis es del 24,7% (IC al 95% 13,01-36,9). Este dato representa un gran impacto puesto que un gran porcentaje de la población afecta de escoliosis idiopática del adolescente (aquellos con angulaciones más acusadas) tiene más posibilidades de desarrollar afectación cardíaca y patología restrictiva pulmonar, reduciendo la capacidad vital y aumentando la posibilidad de infecciones pulmonares e insuficiencia respiratoria. No solo puede afectar a órganos torácicos, sino también a la región abdominal, pelvis y extremidades inferiores, alterando la marcha. Según progresa la enfermedad, puede haber mayor riesgo de hernias discales y espondilolistesis, pudiendo llegar a lesionar la médula espinal o las raíces nerviosas. A todo ello se suma la deformidad estética y el dolor, que tienen una gran repercusión en la esfera psicosocial de los pacientes.

Algunos estudios han demostrado que la genética tiene influencia sobre la escoliosis, sin embargo, en este trabajo no se ha logrado demostrar diferencias estadísticamente significativas. En base a los resultados anteriormente descritos, este estudio no puede rechazar la hipótesis nula y, por ende, concluir que haya asociación entre los distintos polimorfismos evaluados y la gravedad de la curva de la escoliosis, basada en la angulación según el método de Cobb, para la población estudiada.

En cuanto al análisis estadístico, es importante remarcar la falta de datos, en algunos casos, del ángulo de la curva y de varios alelos. Esto, teniendo en cuenta el reducido tamaño muestral del que se dispone, representa muchos “casos perdidos” en los distintos análisis.

Resultaría interesante analizar en estudios posteriores si esa ausencia alélica (en algunas variantes de hasta 11 pacientes de un total de 85) influye de algún modo sobre la evolución de la escoliosis (nueva hipótesis de ausencia alélica vs presencia de cualquier alelo). También sería preciso valorar si dicha ausencia es por falta de ese alelo en la genética del individuo o si son falsos negativos de la secuenciación.

Se plantea también la posibilidad de ampliar este estudio en un futuro, recopilando datos de radiografías anteriores en el tiempo, para determinar el ritmo de crecimiento por año, debido a que no sólo influye el grado de severidad en un momento dado, sino que también cómo de rápido evoluciona en el tiempo.

Análogamente, aunque no forma parte de los objetivos de este estudio, y rememorando lo que ya se ha reflejado al inicio de esta memoria, se considera imprescindible analizar no solo la genética frente a la gravedad, sino también el resto de las variables que puedan intervenir en la progresión (edad, sexo, crecimiento residual, menarquia, talla, peso, dominancia (derecha, izquierda o ambidiestra), existencia o no de patologías asociadas, tipo de curva, fecha del primer diagnóstico de escoliosis, etc.) a la hora de conformar modelos de predicción válidos y con la mayor precisión posible.

5.1. Limitaciones del estudio.

Se considera necesario obtener más “n” para lograr una mayor representatividad de la población general y poder hacer inferencias con mayor seguridad.

En la metodología empleada no se ha tenido en cuenta la influencia del tratamiento con corsé, considerando únicamente la intensidad de la curva en la radiografía realizada sin el corsé. Es importante considerar que el fin de este tratamiento es retrasar el avance de la deformidad, lo cual afectaría al ritmo de progresión (que no se ha calculado en este estudio) y, en consecuencia, al ángulo medido.

Asimismo, en este estudio se han analizado los genes de forma individual. Sin embargo, también sería interesante analizar si los genes se relacionan entre sí en estudios más grandes para determinar si existe interacción entre ellos.

Se propone la posibilidad de estratificar por grupos de edad debido a la importancia, entre otras cosas, del crecimiento óseo residual, en consonancia también con un mayor tamaño muestral para que pueda ser correctamente representativo. En este trabajo se ha relacionado la genética con la gravedad, sin tener en cuenta otros factores que pudieran influir en el resultado, con la eventualidad de haber incurrido en un sesgo de confusión.

