

# ACTIVIDAD DE LA DIAMINO-OXIDASA EN PACIENTES CON MIGRAÑA Y EFECTO DE LA SUPLEMENTACIÓN ENZIMÁTICA COMO TRATAMIENTO PREVENTIVO DE LA MIGRAÑA EPISÓDICA.

Joan Izquierdo Casas

**ADVERTIMENT.** La consulta d'aquesta tesi queda condicionada a l'acceptació de les següents condicions d'ús: La difusió d'aquesta tesi per mitjà del servei TDX ([www.tesisenxarxa.net](http://www.tesisenxarxa.net)) ha estat autoritzada pels titulars dels drets de propietat intel·lectual únicament per a usos privats emmarcats en activitats d'investigació i docència. No s'autoritza la seva reproducció amb finalitats de lucre ni la seva difusió i posada a disposició des d'un lloc aliè al servei TDX. No s'autoritza la presentació del seu contingut en una finestra o marc aliè a TDX (framing). Aquesta reserva de drets afecta tant al resum de presentació de la tesi com als seus continguts. En la utilització o cita de parts de la tesi és obligat indicar el nom de la persona autora.

**ADVERTENCIA.** La consulta de esta tesis queda condicionada a la aceptación de las siguientes condiciones de uso: La difusión de esta tesis por medio del servicio TDR ([www.tesisenred.net](http://www.tesisenred.net)) ha sido autorizada por los titulares de los derechos de propiedad intelectual únicamente para usos privados enmarcados en actividades de investigación y docencia. No se autoriza su reproducción con finalidades de lucro ni su difusión y puesta a disposición desde un sitio ajeno al servicio TDR. No se autoriza la presentación de su contenido en una ventana o marco ajeno a TDR (framing). Esta reserva de derechos afecta tanto al resumen de presentación de la tesis como a sus contenidos. En la utilización o cita de partes de la tesis es obligado indicar el nombre de la persona autora.

**WARNING.** On having consulted this thesis you're accepting the following use conditions: Spreading this thesis by the TDX ([www.tesisenxarxa.net](http://www.tesisenxarxa.net)) service has been authorized by the titular of the intellectual property rights only for private uses placed in investigation and teaching activities. Reproduction with lucrative aims is not authorized neither its spreading and availability from a site foreign to the TDX service. Introducing its content in a window or frame foreign to the TDX service is not authorized (framing). This rights affect to the presentation summary of the thesis as well as to its contents. In the using or citation of parts of the thesis it's obliged to indicate the name of the author.

**ACTIVIDAD DE LA DIAMINO-OXIDASA EN PACIENTES  
CON MIGRAÑA Y EFECTO DE LA SUPLEMENTACIÓN  
ENZIMÁTICA COMO TRATAMIENTO PREVENTIVO DE  
LA MIGRAÑA EPISÓDICA.**

**Tesis doctoral**

Joan Izquierdo Casas

**Directores de la tesis:**

Dr. Lluís Soler Singla

Dra. Marian Lorente Gascón

**UIC**  
barcelona

*Pour qu'une chose soit interessante,  
Il suffit de la regarder longtemps*

Gustave Flaubert

## **AGRADECIMIENTOS**

Para los que están y los que no están.

## ÍNDICE

<b>1. INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>9</b>
1.1. Justificación.....	9
1.2. Motivaciones.....	11
1.3. Planteamiento del problema.....	12
1.4. Estructura del trabajo.....	13
<b>2. FUNDAMENTOS.....</b>	<b>14</b>
2.1. Migraña.....	14
2.1.1. Epidemiología.....	14
2.1.2. Genética.....	16
2.1.3. Factores desencadenantes.....	17
2.1.4. Diagnóstico.....	18
2.1.4.1. Migraña sin aura.....	18
2.1.4.2. Migraña con aura.....	19
2.1.4.3. Variantes atípicas.....	20
2.1.5. Exploraciones complementarias.....	21
2.1.6. Tratamiento.....	22
2.1.6.1. Tratamiento sintomático.....	22
2.1.6.1.1. Tratamientos inespecíficos.....	23
2.1.6.1.2. Tratamientos específicos.....	24
2.1.6.1.3. Tratamientos coadyuvantes.....	25
2.1.6.2. Tratamientos preventivos.....	26
2.1.7. Complicaciones de la migraña.....	29
2.1.8. Calidad de vida.....	30
2.2. Histamina.....	31
2.2.1. Etiopatogénesis de la intolerancia a la histamina.....	34
2.2.2. Cuadro clínico.....	35

2.2.2.1.	Histamina y sistema digestivo.....	36
2.2.2.2.	Histamina y sistema respiratorio.....	36
2.2.2.3.	Histamina y síntomas cutáneos.....	37
2.2.2.4.	Histamina y sistema hormonal.....	37
2.2.2.5.	Histamina y regulación de ritmos circadianos.....	38
2.2.2.6.	Histamina y otras patologías asociadas.....	39
2.2.2.7.	Histamina y fármacos.....	40
2.2.3.	Histamina en el Sistema Nervioso.....	41
2.2.3.1.	Localización encefálica y su relación con la migraña..	42
2.2.3.1.1.	Mastocitos.....	44
2.2.3.1.2.	Histamina e hipotálamo.....	45
2.2.3.1.3.	El área hipotalámica posterior.....	46
2.2.3.1.4.	Neuronas histaminérgicas y su relación con los patrones temporales de la migraña.....	47
2.2.3.2.	Receptores histaminérgicos y sistema nervioso.....	49
2.2.3.2.1.	Receptores H <sub>1</sub> .....	50
2.2.3.2.2.	Receptores H <sub>2</sub> .....	51
2.2.3.2.3.	Receptores H <sub>3</sub> .....	52
2.2.3.2.4.	Receptores H <sub>4</sub> .....	53
2.2.4.	Diamino-Oxidasa (DAO).....	54
<b>3.</b>	<b>HIPÓTESIS.....</b>	<b>56</b>
3.1.	Hipótesis de investigación.....	56
3.2.	Hipótesis nula.....	56
3.3.	Hipótesis alternativa.....	57
<b>4.</b>	<b>OBJETIVOS.....</b>	<b>58</b>
4.1.	Generales o principales.....	58
4.2.	Objetivos secundarios.....	58

<b>5. MATERIAL Y MÉTODOS.....</b>	<b>59</b>
5.1. Diseño del estudio.....	59
5.2. Centros participantes.....	59
5.3. Población.....	61
5.3.1. Método de muestreo.....	61
5.3.2. Criterios de inclusión.....	61
5.3.3. Criterios de exclusión.....	62
5.3.4. Criterios de retirada.....	62
5.3.5. Población de análisis.....	63
5.3.6. Tamaño de la muestra.....	63
5.3.7. Métodos utilizados para minimizar el sesgo.....	64
5.3.8. Acontecimientos adversos.....	64
5.3.9. Evaluaciones de severidad y causalidad.....	66
5.3.10. Seguimiento de pacientes con efectos adversos.....	67
5.4. Producto en investigación.....	68
5.5. Prueba diagnóstica de la actividad DAO.....	69
5.6. Consideraciones éticas.....	70
5.6.1. Consentimiento informado.....	70
5.6.2. Beneficios, riesgos y molestias para el paciente.....	70
5.6.3. Comité de ética.....	71
5.7. Variables del estudio.....	72
5.7.1.1. Estudio observacional.....	72
5.7.1.2. Ensayo clínico.....	72
5.8. Método de recogida de datos.....	73
5.9. Gestión de datos.....	77
5.10. Registro del estudio.....	78
<b>6. RESULTADOS.....</b>	<b>79</b>

6.1. Estudio observacional.....	79
6.1.1. Edad.....	79
6.1.2. Sexo.....	80
6.1.3. Actividad DAO.....	81
6.2. Ensayo clínico.....	84
6.2.1. Edad.....	84
6.2.2. Sexo.....	85
6.2.3. Actividad DAO.....	86
6.2.4. Antecedentes familiares de fibromialgia.....	87
6.2.5. Antecedentes familiares de eczema atópico.....	88
6.2.6. Antecedentes familiares de colon irritable.....	89
6.2.7. Antecedentes familiares de urticaria crónica.....	90
6.2.8. Antecedentes familiares de migraña.....	91
6.2.9. Número de crisis.....	92
6.2.10. Duración de las crisis en horas.....	95
6.2.11. Intensidad del dolor.....	97
6.2.12. Consumo de analgesia. Triptanes.....	99
6.2.13. Variables exploratorias.....	101
6.2.13.1. Sequedad cutánea.....	101
6.2.13.2. Dolor muscular.....	102
6.2.13.3. Astenia.....	103
6.2.13.4. Purito.....	104
<b>7. DISCUSIÓN.....</b>	<b>105</b>
7.1. Estudio observacional.....	106
7.1.1. Edad.....	107
7.1.2. Sexo.....	107
7.1.3. Actividad enzimática.....	108

7.2. Ensayo clínico.....	109
7.2.1. Estructura del ensayo clínico.....	109
7.2.2. Variables demográficas.....	112
7.2.2.1. Edad.....	112
7.2.2.2. Sexo.....	112
7.2.2.3. Antecedentes familiares.....	112
7.2.3. Variables principales.....	114
7.2.3.1. Número de crisis.....	114
7.2.3.2. Duración de las crisis.....	115
7.2.4. Variables secundarias.....	117
7.2.4.1. Intensidad del dolor.....	117
7.2.4.2. Uso de analgésicos. Triptanes.....	118
7.2.5. Variables exploratorias.....	120
7.2.6. Seguridad.....	122
7.2.7. Puntos de mejora.....	123
7.2.8. Consideraciones finales.....	126
<b>8. CONCLUSIONES.....</b>	<b>127</b>
<b>9. BIBLIOGRAFÍA.....</b>	<b>128</b>
<b>10. PRINCIPALES ABREVIATURAS.....</b>	<b>147</b>
<b>11. ANEXOS.....</b>	<b>148</b>
11.1. Determinación de la actividad DAO.....	148
11.2. Formulario de recogida de efectos adversos.....	153
11.3. Ficha técnica del producto en investigación.....	154
11.4. Consentimiento informado.....	155
11.5. Aprobación por el Comité Ético.....	160
11.6. Registro ISRCTN.....	161
11.7. Cuaderno de recogida de datos.....	162

# **1. INTRODUCCIÓN**

## **1.1. JUSTIFICACIÓN**

La migraña se define como un desorden neurológico primario y discapacitante, en el que el síntoma predominante es la cefalea episódica y recurrente, siendo el principal motivo de consulta en un servicio de neurología. Las características clínicas más comunes, a parte de la cefalea, a menudo unilateral y pulsátil, son las náuseas y/o vómitos, fotofobia y sonofobia<sup>1</sup>.

Los mecanismos y sistemas fisiopatológicos implicados en su génesis son varios. Por un lado, un grupo de estructuras del sistema nervioso periférico que incluyen el sistema trigéminovascular y sus conexiones, y las estructuras centrales compuestas por el tronco, diencéfalo y la corteza cerebral<sup>2</sup>.

Los vasos meníngeos se encuentran rodeados por una densa red de fibras sensitivas que proviene de la primera rama del nervio trigémino. Este conjunto formado por los vasos meníngeos con sus ramas nerviosas forman lo que conocemos como sistema trigéminovascular. Forman parte también de él las primeras ramas cervicales cuyas fibras nociceptivas confluyen en el núcleo caudado de nervio trigémino<sup>3,4</sup>.

La activación de este sistema, vehicula dos acciones principales: La primera, una transmisión del dolor hacia el núcleo caudado del trigémino<sup>4</sup>, y una segunda, la generación de una inflamación meníngea estéril. Todo ello desemboca en una vasodilatación<sup>5</sup> con extravasación proteica, agregación plaquetar y activación de macrófagos locales y liberación de serotonina conocida como inflamación neurógena o aséptica<sup>6,7</sup>.

Dentro de los mecanismos centrales, encontramos la depresión cortical. Descrito por Leao<sup>8</sup> en 1944 en animales de experimentación y posteriormente relacionados por Millner<sup>9</sup> en 1958 con los síntomas neurológicos transitorios del aura. En este grupo, también se implican estructuras tanto mesencefálicas como pontinas.

A pesar de conocer con bastante exactitud parte del proceso fisiopatológico, desconocemos la base química que lo provoca. Entre los diferentes neuromoduladores y sustancias que se han relacionado tenemos la histamina.

La histamina es una amina biógena ampliamente distribuida en el organismo y que está implicada en diversos procesos dentro del normal funcionamiento del organismo, entre los que se encuentran procesos digestivos, regulación vascular, reacciones alérgicas y procesos inflamatorios.

Un exceso de la histamina, o bien por un aporte excesivo, ya que forma parte de los nutrientes habituales, o bien por un defecto en su degradación, van a provocar un acúmulo de la misma. El exceso de esta sustancia se ha relacionado con patología digestiva, cutánea y neurológica, concretamente con la migraña.

Punto clave en el metabolismo de la histamina, son sus diferentes vías e degradación. La principal enzima encargada de ello es la Diamino-oxidasa (DAO), que se encuentra distribuida en diferentes tejidos del organismo.

Una disminución transitoria o permanente de la actividad DAO puede dar lugar a un acúmulo de histamina y en consecuencia la posible aparición de la sintomatología previamente citada.

El estudio que proponemos se basa, en una primera parte en cuantificar el porcentaje de pacientes migrañosos que presentan un déficit de la actividad DAO. La segunda parte consiste en un ensayo a doble ciego contra placebo de suplementación con enzima DAO a pacientes con migraña y déficit en la actividad de la misma.

## **1.2. MOTIVACIONES**

El motivo de este estudio es doble.

En una primera parte se establecerá la prevalencia del déficit de la actividad DAO de pacientes que cumplen criterios diagnósticos de migraña según la IHS, y de esta forma valorar la incidencia real de esta afectación para poder considerarlo una posible anomalía metabólica que pudiera jugar un papel determinante en la etiopatogénesis de la migraña.

La segunda parte busca una nueva arma terapéutica y un nuevo enfoque de los pacientes con migraña. En numerosas ocasiones se trata de un proceso invalidante y en el que las medidas tanto para tratamiento de crisis como las de tipo preventivo, se pueden mostrar ineficaces.

El poder demostrar por primera vez una alteración metabólica en la génesis de la migraña y conseguir suplementarla, puede abrir un nuevo enfoque para el conocimiento y tratamiento de esta patología.

### 1.3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Dentro de la migraña, el tratamiento preventivo o profiláctico es una parte fundamental en aquellos pacientes que presentan un elevado número de crisis o que las que tienen son de elevada intensidad o duración, lo que conlleva una merma sustancial en su calidad de vida.

Actualmente los tratamientos que existe en el mercado ofrecen una serie de inconvenientes.

- Su mecanismo de acción sobre la etiología de la migraña es desconocido
- Son fármacos creados para el tratamiento de otras entidades no relacionadas con la migraña, como la depresión, arritmias o epilepsia, entre otras. Estos efectos en distintos órganos del cuerpo, pueden provocar una serie de reacciones y efectos adversos que en ocasiones obliguen a la retirada del fármaco.
- A pesar de los esfuerzos en investigación realizados durante los últimos años, todos los nuevos fármacos diseñados con esta finalidad, han fracasado, por lo que nos hace pensar que la diana terapéutica escogida, era errónea.
- De forma histórica, se relaciona la ingesta de distintos alimentos, así como otros factores ambientales, emocionales y hormonales con la aparición de las crisis de dolor. A pesar de ello, no se ha encontrado hasta el momento ningún mecanismo químico común entre ellos.

## 1.4. ESTRUCTURA DEL TRABAJO

- Estudio poblacional

Se seleccionaron pacientes con migraña de la Consulta de Neurología del Hospital General de Catalunya y se determinó la actividad enzimática DAO en plasma. Se tomó un grupo control dentro de pacientes que iban a realizarse una revisión médica y que no presentaban antecedentes médicos personales de migraña

- Ensayo clínico

Aquellos pacientes con migraña y déficit de actividad DAO fueron randomizados en dos grupos de tratamiento. Uno con placebo y otro con enzima DAO. Se valoraron el número de ataques, duración de los mismos, intensidad y consumo de analgésicos. También se estudiaron otros síntomas relacionados con un exceso de histamina plasmática como la patología digestiva y cutánea.

Todos los pacientes participantes firmaron el consentimiento informado y han seguido los controles médicos establecidos en el protocolo del estudio.

Así mismo, el estudio que presentamos, ha sido aprobado por el Comité d'Ética del Hospital General de Catalunya.

## **2. FUNDAMENTOS**

### **2.1. MIGRAÑA**

#### **2.1.1. EPIDEMIOLOGÍA**

Se estima que afecta a aproximadamente un 12% de la población. Los estudios epidemiológicos más recientes muestran que, alrededor de un 16,6% de personas mayores de 18 años presentaron migraña u otras cefaleas intensas en un periodo de 3 meses. De ellas, un 11,7% tenía un diagnóstico de confirmación que etiquetaba el dolor de migraña y el restante 4,5% de probable migraña, dando una prevalencia total que llega al 16%<sup>10,11</sup>.

Es bien conocida la estrecha relación entre las hormonas sexuales femeninas y la migraña. Durante los primeros años de vida, la prevalencia de esta patología es similar entre ambos sexos. Estos datos cambian radicalmente con la llegada de la pubertad, aumentando la frecuencia tres veces en las mujeres tras la menarquia y manteniéndose estable en la población masculina. De esta forma, las mujeres en edad fértil, llegan a tener una incidencia de hasta el 25%, por un 8% en varones. Esta tendencia vuelve a igualarse después de la quinta década de la vida<sup>12</sup>.

Otras evidencias que apoyan un mayor vínculo con el sexo femenino y sus ciclos hormonales es la existencia de lo que se denomina migraña menstrual, la mejoría de los síntomas durante el segundo y tercer mes del embarazo, y el hecho de que tanto los anticonceptivos como la terapia hormonal sustitutiva puedan modificar tanto frecuencia como intensidad de las crisis<sup>13,14</sup>.

Tanto los estrógenos como la progesterona tienen efecto sobre el SNC, existiendo receptores para ellos tanto en estructuras corticales como subcorticales implicadas en la modulación y génesis del dolor, entre los que se encuentran los núcleos trigeminales.

Se ha valorado una diferente incidencia en función de status socioeconómico de los pacientes. De un total de más de 36.000 participantes en un estudio, se evidenció un riesgo relativo de 1,77(1,26-2,49) de padecer ataques de migraña

en aquellos pacientes con un nivel socioeconómico inferior, basándose tanto en el nivel de ingresos como en el grado de educación<sup>15</sup>.

### 2.1.2. GENÉTICA

Existe un importante componente hereditario con un riesgo genético que predispone a la aparición de las crisis de migraña<sup>16,17</sup>.

Las variantes más comunes de migraña se caracterizan por una importante variabilidad fenotípica. Las primeras descripciones en variantes con una importante carga genética se realizaron estudiando la migraña hemipléjica familiar<sup>18</sup>. En ella se describió una variante autosómica dominante. Los genes descritos entre los años 1996 a 2005 se relacionaron con la codificación de transportadores de canales iónicos: Canales de calcio neuronal (CACNA1A, FHM1), bomba de sodio-potasio glial (ATP1A2, FHM2) y un canal de sodio neuronal (SCN1A, FHM3). Modelos animales han demostrado que alteraciones en estos genes han facilitado el inicio de la depresión cortical y el aumento de la excitabilidad neuronal por un exceso de la neurotransmisión glutamatérgica<sup>19</sup>.

En la década de los 90 estudios familiares y de gemelos mostraron que las variantes más comunes de migraña (tanto con aura como sin ella) eran poligénicas, con una posibilidad de herencia alrededor del 50%. Estos condicionantes genéticos se han visto que también están influenciados por factores ambientales.

Desde el año 2010 tres grandes estudios de asociación genómica (GWAS) han identificado seis variantes asociadas con la migraña. Cada una de ellas ha aportado una modesta contribución para predecir el riesgo de padecer la enfermedad, lo cual sugiere una marcada heterogeneidad genética. La gran mayoría de genes relacionados con la migraña están aún por identificar<sup>20,21</sup>.

### 2.1.3. FACTORES DESENCADENANTES

El poder identificar desencadenantes de la crisis es un dato de gran importancia tanto para completar el estudio del paciente como para organizar una estrategia de tratamiento como por lo que corresponde al soporte farmacológico, y para optimizar todas aquellas medidas no medicamentosas que pueden ayudar al paciente. Esto no sólo va a mejorar la calidad de vida, sino que evitará el riesgo de entrar en un abuso farmacológico con el consiguiente riesgo de cronificación del dolor y de la aparición de efectos secundarios.

Dentro de ellos tenemos un grupo en el cual es difícil o imposible poder adoptar medidas de modificación. En este grupo incluiríamos los relacionados con cambios atmosféricos o estímulos externos que pueden ser causa de migraña en un número considerable de pacientes.

En el grupo de los desencadenantes que en mayor o medida podemos modificar, encontramos un grupo, a priori, muy variopinto. En este, incluimos factores como los psicológicos, hormonales, alteraciones en los ciclos del sueño, efectos secundarios de determinados fármacos, dolores de otro tipo, y finalmente los desencadenantes alimentarios.

Ambientales	Cambios de presión atmosférica, altitud
Hormonales	Menstruación, ovulación, anovulatorios
Farmacológicos	Nitratos, estrógenos
Estímulos sensoriales	Luz, ruido, olores
Psicológicos	Estrés, postestrés, ansiedad, depresión
Sueño	Exceso o déficit
Alimentarios	Alcohol, aditivos, ayuno, etcétera
Otros	Ejercicio, fatiga, dolores de otras localizaciones.

#### 2.1.4. DIAGNÓSTICO

El diagnóstico es clínico, basándose en los criterios establecidos por la “International Headache Society” (IHS). Se clasifica en dos subgrupos principales, migraña sin aura y migraña con aura<sup>1</sup>.

##### 2.1.4.1. Migraña sin aura:

Trastorno recurrente de origen idiopático de cefalea cuya duración oscila entre 4 horas a un máximo de 3 días. Suele caracterizarse por una cefalea unilateral y pulsátil que en ocasiones puede afectar a la totalidad craneal. De intensidad moderada o severa y sufre un agravamiento al coincidir con movimientos cefálicos, dificultando las actividades físicas incluso la realización de cualquier actividad cotidiana. Suele asociarse a otros síntomas muy típicos y que configuran las características que permiten su diagnóstico como son la presencia de náuseas, vómitos, fotofobia, sonofobia y en ocasiones osmofobia.

#### **Criterios diagnósticos de la migraña sin aura.**

- A. Al menos cinco crisis<sup>1</sup> que cumplen los criterios B-D.
- B. Episodios de cefalea de entre 4 y 72 horas de duración (no tratados o tratados sin éxito).
- C. La cefalea presenta al menos dos de las siguientes cuatro características:
  - 1. Localización unilateral.
  - 2. Carácter pulsátil.
  - 3. Dolor de intensidad moderada o severa.
  - 4. Empeorada por o condiciona el abandono de la actividad física habitual (p. ej., andar o subir escaleras).
- D. Al menos uno de los siguientes durante la cefalea:
  - 1. Náuseas y/o vómitos.
  - 2. Fotofobia y fonofobia.
- E. Sin mejor explicación por otro diagnóstico de la ICHD-III.

#### 2.1.4.2. Migraña con aura:

Típicamente en este fenómeno se combinan síntomas positivos y negativos, de tipo reversible y que generalmente son fenómenos visuales. En segundo lugar, y en ocasiones combinados con los primeros existen síntomas sensitivos, generalmente unilaterales. Ya es menos habitual, pero en algunos pacientes se pueden experimentar alteraciones del lenguaje, todas ellas transitorias.

Estos fenómenos se desarrollan de forma progresiva en un tiempo alrededor de los cinco minutos y su duración no excede la hora. Estos pueden ser autolimitados sin más sintomatología, pero comúnmente durante el aura o en plazo de tiempo que no excede los 60 minutos se acompaña de cefalea con características clínicas definibles como migraña, aunque en otras ocasiones puede que el dolor no cumpla totalmente estas características.

#### **Criterios diagnósticos de la migraña con aura.**

- A. Al menos dos crisis que cumplen los criterios B y C.
- B. Uno o más de los síntomas de aura siguientes totalmente reversibles:
  - 1. Visuales.
  - 2. Sensitivos.
  - 3. De habla o del lenguaje.
  - 4. Motores.
  - 5. Troncoencefálicos.
  - 6. Retinianos.
- C. Al menos dos de las siguientes cuatro características:
  - 1. Progresión gradual de al menos uno de los síntomas de aura durante un período  $\geq 5$  min y/o dos o más síntomas se presentan consecutivamente.
  - 2. Cada síntoma de aura tiene una duración de entre 5 y 60 minutos.
  - 3. Al menos uno de los síntomas de aura es unilateral.
  - 4. El aura se acompaña, o se sigue antes de 60 min, de cefalea.
- D. Sin mejor explicación por otro diagnóstico de la ICHD-III y se ha descartado un accidente isquémico transitorio.

#### 2.1.4.3. Variantes atípicas:

Aunque con menor frecuencia que las citadas previamente encontramos otro grupo de manifestaciones neurológicas que se incluyen dentro del grupo de las migrañas con aura:

- Migraña hemipléjica: Aura acompañada de déficit motor reversible.
- Migraña basilar: Se acompaña de síntomas de afectación de estructuras y funciones de tronco cerebral, pudiendo presentar vértigo, tinnitus, hipoacusia, diplopia, síntomas visuales o sensitivos bilaterales, ataxia o incluso alteraciones en el nivel de conciencia.
- Migraña retiniana: Presenta sintomatología visual que acompaña la crisis de dolor. Pueden ser positivos como el centelleo o negativos como la presencia de un escotoma o amaurosis.
- Migraña hemipléjica familiar: Se han descrito tres tipos determinados genéticamente (MHF1, MHF2 y MHF3) que condicionan su herencia.
- Migraña vestibular: En ocasiones puede simular un cuadro vertiginoso de tipo periférico.

### 2.1.5. EXPLORACIONES COMPLEMENTARIAS

La principal forma de diagnóstico se basa en la clínica. Se debe basar tanto en la historias personal como familiar del paciente, posibles desencadenantes y las características clínicas del dolor así como distintos síntomas acompañantes típicos de esta cefalea y que permite cumplir los criterios internacionales de diagnóstico.

Se deben descartar los síntomas de alarma, por lo que el examen físico del paciente no ha de mostrar ninguna focalidad. En él, a parte de la exploración neurológica convencional, se debe medir la tensión arterial del paciente, y examinar la musculatura craneal, arterias temporales y senos paranasales.

En principio, no está recomendado realizar de forma sistemática estudios de neuroimagen u otras exploraciones complementarias, salvo en aquellos casos que el diagnóstico de migraña sea dudoso o se aprecian signos de alarma clínica.

Serían justificables los estudios de neuroimagen, básicamente la tomografía computerizada o la resonancia magnética en aquellos pacientes que presenten clínica de aura atípica o que su duración sea excesiva, o bien en aquellos pacientes que presenten aura por primera vez.

Años atrás era frecuente el uso del estudio electroencefalográfico en pacientes con cefalea. Actualmente sólo estaría recomendado en aquellos que presenten crisis comiciales en contexto migrañoso.

## 2.1.6. TRATAMIENTO

### 2.1.6.1. Tratamiento sintomático

El tratamiento de crisis suele ser imperativo por la intensidad y lo invalidante del dolor en la mayoría de pacientes. Se ha de buscar la eficacia con la menor cantidad de efectos secundarios y que el paciente recupere su estado funcional normal con el menor riesgo de padecer recaídas en las horas posteriores. La mayoría de síntomas que acompañan al dolor suelen ser susceptibles de tratamiento farmacológico excepto el aura.

Se debe individualizar el tratamiento y ajustar a las características clínicas de cada paciente, tanto de intensidad como duración del episodio así como de los síntomas no exclusivamente no dolorosos que se pueden presentar con alta frecuencia.

Debe ser rápido, y administrarse tan pronto el paciente identifique el dolor como de tipo migrañoso, ya que el tratamiento precoz y a dosis óptima aumenta la eficacia del mismo. Una vez avanza la crisis, la respuesta farmacológica es claramente inferior, e incluso nula.

El uso repetido de medicación puede llevar a una situación de abuso analgésico, lo cual puede cronificar la cefalea y provocar una pérdida de la eficacia farmacológica. Si existe la sospecha de estar en esta situación se debe plantear el uso de tratamientos profilácticos así como un cambio de la medicación para las crisis, haciendo hincapié en que en ocasiones no por más analgesia que se administre, se va a obtener un mejor control del dolor.

Si no se obtiene una respuesta a las dos horas del inicio del tratamiento, se recomienda cambiar de grupo terapéutico y no repetir dosis de la misma sustancia.

En el caso de acompañarse de náuseas o vómitos, se pueden plantear vías de administración alternativa como la nasal o subcutánea, intramuscular o endovenosa para garantizar una correcta dosis del fármaco en plasma. Aunque existentes en otros países, las dosis transdérmicas y rectales, que pueden evitar la vía digestiva, no están disponibles en España.

Las medidas para evaluar la eficacia del analgésico son la mejoría del dolor o ausencia del mismo a las dos horas, así como su rapidez y ausencia de síntomas a las 24 horas. Su eficacia se debe mantener en los siguientes ataques y no se debería requerir medicación de rescate.

El tratamiento sintomático de las crisis lo podemos dividir en inespecífico en el que se incluyen los analgésicos no esteroideos, específico, formado por ergóticos y triptanes, y el coadyuvante el cual lo forman los antieméticos y procinéticos.

#### **2.1.6.1.1. Tratamientos inespecíficos**

##### Analgésicos:

Se recomienda principalmente en infancia y adolescencia por su moderada eficacia. Es recomendable evitar las combinaciones que contengan codeína por el riesgo de cronificación. El más indicado de este grupo es el uso de paracetamol a dosis de 1 gramo. Se recomienda evitar la dipirona por sus potenciales efectos adversos y derivados mórficos por el riesgo de abuso y dependencia farmacológica.

##### Antiinflamatorios no esteroideos (AINE):

De elección en crisis leve o moderada. Actúan inhibiendo mecanismos inflamatorios presentes en la crisis de migraña. Se pueden combinar con antieméticos y en casos específicos, incluso con triptanes. Los más comúnmente empleados son el ácido acetilsalicílico, naproxeno sódico, ibuprofeno y dexketoprofeno.

Si las crisis son severas o ante el fracaso del tratamiento con triptanes, se pueden administrar los AINES por vía parenteral.

Deben tenerse en cuenta las alergias a este grupo farmacológico así como las complicaciones más frecuentes que son a nivel gastrointestinal, por lo que si su uso es frecuente, se recomienda la administración de protectores gástricos.

### **2.1.6.1.2. Tratamientos específicos:**

#### Ergóticos:

Suelen estar combinados con otras familias de analgésicos. Actúa a nivel de los receptores 5-HT de forma menos selectiva que la familia de los triptanes. Sus efectos vasoconstrictores son más intensos que el de los triptanes y se debe ser cauto por sus posibles efectos adversos a nivel circulatorio. Debe controlarse su consumo repetido por el riesgo de cronificación del dolor por abuso de analgesia. Debe evitarse el uso concomitante con los triptanes por el riesgo sumatorio de su efecto vasoconstrictor.

Su eficacia es mayor que la de los AINES pero inferior a los triptanes.

#### Triptanes:

Su actividad es en forma de agonistas selectivos 1-HT<sub>1B/D</sub>, con función inhibitoria de la vasodilatación meníngea y bloqueo de la liberación de neuropéptidos en las terminales axonales periféricas trigeminales. Los diferentes triptanes que se encuentran en el mercado son: sumatriptán, naratriptán, zolmitriptán, rizatriptán, almotriptán, eletriptán y frovatriptán. En algunos de ellos podemos encontrar vías de administración intranasal o subcutánea que puede facilitar el control de las crisis en aquellos pacientes con un importante componente de vegetatismo en forma de vómitos.

Se considera el tratamiento de elección en las crisis moderadas y severas. Su eficacia se ve claramente aumentada si su empleo se hace al inicio de la crisis. La aparición de alodinia (percepción de dolor ante estímulos táctiles) en el desarrollo de la crisis se ha postulado como el momento en que el uso de triptanes no es efectivo para esa crisis.

Este grupo también debe ser usado con prudencia ya que su sobreuso también puede llevar a la aparición de una cefalea crónica por abuso analgésico.

Su efecto es más rápido que el de las otras familias expuestas y también pueden tener eficacia sobre otros síntomas acompañantes como las náuseas y la fotofobia. Su uso no impide la aparición de recurrencias, por lo que en determinados pacientes se puede asociar su uso al de AINES.

Su eficacia puede ser distinta para un mismo paciente por lo que se recomienda probar un segundo fármaco en caso de fracaso terapéutico con el triptán recetado inicialmente.

Por su potencial riesgo vascular se contraindica su uso en pacientes en tratamiento con IMAOs o sulfamidas, y se debe ser cauto en aquellos pacientes que también consuman ergóticos por su posible efecto sumatorio.

No han demostrado eficacia en el tratamiento sintomático del aura y se deberían evitar en aquellos pacientes con migrañas con auras atípicas, basilares o hemipléjicas, ya que podrían aumentar el riesgo de padecer un evento isquémico.

#### **2.1.6.1.3. Tratamientos coadyuvantes:**

##### Antieméticos:

Pueden tener un papel en la mejoría de la absorción del analgésico y evitando su expulsión en pacientes con vómitos. Se considera que la metoclopramida tiene un cierto efecto analgésico. La domperidona también puede ser utilizada para minimizar el riesgo de alteraciones extrapiramidales.

##### Ansiolíticos y neurolepticos:

Se recomienda el uso restringido en aquellos pacientes con un importante componente ansioso durante las crisis. El uso de neurolepticos puede ser útil en el tratamiento del status migrañosos, o como tratamiento soporte en pacientes a los que se trata de un posible componente de abuso analgésico.

#### **2.1.6.2. Tratamientos preventivos:**

Se estima que, aproximadamente una cuarta parte de los pacientes con migraña, van a necesitar de un tratamiento profiláctico durante su vida. Con ello se intenta reducir la frecuencia y la intensidad y consecuentemente la demanda analgésica con lo que ello conlleva.

La decisión terapéutica debe consensuarse con el paciente. Hay que valorar los posibles efectos secundarios que en mayor o menor medida pueden presentar y adaptar la elección al perfil del paciente. Se consideran siempre como un tratamiento de una duración determinada, valorando siempre su retirada progresiva cuando los síntomas estén controlados. Se consideran eficaces cuando consiguen la reducción de un 50% de crisis en un intervalo de tres meses. Se recomienda el uso en monoterapia de las distintas familias, ya que no se disponen de datos tanto de eficacia como de seguridad de su uso combinado, pudiéndose compaginar con otras terapias alternativas.

#### Betabloqueantes:

Se desconoce su mecanismo de acción exacto. Los más empleados son el propanolol y nadolol. Podrían utilizarse durante el embarazo debiéndose detener cuatro semanas antes del parto.

Sus efectos secundarios más habituales son hipotensión y bradicardia, por lo que se recomienda realizar un estudio cardiaco previo.

#### Antagonistas del calcio:

Encontramos la flunarizina como principal representante de esta familia. Otros compuestos de la misma familia no han demostrado una actividad preventiva. Debe controlarse el aumento de peso y los trastornos depresivos como principal efecto adverso.

#### Antidepresivos:

Se recomienda la Amitriptilina a dosis bajas, inferiores a su posología para el tratamiento de trastornos psiquiátricos. Están contraindicados en el embarazo y pueden provocar somnolencia y sequedad como efectos adversos más frecuentes.

#### Neuromoduladores:

- Ácido valproico: Actúa como inhibidor del sistema trigémino vascular. Por sus efectos secundarios no se considera un fármaco preventivo de

primera elección. Contraindicado en el embarazo, sus principales efectos secundarios son la somnolencia, aumento de peso y temblor.

- Topiramato: Provoca un bloqueo de los canales de sodio calcio dependientes. Como efectos adversos se destacan las parestesias periféricas, síntomas cognitivos y pérdida de peso, estando contraindicados durante el embarazo.

#### Toxina botulínica:

Se recomienda en pacientes con el diagnóstico de migraña crónica en un mínimo de 31 puntos de infiltración pericraneal y en trapecios.

#### Otros tratamientos:

- Magnesio: Su déficit se asocia a la difusión propagada y la liberación de neurotransmisores. Se ha demostrado una reducción durante el periodo menstrual y en crisis. Ha demostrado efectividad tanto como tratamiento preventivo como de crisis<sup>22, 23</sup>.
- Vitamina B2 (Riboflavina): Cofactor en el transporte de electrones durante el ciclo de Krebs. La administración de suplementos de vitamina B2 se han mostrado eficaces en el tratamiento preventivo<sup>23</sup>.
- Coenzima Q10: Enzima endógeno en el transporte de electrones en la mitocondria. Ha mostrado efectividad preventiva tanto en adultos como en pacientes en edad pediátrica<sup>23</sup>.
- Petasites Hybridus: Planta herbácea perenne de la familia de las asteráceas. Tiene actividad sobre los canales de calcio y la actividad inflamatoria<sup>24</sup>.
- Acupuntura: Medicina tradicional china que pretende restablecer el equilibrio roto por la enfermedad. Energía vital que circula entre 12 órganos y 12 meridianos que llegan a la superficie en los 359 puntos clásicos<sup>25</sup>.
- Bio feed-back: Entreno para el control voluntario de los procesos patológicos que pueden tener un papel activo en el dolor. Se requieren entre 8 y 12 semanas de entreno y se intenta disminuir la actividad muscular pericraneal<sup>26</sup>.

Al tratarse de una patología tan prevalente y por otro lado una etiopatogenia no del todo descifrada, surgen periódicamente nuevas vías de tratamiento que intentan influir en diferentes aspectos de proceso que conlleva la aparición y perpetuación del dolor. Entre ellos podemos encontrar trabajos publicados recientemente como el de Afridi<sup>27</sup> usando ketamina intranasal en pacientes con migraña y aura prolongada, Schoenen<sup>28</sup> que propone el uso de un estimulador transcutáneo supraorbital como tratamiento preventivo, o el de Wells<sup>29</sup> que concluye que la meditación puede ser efectiva en el tratamiento profiláctico de la migraña.

### 2.1.7. COMPLICACIONES DE LA MIGRAÑA

Suele ser modalidades infrecuentes excepto la migraña crónica.

Hablamos de un tipo de migraña crónica cuando el paciente presenta más de 14 días de dolor al mes durante un mínimo de tres meses, de los cuales un mínimo de ocho días el dolor es de tipo migrañoso, o existe una respuesta terapéutica al grupo de triptanes o ergóticos sin que se detecte un abuso de ellos.

Status migrañoso: Clínica de dolor migrañoso de más de 72 horas de duración y que no se ha conseguido controlar el dolor con las pautas analgésicas convencionales.

Aura persistente sin infarto: Persistencia de síntomas de aura que se prolongan más de una semana sin evidencia radiológica de infarto cerebral.

Infarto migrañoso: Lesión isquémica constatada mediante estudios radiológicos que muestran una afectación parenquimatosa y que suele aparecer en auras que superan la hora de duración. Suele asociarse a población femenina siendo un riesgo vascular de la misma en la que suele coincidir un hábito tabáquico, hipertensión arterial y el tratamiento concomitante con anticonceptivos orales.

Migralepsia: Crisis comiciales desencadenadas por la migraña y que hace referencia a la aparición de cuadros comiciales durante el fenómeno de aura o en un plazo de una hora posterior al inicio de la misma.

### 2.1.8. CALIDAD DE VIDA

La edad media de los pacientes que sufren esta patología está entre la segunda y quinta décadas, por lo que el 92% de afectados es población laboralmente activa. Si consideramos que las crisis de migraña tienen una intensidad severa de dolor, en muchas ocasiones invalidante, genera una gran pérdida en horas laborales así como un gran impacto en la vida cotidiana y familiar de los pacientes<sup>2-3-5-7</sup>.

La incapacidad laboral se define como el estado transitorio o permanente de una persona que, por accidente o enfermedad, queda mermada en su capacidad de realizar su trabajo. En España, la declaración de incapacidad temporal de un trabajador la realiza el Médico de Atención Primaria del Sistema Público de Salud correspondiente a cada Comunidad Autónoma. Para clasificar las causas de incapacidad laboral se toman los criterios CIE (Clasificación Internacional de Enfermedades). Dentro de estos datos, en el año 2012 el mayor número de bajas laborales corresponde al grupo de las migrañas y sus diferentes variantes. Se contabilizaron un total de 58.295 días de incapacidad temporal causados por la migraña<sup>30</sup>.

Otro concepto relacionado con la incapacidad provocada por esta patología, es su impacto en la calidad de vida<sup>31</sup>. Para ello se han validado diversas escalas como las Migraine-Specific Quality of Life Questionnaire (MSQOL) y la Headache Impact Test (HIT-6), que de forma cada vez más comúnmente se usa en pacientes migrañosos para permitir una visión global del grado de afectación en diferentes campos de la vida cotidiana que tiene la migraña. En ellas se refleja la cantidad de síntomas, medicaciones empleadas durante el año, episodios de migraña al año y grado de afectación en la realización de las actividades de la vida diaria<sup>32, 33, 34, 35</sup>.

Esto hace pensar que en ocasiones los objetivos planteados para los estudios de fármacos para el tratamiento tanto de crisis como preventivos no siempre son aquellos más valorados por los pacientes. Estos suelen valorar como principal ventaja una medicación que disminuya la duración de las crisis y les permitan reincorporarse a su vida normal lo antes posible, así como evitar en la mayor medida posible las recurrencias<sup>36, 37</sup>.

## 2.2. HISTAMINA

La histamina (2- [4-imidazol]etilamina) fue descrita en 1910 por Dale y Laidlaw<sup>38</sup>, siendo definida como un potente mediador en las reacciones anafilácticas en 1932<sup>39</sup>. La histamina pertenece al grupo de las aminas biógenas y se sintetiza a partir de la histidina mediante la acción de la L-histidina decarboxilasa. Su ha identificado su síntesis en mastocitos, basófilos, plaquetas, neuronas histaminérgicas y células enterocromatófilas. Se acumula intracelularmente en vesículas y se libera como respuesta a distintos estímulos. La histamina es un potente mediador de numerosas reacciones biológicas. La degranulación celular y liberación de histamina está dada por determinados alérgenos específicos además de otras sustancias como neuropéptidos factores del complemento como el C3 y C5, citoquinas, hiperosmolaridad lipoproteínas, adenosina, superoxidasas, hipoxia, factores físicos y químicos, alcohol, fármacos o determinados alimentos que pueden activar los mastocitos.

La histamina ejerce sus funciones ligándose a los cuatro tipos de receptores específicos que se encuentran distribuidos en diferentes tejidos. Las acciones que provocan son la contracción del músculo liso, vasodilatación, aumento de la permeabilidad vascular, secreción mucosa, taquicardia, alteraciones en la tensión arterial, arritmias y estimulación de las secreciones gástricas<sup>40</sup>. También se ha relacionado en diferentes niveles de neurotransmisión, inmunomodulación, hematopoyesis, ritmo de vigilia y sueño, cicatrización de heridas, proliferación tumoral en modelos experimentales<sup>41</sup> e isquemia intestinal<sup>42</sup>.

Su metabolismo viene dado por dos vías distintas: mediante la deaminación oxidativa por medio de la diamino-oxidasa (DAO) o mediante la metilación producida por la acción de la histamina-N-metiltransferasa (HNMT). Que sea metabolizada por uno u otro enzima depende del lugar donde se de la reacción (figura 1).

La DAO se encuentra situada en las membranas plasmáticas incluida en vesículas en las células epiteliales y se secreta a la circulación

secundariamente a un estímulo<sup>43, 44</sup>. También se ha estipulado que la DAO puede ser responsable de la eliminación extracelular de la histamina, después de un estímulo concreto como pudiera ser un alimento rico en ella.

El otro enzima implicado, la HNMT es una proteína citosólica<sup>45</sup>, la cual sólo puede degradar la histamina que se encuentra en el espacio intracelular<sup>46, 47</sup>. Parece que estos enzimas no compiten por el sustrato a pesar de que se encuentren en los mismos tejidos, siendo la afinidad por la histamina algo superior en la HNMT del que lo es la DAO.