6. CONCLUSIONES.

El estudio de la genética en la escoliosis ha ganado peso en los últimos años debido a que cada vez más se está consolidando su papel, tanto en el desarrollo como en la evolución de la patología. Pese a que otros estudios han referido asociación entre los polimorfismos estudiados y la gravedad, este trabajo no ha demostrado significación estadística para la población estudiada.

En lo referente a la severidad de la patología, hasta uno de cada cuatro pacientes con escoliosis idiopática del adolescente presenta gravedad (valorada mediante técnicas radiológicas). La escoliosis puede conducir a repercusiones muy graves para la salud del individuo, tanto físicas como mentales. Generalmente, a mayor curvatura, mayores repercusiones, y, con la evolución, todos estos problemas se acentúan progresivamente. Todo ello lo convierte en un punto sobre el que incidir en cuanto a tratamiento e investigación.

En definitiva, se concluye necesario realizar más estudios con un mayor tamaño muestral para esclarecer la forma en la que estos polimorfismos intervienen en la progresión de la escoliosis idiopática del adolescente.

7. ASPECTOS ÉTICOS.

Este trabajo de fin de grado se ha desarrollado de acuerdo con los requisitos establecidos por la Declaración de Helsinki y los datos personales han sido obtenidos y tratados con total confidencialidad y según lo dispuesto en la normativa que resulte de aplicación, como es el Reglamento (UE) 2016/679, de 27 de abril, General de Protección de Datos Personales, y su normativa de desarrollo tanto a nivel nacional como europeo.

No existen conflictos de intereses.

8. AGRADECIMIENTOS.

A Juan José Tellería Orriols, por su gran dedicación a la docencia y por siempre estar dispuesto a ayudar. A Francisco Ardura Aragón, por enseñarme a admirar la Traumatología y aceptarme bajo su tutela en mis últimos años de carrera. A todo el servicio de Traumatología y Cirugía Ortopédica del HCUV, con mención especial a los médicos residentes. Gracias por haberme dejado aprender con vosotros.

9. BIBLIOGRAFÍA.

1. Zhang J, Cheuk K-Y, Xu L, Wang Y, Feng Z, Sit T, et al. A validated composite model to predict risk of curve progression in adolescent idiopathic scoliosis. *EClinicalMedicine*. enero de 2020;18:100236.
2. Reamy BV, Slakey JB. Adolescent Idiopathic Scoliosis: Review and Current Concepts. 2001;64(1):6.
3. Grauers A, Einarsdottir E, Gerdhem P. Genetics and pathogenesis of idiopathic scoliosis. *Scoliosis Spinal Disord*. diciembre de 2016;11(1):45.
4. Ikegawa S. Genomic study of adolescent idiopathic scoliosis in Japan. *Scoliosis Spinal Disord*. diciembre de 2016;11(1):5.
5. Sirvent S. Estudio radiológico de la escoliosis. Curvas, ángulos y algo más. 2012;2596 words.
6. Kim W, Porrino JA, Hood KA, Chadaz TS, Klauser AS, Taljanovic MS. Clinical Evaluation, Imaging, and Management of Adolescent Idiopathic and Adult Degenerative Scoliosis. *Curr Probl Diagn Radiol*. julio de 2019;48(4):402-14.
7. Gallant J-N, Morgan CD, Stoklosa JB, Gannon SR, Shannon CN, Bonfield CM. Psychosocial Difficulties in Adolescent Idiopathic Scoliosis: Body Image, Eating Behaviors, and Mood Disorders. *World Neurosurg*. agosto de 2018;116:421-432.e1.
8. Xu L, Sun W, Qin X, Qiu Y, Zhu Z. The TGFB1 gene is associated with curve severity but not with the development of adolescent idiopathic scoliosis: a replication study in the Chinese population. *BMC Musculoskelet Disord*. diciembre de 2016;17(1):15.
9. Roye BD, Wright ML, Williams BA, Matsumoto H, Corona J, Hyman JE, et al. Does ScolioScore Provide More Information Than Traditional Clinical Estimates of Curve Progression?: *Spine*. diciembre de 2012;37(25):2099-103.