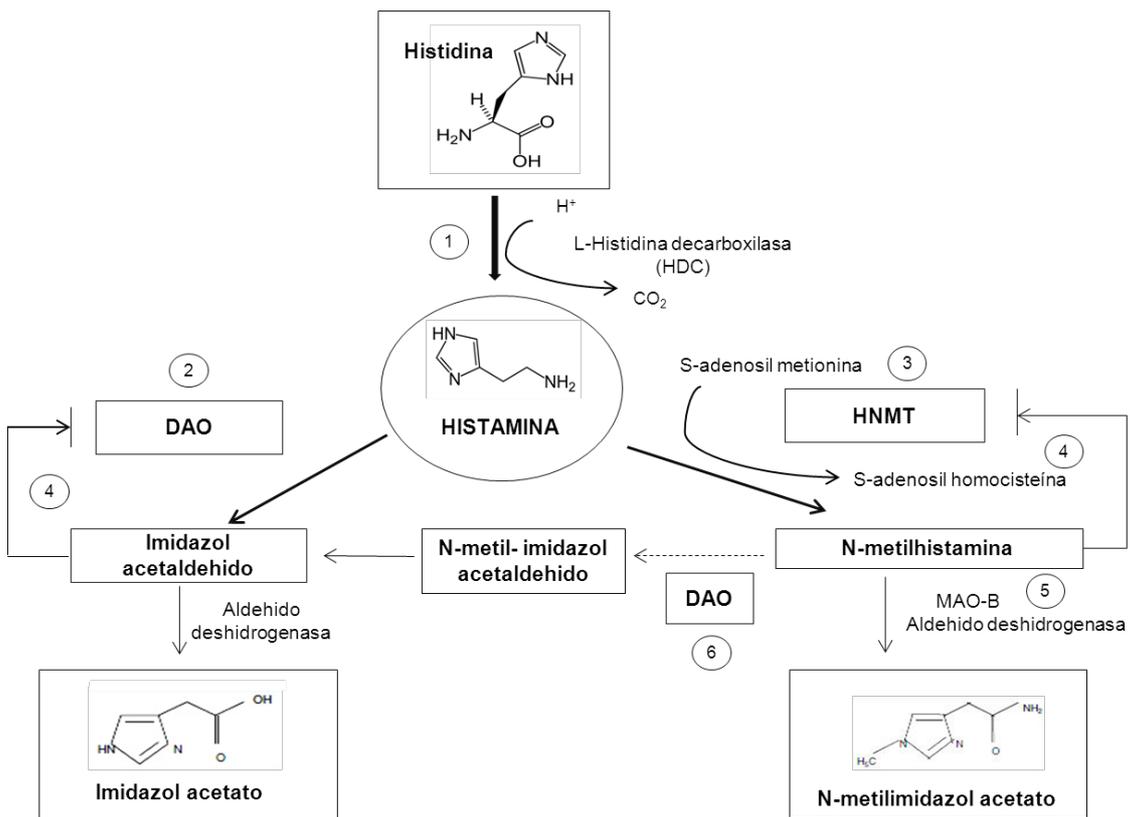


Figura 1: Vía metabólica seguida por la histidina para su transformación en histamina y su posterior degradación por la vía metabólica regulada por la DAO y por la HNMT.

En mamíferos la expresión de la DAO y su mayor actividad se encuentra básicamente en intestino delgado, colon ascendente<sup>48, 49</sup>, placenta y riñón<sup>50, 51</sup>. Una actividad baja de la DAO ha sido descrita como potencial indicador de daño en la mucosa intestinal tanto en enfermedades neoplásicas como inflamatorias<sup>52, 41</sup>. HNMT se expresa en múltiples tejidos humanos, mayoritariamente en riñón e hígado, seguido de bazo, colon, próstata, ovario, médula espinal, bronquios y tráquea<sup>53, 54</sup>.

### 2.2.1. ETIOPATOGENESIS DE LA INTOLERANCIA A LA HISTAMINA

Se han propuesto diversos mecanismos como causantes de la intolerancia a la histamina. Esta se puede desarrollar por un aumento de la cantidad de histamina circulante o por un fallo en la degradación de la misma.

Los factores que pueden provocar un aumento de la histamina circulante pueden ser debidos a una sobreproducción por mecanismos alérgicos, mastocitosis, determinadas bacterias, sangrados intestinales o un exceso de consumo de histamina o histidina de origen alimentario o por alcohol.

Otras aminas biógenas como la putrescina pueden provocar un desplazamiento de la histamina en su ligando, lo que provocaría un aumento de la concentración de histamina libre. A pesar de estos factores, la principal causa es una alteración en los mecanismos enzimáticos de degradación tanto o un origen genético o adquirido que afecta la función de la DAO o la HNMT. Entre estas causas se describen alteraciones intestinales que pueden disminuir la síntesis de DAO por afectación de los enterocitos<sup>52, 55</sup>. Otra causa puede ser la inhibición competitiva de la DAO por otras aminas biógenas, alcohol<sup>56, 57</sup> o drogas<sup>58, 59, 60</sup>. La intolerancia adquirida a la histamina puede ser transitoria, y se puede revertir eliminando la causa que la genera.

## 2.2.2. CUADRO CLÍNICO

Las concentraciones normales de histamina en plasma se considera que deben situarse entre 0,3 a 1,0 ng/mL<sup>61</sup>. Los síntomas pueden aparecer una vez superados estos límites y su intensidad se suele ver relacionada proporcionalmente con los aumentos de concentración. La clínica puede darse a un consumo excesivo puntual de alimentos ricos en histamina. Se ha visto que una inhibición de la actividad DAO después de una administración puntual de histamina puede provocar síntomas graves como la hipotensión, broncoespasmo o shock<sup>62</sup>.

En pacientes con actividad reducida de DAO se provocan síntomas recurrentes después de la ingesta de alimentos ricos en histamina que en otras personas sanas no tienen ninguna sintomatología. Los síntomas pueden tener lugar en distintos sistemas del organismo, incluyendo el gastrointestinal, sistema respiratorio, sistema cardiovascular, piel o sistema nervioso (figura 2).

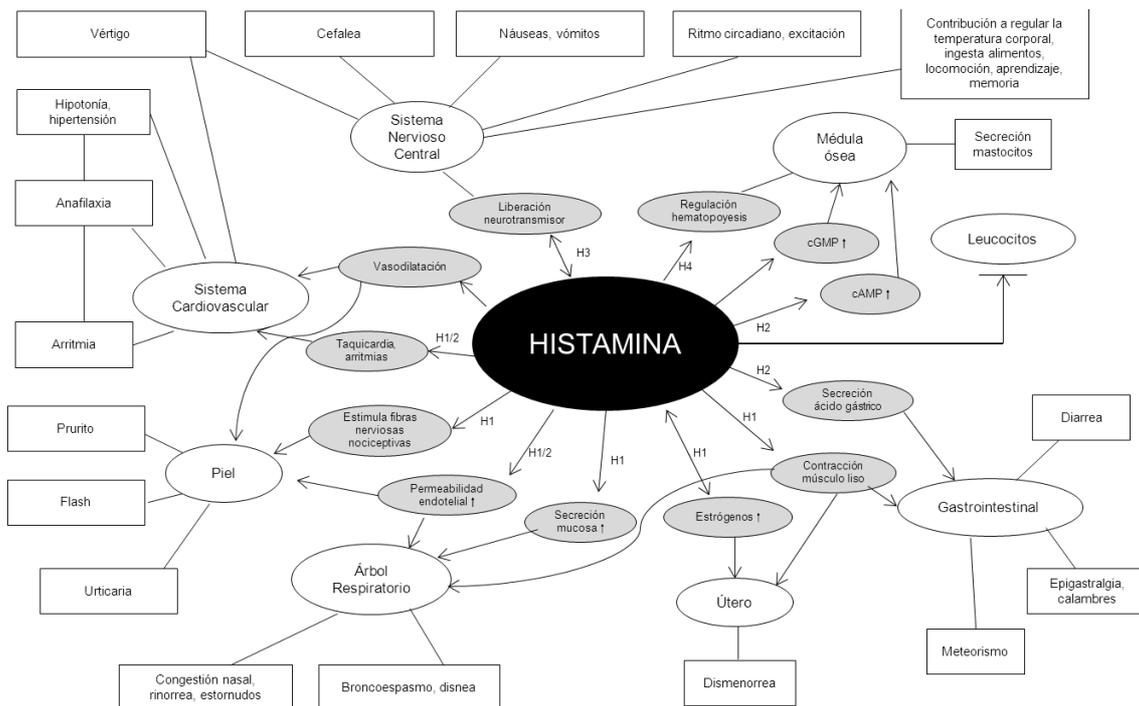


Figura 2: Cuadro en que se muestran los efectos de un exceso de histamina en los diferentes sistemas del organismo y los receptores principalmente implicados.

### 2.2.2.1. HISTAMINA Y SISTEMA DIGESTIVO

Dentro de los síntomas relacionados con este sistema, se incluye el dolor abdominal difuso, cólico, flatulencia, distensión abdominal i diarrea. Concentraciones elevadas de histamina y niveles bajos de actividad DAO se han encontrado en distintos procesos inflamatorios intestinales<sup>63</sup>, alergias alimentarias<sup>64, 65</sup>, así como en neoplasias colorectales<sup>41</sup>.

Dentro de la patología digestiva frecuente y poco conocida se encuentra el denominado colon irritable. En él se combina el dolor abdominal fluctuante con cuadros de estreñimiento y diarrea, siendo las exploraciones endoscópicas y analíticas normales. Recientemente se han empezado a publicar estudios que relacionan esta entidad con procesos inflamatorios en que la histamina jugaría un papel importante<sup>66, 67</sup>.

En la mucosa del colon de pacientes se encuentra también una reducción de la HNMT<sup>68</sup> así como una afectación global de la metabolización de la histamina, ya que estas enzimas no se pueden compensar mutuamente, por lo que un mal funcionamiento de la metabolización de la histamina se ha postulado en la etiopatogénesis de estas entidades.

### 2.2.2.2. HISTAMINA Y SISTEMA RESPIRATORIO

Durante o inmediatamente después de la ingesta de alimentos ricos en histamina o alcohol, suelen ocurrir síntomas de tipo rinorrea u obstrucción nasal en pacientes con intolerancia a la histamina. En casos extremos, se pueden llegar a presentar crisis asmáticas.

Una actividad reducida de la HNMT se ha encontrado en pacientes con alergias alimentarias y asma bronquial<sup>69</sup>.

### 2.2.2.3. HISTAMINA Y SÍNTOMAS CUTÁNEOS

Elevados valores de histamina en plasma<sup>70, 71</sup> así como la liberación espontánea de ella, así como después de la ingesta de determinados alimentos<sup>72</sup> se ha observado en pacientes con eccema atópico severo. También se ha detectado valores disminuidos de actividad DAO en determinados grupos de pacientes con eccema atópico<sup>70, 73</sup>.

Una reducción de síntomas de intolerancia histamínica y descenso en los valores de severidad de la escala de dermatitis atópica (SCORAD) se ha demostrado en un subgrupo de pacientes con niveles bajos de actividad DAO que siguieron una dieta libre de histamina durante dos semanas<sup>73</sup>. También una provocación con histamina oral ha demostrado un empeoramiento de los síntomas de pacientes con eccema<sup>74</sup>.

Una actividad baja en la actividad DAO se ha descrito en pacientes con urticaria crónica, que se trata de un patología altamente ligada a la acción de la histamina. Estos pacientes presentaron una mejoría sintomática al realizar una dieta baja en alimentos con histamina<sup>75</sup>.

Dentro de los síntomas cutáneos atribuibles a la inflamación provocada por un exceso de histamina cutánea se encuentra el picor o prurito, sensación recogida y transportada por vías nociceptivas y la sequedad cutánea<sup>76</sup>. Al ser una patología frecuente y no invalidante, en ocasiones puede verse infravalorada.

### 2.2.2.4. HISTAMINA Y SISTEMA HORMONAL

La histamina se produce mayoritariamente en los órganos sexuales femeninos por los mastocitos, células epiteliales y endoteliales en útero y ovarios. Es frecuente que las pacientes con intolerancia a la histamina presenten cefalea en determinados momentos del ciclo menstrual. La dismenorrea es un síntoma que generalmente es concomitante.

La histamina tiene una función en la estimulación de la síntesis de estradiol mediante la acción sobre los receptores H1, así como una cierta acción sobre la síntesis de progesterona<sup>77</sup>. Las contracciones y dolor uterino de la dismenorrea son causadas por la acción de la prostaglandina F2 $\alpha$ , estimulada por el estradiol y atenuada por la progesterona. La histamina puede aumentar este efecto al ser directamente responsable del aumento de la producción de estradiol. Esto se ve influenciado por los picos ovulatorios y su relación con la producción estrogénica<sup>78, 79</sup>.

Durante el embarazo, la DAO se sintetiza en grandes cantidades por la placenta<sup>80</sup> y su concentración puede ser hasta 500 veces superior que fuera de esta situación<sup>80</sup>. Este motivo podría explicar que durante el embarazo, sobretodo a partir del tercer trimestre, la frecuencia de crisis de migraña así como su intensidad disminuye de forma significativa e incluso puede llegar a desaparecer.

#### 2.2.2.5. HISTAMINA Y REGULACIÓN DE RITMOS CIRCADIANOS

Redes neurales distribuidas en el encéfalo sustentan la generación de la vigilia y dos estados de sueño: sueño no REM y sueño REM. Estos tres estados comportamentales se engranan conjuntamente en una secuencia regular que constituye el ciclo vigilia-sueño.

Las neuronas histaminérgicas están activas durante la vigilia, especialmente con alta demanda atencional, y permanecen silentes en sueño no REM y sueño REM.

Las neuronas histaminérgicas son activadas por las neuronas hipocretinérgicas y se cree que muchos de los efectos activadores de las hipocretinas se deben a acciones histaminérgicas<sup>81</sup>.

Las interacciones entre los axones histaminérgicos y los núcleos colinérgicos en el prosencéfalo y el troncoencéfalo son particularmente importantes para la activación cortical (figura 3). Por el contrario, las neuronas histaminérgicas

tuberomamilares, al igual que otras neuronas aminérgicas del *locus coeruleus* o del núcleo dorsal del rafe, son inhibidas por las neuronas del área preóptica promotoras de sueño no REM <sup>82</sup>.

Estudios con ratones deficientes para decarboxilasa de histidina, la enzima de síntesis de la histamina, muestran un aumento significativo de sueño REM <sup>83</sup>.

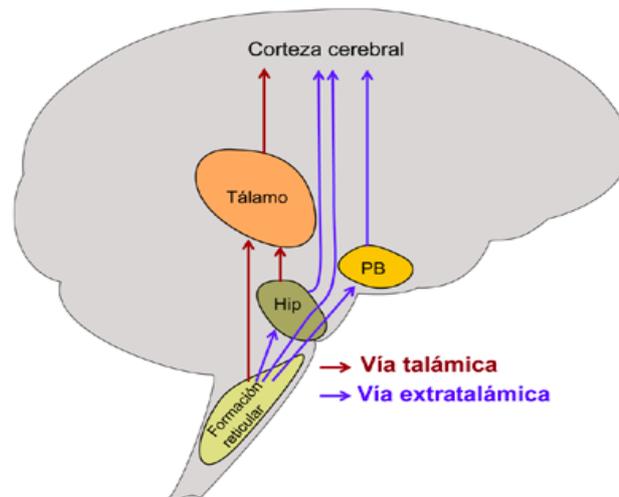


Figura 3: Vías ascendentes de activación cortical. Existe una vía de activación talámica y otra hipotalámica-prosencéfalo basal. Adaptado de Lin JS <sup>84</sup>.

#### 2.2.2.6. HISTAMINA Y OTRAS PATOLOGÍAS ASOCIADAS

Una actividad DAO reducida o un descenso de su síntesis por diversas causas pudiera ser un marcador de daño tisular en pacientes con insuficiencia renal crónica <sup>85, 86</sup>.

Se ha encontrado relación con hepatitis víricas <sup>87</sup> y en ciertos pacientes diagnosticados de cirrosis hepática <sup>88</sup>.

Una entidad clínica que está en aumento de incidencia en población occidental es la denominada Fibromialgia. En ocasiones se suma al síndrome de fatiga crónica. El cuadro clínico se caracteriza principalmente por dolor fibro-

muscular<sup>89</sup> en localizaciones definidas. Su diagnóstico se basa en una serie de criterios clínicos y sus mecanismos etiopatológicos no son bien conocidos. Dentro de las hipótesis en esta patología está un componente inmunitario que podría estar mediado, entre otros neurotransmisores, por la histamina<sup>90, 91</sup>.

Finalmente, en pacientes que presentan anorexia nerviosa se ha detectado un nivel significativamente más bajo de la actividad DAO que en grupo control. Esto podría explicarse debido a las lesiones estructurales intestinales que puede provocar esta patología en los pacientes que la sufren<sup>92</sup>.

#### 2.2.2.7. HISTAMINA Y FÁRMACOS

Existe una relación entre distintos grupos farmacológicos y una función inhibitoria sobre la actividad DAO o un aumento directo de la liberación de histamina. Esto se ha podido observar en distintos estudios tanto en placenta humana como en experimentación animal<sup>58, 60, 93, 94</sup>. Por lo tanto, los tratamientos farmacológicos, sobretodo aquellos de larga duración pueden favorecer la intolerancia a la histamina y la alteración de su metabolización vía DAO.

### 2.2.3. HISTAMINA EN EL SISTEMA NERVIOSO

La relación entre el hipotálamo y la migraña se conoce desde hace años<sup>95</sup>. Se cree que distintos desencadenantes de la migraña pueden realizar su acción inicial en este nivel<sup>96</sup>. Se ha sugerido que los desencadenantes de la migraña activan el hipotálamo, las regiones límbicas y las regiones corticales mediante vías comunes<sup>97</sup>. Más recientemente, en el año 2009 se ha demostrado mediante el uso de PET cerebral la activación de áreas hipotalámicas durante ataques de migraña espontáneos<sup>98</sup>. Esta activación también estaba presente durante la fase de pródromos<sup>96</sup>, lo que descartaba que la activación hipotalámica fuera secundaria al dolor. La activación hipotalámica que se demostró en este estudio fue observada en zonas más anteriores que la provocada en otras cefaleas trigémino-autonómicas, aunque la precisión del estudio no pudo delimitar con mes exactitud los núcleos implicados.

Se ha demostrado que la administración exógena de nitroglicerina aumenta la liberación de óxido nítrico (NO) a nivel de la zona posterior del hipotálamo y potencialmente puede modular la liberación de histamina<sup>99</sup>.

Se cree que pequeñas estructuras encefálicas pueden tener zonas en que se puede evitar la barrera hematoencefálica. Estas estructuras se encontrarían en los órganos circunventriculares. Concretamente alrededor del tercer y cuarto ventrículos y están ricamente vascularizadas, por lo cual estarían expuestas a gran cantidad de sustancias sanguíneas circulantes<sup>100</sup>. Estas suposiciones se han podido demostrar en los órganos circunventriculares de la rata los cuales pueden captar aminas biógenas de la circulación<sup>101</sup>.

### 2.2.3.1. LOCALIZACIÓN DE LA HISTAMINA ENCEFÁLICA Y SU RELACIÓN CON LA MIGRAÑA.

La histamina se sintetiza a partir del aminoácido L-histidina en una única reacción mediada por el enzima L-HDC. Grandes cantidades de L-histidina llegan al encéfalo y aumentan la concentración de histamina, pero la forma en que ello puede desencadenar una crisis de migraña no es del todo conocida en el momento actual.

La histamina encefálica es metabolizada de forma prácticamente exclusiva mediante la metilación, básicamente por la acción del enzima N-metiltransferasa (HMT), dando esta reacción la aparición de la N-metilhistamina. Un polimorfismo en la HMT humana (Thr105Ile) se ha asociado con el descenso de la actividad enzimática con un consecuente aumento de niveles de histamina en el encéfalo, aunque no se apreció un aumento de esta mutación en pacientes afectados de migraña<sup>102</sup>.

La metabolización sistémica de la histamina se produce mediante oxidación. La enzima encargada de este proceso es la diamino-oxidasa (DAO). Pequeñas cantidades de esta enzima se han podido detectar en encéfalo de mamífero<sup>103</sup> (figura 3).

En los años 70 se estudió en profundidad el ciclo de la histamina por Sjaastad cuantificando la histamina y sus catabolitos tanto en sangre como su excreción urinaria de pacientes con migraña y cefalea tipo Cluster. Los resultados que se encontraron no fueron concluyentes, encontrando discretas alteraciones en la metabolización de los pacientes con Cluster pero no en los migrañosos<sup>104</sup>. Se han atribuido estos resultados negativos a que la excreción urinaria de histamina está disminuida en los periodos de crisis en comparación de los periodos asintomáticos<sup>105</sup>.

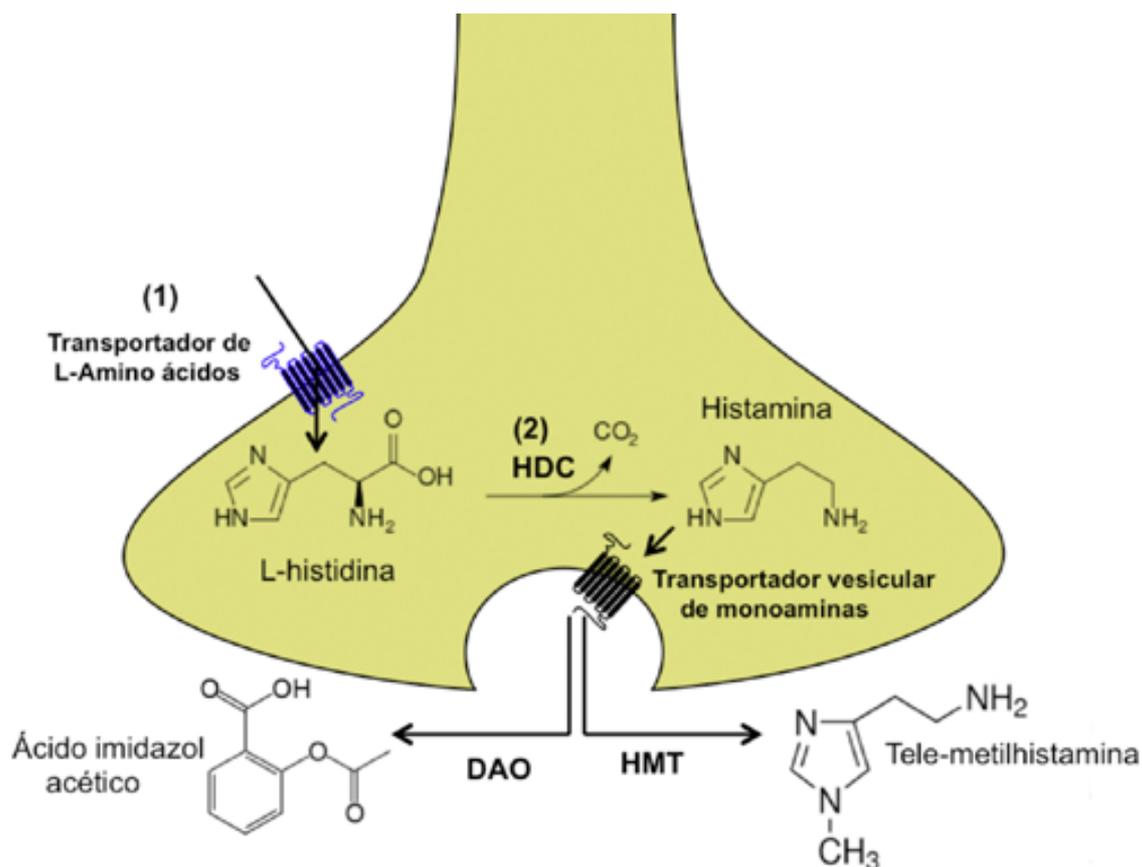


Figura 4: Síntesis y metabolismo de la histamina en las neuronas histaminérgicas (adaptado de Haas <sup>119</sup>). HDC: histamina decarboxilasa; HMT: histamina metiltransferasa; DAO: diaminooxidasa.

La histamina posee un anillo imidazol y etilamina como estructura básica que es compartida con la dopamina, norepinefrina y serotonina, y es sintetizada por diversas células neuroepiteliales y hematopoyéticas y tiene una amplia gama de funciones fuera del sistema nervioso.

La histamina penetra con dificultad desde el torrente sanguíneo a las estructuras encefálicas<sup>106</sup>, pero mastocitos que pertenecen a tejidos periféricos, que contribuyen a la generación del dolor en múltiples estados inflamatorios, pueden penetrar rápidamente y atravesar la barrera hematoencefálica,

sobretudo en condiciones patológicas determinadas<sup>107</sup>. También células endimarias y del endotelio cerebrovascular pueden producir histamina<sup>108</sup>.

#### **2.2.3.1.1. Mastocitos:**

Se encuentran en la duramadre próximos a las aferencias nociceptivas trigeminales. Basándose en las hipótesis que contemplan un proceso de inflamación meníngea estéril<sup>109</sup>, estas células y su mediación por la histamina pueden tener una importante implicación en la etiopatogenia<sup>110</sup>.

Estudios han demostrado que estas células pueden degranularse como respuesta a la activación de receptores meníngeos, y esta respuesta asociarse a un aumento de la respuesta del sistema trigeminal. La acumulación y degranulación de mastocitos y la consecuente sensibilización nociceptiva podría ser mediada por la sustancia P vía el receptor NK<sub>1</sub><sup>111</sup>.

Se han podido demostrar aumentos de nivel de histamina en plasma<sup>112</sup> y líquido cefalorraquídeo<sup>113</sup> durante la crisis de migraña. Oros péptidos vasoactivos como el péptido relacionado con el gen de la calcitonina (CGRP) se ha visto incrementado en niveles plasmáticos durante la crisis de dolor<sup>114</sup>. Tanto la sustancia P como el CGRP se liberan por la actividad meníngea de receptores, los cuales provocarían la liberación de los mastocitos<sup>115</sup> lo cual serían importantes en la segunda fase del fenómeno, ya relacionados con la presencia del dolor.

Un estudio experimental con ratas muestra que la histamina provoca una vasodilatación directa de la dura y activa aferencias meníngeas sin la liberación de CGRP, habiendo un aumento del flujo cerebral<sup>116</sup>.

### **2.2.3.1.2. Histamina e hipotálamo:**

Se estima que las neuronas con capacidad de sintetizar histamina, son aproximadamente 64.000<sup>117</sup> y se encuentran en las áreas postero-basales del hipotálamo y en los núcleos túbero-mamilaes.

Las neuronas histaminérgicas se encuentran entre los núcleos mamilares y el quiasma óptico en el tuber cinereum<sup>118</sup>. De forma similar a otras aminas biógenas, la mayoría de las terminaciones histaminérgicas no realizan un contacto cercano con los puntos postsinápticos (varicosites)<sup>119</sup>.

Los varicosites histaminérgicos parecen estar en contacto con vasos sanguíneos y glía y alguna de las células más ventrales parecen tener contacto directo con el líquido cefalorraquídeo<sup>117</sup>. Los núcleos tubero-mamilaes reciben aferencias de otras áreas hipotalámicas, básicamente orexinérgicas y otras en las que se incluyen las serotoninérgicas y noradrenérgicas. Estas están implicadas en la fisiopatología de la migraña, pero su acción todavía no está clara<sup>120, 121</sup>.

Parece existir una excitación convergente de neuronas serotoninérgicas dorsales del rafe por los sistemas orexinérgico, noradrenérgico e histaminérgico y la regulación de todo este sistema es plausible<sup>122</sup>.

La heterogénea respuesta de las neuronas histaminérgicas se ha visto documentada y se relaciona básicamente a reacciones de stress<sup>123</sup>. Su activación en los estados de conciencia es variable siendo ausente durante el sueño, siendo esto congruente con los patrones clínicos de inicio de síntomas al despertar<sup>124</sup>.

En recientes investigaciones, proyecciones desde los núcleos tubero-mamilaes a neuronas talámicas trigémino-vasculares se han visto implicadas mostrando que la actividad central de la histamina juega un papel importante en el inicio de los ataques por alteraciones en el ritmo de sueño, variaciones en las horas de ingesta y reacciones emocionales<sup>125</sup> (figura 5).

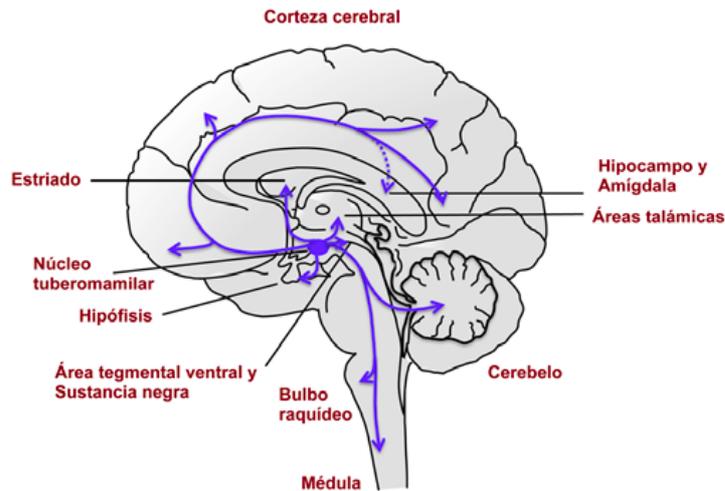


Figura 5: Proyecciones histaminérgicas desde el núcleo tuberomamilar en el cerebro humano. Adaptado de Haas H.<sup>126</sup>

### 2.2.3.1.3. El área hipotalámica posterior:

Se encuentra por encima de los tubérculos mamilares y lateral al tercer ventrículo y está formada por grandes neuronas que no contienen histamina<sup>127</sup> y se emplea como diana en la estimulación profunda en pacientes afectados de cefalea tipo Cluster<sup>128</sup>. Su mecanismo de acción no es bien conocido.

La sustancia gris periacueductal, junto con el hipotálamo contribuyen a la modulación del dolor mediante diversas conexiones con áreas del tronco encefálico como el núcleo del tracto solitario, medula rostral y ventro-medial, núcleo magno del rafe y complejo trigémino-cervical.

A través del tracto trigémino-hipotalámico y por la vía de reflejo trigémino-autonómico, el hipotálamo es capaz de modular el dolor y los cambios vasculares así como los síntomas parasimpáticos que aparecen en las crisis de migraña<sup>129</sup>. También los núcleos tubero-mamilares estarían implicados en los circuitos tálamo-corticales.

Si consideramos que el hipotálamo está precozmente involucrado en el ataque, en la fase prodrómica y el aumento de la excitabilidad neuronal, sería

fundamental reducir la activación histaminérgica lo cual disminuiría considerablemente la susceptibilidad de padecer crisis.

#### **2.2.3.1.4. Neuronas histaminérgicas y su relación con los patrones temporales de la migraña**

Las crisis de migraña no suelen ocurrir de forma aleatoria, habiéndose descrito una reducción de crisis en la tarde y noche, momentos en los cuales la melatonina se secreta<sup>130, 131</sup>. Por esta misma vía, el uso de melatonina se ha postulado como un posible tratamiento preventivo en los pacientes con migraña<sup>132</sup>. De la misma manera que el sueño sea un protector para las crisis, el periodo de despertar suele ser un momento en que es habitual el inicio de los episodios.

Por otra parte, tanto el exceso como la falta de horas de sueño se pueden comportar como desencadenantes<sup>133</sup>. En este mismo estudio se definía al stress como uno de los principales desencadenantes, así como determinados alimentos o bien la variabilidad en los horarios de alimentación.

Esta bien definido el sistema histaminérgico como un mecanismo importante en el mantenimiento de la vigilia, y sus neuronas son mucho más activas en este periodo que durante el sueño<sup>124</sup>. La histamina, probablemente juega un papel importante en la consolidación de la vigilia. Estudios experimentales han demostrado que la histamina mantiene unos valores elevados durante el día en líquido cefalorraquídeo. La privación de sueño en animales provocó un aumento mantenido de la histamina liquoral<sup>134</sup>.

Una consecuencia directa del insomnio es la excitabilidad cortical, esto se ha relacionado con como un fenómeno básico en el cerebro del migrañoso y que mantendría una estrecha relación con la difusión cortical propagada<sup>135</sup>. Complementariamente a estos datos, los estudios polisomnográficos realizados en pacientes migrañosos han demostrado una reducción en la calidad de del sueño en comparación con pacientes que no la padecen<sup>136, 137</sup>.

La regulación de los ciclos de vigilia y sueño en humanos es complejo, implicando tanto a factores ambientales como a distintos genes. El patrón temporal que asocia la migraña y al insomnio muestra que hay una importante relación entre los ritmos circadianos coordinados por los núcleos supraquiasmáticos los cuales estarían implicados en la susceptibilidad para padecer crisis<sup>138, 139</sup>.

Una posible relación genética entre los ritmos circadianos, excitabilidad cortical depresión propagada y migraña se describió en 2005. Se identificó la mutación del gen T44A que causa el avance de las fases de sueño en determinadas familias. Todas ellas estaban afectadas de migraña con aura<sup>140</sup>.

Estudios experimentales con modelos de ratones mutados para los canales de calcio Ca<sub>v</sub>2.1 de migraña hemipléjica, han mostrado que cambios abruptos en el ritmo circadiano son una causa habitual de la migraña<sup>141</sup>.

La histamina está encarga de la regulación de ritmos circadianos y los alterna de una forma similar a la luz<sup>142</sup>. Algunos autores consideran la histamina como el neurotransmisor final en la regulación del reloj biológico del sistema nervioso en el hipotálamo anterior<sup>143</sup>.

A nivel práctico el mantenimiento de unas horas de vigilia y sueño estables, parece un importante factor de prevención de crisis. Cambios tanto por exceso o defecto o una alteración en el periodo del día en que se realiza, cosa que puede ser habitual en distintos trabajos sometidos a turnos horarios, son causa habitual de descompensación en estos pacientes<sup>144</sup>.

## 2.2.3.2. RECEPTORES HISTAMINÉRGICOS Y SISTEMA NERVIOSO

Las acciones de la histamina en el cuerpo humano están mediadas por cuatro receptores diferentes, los cuales son parejas de G-proteínas (GPCR): H<sub>1</sub>R-H<sub>4</sub>R que son farmacológicamente activos en escasos segundos y para los que el ligando endógeno tiene escasa afinidad a los receptores H<sub>1</sub> y H<sub>2</sub> en comparación con los receptores H<sub>3</sub> y H<sub>4</sub><sup>145, 146</sup> (figura 6).

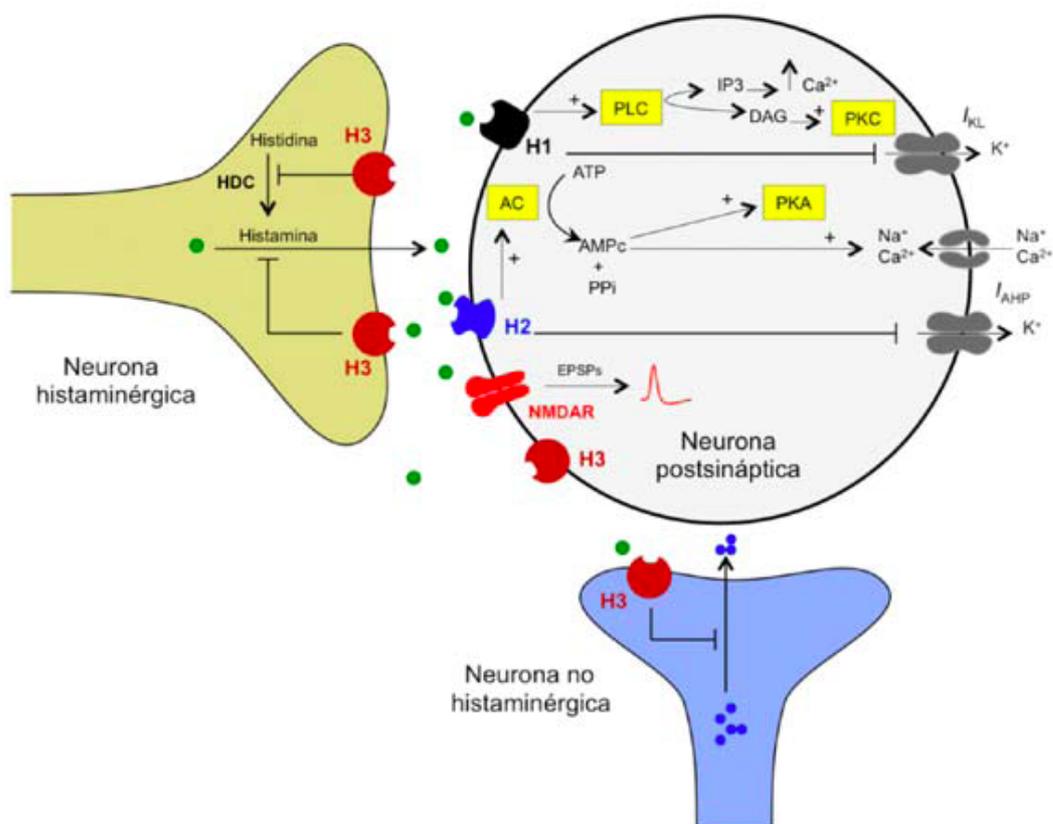


Figura 6: Neurotransmisión histaminérgica y mecanismos de señalización según el subtipo de receptor en el sistema nervioso central (adaptado de Kovalzon<sup>147</sup>) AC: adenil ciclasa; HDC: histamina decarboxilasa; NMDAR: receptor de N-metil-D-aspartato; PKA: proteincinasa A; PKC: proteincinasa C; PLC: proteína fosfolipasa.

### 2.2.3.2.1. Receptores H<sub>1</sub>.

Este tipo de receptor histaminérgico está ampliamente distribuido por todo el organismo, incluyendo el encéfalo. Su activación central se ha relacionado con procesos con respuestas de despolarización y funciones como el despertar, ciclo de vigilia y sueño y funciones cognitivas. Estudios con trazadores de localización indican que la mayor proporción de estos receptores no están relacionados con neuronas, sino que lo están con vasos y células de la glía<sup>145</sup>.

La función de la histamina se puede relacionar con funciones de señal para proporcionar un mayor aporte de glucosa capilar en un incremento de la actividad neuronal<sup>148</sup>. Se conoce desde hace años el efecto vasodilatador de la histamina y su efecto en la producción de cefalea. El uso de bloqueadores de receptores histamínicos como la mepiramina y la cimetidina pueden eliminar la cefalea provocada por la histamina<sup>149</sup>.

Cuando se estimulan los receptores H<sub>1</sub> en el endotelio de las arterias intracraneales se activa la síntesis de óxido nítrico (NO) y como consecuencia se provoca una vasodilatación<sup>150</sup>. Esto llevó a la formulación de la hipótesis del óxido nítrico como desencadenante siendo el primer fenómeno el de la vasodilatación todo ello mediado por el receptor H<sub>1</sub> situado en los vasos cerebrales<sup>151</sup>. A pesar de estas descripciones, los estudios con fármacos que boquean receptores H<sub>1</sub> y H<sub>2</sub> no han mostrado eficacia para el tratamiento de la migraña<sup>152</sup>. Esto se podría explicar debido a que el bloqueo de los receptores histamínicos afecta a un proceso que ya se ha desencadenado y sobre el cual ya no se puede ejercer un control a través de esta vía.

La mayoría de los fármacos que bloquean los receptores H<sub>1</sub> son lipofílicos por lo que presentan una elevada penetrancia en los tejidos cerebrales. Esto les confiere una buena actividad antiemética y sedante. Por ello pueden ser usados como tratamiento coadyuvante de las crisis sobre los síntomas acompañantes así como en pacientes embarazadas y niños<sup>153</sup>.

Está descrito que dos antihistamínicos como la cinarizina y la ciproheptadina tienen capacidades para atravesar la barrera hematoencefálica, pudiendo ser utilizados como tratamientos preventivos para pacientes con migraña<sup>154, 155</sup>. En

numerosas ocasiones que se han realizado estudios con esta familia de fármacos, sus efectos antimigrañosos han podido ser influidos negativamente por sus efectos secundarios, básicamente en forma de somnolencia.

Tanto los receptores H<sub>1</sub> y H<sub>2</sub> están probablemente involucrados en la nocicepción y los niveles histaminérgicos cerebrales. También se han estudiado fármacos que actúan a este nivel como tratamiento abortivo de crisis, en forma de potenciadores de los analgésicos utilizados, obteniendo la mayoría de estos estudios resultados negativos<sup>156</sup>.

Es posible que esto sea debido a que el aumento de histamina cerebral preceda a la crisis y la intervención sobre ellos, cuando los síntomas ya se manifiestan, no sea útil. Uno de estos estudios valoró la eficacia de la hidroxicina, un antagonista-H<sub>1</sub> contra placebo, apreciando una cierta eficacia en aquellos pacientes que presentaban crisis de migraña precedidas de aura<sup>157</sup>.

#### **2.2.3.2.2. Receptores H<sub>2</sub>.**

Se trata de receptores postsinápticos, al igual que los previos, potenciando inputs excitatorios o mediando acciones excitatorias de las neuronas. Muestran aproximadamente un 40% de similitud con los receptores H<sub>1</sub>, y sus efectos sobre el sistema nervioso son menos conocido, en parte por la mayor dificultad para atravesar la barrera hematoencefálica de sustancias potencialmente antagonistas.

Estudios experimentales muestran que breves exposiciones al antagonista H<sub>2</sub> pueden aumentar la actividad de diversos tipos de neuronas durante un tiempo prolongado<sup>117</sup>. Este aumento de las respuestas neuronales se puede apreciar en neuronas corticales como respuesta a estímulos señoriales, un cuya aparición se cree que están relacionados los inputs talámicos<sup>158</sup>.

El fármaco con efectos antagonistas H<sub>2</sub> más utilizado es la cimetidina. Su uso es con la finalidad de disminuir las secreciones ácidas estomacales. Estudios como tratamiento preventivo tanto en migraña como en cefalea tipo Cluster no han obtenido resultados positivos<sup>159, 160</sup>. Parte de estos resultados podrían

atribuirse a que la cimetidina sólo logra atravesar la barrera hematoencefálica en muy altas dosis y mediante una administración endovenosa<sup>161</sup>.

### **2.2.3.2.3. Receptores H<sub>3</sub>**

La histamina presenta una gran afinidad por estos receptores. En contraposición a los efectos de la activación de los H<sub>1</sub> y H<sub>2</sub>, los H<sub>3</sub> tienen una función de tipo inhibitorio de las neuronas histaminérgicas. Se encuentran en localización presináptica y presentan una escasa similitud estructural con los H<sub>1</sub> y H<sub>2</sub><sup>162</sup>.

Relacionados con diversas funciones encefálicas, como la modulación de los procesos vigilia-sueño, procesos cognitivos, regulación homeostática e inflamación<sup>163</sup>.

Existen diversas isoformas con actividades distintas, lo que evidencia un claro polimorfismo del receptor H<sub>3</sub> en humanos. La sustitución del aminoácido 280 (alanina) por la valina conocida como la H<sub>3</sub>R<sub>A280V</sub> se considera como un factor de riesgo de padecer migraña<sup>164</sup>. Esta variante podría provocar un aumento de liberación de histamina debido a la inactividad de los autorreceptores. Recientemente se ha demostrado que esta variante reduce la eficacia de los receptores H<sub>3</sub><sup>165</sup>.

En estudios experimentales y ensayos clínicos contra placebo, ácido valproico<sup>166</sup>, topiramato<sup>167</sup> o toxina botulínica tipo A<sup>168</sup> se ha ensayado la administración de pequeñas dosis de histamina por vía subcutánea. Los autores atribuyen la eficacia a una reducción de la inflamación neurogénica dada por las fibras C a través de la inhibición de los mastocitos. Esto apoyaba la idea de dar pequeñas dosis de histamina o alguno de sus catabolitos para estimular los receptores H<sub>3</sub> y de esta manera provocar un feed-back que redujera la liberación de histamina endógena. Estos resultados fueron sorprendentes pues se consideraba que acciones sobre las histamina periférica no deberían tener acción sobre la histamina central. Dichos datos podría cambiar este concepto y proponer que una actuación a nivel periférico en alguna de las vías de la histamina, puede, finalmente tener una actividad sobre

la histamina central, y por lo tanto, un efecto modificador en la etiopatogénesis de la crisis de migraña.

Por otra parte, agonistas H<sub>3</sub> centrales que consigan atravesar la barrera hematoencefálica como el RAMH (SCH50971) ha demostrado tener actividad sobre la inflamación neurogénica de la duramadre, inhibiéndola, y siendo un inductor del sueño. Este efecto no se obtuvo en ratones que no tenía receptor H<sub>3</sub><sup>169</sup>.

#### **2.2.3.2.4. Receptores H<sub>4</sub>.**

Este receptor presenta una similitud de aproximadamente un 35% con los receptores H<sub>3</sub>, y se ha localizado principalmente en tejidos periféricos y mastocitos<sup>170</sup>. Actualmente han sido localizados en estructuras corticales y subcorticales encefálicas<sup>171</sup>.

Su función exacta se desconoce, pero la activación de estos receptores provoca una hiperpolarización de las neuronas del córtex somatosensorial en ratas<sup>172</sup>. Este proceso de hiperexcitabilidad cortical, incluido el córtex somatosensorial parece un proceso fundamental en la etiopatogénesis de la migraña<sup>173</sup>.

La similitud apreciada entre los receptores H<sub>3</sub> y H<sub>4</sub> han provocado que las interpretaciones de sus actividades en la clínica, sean dificultosas. El potencial efecto de activación cortical se ve reducido por el efecto antagonista de los receptores H<sub>3</sub>. En un estudio reciente la administración intraventricular de un agonista H<sub>4</sub> indujo una respuesta antinociceptiva. El uso de un antagonista revirtió esta acción<sup>174</sup>.