10. Suh KT, Eun I-S, Lee JS. Polymorphism in vitamin D receptor is associated with bone mineral density in patients with adolescent idiopathic scoliosis. *Eur Spine J*. septiembre de 2010;19(9):1545-50.
11. Xu L, Qin X, Sun W, Qiao J, Qiu Y, Zhu Z. Replication of Association Between 53 Single-Nucleotide Polymorphisms in a DNA-Based Diagnostic Test and AIS Progression in Chinese Han Population: *SPINE*. febrero de 2016;41(4):306-10.
12. Ward K, Ogilvie JW, Singleton MV, Chettier R, Engler G, Nelson LM. Validation of DNA-Based Prognostic Testing to Predict Spinal Curve Progression in Adolescent Idiopathic Scoliosis: *Spine*. diciembre de 2010;35(25):E1455-64.
13. Roye BD, Wright ML, Matsumoto H, Yorgova P, McCalla D, Hyman JE, et al. An Independent Evaluation of the Validity of a DNA-Based Prognostic Test for Adolescent Idiopathic Scoliosis: *J Bone Jt Surg-Am Vol*. diciembre de 2015;97(24):1994-8.
14. Yin X, Wang H, Guo J, Zhang L, Zhang Y, Li L, et al. Association of vitamin D receptor Bsm1 rs1544410 and Apal rs7975232 polymorphisms with susceptibility to adolescent idiopathic scoliosis: A systematic review and meta-analysis. *Medicine (Baltimore)*. enero de 2018;97(2):e9627.
15. Xu L, Huang S, Qin X, Mao S, Qiao J, Qian B, et al. Investigation of the 53 Markers in a DNA-Based Prognostic Test Revealing New Predisposition Genes for Adolescent Idiopathic Scoliosis: *Spine*. julio de 2015;40(14):1086-91.
16. Ogilvie JW. Update on prognostic genetic testing in adolescent idiopathic scoliosis (AIS). *J Pediatr Orthop*. febrero de 2011;31(1 Suppl):S46-48.



ESTUDIO DE MARCADORES GENÉTICOS DE EVOLUCIÓN DE LA ESCOLIOSIS



Autora: **Celia González González**. Tutor principal: Francisco Ardura Aragón. Cotutor: David Noriega González.

INTRODUCCIÓN

La **escoliosis idiopática del adolescente (EIA)** es una enfermedad crónica que tiene progresión temporal, y que consiste en el desplazamiento lateral, inclinación y rotación de las vértebras sobre su eje longitudinal. Su tratamiento varía en función de la intensidad de la curva y sus complicaciones. La prevalencia es del 1-4%, siendo más frecuente en mujeres, debutando en la adolescencia.

Se ha demostrado **relación entre la patogenia de la EIA y algunos genes** (R-VitD, LBX1, TGF- β , etc.). Existen modelos predictivos de progresión basados en paneles con múltiples genes, pero que no han podido demostrar reproducibilidad en estudios independientes en distintas poblaciones.

Puesto que los pacientes con EIA se pueden beneficiar de cambios en el manejo mediante la identificación precoz de su evolución, es interesante **describir grupos de riesgo de progresión diferentes** y analizar cómo se relacionan con los polimorfismos identificados, ya que **se requiere ampliar estudios en diferentes poblaciones**.

RESULTADOS

La proporción de gravedad es 24,7% (IC 95% 13,01-36,9).