Otros estudios han indicado un efecto antinociceptivo provocado por la acción de un antagonista H<sub>4</sub> (JNJ-7777120) debido a su posible acción antiinflamatoria<sup>175</sup>. Otros fármacos ya consolidados como tratamientos preventivos para la migraña como es el caso de la amitriptilina tiene una acción sobre los receptores H<sub>4</sub><sup>176</sup>

#### 2.2.4. DIAMINO-OXIDASA (DAO)

La DAO es uno de los dos enzimas responsables de la metabolización de la histamina. El proceso provoca una deaminación oxidativa, por lo que también se conoce como histaminasa. Se almacena en vesículas plasmáticas de células epiteliales y se secreta a la circulación secundariamente a distintos estímulos<sup>177</sup>. Por tanto, se considera la DAO como la enzima responsable de la metabolización de la histamina que se encuentre en el espacio extracelular.

En mamíferos encontramos expresión de la DAO en intestino delgado, colon ascendente, placenta y riñón.

El gen se encuentra localizado en el cromosoma 7q35, formado por 10 pares de kilobases, 5 exones y 4 intrones. Se trata de una glicoproteína hidrosoluble, homodimérica con un peso molecular de 200.000, con subunidades de 70-120 kiloDalton.

Se encuentra incluida en el grupo de las amino-oxidasas y su forma activa es la homodimérica con cofactor activo 2,4,5-trihidroxifenilalanina quinona.

Su cinética es de 20 $\mu$ mol/L para la histamina, 350 $\mu$ mol/L para la putrescina y 3mmol/L para la espermidina.

Su funcionamiento óptimo es en pH de 7,2 y puede ser inhibida por agentes quelantes como la cianida o reagentes carbonil como la aminoguanidina<sup>40</sup>.

No todos los individuos presentan una misma actividad enzimática DAO. Esta tampoco puede ser la misma en cada individuo, ya que se puede ver condicionada a una serie de efectos externos que provoquen un bloqueo de la misma o que exista una situación puntual de exceso de histamina que motive una disminución global de su actividad de forma transitoria.

Algunos estudios han mostrado un aumento de la actividad DAO durante la crisis de migraña lo que se podría interpretar como un mecanismo de defensa para la eliminación del exceso de histamina<sup>178</sup>.

Fuera de estas situaciones puntuales se han estudiado diversas mutaciones que pudieran provocar un descenso en la actividad DAO en suero de pacientes

con diferentes patologías relacionadas con un aumento de la concentración plasmática de histamina<sup>179</sup>.

Recientemente se ha publicado que las personas que son portadoras de las mutaciones rs10156191 y rs2052129 del gen que codifica para la DAO, y que provocan un descenso en su actividad, presentan un riesgo superior a padecer migraña que aquellas que no lo tienen<sup>180</sup>.

Teniendo en cuenta los datos que se desarrollan en esta introducción, el déficit en la actividad enzimática de la DAO podría tratarse de un factor desencadenante de la migraña. Una suplementación de esta anomalía con enzima exógena, podría ser una opción en el tratamiento preventivo de la migraña. Al tratarse de un alimento dietético con usos médicos y ser una proteína de origen animal el riesgo de padecer efectos adversos secundarios a este tratamiento, sería mínimo.

### **3. HIPÓTESIS**

#### **3.1. HIPÓTESIS DE INVESTIGACIÓN**

- Estudio poblacional:

Los pacientes con diagnóstico de migraña presentan un déficit en la actividad DAO plasmática.

- Ensayo clínico:

La suplementación con enzima DAO en pacientes con migraña puede ser un tratamiento preventivo eficaz para la reducción de número de episodios e intensidad de las crisis.

#### **3.2. HIPÓTESIS NULA**

- Estudio poblacional:

Los pacientes con el diagnóstico de migraña no presentan un déficit en la actividad DAO en plasma.

- Ensayo clínico:

La suplementación con enzima DAO en pacientes con migraña no es un tratamiento preventivo eficaz para la reducción del número e intensidad de las crisis.

### **3.3. HIPÓTESIS ALTERNATIVA**

- Estudio poblacional:

Existe un cierto número de pacientes diagnosticados de migraña que presenta una baja actividad DAO plasmática.

- Ensayo clínico:

La suplantación con enzima DAO en pacientes con migraña puede mejorar el número o la intensidad de los pacientes que padecen migraña.

## **4. OBJETIVOS**

### **4.1. GENERALES O PRINCIPALES**

- Estudio poblacional:
  1. Verificar la presencia de una elevada incidencia de déficit de actividad DAO en pacientes diagnosticados de migraña.
- Ensayo clínico:
  1. Valorar la disminución de horas de dolor al mes de los pacientes con migraña que siguen tratamiento con enzima DAO.
  2. Valorar la reducción en el número de crisis de migraña al mes de los pacientes tratados con enzima DAO.

### **4.2. OBJETIVOS SECUNDARIOS**

- Ensayo clínico
  1. Medir la disminución de dolor en la escala analógica visual de los pacientes tratados con enzima DAO.
  2. Analizar la disminución de la necesidad de tratamientos analgésicos en los pacientes tratados con enzima DAO.
  3. Valorar la incidencia sobre otros síntomas no migrañosos relacionados con el déficit de DAO en los pacientes tratados con suplementación enzimática.

## **5. MATERIAL Y MÉTODOS**

### **5.1. DISEÑO DEL ESTUDIO**

- Primera parte

Se trata de un estudio observacional poblacional.

- Segunda parte

Se trata de un ensayo clínico a doble ciego y aleatorizado con placebo.

### **5.2. CENTROS PARTICIPANTES**

Se trata de un estudio unicéntrico cuyo centro participante es:

Hospital Universitari General de Catalunya

Carrer Pedro i Pons 1

08195, Sant Cugat del Vallès.

El reclutamiento de pacientes se llevó a cabo por parte del servicio de Neurología, tanto en la consulta de neurología general como en el dispensario monográfico de cefalea.

Las valoraciones analíticas fueron llevadas a cabo por los laboratorios Labco en la totalidad de los pacientes.

El reactivo para la realización de la determinación de actividad DAO mediante ELISA fue cedido por la empresa DR Healthcare (Anexo 1).

Las cápsulas con enzima DAO y las que contenían placebo, de aspecto idéntico, fueron proporcionadas por la empresa DR Healthcare (Anexo 2).

El análisis estadístico fue realizada por Recerca Clínica SL, institución especializada en estudios de intervención en el campo de la Sanidad.

### 5.3. POBLACIÓN

- Pacientes que cumplan los criterios diagnósticos de la IHS de migraña episódica.
- Pacientes que no presentes síntomas compatibles con el diagnóstico de migraña en ninguna de sus variantes.

#### 5.3.1 Método de muestreo

Casos consecutivos de pacientes visitados por el servicio de Neurología que cumplan criterios de inclusión.

Casos consecutivos de pacientes que acudan a revisión analítica de control sin criterios clínicos de migraña.

#### 5.3.2 Criterios de inclusión:

- Estar diagnosticados de migraña (el diagnóstico deberá cumplir los criterios establecidos por la IHS).
- Presentar entre 4 y 14 días de migraña al mes.
- Presentar una actividad enzimática de DAO en plasma inferior a 80 HDU/ml.
- Presencia de sintomatología migrañosa durante un mínimo de 6 meses previos a la inclusión del ensayo.
- Capacidad y compromiso para cumplir con los procedimientos del estudio y seguimiento de las visitas programadas.

### 5.3.3 Criterios de exclusión

- Pacientes con desórdenes psiquiátricos mayores.
- Pacientes con historia de alcoholismo activo.
- Pacientes diagnosticados de hipertensión, ansiedad, obesidad o epilepsia, que estén en tratamiento para ello. Se excluyen aquéllos que utilicen medicación concomitante no permitida del ensayo por tener posibles efectos profilácticos sobre las crisis de migraña. Se podrían incluir después de un periodo mínimo de lavado de un mes previo al inicio del tratamiento de estudio.
- Uso de la medicación con capacidad de alterar la actividad DAO.
- Pacientes que no estén utilizando ningún otro agente en investigación durante el tratamiento de ensayo.
- Mujeres embarazadas o en periodo de lactancia.
- Mujeres en edad fértil que no utilicen un método fiable de control de natalidad.
- Sujetos cuya moral o religión no le permita consumir productos de origen porcino.

### 5.3.4 Criterios de retirada

Un sujeto podrá ser retirado del estudio por los investigadores, si estos consideran que:

- \* No realiza adecuadamente el seguimiento previsto.
- \* Presenta molestias debidas al tratamiento.
- \* Presenta alguno de los criterios de exclusión arriba mencionados.

Estas causas deberán quedar correctamente reflejadas en el cuaderno de recogida de datos.

Además de lo anterior, tal y como se prevé en las normas de Buena Práctica Clínica, y se expresa explícitamente en la Hoja de Información al Paciente y Consentimiento Informado, el sujeto podrá abandonar el estudio en cualquier momento, sin tener que dar ninguna explicación y sin que ello repercuta en su posterior seguimiento.

### 5.3.5 Poblaciones de análisis

Para el análisis de los datos se ha definido la siguiente población:

La población incluye todos los pacientes que han recibido como mínimo una dosis del fármaco en estudio, que cumplen todos los criterios de inclusión y ninguno de exclusión y que disponen de la variable principal de eficacia.

### 5.3.6 Tamaño de muestra

- Estudio observacional

Basándonos en la prevalencia de la migraña según la población occidental y los distintos estudios poblacionales realizados, y para obtener una muestra poblacional comparativa de control, se estima que el número necesario de pacientes asintomáticos a reclutar es de 60.

- Ensayo clínico

Para obtener una muestra significativa y los resultados del estudio fueran extrapolables nos basamos en la incidencia aproximada de la migraña en la población española es del 12% con un 17% de mujeres afectadas por un 8% de hombres.

Basándonos en asumir un 5% de error tipo 1, con una potencia estadística deseada del 80%, se calculó que la población para el estudio debía contar con 80 sujetos (41 en cada grupo). Si se asuma una pérdida de seguimiento del 15%, se decidió incluir un total de 100 pacientes (50 en cada uno de los brazos) para garantizar un mínimo de 82 pacientes necesarios para cumplir el cálculo poblacional.

### 5.3.7 Métodos utilizados para reducir el sesgo:

En el diseño del estudio se han tenido en cuenta los siguientes puntos para minimizar el sesgo:

Control por placebo: permite demostrar eficacia o superioridad de un tratamiento, así como la reactividad de la muestra de pacientes. El producto en investigación estará enmascarado de manera que tanto placebo, como complemento enzimático, presentarán las mismas características organolépticas y farmacotécnicas. Así mismo, los envases tendrán el mismo aspecto, diferenciándolos únicamente por el número de asignación aleatoria.

Enmascaramiento en doble ciego: permite reducir la subjetividad en los resultados y así mismo constituye una herramienta en los estudios controlados de eficacia.

Dada la naturaleza subjetiva de la determinación del estado basal, se introduce un periodo de Baseline de un mes, en el que el paciente comenzará a rellenar su Diario de Paciente. Durante este periodo no se consumirá ningún tipo de tratamiento preventivo para la migraña ni medicación interferente, únicamente los episodios de migraña podrán ser tratados con los fármacos habituales para el tratamiento agudo de migraña.

Mediante esta determinación del estado basal se podrán realizar correcciones individuales, de manera que cada individuo será su propio control, homogeneizando la muestra y dando mayor potencia al estudio.

### 5.3.8 Acontecimientos adversos

#### ○ Definiciones:

Un **Acontecimiento Adverso** es cualquier incidencia médica perjudicial en un paciente al cual se le es administrado un producto de prueba.

El acontecimiento adverso no tiene necesariamente una relación causal con el tratamiento de estudio. Un acontecimiento adverso puede ser cualquier signo

desfavorable y no intencionado (incluyendo un hallazgo de laboratorio anormal), síntomas, o enfermedades temporales asociadas con el uso del producto de prueba. Dentro de estos se contemplan aquellas alteraciones asintomáticas detectadas por ejemplo por una alteración analítica hasta aquellas que implican un severo riesgo para la vida del paciente hasta el resultado de muerte).

Estos formularios de Acontecimientos Adversos (graves y no graves) serán utilizados en nuestro estudio para documentar las incidencias clínicas que ocurran durante el transcurso del estudio y la evaluación de causalidad será realizada por el Investigador. Para cada uno de los Acontecimientos Adversos se completara un Formulario de Acontecimientos Adversos.

Un **Acontecimiento Adverso no Grave** es definido como cualquier cambio desfavorable desde el inicio, en la salud médica de un paciente que no cumple criterios graves, los cuales que se indican a continuación (ej., no es amenazante para la vida, no requiere de hospitalización, no requiere prolongar la actual hospitalización, no deshabilita, etc.).

Un **Acontecimiento Adverso Grave** está definido como cualquier experiencia adversa que sucede después de la administración del producto en estudio y cumple los siguientes criterios:

- \* Amenazante para la vida; que el paciente estaba en riesgo de muerte por la reacción que se producida por la sustancia en investigación.
- \* Requiere la hospitalización del paciente o prolongar la existente hospitalización. En general, hospitalización significa que el individuo ha ingresado en el hospital o servicio de urgencias para observación y realización de estudios pertinentes y realiza como mínimo una pernoctación. Las complicaciones que puedan ocurrir durante la hospitalización también se consideran Acontecimientos Adversos. Si una complicación prolonga la hospitalización o cumple otros criterios graves, el acontecimiento es grave.
- \* Resultados de discapacidad/incapacidad permanente o importante. La discapacidad se define como una alteración sustancial de la capacidad

de una persona para realizar las funciones normales de la vida. Esta definición no se incluyen entidades médicas relativamente menores como dolores de cabeza sin complicaciones, náuseas, vómitos, diarrea, gripe, o un traumatismo accidental (por ejemplo, esguince de tobillo), que puedan interferir o impedir las funciones de la vida cotidiana, pero no constituyen una perturbación considerable.

- \* Es una anomalía congénita o defecto de nacimiento.
- \* Resultado de muerte.

### 5.3.9 Evaluaciones de severidad y causalidad

El investigador debe evaluar la severidad y causalidad (relacionada al tratamiento del estudio) de cada Acontecimiento Adverso Grave (SAE, Serious Adverse Event).<sup>181</sup>

Específicamente, los acontecimientos deberían ser clasificados como leve, moderado, o severo; esta evaluación debe realizarse independientemente de si el acontecimiento es grave o no grave. Los Acontecimientos Adversos (graves o no graves) también deben tener una evaluación de causalidad sobre si el evento está relacionado o no relacionado con el producto de estudio. Estas clasificaciones deberían basarse en las siguientes definiciones:

#### Severidad

**Leve:** Un Acontecimiento es leve si el paciente es consciente de él, pero puede fácilmente tolerar el signo o síntoma.

**Moderado:** Un Acontecimiento es moderado si el signo o síntoma resulta en malestar suficientemente significativo de causar interferencias con las actividades habituales del paciente.

**Severo:** Un Acontecimiento es severo si el signo o síntoma es incapacitante y provoca la incapacidad del paciente para realizar sus actividades habituales.

## Relación de causalidad

**Relacionado:** Un acontecimiento que se considera relacionado con el producto del estudio; acontecimientos que son clasificados como relacionados pueden ser posiblemente o definitivamente relacionados con el tratamiento del estudio cuando hay una razonable relación causal entre el acontecimiento y el tratamiento de estudio. Por ejemplo, la aparición de procesos infecciosos en un fármaco inmunosupresor.

**No relacionado:** Un Acontecimiento se considera no relacionado con el tratamiento de estudio. Los Acontecimientos que son clasificados como no relacionados no tienen relación o simplemente es poco probable que estén relacionados. Por ejemplo, la existencia de un esguince de tobillo en el estudio de un fármaco inmunosupresor.

### 5.3.10 Seguimiento de pacientes con efectos adversos

El investigador es responsable del adecuado y seguro cuidado médico de los pacientes durante el ensayo, y de asegurar que los apropiados cuidados médicos y procedimientos de seguimiento relevantes sean mantenidos después del ensayo. Cualquier dato adicional de estos procedimientos de seguimiento debe ser documentado y debe estar disponible en la recogida de datos (Anexo 2).

#### 5.4. PRODUCTO EN INVESTIGACIÓN

El complemento enzimático con extracto de diaminoxidasa (DAO) al 7% es un alimento dietético para usos médicos especiales que actúa como complemento para la intolerancia a los alimentos causada por histaminosis alimentaria. Esta suplementación complementa a la enzima propia del organismo, que es la encargada de metabolizar la histamina de los alimentos.

Tomando dos cápsulas de extracto de DAO al 7% antes de cada comida, se aumenta la cantidad de DAO en el intestino delgado y, por tanto, la capacidad de degradar la histamina. Con ello se acelera el procesamiento en el tubo digestivo de la histamina presente en los alimentos, que es la desencadenante de los síntomas.

POSOLOGIA: 2 cápsulas con un poco de agua 30 minutos antes de las comidas. El contenido de la cápsula no debe masticarse y la cápsula debe tragarse entera. Si no puede tragarse entera puede abrirse e ingerir el contenido, sin masticar, con líquido (Figura 7).

La diaminoxidasa contenida en las capsulas es una enzima de origen porcino, obtenida de cerdos criados en granjas ecológicas (Anexo 3).

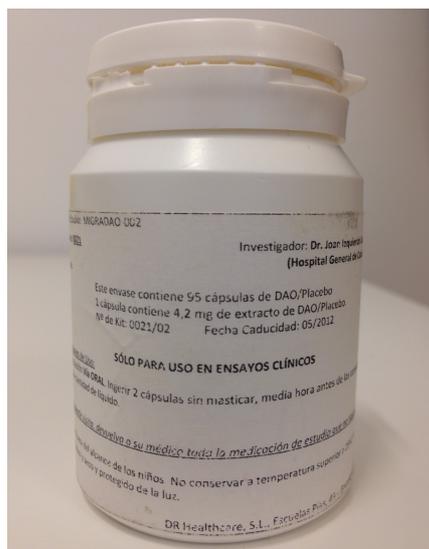


Figura 7: Envase del producto en estudio proporcionado al paciente independientemente si se aleatorizó en grupo DAO o placebo.

## **5.5. PRUEBA DIAGNÓSTICA DE LA ACTIVIDAD DAO**

La obtención de la muestra consiste en una extracción sanguínea de 5 ml de sangre venosa, que una vez estabilizada, se mantiene durante un máximo de 3 horas a temperatura de refrigeración (2-8°C), o bien es almacenada a temperatura de congelación de -20°C, hasta ser enviada al laboratorio de análisis.

Estas muestras fueron centralizadas y analizadas por los laboratorios General Lab, Calle Londres 28, 08029 de Barcelona.

## 5.6. CONSIDERACIONES ÉTICAS

### 5.6.1 Consentimiento informado.

El consentimiento informado es la conformidad libre, voluntaria y consciente de un paciente, manifestada en el pleno uso de sus facultades después de recibir la información adecuada, para que tenga lugar una actuación que afecta a su salud" según define la Ley Básica Reguladora de la Autonomía del Paciente. (Revisado: 07/07/2014)

Se trata de una actuación dirigida a garantizar el ejercicio de la autonomía de la persona como usuaria de un servicio en el ámbito asistencial.

La Ley 41/2002, de 14 de noviembre, básica reguladora de la autonomía del paciente y de derechos y obligaciones en materia de información y documentación clínica se refiere al consentimiento informado en el artículo 8 del Capítulo IV cuando dice:

*“Toda actuación en el ámbito de la salud de un paciente necesita el consentimiento libre y voluntario del afectado, una vez que, recibida la información prevista en el artículo 4 haya valorado las acciones propias del caso.”*

El consentimiento es entregado a todos y cada uno de los pacientes para su lectura y aclaraciones, firmándose antes de realizar cualquier intervención médica, pudiendo ser revocado por el paciente durante cualquier momento del estudio.

Se entrega una copia para el participante y otra queda en posesión del investigador (Anexo 4).

### 5.6.2 Beneficios riesgos y molestias para el paciente.

Participar en este estudio no supondrá un riesgo directo para el paciente puesto que el objetivo principal es estimar la eficacia de la suplementación con un alimento dietético para uso médico especial, ya comercializado y que ha pasado todos los requerimientos necesarios para su puesta en mercado.

Así mismo, los pacientes no se verán obligados a interrumpir ningún otro tratamiento prescrito para paliar su enfermedad.

Como molestias por participar en el estudio, el paciente deberá rellenar los cuestionarios referentes a la sintomatología de su enfermedad y a la toma de una muestra de sangre venosa, en caso de no poseer una analítica previa.

### 5.6.3 Comité de ética.

El protocolo para la realización de este estudio se presentó al Comité de Ética y Ensayos Clínicos (CEIC) del Hospital General de Catalunya el día 19 de julio de 2011, siendo aprobado por el mismo el 10 de agosto de 2011 (Anexo 5).

## 5.7. VARIABLES DEL ESTUDIO

### 5.7.1 ESTUDIO OBSERVACIONAL

- Edad
- Sexo
- Actividad DAO sanguínea

### 5.7.2 ENSAYO CLÍNICO

- Edad
- Sexo
- Actividad DAO
- Antecedente familiar de fibromialgia
- Antecedente familiar de eczema atópico
- Antecedente familiar de colon irritable
- Antecedente familiar de urticaria crónica
- Antecedente familiar de migraña
- Número de crisis en un mes
- Horas de dolor en un mes
- Intensidad del dolor
- Consumo de analgésicos
  
- Variables exploratorias
  - Patología digestiva.
  - Afectación cutánea-prurito
  - Dolor muscular
  - Astenia

## **5.8. MÉTODO DE RECOGIDA DE DATOS**

### **ESTUDIO OBSERVACIONAL**

Se trata de un estudio observacional en que se mide la actividad DAO en pacientes con el diagnóstico de migraña confirmado y otra muestra de pacientes sin clínica de cefalea ni antecedentes personales de migraña que acuden para una revisión médica rutinaria.

### **ENSAYO CLÍNICO**

El presente estudio es un estudio unicéntrico, de doble ciego, comparativo, aleatorizado y controlado con placebo.

Se registraron datos y variables en un cuaderno de recogida de datos exclusivo para cada paciente (Anexo 6).

La duración total del reclutamiento fue de 19 meses, de septiembre de 2011 hasta marzo de 2013. El tiempo de seguimiento fue de tres meses por individuo participante, con un sólo mes de tratamiento, según el siguiente esquema de visitas:

Nº visita	Tipo de visita	Descripción
-1	<i>Screening</i>	Previa obtención del consentimiento informado, se obtiene el valor de actividad enzimática de la enzima Diaminooxidasa en suero. Aquellos pacientes que presenten déficit de actividad, definido éste por un valor inferior a 80 HDU/ml, se les entrega del Diario de Paciente y pasan a la siguiente fase del estudio.
<b>1 mes de pre-tratamiento (Recogida Baseline)</b>		
0	Aleatorizació	50 pacientes son aleatorizados a cada uno de los dos brazos de estudio; se les proporciona el tratamiento en cuestión, junto con las indicaciones necesarias para asegurar el cumplimiento.
1	Seguimiento	Tras un periodo de un mes de tratamiento, los pacientes acuden a consulta para entregar su Diario de Paciente y el envase de producto en investigación. El investigador cuenta las cápsulas restantes para revisión del cumplimiento.