Tabla 1. Tabla de contingencia entre "Gravedad" y "polimorfismos suponiendo codominancia", y análisis de asociación entre ellas.

| | | Gravedad | | Total | Significación |
|------------------------------------|---------|---------------------|---------------------|-------|---------------|
| | | Ángulo de Cobb >40° | Ángulo de Cobb ≤40° | | |
| rs1544410 suponiendo codominancia | GG | 7 | 30 | 37 | ,058* |
| | GA | 14 | 28 | 42 | |
| | AA | 0 | 6 | 6 | |
| rs1800469 suponiendo codominancia | CC | 9 | 34 | 43 | ,463* |
| | CT | 9 | 24 | 33 | |
| | TT | 3 | 4 | 7 | |
| rs11190870 suponiendo codominancia | CC | 1 | 9 | 10 | ,328* |
| | CT | 11 | 36 | 47 | |
| | TT | 9 | 19 | 28 | |
| rs4782809 suponiendo codominancia | CC | 6 | 16 | 22 | ,230* |
| | CG | 11 | 29 | 40 | |
| | GG | 2 | 18 | 20 | |
| rs17044552 suponiendo codominancia | GG | 19 | 51 | 70 | 1,000* |
| | AG | 1 | 3 | 4 | |
| | Ausente | | | | |
| rs7975232 suponiendo codominancia | GG | 5 | 13 | 18 | ,222* |
| | TG | 6 | 27 | 33 | |
| | TT | 9 | 14 | 23 | |
| rs9945359 suponiendo codominancia | GG | 4 | 16 | 20 | ,305* |
| | AG | 4 | 17 | 21 | |
| | AA | 12 | 22 | 34 | |

OBJETIVOS

- Estudiar la intensidad de la escoliosis de cada paciente.
- Valorar la proporción de casos que presentan grado severo de EIA.
- Separar por grupos de gravedad y compararlos entre sí en función del genotipo de cada paciente, analizando si existe asociación entre las dos variables.