El periodo de tratamiento al que se sometió a cada paciente fue de un mes. 50 pacientes fueron aleatorizados en el brazo A y otros 50, en el B:

- **Brazo A: Extracto de Diaminooxidasa al 7%.** Alimento dietético para usos médicos especiales de administración oral. Posología de dos cápsulas media hora antes de cada comida.

Previo a la aleatorización e inicio del tratamiento, hubo un periodo de pre-tratamiento de un mes de duración, en el que se registraron los datos basales de cada paciente. Durante este mes el paciente no tomó ninguna medicación para la prevención de la migraña, pudiendo hacer uso de medicación para los ataques agudos de migraña.

En el caso de que el paciente siguiera tratamiento preventivo previo, fue necesario un periodo de lavado o *wash-out* establecido en un mes, a partir del cual se iniciaba el periodo de pre-tratamiento.

- **Brazo B: Placebo.** Cápsulas con las mismas características organolépticas y farmacotécnicas que en el brazo A. Los envases tenían el mismo aspecto, diferenciándolos únicamente por el número de asignación aleatoria.

Tras el mes de tratamiento, los pacientes hicieron entrega de su Diario de Paciente y una valoración de su participación en el estudio, mediante una puntuación global sobre la satisfacción después de haber participado en el mismo.

Se realizó un esquema de flujo de pacientes según los criterios "Consort" en el que se indicaban el orden de las visitas y la presencia de los diferentes brazos en estudio (figura 7).

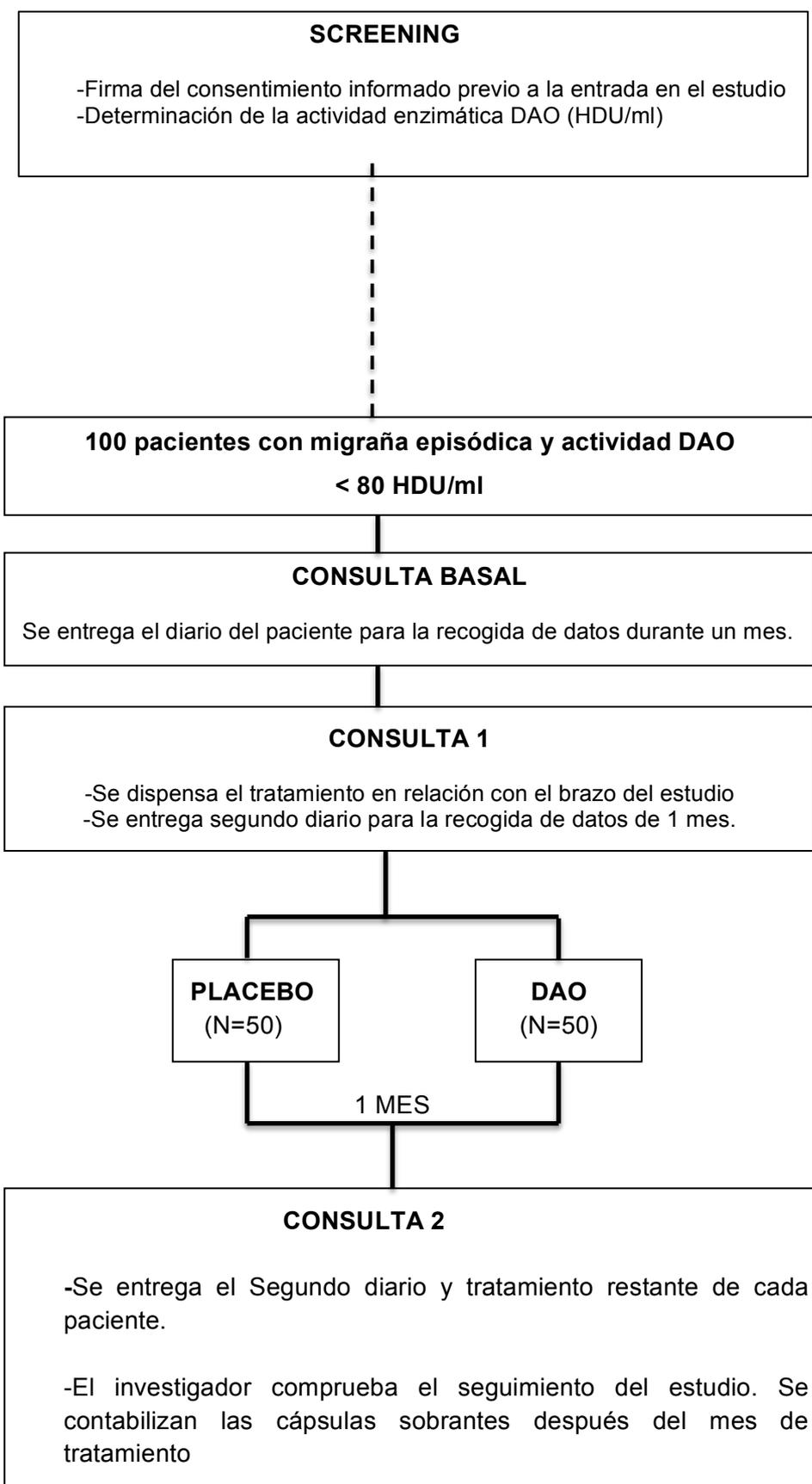


Figura 7: Diagrama de flujo de los pacientes y visitas de seguimiento durante el estudio.

## 5.9 GESTIÓN DE DATOS

En la primera parte del trabajo, y tratándose de un estudio observacional, para comparar la distribución de los valores DAO de los dos grupos (migrañosos y control) según la prueba de Kolmogorov-Smirnov ya no siguen una distribución normal, por lo que se siguieron pruebas no paramétricas para comparar las medias entre grupos, en este caso, Mann-Whitney.

La segunda parte se orientó como un ensayo clínico. El análisis estadístico para el cálculo de la muestra necesaria para conferir valor al estudio tuvo en cuenta el 12% de la prevalencia estimada de la migraña episódica en la población general española.

Basándonos en asumir un 5% de error tipo 1, con una potencia estadística deseada del 80%, se calculó que la población para el estudio debía contar con 82 sujetos (41 en cada grupo). Si se asuma una pérdida de seguimiento del 15%, se decidió incluir un total de 100 pacientes (50 en cada uno de los brazos) para garantizar un mínimo de 82 pacientes necesarios para cumplir el cálculo poblacional.

Se usó ANOVA para diferenciar la duración de los ataques de migraña en horas, número de ataques y las escalas de dolor.

Valores de  $P < 0,05$  se aceptaron como significativos.

El análisis estadístico fue realizado mediante el uso del programa SPSS para Windows, versión 22 (Chicago, IL).

## **5.10 REGISTRO DEL ESTUDIO**

El presente estudio ha sido registrado en la ISRCTN (International Standart Randomised Controlled Trial Number). Se trata de una base de datos reconocida por la OMS (Organización Mundial de la Salud) para estudios de investigación tanto en fase de diseño, desarrollo o finalizados.

Ha sido registrado con el código ISRCTN 10091019, pudiéndose consultar en: <http://www.isrctn.com/ISRCTN10091019>, con el título: “Randomized double-blind trial of diamine-oxidase (DAO) food supplement to treat patients with episodic migraine and DAO deficiency” (Anexo 7).

Los estudios de esta base de datos están abiertos para su consulta y son de acceso gratuito.

## 6. RESULTADOS

### 6.1. ESTUDIO OBSERVACIONAL

#### 6.1.1. Edad

Se estudiaron 137 pacientes con criterios de migraña y 61 pacientes control.

En el grupo de pacientes migrañosos, la edad media fue de 41,95 años, frente a los 42,46 de la población control (Tabla 1).

Variable	Grupo Migraña	Grupo Control
<b>Número</b>	137	61
<b>Edad (media)</b>	41,95	42,46

Tabla 1: Distribución de edad de los participantes en el estudio divididas por grupos de aleatorización.

### 6.1.2. Sexo

El sexo femenino predominó en el grupo de migrañosos con 89% de los reclutados en contraposición al 11% de población masculina.

En el grupo control, la población fue de un 56% de mujeres frente al 44% de hombres (Tabla 2).

Variable	Grupo Migraña	Grupo Control
<b>Número</b>	137	61
<b>Sexo (%)</b>		
Mujeres	89	56
Hombres	11	44

Tabla 2: Distribución del sexo de los participantes en el estudio divididas por grupos de aleatorización.

### 6.1.3. Actividad DAO

La actividad enzimática DAO está disminuida en el 87% de los pacientes con migraña, mientras que en el grupo control lo está en el 44% (Figura 1).

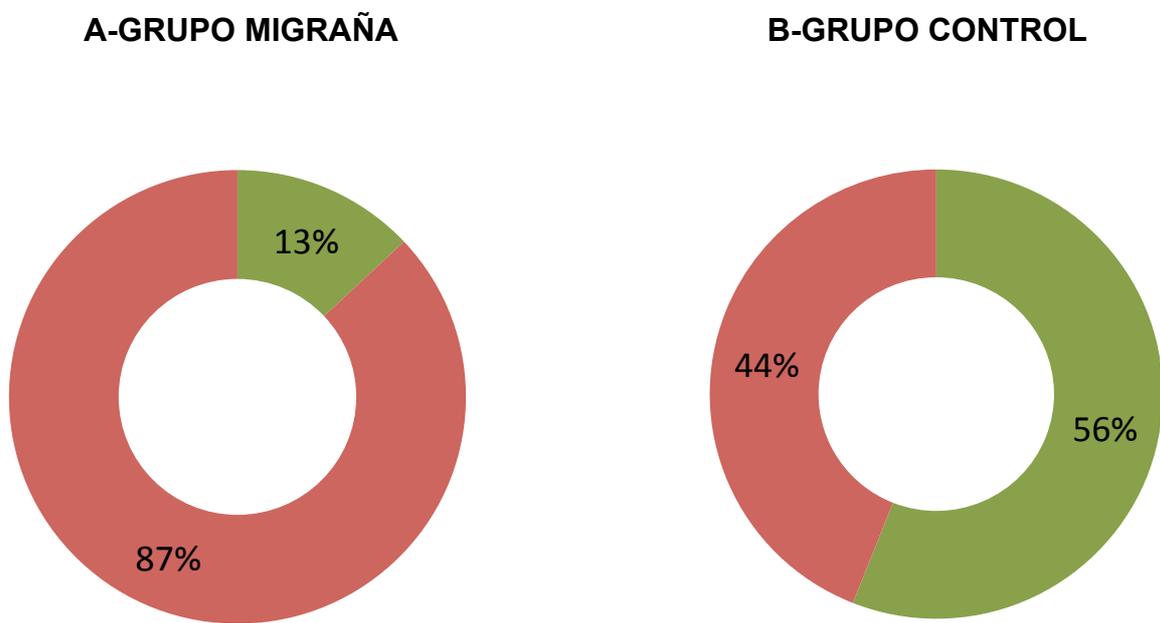


Figura 1: Distribución en porcentajes de los pacientes con déficit de DAO. En el diagrama A se representa a los pacientes con diagnóstico de migraña, mientras que en el diagrama B, los que no padecían clínica migrañosa, o grupo control.

Si analizamos la actividad media enzimática en cada uno de los grupos de estudio, se obtiene un valor medio en el grupo control de 91,9 ( $\pm 44,3$ ) HDU/ml, mientras que en el grupo de pacientes migrañosos es de 64, 5 ( $\pm 33,5$ ) HDU/ml, con un valor  $p < 0.0001$  (Figura2).

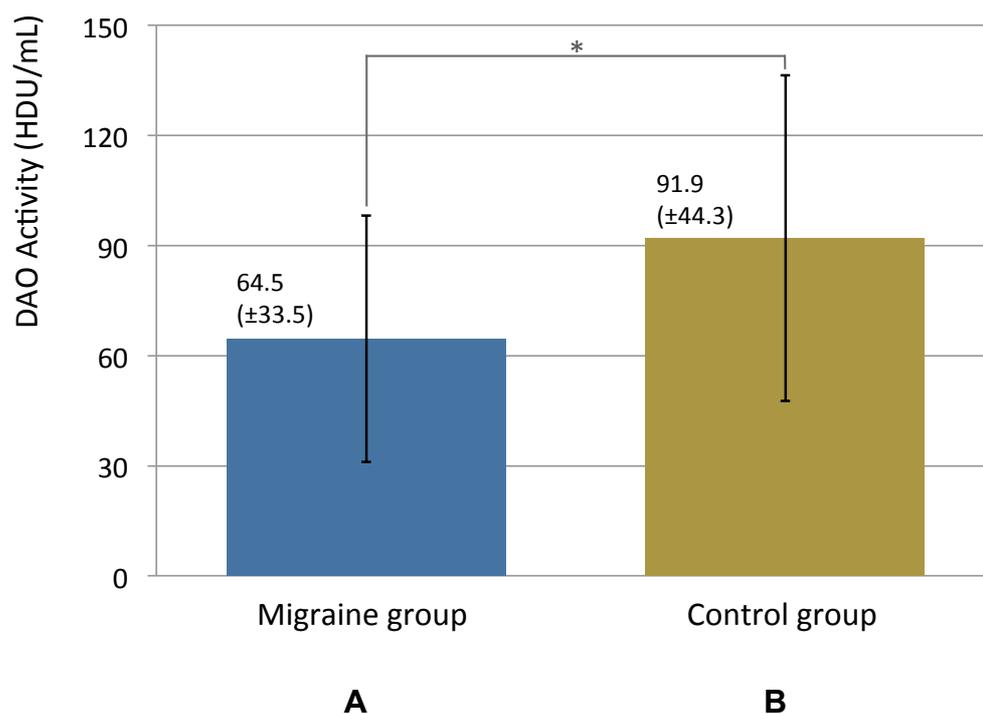


Figura 2: Diferencia entre las actividades medias enzimáticas entre el grupo de migrañosos y grupo control. (\*:  $p < 0,05$ )

La figura 3 muestra la distribución de los valores de actividad DAO. La variabilidad de estos valores en los pacientes migrañosos, es baja, con un 50% de los casos comprendida entre los 49,5 y 67,1 HDU/ml (percentil 25 y percentil 75 respectivamente). Se han podido registrar algunos valores extremadamente altos, alrededor de 250 HDU/ml, considerados estadísticamente como “outliers”. En el grupo control se ha constatado una gran variabilidad de resultados. En este grupo el rango intercuartil, calculado como la diferencia entre el percentil 75 (118,5 HDU/ml) y e percentil 25 (59,8 HDU/ml) es de 58,7 HDU/ml. Esto significa que es unas tres veces mayor que el intercuartil obtenido en el grupo de pacientes con migraña (17,6 HDU/ml). De la misma forma que en el grupo de migrañosos, se han encontrado valores extremos alrededor de las 211 HDU/ml.

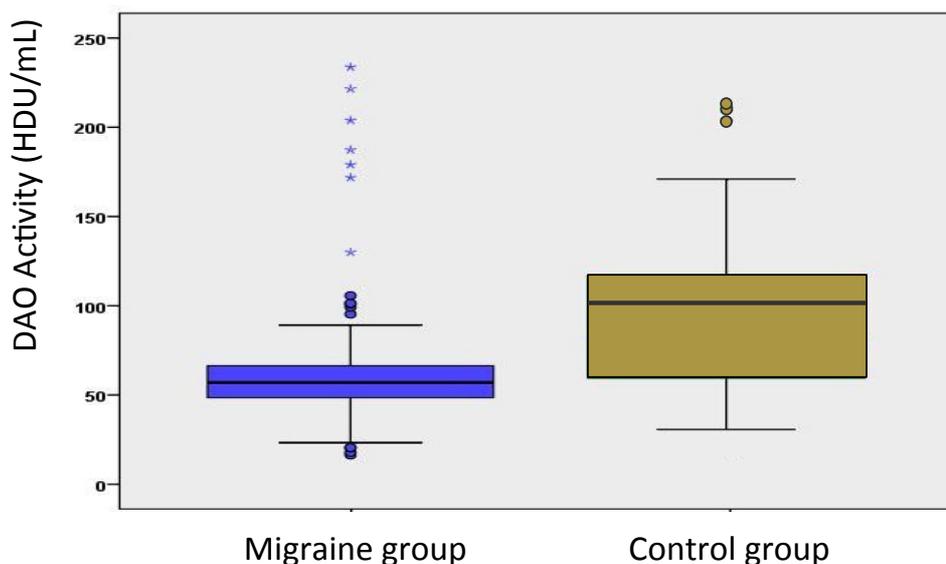


Figura 3: Distribución de los niveles de actividad DAO en las que se aprecia la existencia de valores extremos y el distinto agrupamiento de los grupos de los valores obtenidos entre el percentil 25 y 75.

## 6.2. ENSAYO CLÍNICO

### 6.2.1. Edad.

Los valores para la variable edad, medida en años fueron de 43,2 años con una desviación de 11,4 para el grupo placebo con unos intervalos que tenían un mínimo de 23,8 y un máximo de 69,4 años.

En el grupo DAO, la edad media fue de 40,7 años con una desviación estándar de 11,3 y unos valores extremos de 18,4 en la parte baja y 65 en el máximo de edad.

En el total de pacientes estudiados la edad media fue de 41,9 con una desviación estándar de 11,3 años. Los valores extremos oscilaron desde los 18,4 a los 65 años.

No se apreciaron diferencias estadísticamente significativas para los valores de edad entre el grupo placebo y el grupo de tratamiento (tabla 3).

		PLACEBO N=49	DAO N=50	TOTAL N=99
<b>Edad</b>	Media (sd)	43,2 (11,4)	40,7 (11,3)	41,9 (11,3)
<b>(años)</b>	Min-Max	23,8-64,9	18,4-65	18,4-65

Tabla 3: Distribución de las edades entre los grupos que siguieron tratamiento con DAO o placebo.

### 6.2.2. Sexo

La distribución de pacientes por sexo en ambos grupos incluyó 41 mujeres y 8 hombres en el grupo placebo y 42 mujeres y 8 hombres en el grupo DAO. La distribución total por sexo en el conjunto del estudio fue de un total de 83 mujeres participantes por 16 hombres.

No se apreciaron diferencias significativas entre los grupos (tabla 4).

		PLACEBO N=49	DAO N=50	TOTAL N=99
<b>Sexo</b> (n de pacientes)	Mujeres	41	42	83
	Hombres	8	8	16

Tabla 4: Distribución por sexo de los participantes en ambos grupos donde se manifiesta un claro predominio del sexo femenino en ambos.

### 6.2.3. Actividad DAO

Se determinó la actividad DAO en HDU/ml en todos los pacientes con unos valores en el grupo placebo de 54,5 con una desviación estándar de 13,7. Los valores extremos fueron de 18,6 a 79,6.

En el grupo DAO se obtuvo una media de actividad de 53,5 con desviación estándar de 10,8, siendo el valor de actividad mínimo de 22,6 y el máximo de 79.

En el total de participantes en el estudio la actividad media fue de 54 con una desviación estándar de 12,3 con valores extremos comprendidos desde 18,6 de mínimo a 79,6 de máximo.

No se apreciaron diferencias significativas entre los grupos (tabla 5).

		PLACEBO N=49	DAO N=50	TOTAL N=99
<b>Actividad DAO (HDU/ml)</b>	Media (sd)	54,5 (13,7)	53,5 (10,8)	54 (12,3)
	Min-Max	18,6-79,6	22,6-79	18,6-79,6

Tabla 5: Niveles de actividad DAO indicados en HDU/ml en los dos grupos de intervención del ensayo.

#### 6.2.4. Antecedente familiar de fibromialgia

Los antecedentes de fibromialgia en el grupo placebo fue de 1 paciente, igual que en el grupo DAO.

El total de pacientes enrolados en el estudio con antecedente de fibromialgia fue de 2 (tabla 6).

		PLACEBO N=49 (%)	DAO N=50 (%)	TOTAL N=99 (%)
<b>Antecedente de Fibromialgia</b>	No	48 (98)	49 (98)	97 (98)
	Sí	1 (2)	1 (2)	2 (2)

Tabla 6: Antecedentes familiares de fibromialgia en los dos grupos de intervención.

### 6.2.5. Antecedente familiar de Eczema Atópico

Se recogieron antecedentes de eccema atópico en 5 pacientes del grupo placebo por 5 del grupo DAO. El total del estudio fue de 11, lo que correspondía a un 11% de la población estudiada (tabla 7).

		PLACEBO N=49 (%)	DAO N=50 (%)	TOTAL N=99 (%)
<b>Antecedente de Eczema atópico</b>	No	44 (89,8)	44 (88)	88 (88,9)
	Sí	5 (10,2)	6 (12)	11 (11,1)

Tabla 7: Antecedentes familiares de eczema atópico en los dos grupos de intervención.

### 6.2.6. Antecedente familiar de Colon Irritable

El antecedente de Colon Irritable se recogió en 3 pacientes del grupo placebo y 1 del grupo tratado con DAO. El total de pacientes que mostró este antecedente fue de 4 (tabla 8).

		PLACEBO N=49 (%)	DAO N=50 (%)	TOTAL N=99 (%)
<b>Antecedente de Colon Irritable</b>	No	46 (93,9)	49 (98)	95 (96)
	Sí	3 (6,1)	1 (2)	4 (4)

Tabla 8: Antecedentes familiares de colon irritable en los dos grupos de intervención.

### 6.2.7. Antecedente familiar de Urticaria Crónica

En la población de estudio se recogió el antecedente familiar de urticaria crónica en 2 pacientes del grupo placebo y 1 en el grupo DAO. El total de pacientes con este antecedente fue de 3 en el global de la muestra (tabla 9).

		PLACEBO N=49 (%)	DAO N=50 (%)	TOTAL N=99 (%)
Antecedente de Urticaria Crónica	No	47 (95,9)	49 (98)	96 (97)
	Sí	2 (4,1)	1 (2)	3 (3)

Tabla 9: Antecedentes familiares de urticaria crónica en los dos grupos de intervención.

### 6.2.8. Antecedentes de Migraña.

Se registraron 43 pacientes con antecedentes de migraña en el grupo placebo y 42 en el grupo de tratamiento con DAO, lo que representa un total del 85% de la muestra que tienen el antecedente de familiar de migraña (tabla 10).

		PLACEBO N=49 (%)	DAO N=50 (%)	TOTAL N=99 (%)
Antecedente de Migraña	No	6 (12,2)	8 (16)	14 (14,1)
	Sí	43(87,8)	42 (84)	85 (85,9)

Tabla 10: Antecedentes familiares de migraña en los dos grupos de intervención.