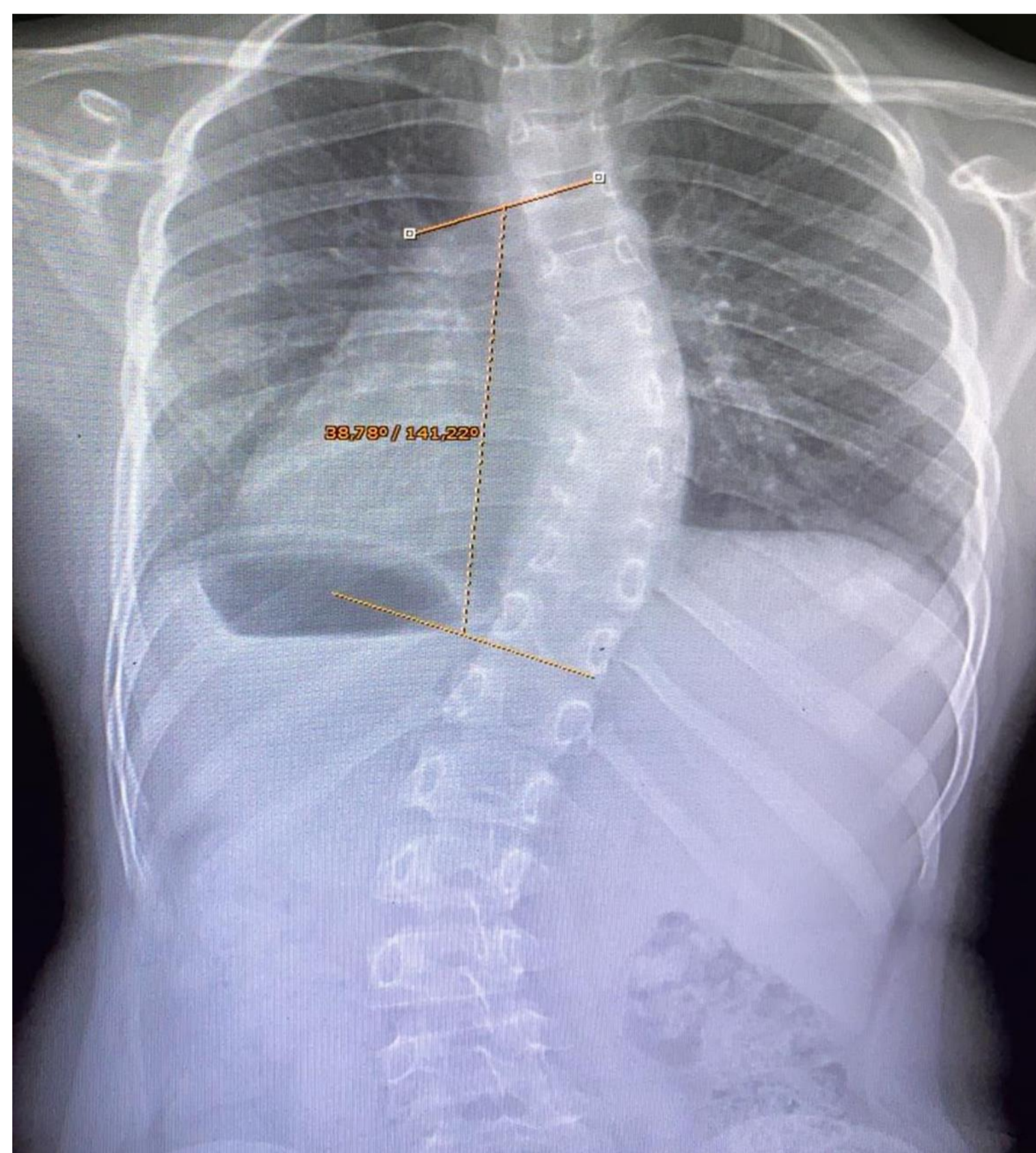


Imagen 1. Método de Cobb para medir la angulación de la curva.

MATERIAL Y MÉTODOS

Estudio observacional analítico retrospectivo.

Base de datos: 90 pacientes diagnosticados de EIA con análisis genético (IBGM de Valladolid).

Se completa con la medición del ángulo de Cobb sobre una telerradiografía postero anterior de columna vertebral.

Se divide la muestra en dos grupos:

- "Gravedad" si ángulo de Cobb > 40° y/o intervención quirúrgica.
- "No gravedad" si ángulo de Cobb ≤ 40°.

Variable dependiente: gravedad de la curva.

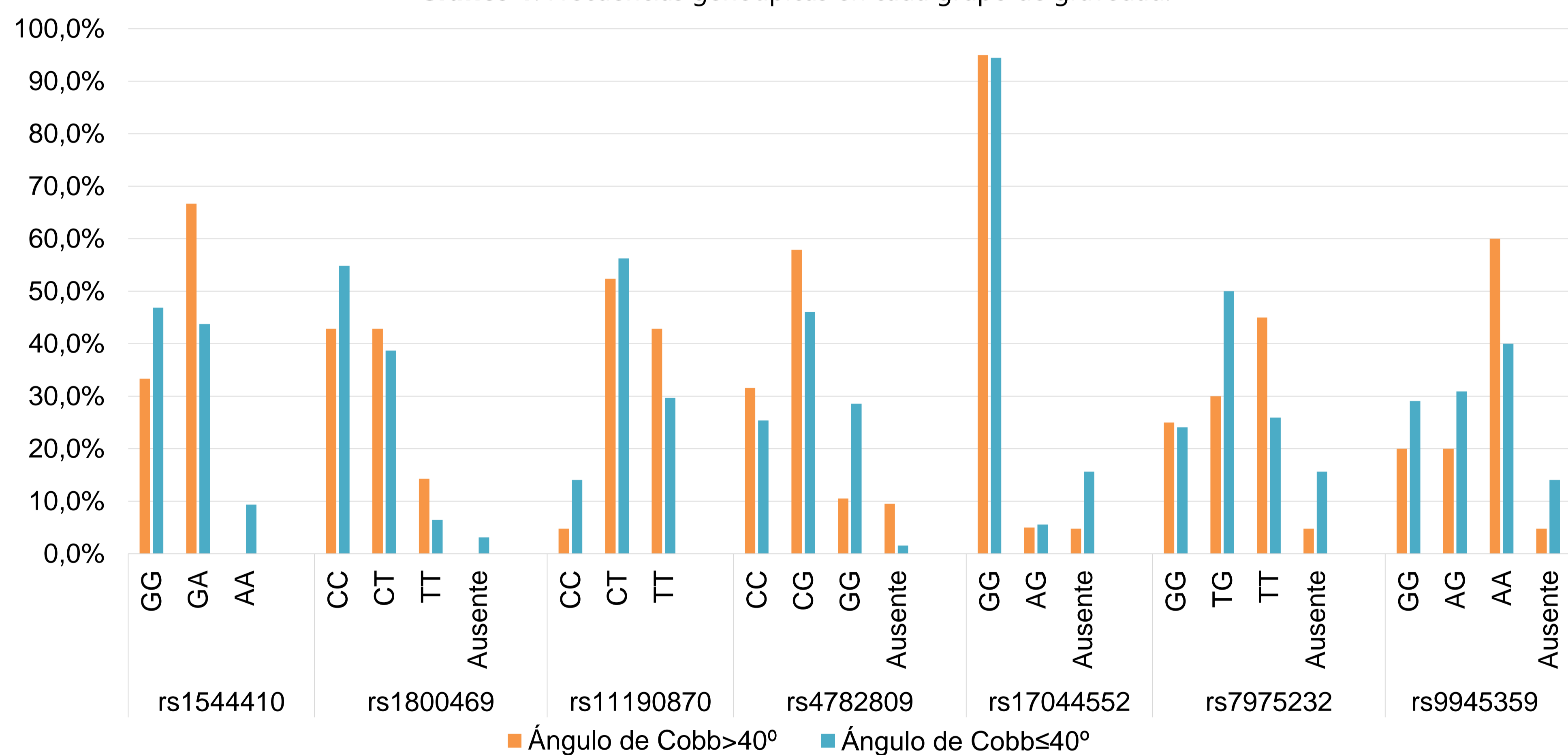
Variables independientes: se plantean varios supuestos para cada uno de los siete polimorfismos: **codominancia** y **dominancia de un alelo sobre el otro**.