#### 6.2.9. Número de crisis al mes.

Los valores obtenidos tanto en la visita C1 como en la C2 tanto en el grupo placebo como en el grupo DAO mostraron una gran variabilidad como se puede ver en la figura 4. En todos los grupos se pudieron apreciar algunos valores extremadamente altos.

Estas diferencias se pudieron apreciar tanto en el análisis del número de crisis registradas como en el número de horas de duración de cada uno de los ataques.

Para reducir el efecto de sesgo que pudieran tener estos valores extremos se decidió eliminar los valores extremos o “outlier”.

Para su selección se aplicó la fórmula  $P_{75} + 3 \cdot IQR$  (IQR: Intercuartil range;  $P_{75}-P_{25}$ ).

Después de su aplicación y eliminación de los valores extremos, se obtuvieron una muestra total de 82 pacientes, 43 en el grupo placebo y 39 en el grupo tratado con DAO. Este valor de muestra se mantenía dentro de los parámetros muestrales calculados de un mínimo de 80 pacientes incluidos dentro del estudio para obtener una representatividad en la población general.

Este ajuste del número de pacientes analizados se aplicó tanto en el registro de número de crisis como en el de su duración para mantener una población de análisis de pacientes más homogénea y así evitar sesgos.

La media de ataques en el grupo placebo fue de 9,26 al mes con una desviación estándar de 5,21.

La media de crisis en el grupo que recibió tratamiento DAO fue de 10,18 con una desviación estándar de 4,44, obteniendo unos rangos de 1 a 20 ataques durante el mes de recogida de datos.

No se encontró una diferencia estadísticamente significativa entre ellos (p: 0,392).

#### Posterior al tratamiento (C2)

En el grupo placebo se registraron 7,09 crisis con una desviación de 4,97 y con un valor mínimo de 0 y un máximo de 20 crisis.

La media en el grupo DAO fue de 7,51 con una desviación estándar de 4,97 y un rango de valor mínimo de 0 y máximo de 19 crisis durante el mes.

No se encontró diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos (p: 0,703).

La diferencia entre el número de ataques entre la visita C1 y C2 en el grupo placebo no mostró diferencias estadísticamente significativas (p: 0,52).

Si se comparan las medias entre las crisis registradas en el grupo tratado con DAO entre la visita C1 y la visita C2 se obtiene una diferencia que corresponde a la reducción media de 2,62 ataques al mes. Esta diferencia de valor en el número de crisis obtiene una diferencia estadísticamente significativa con  $p < 0,015$ . (tabla 11).

		PLACEBO N=43	DAO N=39	p <sup>a</sup>
<b>Antes del tratamiento C1</b>	Media (sd)	9,26(5,21)	10,18(4,44)	0,392
	Min-Max	0-20	1-20	
<b>Después del tratamiento C2</b>		7,09(4,97)	7,51(4,97)	0,703
		0-20	0-19	
	p <sup>b</sup>	0,52	0,015	

<sup>a</sup>Diferencias significativas entre grupo placebo y DAO con  $p < 0,05$

<sup>b</sup>Diferencias entre C1 y C2 con  $p < 0,05$ .

Tabla 11: Número de crisis de migraña al mes comparada entre ambos grupos y entre visita C1 y C2.

## 6.2.10. Duración de las crisis en horas

		PLACEBO N=43	DAO N=39	p <sup>a</sup>
<b>Antes del tratamiento C1</b>	Media (sd)	7,53 (4,24)	6,14 (3,06)	0,097
	Min-Max	0-21	1,8-15	
<b>Después del tratamiento C2</b>	Media (sd)	6,68 (4,42)	4,76 (2,68)	0,021
	Min-Max	0-16,5	0-11	
	p <sup>b</sup>	0,366	0,038	

<sup>a</sup>Diferencias significativas entre grupo placebo y DAO con  $p < 0,05$

<sup>b</sup>Diferencias entre C1 y C2 con  $p < 0,05$ .

Tabla 12: Duración en horas de las crisis en grupo placebo y grupo DAO y entre visita C1 y C2.

La media de duración de los ataques, medida en horas para el grupo que recibió tratamiento con placebo en la visita C1 fue de 7,53 con una desviación estándar de 4,24 horas y con un rango mínimo de 0 a un máximo de 21.

En el grupo tratado con DAO, la duración media de la crisis en la visita C1 fue de 6,14 horas con una desviación estándar de 3,06 y un valor mínimo de 1,8 y un máximo de 15 horas.

No se encontró una diferencia significativa entre los valores entre ambos grupos en la visita C1 con  $p: 0,097$ .

Después de recibir tratamiento, en la visita C2 el valor medio de la duración de las crisis en el grupo placebo fue de 6,68 horas con una desviación de 4,42 con un mínimo de 0 y un máximo de 16,5 horas.

En la visita C2 del grupo tratado con DAO la duración media de los ataques fue de 4,46 horas con una desviación estándar y unos rangos de 0 a 11 horas. Esto significa una reducción de un 22,5% en la duración de las crisis después del tratamiento.

Se encuentran diferencias estadísticamente significativas en la comparación de número de horas en la visita C2 entre el grupo placebo y DAO con  $p < 0,021$ .

Existe una diferencia estadísticamente significativa en tanto a la reducción de la duración de las crisis entre la visita C1 y C2 dentro del grupo tratado con DAO con  $p < 0,038$ .

No se ha encontrado diferencia estadísticamente significativa entre la visita C1 y C2 en el grupo placebo con  $p: 0,366$  (tabla 12).

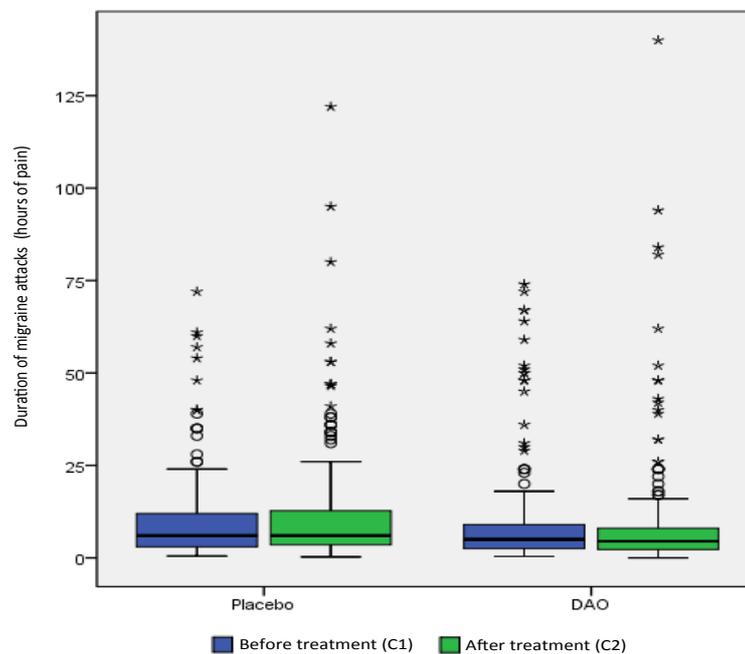


Figura 4: Distribución del número de crisis al mes entre los ambos grupos con los rangos entre cuartiles  $P_{75}$ - $P_{25}$ , así como los valores extremos. Antes del tratamiento (C1).

6.2.11. Intensidad del dolor

		PLACEBO N=43	DAO N=39	p <sup>a</sup>
<b>Antes del tratamiento C1</b>	Media (sd)	5,62 (1,57)	5,27 (1,43)	0,125
	Min-Max	0-9	1,4-7,9	
<b>Después del tratamiento C2</b>	Media (sd)	4,88 (2,31)	5,07 (2,02)	0,605
	Min-Max	0-8,5	0-8,6	
	p <sup>b</sup>	0,300	0,850	

<sup>a</sup>Diferencias significativas entre grupo placebo y DAO con  $p < 0,05$

<sup>b</sup>Diferencias entre C1 y C2 con  $p < 0,05$ .

Tabla 13: Intensidad del dolor en grupo placebo y DAO y comparación entre visita C1 y C2.

La intensidad del dolor medida mediante la Escala Analógica Visual presentó una puntuación, en la visita C1, en el grupo asignado a placebo, de 5,62, con una desviación estándar de 2,31 y con valor mínimo de 0 y máximo de 9.

En el grupo tratado con DAO en la visita C1, puntuó 5,27 con una desviación de 1,43 y con un valor mínimo de 1,4 y un máximo de 7,9.

No se apreció una diferencia estadísticamente significativa entre los valores en C1 en el grupo placebo y grupo DAO con  $p: 0,125$ .

Después de la fase de tratamiento, en la visita C2, en el grupo placebo, la puntuación obtenida fue de 4,88 con una desviación de 2,31 y un rango de 0 a 8,5.

En el grupo que recibió tratamiento con DAO, el valor de la puntuación en la escala analógica visual en C2 fue de 5,07 con una desviación estándar de 2,02 y un rango de valores de 0 a 8,6.

La comparación de valores entre grupo placebo y DAO en visita C2 no obtiene diferencias estadísticamente significativas con  $p: 0,605$ .

No se han encontrado diferencias estadísticamente significativas entre C1 y C2 en el grupo placebo con un valor  $p: 0,300$ .

No se han encontrado diferencias estadísticamente significativas entre C1 y C2 en el grupo DAO con un valor  $p: 0,850$ .

## 6.2.12. Uso de analgesia. Triptanes

En los cuadernos de registro de los pacientes se incluyó el uso de analgesia durante las crisis, más concretamente, de la familia de los triptanes.

El uso de los mismos fue subdividido como de “baja frecuencia” (menos de 5 unidades al mes), “moderada frecuencia” (entre 6 y 10 cápsulas al mes) y de “alta frecuencia” (más de 10 cápsulas al mes).

La figura 5 muestra la tendencia una disminución del consumo de triptanes tanto en el grupo de baja frecuencia como en el de moderada, con un aumento de pacientes que no consumen esa familia farmacológica en las crisis. Esta tendencia fue la inversa en el grupo placebo, con una disminución del número de pacientes que no requerían triptanes y un incremento de pacientes en el grupo de baja y moderada frecuencia.

La cantidad de pacientes incluido en el grupo de alta frecuencia se mantuvo igual en los dos grupos de estudio.

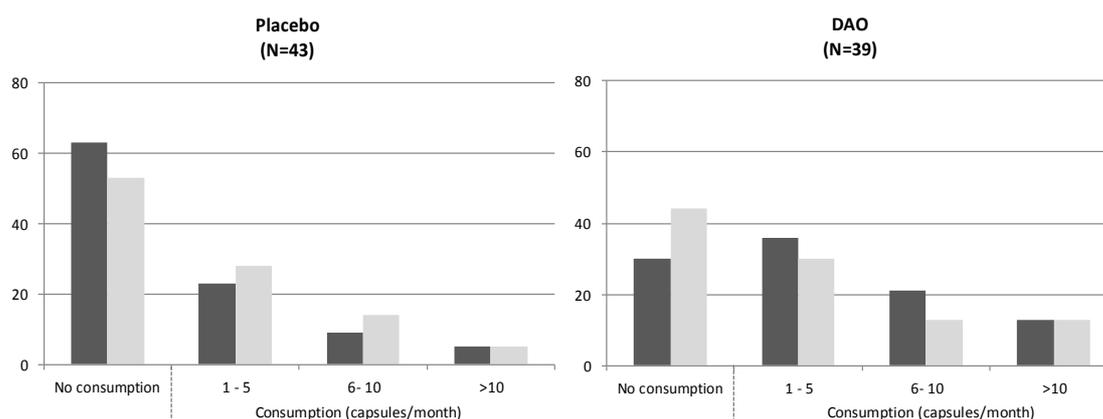


Figura 5: Evolución del uso de triptanes en los dos grupos de intervención dividido en grupos de baja, moderada y alta frecuencia de consumo.

El análisis independiente del uso de triptanes entre la visita C1 y C2 para el grupo tratado con DAO, se puede ver en la figura 6 mostrando la tendencia de cada uno de los pacientes que trató los ataques con este grupo farmacológico. Los representados con una línea roja son aquellos que requirieron un aumento de consumo del analgésico, los que lo hacen con una línea verde descendieron, y los que están representados con una línea negra, mantuvieron el consumo inalterado.

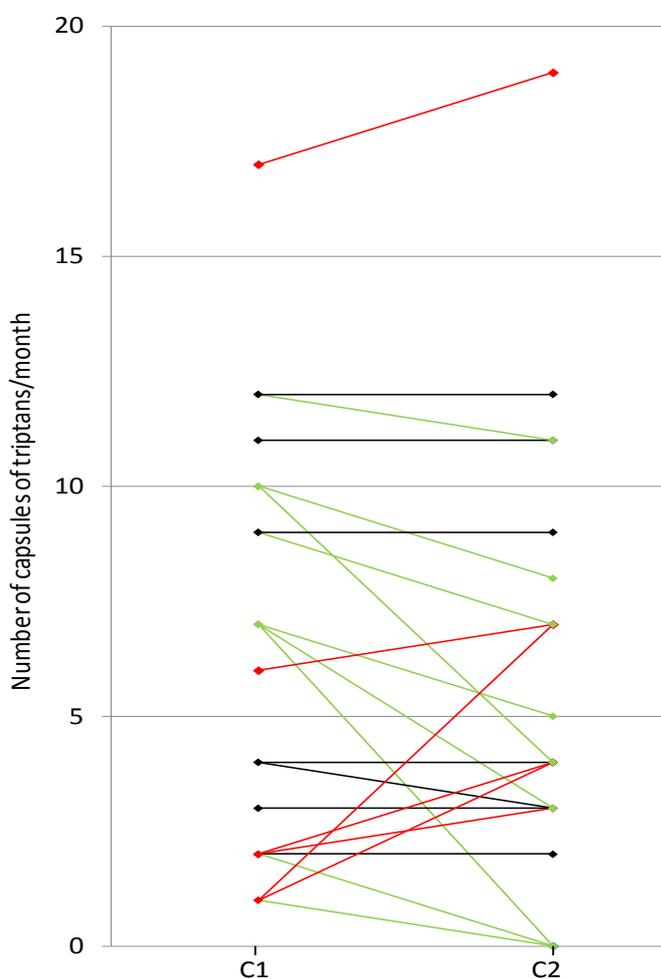


Figura 6: Tendencia al consumo de triptanes de los pacientes incluidos en el grupo de tratamiento con DAO.

## 6.2.13. Variables exploratorias:

### 6.2.13.1. Sequedad cutánea

Se registró la sequedad cutánea de los pacientes en la visita basal, estando presente en el 69,4% de pacientes del grupo placebo y en el 74% del grupo DAO (tabla 14).

Después del mes de tratamiento se registró en el 63,8% de participantes en el grupo placebo y un 66,7% del grupo que recibió tratamiento con DAO. No se encontró diferencia significativa entre ambos (p: 0,966).

			Placebo n (%)	DAO n (%)	Total n (%)	P-valor
<b>Sequedad cutánea</b>	Visita basal	No	15 (30,6)	13(26)	28 (28,3)	
		Sí	34 (69,4)	37 (74)	71(71,7)	
	Visita final	No	17 (36,2)	16 (33,3)	33 (34,7)	
		Sí	30 (63,8)	32 (66,7)	62 (65,3)	0,966

P-valor calculado a partir de la prueba Cochran-Mantel-Haenszel

Tabla 14: Evolución del síntoma sequedad cutánea en los dos grupos de intervención.

### 6.2.13.2. Dolor muscular

Se recogieron datos sobre los síntomas subjetivos de padecer dolor muscular, estando presente, en la visita basal en el 65,3% de pacientes del grupo placebo por un 70 % de pacientes asignados al grupo DAO (tabla 15).

Después del mes de suplementación enzimática el síntoma se presentó en el 51,1% de los pacientes que recibieron placebo, por el 54,2% de pacientes tratados. No se apreciaron diferencias significativas entre los dos grupos ( $p$ : 0.928).

			Placebo n (%)	DAO n (%)	Total n (%)	P-valor
<b>Dolor muscular</b>	Visita basal	No	17 (34,7)	15(30)	32 (32,3)	
		Sí	32 (65,3)	35 (70)	67 (67,7)	
	Visita final	No	23 (48,9)	22 (45,8)	45 (47,4)	
		Sí	24 (51,1)	26 (54,2)	50 (52,6)	0,928

P-valor calculado a partir de la prueba Cochran-Mantel-Haenszel

Tabla 15: Evolución del síntoma dolor muscular en los dos grupos de intervención.

### 6.2.13.3. Astenia

Se recogieron datos sobre los síntomas subjetivos de padecer astenia, estando presente, en la visita basal en el 59,2% de pacientes del grupo placebo por un 82% de pacientes asignados al grupo DAO (tabla 16).

Después del mes de suplementación enzimática el síntoma se presentó en el 42,6% de los pacientes que recibieron placebo, por el 62,5% de pacientes tratados. No se apreciaron diferencias significativas entre los dos grupos (p: 0.551).

			Placebo n (%)	DAO n (%)	Total n (%)	P-valor
<b>Astenia</b>	Visita basal	No	20 (40,8)	9 (18)	29 (29,3)	
		Sí	29 (59,2)	41 (82)	70 (70,7)	
	Visita final	No	27 (57,4)	18 (37,5)	45 (47,4)	
		Sí	20 (42,6)	30 (62,5)	50 (52,6)	0,551

P-valor calculado a partir de la prueba Cochran-Mantel-Haenszel.

Tabla 16: Evolución del síntoma astenia en los dos grupos de intervención.

#### 6.2.13.4. Prurito

Se recogieron datos sobre los síntomas subjetivos de padecer prurito de forma regular, estando presente, en la visita basal en el 42,85% de pacientes del grupo placebo por un 42% de pacientes asignados al grupo DAO (tabla 17).

Después del mes de suplementación enzimática el síntoma se presentó en el 38,78% de los pacientes que recibieron placebo, por el 26% de pacientes tratados. La diferencia entre los valores después de un mes de tratamiento mostró una diferencia estadísticamente significativa a favor del grupo tratado con DAO ( $p < 0,041$ ).

			Placebo n (%)	DAO n (%)	Total n (%)	P-valor
<b>Prurito</b>	Visita basal	No	28 (57,2)	29 (58)	57 (57,6)	
		Sí	21 (42,8)	21 (42)	42 (42,4)	
	Visita final	No	30 (61,2)	37 (74)	67 (67,7)	
		Sí	19 (38,8)	13 (26)	32 (32,3)	0,041

P-valor calculado a partir de la prueba Cochran-Mantel-Haenszel.

Tabla 17: Evolución del síntoma prurito en los dos grupos de intervención.

## **7. DISCUSIÓN**

### **7.1. ESTUDIO OBSERVACIONAL**

La migraña es una entidad clínica bien definida con unos criterios diagnósticos claramente establecidos y revisados periódicamente por la International Headache Society. A pesar de ser una patología diagnosticada y tratada por neurólogos, cada vez se van relacionando más síntomas asociados y que pueden afectar a otros sistemas del cuerpo humano.

La hipótesis que relaciona la histamina con la etiopatogénesis en la migraña existe desde hace bastantes años. Ya durante los años 50 y 60 se realizaron las primeras determinaciones cuantitativas de niveles de DAO en sangre de pacientes migrañosos. Algunos de estos primeros estudios fueron llevados a cabo por Tryding a finales de la década de los 60.<sup>182</sup> Estos análisis se basaban en la cuantificación de la enzima y en ocasiones en la medición de la concentración de histamina en el plasma de los pacientes. Los resultados no fueron concluyentes, por lo que esta vía fue abandonada durante años.

En la actualidad disponemos de medios de análisis como la técnica de ELISA lo que nos permite hacer una valoración no cuantitativa sino cualitativa de la actividad enzimática. Esto permite ver una diferencia metabólica no relacionada con la concentración del enzima, sino con su capacidad de degradación de histamina y poderse medir en HDU/ml.

Esta técnica nos va a permitir discernir entre la cantidad de enzima presente en plasma y su verdadera actividad. Tal como apunta en sus estudios el equipo de Manzotti<sup>183</sup> y el grupo de Maintz<sup>40</sup>, el exceso de histamina que se puede acumular por una mala acción enzimática se puede asociar a una serie de sintomatologías que se han estudiado en este trabajo.

No existe en la literatura médica ningún estudio publicado en el que se determine la actividad enzimática de la DAO en pacientes diagnosticados exclusivamente de migraña.

Consecuentemente, si en estos pacientes se evidencia una alteración en la actividad DAO, se abre la puerta a que una suplementación enzimática pueda reportar una mejoría clínica de los pacientes con migraña, así como, aquellos que presenten síntomas que se puedan relacionar con un acúmulo excesivo de histamina.

Los resultados que se desprenden de la primera parte de esta investigación indican que la prevalencia del déficit enzimático, ronda el 87% de los pacientes con migraña, siendo este un dato totalmente novedoso en la literatura médica.

Para dar más valor a los resultados obtenidos, se realizó también la determinación en pacientes que no estaban diagnosticados de migraña y no presentaban clínica de cefalea, que fueron usados como grupo control. Y como en el grupo de migrañosos, es primera vez que se realiza este tipo de estudio en población sana.

Sorprendentemente, hemos podido apreciar que la incidencia de déficit en la población que hemos utilizado de control ha sido más elevado de lo que en un principio podíamos esperar, a pesar de que se habían seleccionado pacientes sin historia clínica de migraña.

El valor obtenido en el grupo control ha mostrado, que el déficit de la actividad DAO supera al 40% de los pacientes a los que se realizó la analítica.

Una posible explicación para ello, es que nos encontramos ante una alteración metabólica plurisintomática. La migraña podría ser un síntoma dentro de una patología en la que se pueden ver involucrados distintos sistemas del cuerpo humano, y en el que no siempre la cefalea formara parte de este extenso cuadro clínico.

El motivo por el cual se produciría esta heterogeneidad sintomática en pacientes que sufren una misma alteración metabólica, es desconocido. Sospechamos la existencia de una diferente susceptibilidad a la histamina en sistemas determinados y en relación con su afinidad a los diferentes receptores y transportadores histaminérgicos encefálicos como se ha descrito recientemente por Yoshikawa<sup>184</sup>.

En estos estudios se relaciona a los astrocitos con el proceso de transporte y eliminación de la histamina. Estos transportadores se expresan en distintas áreas cerebrales y su distribución regional es distinta, siendo los OCT3 y los PMAT los relacionados con transporte primario de histamina por los astrocitos humanos. Creemos que una mayor expresividad en estos transportadores, pudiera favorecer que los síntomas relacionados con la migraña fueran más frecuentes en estos pacientes. Por otro lado, receptores más específicos en otros tejidos se podrían relacionar con otras manifestaciones clínicas.

#### 7.1.1. Edad

Ambos grupos estudiados mostraron una media de edad alrededor de los 40 años. Esto no sólo nos indicaría que son comparables, sino que se adecuan a la edad media del paciente migrañoso típico descrito en las series anteriormente citadas.