- Polimorfismo 1 (**rs1544410**)
- Polimorfismo 2 (**rs1800469**)
- Polimorfismo 3 (**rs11190870**)
- Polimorfismo 4 (**rs4782809**)
- Polimorfismo 5 (**rs17044552**)
- Polimorfismo 6 (**rs7975232**)
- Polimorfismo 7 (**rs9945359**)

Se comparan los grupos entre sí en función de su genotipo (y en diferentes supuestos) para determinar si existe asociación entre dichos marcadores y la gravedad de la escoliosis.

Se describen las frecuencias genotípicas de la muestra.

Gráfico 1. Frecuencias genotípicas en cada grupo de gravedad.



CONCLUSIONES

No se puede concluir que haya asociación entre los polimorfismos evaluados y la gravedad de la curva (valorada con el método de Cobb) en la población estudiada.

Un alto porcentaje de los afectos de EIA (**24,7%**) puede llegar a **desarrollar complicaciones graves**, con repercusión tanto física como psicológica.

Se concluye necesario **realizar más estudios** con un mayor tamaño muestral para esclarecer la forma en la que estos polimorfismos intervienen en la progresión de la escoliosis idiopática del adolescente.

BIBLIOGRAFÍA

1. Zhang J, Cheuk K-Y, Xu L, Wang Y, Feng Z, Sit T, et al. A validated composite model to predict risk of curve progression in adolescent idiopathic scoliosis. EClinicalMedicine. enero de 2020;18:100236.
2. Grauers A, Einarsdottir E, Gerdhem P. Genetics and pathogenesis of idiopathic scoliosis. Scoliosis Spinal Disord. diciembre de 2016;11(1):45.
3. Xu L, Qin X, Sun W, Qiao J, Qiu Y, Zhu Z. Replication of Association Between 53 Single-Nucleotide Polymorphisms in a DNA-Based Diagnostic Test and AIS Progression in Chinese Han Population: SPINE. febrero de 2016;41(4):306-10.

El resto de bibliografía puede ser encontrada en la memoria entregada con anterioridad.