#### 7.1.2. Sexo

Por lo que refiere al sexo en los grupos estudiados, llama la atención que en el grupo de pacientes sin migraña existe una paridad entre sexo masculino y femenino, tal como corresponde a la población general, mientras que en nuestro grupo migrañoso hay un claro predominio del sexo femenino, tal como describen las grandes series epidemiológicas realizadas por Smitherman i Bruch<sup>10, 11</sup>.

Esto nos indicaría que probablemente no exista un sesgo de selección ya que las muestras serían proporcionales a los grupos de población y migrañosos de la normalidad.

### 7.1.3. Actividad enzimática

Cuando se analizan los promedios de actividad DAO se puede apreciar que en el grupo de pacientes migrañosos, el nivel de actividad DAO ronda las 64HDU/ml. En el grupo de no migrañosos, a pesar del porcentaje de pacientes que presentaron el déficit, la media de actividad es significativamente más alta llegando a superar las 91HDU/ml. Este dato nos indica que en el grupo de migrañosos el promedio global estaría por debajo de las 80HDU/ml, que sería el punto de corte que define el déficit, mientras que en el grupo control estaría claramente por encima.

Otro dato que nos apoyaría en la hipótesis de que los pacientes con migraña presenta una baja actividad enzimática, es la escasa variabilidad entre los resultados obtenidos. Esta es unas tres veces mayor en el grupo control. Esto nos podría indicar la posibilidad que en este grupo se hubieran incluido pacientes con sintomatología relacionada con el acúmulo de histamina, pero en que la clínica no fuera de tipo neurológica.

A pesar de ello, los resultados indican que la prevalencia el déficit de actividad enzimática es significativamente más alta en pacientes migrañosos, en comparación con aquellos que no lo son incluso si valoramos el posible sesgo debido a otras patologías de esta esfera clínica sin llegar a manifestar clínica migrañosa.

Siendo los pacientes que sufren migraña una población tan heterogénea, el obtener una alteración metabólica que fisiopatológicamente pueda justificar la clínica y que pueda ser cuantificable con una determinación analítica, nos abre la puerta a utilizarlo tanto como línea de investigación para el diagnóstico, estudio fisiopatológico, así como de posible diana terapéutica.

## 7.2. ENSAYO CLÍNICO

### 7.2.1. ESTRUCTURA

Las teorías que relacionan la histamina con los mecanismos de producción de la inflamación y el dolor en la migraña no son algo testimonial. Las líneas de investigación marcadas por el grupo de Gupta<sup>185</sup> y la *International Headache Society* la incluyen, junto con la sustancia P, el óxido nítrico y la proteína relacionada con el gen de la calcitonina, como una de las cuatro sustancias relacionadas con la fisiopatología de la migraña.

Ya en el campo del tratamiento, siguiendo estas recomendaciones, en 2012 la *American Headache Society* publica las guías de tratamiento de migraña basadas en la Evidencia Científica, en las que otorgan un nivel de evidencia B al uso de histamina subcutánea como tratamiento desensibilizador y un nivel de evidencia C al tratamiento con antihistamínicos como medida profiláctica<sup>24</sup>.

Así pues la idea de abordar esta vía, se relaciona con la existencia de una serie de mecanismos fisiopatológicos, bioquímicamente justificables en la génesis de la inflamación y el dolor, lo cual es, en ocasiones, difícil de conseguir con los fármacos usados hasta el momento como terapia preventiva.

Los tratamientos farmacológicos usados actualmente no han definido un perfil de actuación sobre el origen del dolor, sino que combatiría o modularían el proceso por mecanismos que en ocasiones son desconocidos, o que únicamente actuarían como paliativos. Dentro de estas líneas de acción están betabloqueantes o calcioantagonistas que actúan sobre la musculatura lisa arterial y su alteración durante las crisis o los neuromoduladores y su papel bloqueante de las vías del dolor.

Con la sospecha y las hipótesis fisiopatológicas junto con la existencia de una elevada incidencia del déficit de DAO, tal como pudimos observar en la primera parte de este trabajo, nos parecía lógico plantearse un estudio de suplementación enzimática en estos pacientes.

Al ser la primera vez que se abordaba esta línea terapéutica y dentro de las diversas opciones de realizar el tratamiento nos propusimos realizar una

estructura de estudio a doble ciego aleatorizado con placebo al ser la forma más fiable de obtener unos resultados verdaderos eliminando el efecto placebo tan habitual en los tratamientos del dolor.

La enzima DAO es un *alimento dietético para usos médicos especiales*, y a pesar de no ser legalmente necesario, al no tratarse de un fármaco, se siguieron los criterios exigidos para cualquier estudio de un fármaco en fase de ensayo clínico. En los siguientes apartados se discuten los diferentes pasos realizados para que la validez y el rigor de los datos obtenidos en el estudio sea máxima.

El cálculo muestral nos permite que los resultados obtenidos sean extrapolables a la población general. Para el ensayo a doble ciego se usaron las incidencias poblacionales de la patología y nos referenciamos a estudios previos de tratamientos preventivos, como el de Storey, en que se valoró el uso del Topiramato como tratamiento preventivo de la migraña<sup>186</sup>. Se eligió este en concreto al ser el estudio poblacional de mayor tamaño y más actual es este grupo de tratamientos.

Se han seguido las recomendaciones de la IHS para determinar los principales indicadores clínicos en cuanto a los síntomas a medir para constatar mejoría clínica. También hemos registrado síntomas que, aunque no directamente relacionados con la migraña, se pueden relacionar con el déficit de DAO.

Se ha realizado un seguimiento basados en los criterios del “consort”, lo cual es requerido actualmente para que un estudio pueda ser publicado.

De la misma forma ha sido inscrito en la base de datos sobre ensayos clínicos ISRCTN, en la cual se puede consultar el tipo y metodología del estudio.

Los criterios de inclusión se han basado en los que se incluyen en la mayoría de estudios de prevención de migraña. El permitir preventivos que se estuvieran utilizando desde más de tres meses es que se consideraría su efecto estabilizado, por lo que se piensa que estos no influirían en el resultado de la suplementación. Se ha asumido el riesgo que al aceptarlos, pudieran tener un efecto negativo sobre la actividad DAO que pudiera restar eficacia a la suplementación.

El hecho de ser criterio de exclusión en embarazadas, a pesar de ser una proteína que no pasa a sangre y sin efectos teratogénicos potenciales, es debido a que se conoce que los niveles de DAO durante el embarazo se multiplican por lo que sería un sesgo de los resultados. Este dato, fisiopatológicamente ya puede hacer intuir que un aumento en la actividad DAO como el de las embarazadas, pudiera tener un efecto protector ya que la mayoría de ellas no suele padecer crisis durante la gestación.

## 7.2.2. VARIABLES DEMOGRÁFICAS

### 7.2.2.1. Edad

Un dato destacable, es que la edad de ambos grupos ronda los 40 años. Típicamente la migraña es una patología de gente joven, en edad laboral, y que en muchos casos se inicia alrededor de la adolescencia y cuya prevalencia puede disminuir con la edad.

El hecho de que la edad media de los pacientes sea alrededor de los 40 años y no inferior puede ser debido a varias hipótesis. El origen de la histamina, tal y como se comenta en la introducción es variado. Además de la vía propiamente alimentaria y los ciclos hormonales que se dan mensualmente en las mujeres, hay otras. Estas incluyen el estrés y las alteraciones en los ritmos del sueño como describe el trabajo publicado por Noseda<sup>187</sup>. Estas entidades son muy frecuentes en la sociedad occidental y aumentan durante la vida pudiendo llegar a un pico entre la cuarta y quinta década de la vida. Estas pueden hacer aumentar tanto en número como intensidad las crisis, obligando al paciente a tener que seguir un tratamiento preventivo.

### 7.2.2.2. Sexo

En ambos grupos, existe un claro predominio del sexo femenino, tal como sucede en los estudios epidemiológicos de Smitherman y Bruch, en los cuales se acerca al 80% de la población de afectados. Este dato nos indicaría que la muestra obtenida es representativa.

### 7.2.2.3. Antecedentes familiares

Al existir la sospecha de otra serie de síntomas que pudieran acompañar a la migraña y que de la misma forma que ella, hubiera un marcado vínculo hereditario, se recogieron datos en la historia clínica de antecedentes familiares de fibromialgia, eczema, colon irritable, urticaria crónica y migraña.

Uno de los datos que estudiamos, fue la alta prevalencia de pacientes con antecedentes de colon irritable dentro de la población migrañosa, tanto personales como de familiares de primer grado como indican los estudios de Farzael y Camilleri<sup>188, 189</sup>. Estos datos no se corroboraron en nuestra muestra, posiblemente por ser patología de difícil diagnóstico, en ocasiones infradiagnosticada y que la anamnesis era sobre antecedentes familiares de los pacientes y no sobre antecedentes personales propios.

Tampoco se pudieron demostrar claros vínculos con la prevalencia de antecedentes familiares de fibromialgia, eczema o urticaria crónica. Nuevamente creemos que la justificación de estos datos se encontraría en una anamnesis dirigida a los antecedentes familiares y no personales.

Existió un alto porcentaje de pacientes con antecedente familiar de migraña, el cual rondaba el 85% en ambos grupos del estudio. Esto coincide plenamente con las series anglosajonas publicadas por Smitherman<sup>10</sup> y Russell<sup>16</sup> y las españolas encabezadas por Láinez<sup>13</sup>.

## 7.2.3. VARIABLES PRINCIPALES

### 7.2.3.1. Número de crisis

Siguiendo las recomendaciones de la IHS para valorar la eficacia de un tratamiento preventivo en migraña se ha usado el número de crisis en un mes para su evaluación.

Dentro de los criterios de selección empleados hemos descartado aquellos pacientes que pudieran presentar más de 14 días de dolor al mes para evitar incluir pacientes diagnosticados de migraña crónica. En este subgrupo participan otra serie de mecanismos bioquímicos que perpetuarían el dolor y que no se basarían en las hipótesis con las que se planteó este estudio, por lo que indudablemente provocarían un sesgo en los resultados.

En las muestras se ha obtenido un gran variabilidad en el número de crisis registradas. Este hecho se puede atribuir a diversas causas. Por un lado la sospecha de que existiera algún paciente que estuviera iniciando un proceso de migraña crónica. Al existir únicamente un mes previo de observación, y ser el criterio diagnóstico de tres meses, se puede haber incluido algún paciente en este proceso.

Otra posible causa podría ser un mal registro de crisis, haciendo que se definieran como crisis de migraña otras entidades que provocan dolor de cabeza, como la cefalea tensional, principal causa de dolor de cabeza en nuestro medio.

Para poder limitar el sesgo que pudieran presentar estos pacientes, hemos eliminado valores extremos, considerando como tales los que estaban por debajo del percentil 25 y por encima del percentil 75.

Esto ha provocado una pérdida de 6 pacientes en el grupo placebo y 11 en el grupo DAO. Esta exclusión de pacientes hace que el grupo analizado esté integrado por 82 sujetos. Si nos referimos al cálculo muestral necesario para que la muestra sea representativa, este indica que el tamaño poblacional

mínimo sea de 80 pacientes, por lo cual la muestra obtenida sigue siendo válida.

Destacamos que la reducción del número de crisis que hay entre la visita C1 a C2 en el grupo DAO, corresponde aproximadamente al 30 %. Se obtiene una diferencia estadísticamente significativa ( $p > 0,015$ ), cumpliendo así el primero de los objetivos principales del estudio.

Si comparamos la visita C2 de ambos grupos existe una reducción del número de crisis, pero sin diferencias significativas entre ambos después del mes de tratamiento.

Es ampliamente conocido el efecto placebo en cualquier estudio independientemente de si el grupo analizado es el que recibe tratamiento como en el que no, por lo que esta reducción ya era esperada.

Es la primera vez en la literatura en que una suplementación enzimática con DAO muestra una reducción significativa en el número de crisis, cumpliéndose de esta manera el primero de los objetivos que se planteaban en el estudio.

#### 7.2.3.2. Duración de las crisis

Las últimas tendencias buscan una evaluación algo más cualitativa que cuantitativa del dolor, por lo que también se incluyó este valor como variable principal del estudio.

Esta medida puede ser más fiable a la hora de evaluar el impacto que tiene la migraña en la calidad de vida de nuestros pacientes, ya que pocas crisis pero de larga duración podrían ser más invalidantes que un número mayor de crisis, pero de más corta duración o que respondieran de forma más rápida a la analgesia.

Actualmente, en esta línea se están dirigiendo los últimos estudios en que cada vez más se aplican las escalas de calidad de vida, la cual está íntimamente ligada a las horas de dolor y por tanto de incapacidad que padece el paciente migrañoso. Cada vez son más frecuentes y se tienen en cuenta las

puntuaciones en diferentes escalas de calidad de vida como la MQS (Migraine-Specific Quality of Life Questionary)<sup>190</sup> diseñada por el equipo de Bagley y la también frecuentemente utilizada creada por el grupo de Yang, la escala HIT-6<sup>191</sup>.

Los resultados obtenidos en el estudio han demostrado una reducción estadísticamente significativa en la duración en horas de las crisis tanto en entre el grupo placebo en comparación con el grupo DAO, así como entre las visitas C1 y C2 del grupo tratado con DAO. Esta es de aproximadamente un 25% en la duración de los episodios.

Este dato sumado a la reducción del número de crisis que experimenta el grupo tratado con suplementación enzimática pensamos que puede tener un fuerte impacto positivo en la calidad de vida del paciente, así como las horas de discapacidad sufridas debido a la cefalea.

Si trasladamos estos datos a un ámbito económico, y si tal como se ha visto en el estudio poblacional, estamos hablando de personas laboralmente activas, va a representar una clara mejoría en el rendimiento de estos pacientes. Esto puede implicar un menor número de bajas laborales y el impacto económico y social que representa esta enfermedad tal como muestran los estudios de pérdidas económicas publicados por Messali y por Gooch<sup>192, 193</sup>.

## 7.2.4. VARIABLES SECUNDARIAS

### 7.2.4.1. Intensidad del dolor

Ha sorprendido inicialmente que no se produjera una diferencia significativa en la valoración de la intensidad del dolor en ambos grupos. A pesar de ello, en ambos grupos se produjo una disminución no significativa en la intensidad de las crisis.

El dolor es una entidad con un importante componente subjetivo para la que se emplean diversas escalas. La más frecuente y la que se empleó para este estudio fue la Escala Visual Analógica (EVA)<sup>194,195</sup>.

Esta escala se considera de gran utilidad y es la más usada en el ámbito clínico de pacientes que presentan dolor agudo. Un ejemplo de ello son los pacientes en situaciones de dolor no habitual como sería el caso de un posoperatorio inmediato. Se trata de situaciones puntuales en las que el paciente no está habituado a la presencia de dolor.

Se ha descrito que en pacientes con dolor de larga evolución o crónico, se tiende a realizar una valoración alrededor de cuatro y seis puntos de forma sistemática.

La migraña se trata de una patología crónica con crisis recurrentes de dolor. El grupo de población estudiado presenta un promedio de edad de alrededor de 40 años, con un gran número de episodios acumulados, por lo que consideramos que se comportaría más como un dolor de características crónicas.

El rango de las valoraciones en estos individuos con presencia de dolor crónico se conoce como la *sección aurea*<sup>196</sup>. Este sesgo en la puntuación podría hacer perder la utilidad de esta escala para la medición de la intensidad del dolor en estos pacientes.

Tal como nos hemos referido en el punto anterior de la discusión pensamos que las valoraciones en la calidad de vida del paciente puede ser un dato

mucho más útil y específico para valorar el impacto que pueda tener una intervención concreta sobre una población migrañosa que no una única valoración básica de la intensidad del dolor.

#### 7.2.4.2. Uso de analgesia-triptanes

Desde los primeros estudios de Doenicke<sup>197</sup>, a finales de los años 80 y su introducción en el mercado, los triptanes se han convertido en el tratamiento de elección para las crisis de migraña.

Al definirse como un dolor de moderada o severa intensidad, en muchas ocasiones los analgésicos convencionales entre los que estarían el paracetamol, antiinflamatorios no esteroideos, pirazolonas, o incluso, derivados opiáceos, suelen ser insuficientes para el control de las crisis.

Por este motivo el uso de analgesia y su evolución a lo largo del estudio se ha basado en la administración de triptanes. Al ser derivados de la misma molécula y ser de una estructura química muy similar entre ellos, no se ha diferenciado entre los diferentes integrantes de esta familia.

Para el análisis de esta variable se decidió dividir a los pacientes en cuatro grupos. Un primero en que no existía consumo de triptanes, lo que podría apuntar a crisis de intensidad moderada. El segundo lo integraban pacientes con un consumo entre 1 y 5 al mes lo que indicaría un número bajo de crisis al mes. En el tercero el consumo era de 6 a 10 al mes, lo que estaríamos ante un paciente que posiblemente fuera tributario de seguir un tratamiento preventivo. Finalmente en el último grupo se incluyeron aquellos que consumían más de 10 al mes, por lo cual se sospechaba que estuviéramos dentro de un posible sobreuso de analgesia y su consecuente dependencia a los mismos. Esto se podría comportar como factor modificante de los resultados del estudio.

Si valoramos los resultados, el grupo tratado con DAO es el único donde se consigue un aumento en el número de pacientes en el grupo que no consume triptanes con reducción a expensas de los grupos que consumían de 1 a 5 y de

6 a 10. Esto nos puede indicar que existe una reducción en la intensidad de las crisis, por lo que la demanda de triptanes se reduce en estos pacientes.

Cabe destacar este dato como factor importante para evitar el sobreuso y el efecto en la cronificación del dolor que pueda tener, así como los potenciales efectos secundarios de cualquier tratamiento farmacológico.

Tanto en el grupo placebo como en DAO el número de pacientes que consumen más de 10 triptanes al mes no varía durante el estudio. Este dato podría corroborar la hipótesis de que el sobreuso de triptanes favorece la cronificación y se rige por procesos bioquímicos distintos al del génesis de la migraña tal como ha descrito reciente mente Lai<sup>198</sup>, y que, posiblemente, requerirían un enfoque terapéutico distinto.

En este caso el escenario es distinto, por lo que nos indica que los tratamientos que actúen en la prevención de la migraña episódica deben tener en cuenta el grado de consumo de triptanes como un potencial factor que impida la mejoría en estos pacientes.

### 7.2.5. VARIABLES EXPLORATORIAS

Fuera de las variables principales, se aprovecharon los datos clínicos para el estudio exploratorio de otros síntomas que se apuntan también como ligados potencialmente a un déficit de la actividad DAO y al aumento de las concentraciones de histamina tal como cita Maintz en sus estudios de afectación clínica del acúmulo histamínico<sup>40</sup>.

El análisis de de estas variables secundarias puede ser de gran utilidad para comprender determinados procesos o ver tendencias de resultados. Aunque el estudio no haya sido diseñado directamente contemplándolas como objetivos primarios o secundarios y el cálculo poblacional no sea el más adecuado para que los resultados sean totalmente extrapolables, nos pueden abrir la puerta para plantearnos nuevos proyectos con las hipótesis que surjan de las tendencias detectadas.

Los resultados del subestudio ha encontrado una reducción estadísticamente significativa de la presencia de prurito en el grupo de pacientes tratados con DAO.

El prurito se considera una manifestación cutánea relacionada con procesos inmunológicos mediados por una presencia elevada de histamina en piel<sup>199,200,201</sup>. Al tratarse de una liberación excesiva de histamina, los mecanismos dirigidos a reducir la misma, pueden presentar un beneficio clínico evidente.

En esta misma línea, Wagner ha publicado recientemente un estudio que confirma la utilidad de la dieta baja en histamina en aquellos pacientes con urticaria crónica, la cual disminuyó de forma significativa reportando una mejoría en la calidad de vida de los pacientes<sup>202</sup>.

En esta misma dirección, el grupo de Tasson está realizando dietas específicas para minimizar los procesos inflamatorios a nivel de sistema digestivo<sup>203</sup>. También se está comenzando a utilizar macrobióticos con acción de degradación de histamina para el tratamiento de enfermedades inflamatorias

intestinales que provocan una lesión en la mucosa intestinal lo que facilitaría un paso excesivo de histamina al torrente sanguíneo<sup>204</sup>.

Aunque los datos en las variables relacionadas con algunas patologías cutáneas y con dolor muscular no hayan sido concluyentes, creemos que un diferente planteamiento y el hecho de utilizar un mayor número de escalas de evaluación más acorde con un diseño dirigido, podría haber aportado datos significativos en la línea del beneficio de la suplementación DAO en estas patologías.

#### 7.2.6. SEGURIDAD

Durante la fase de seguimiento no sólo se valoraron las variables de efectividad, sino que también se tuvo en cuenta la seguridad del producto en investigación.

A lo largo del estudio, un único paciente abandonó al presentar molestias digestivas leves. Una vez analizado el caso y abierto el ciego, el paciente había sido aleatorizado dentro del grupo placebo.

Estos datos confieren un perfil de seguridad máxima al uso de la DAO en pacientes con migraña.

Para ello, probablemente tenga una gran importancia, el efecto que tiene la DAO a nivel digestivo, sin pasar a torrente sanguíneo, y que la enzima usada, que es de origen porcino, tenga una gran similitud con la humana, evitando de esta manera cualquier reacción alérgica sobre ella.

Esta similitud también es importante en tanto e cuanto a evitar una reacción por la que el sistema inmunitario del paciente neutralice la misma por la creación de anticuerpos específicos contra ella y consecuentemente se produzca una disminución en la efectividad.

Por otra parte con la enzima estamos supliendo un déficit metabólico presentado por los pacientes con una molécula que ya existe en el organismo humano, a diferencia de cualquier otra intervención farmacológica en que se introduce en el organismo una sustancia totalmente diferente a las propias.

### 7.2.7. PUNTOS DE MEJORA

Evidentemente, el haber realizado este estudio, y de los resultados que de él se derivan, nos aparecen nuevas preguntas, e incluso algunas dudas que se intentarán definir y responder en el siguiente apartado.

#### **Tiempo de duración del estudio**

En primer lugar, es la duración del tratamiento que se limita a un mes en comparación con otros estudios cuyo seguimiento es de un mínimo de tres meses.

En estos, generalmente, la primera parte se dedica a la titulación del fármaco hasta una dosis terapéutica y para minimizar los potenciales efectos secundarios, por lo que las primeras semanas de tiempo transcurrido se considera que la dosis del producto en estudio es insuficiente, por lo tanto, su efectividad no sería valorable.

Con la enzima DAO no se ha requerido pasar por esta fase pudiéndose iniciar con una dosis máxima y considerándose eficaz desde el primer día de tratamiento y sin que por ello, se hayan apreciado reacciones adversas.

Esto ha podido restar eficacia al tratamiento, ya que la modificación de procesos metabólicos e inflamatorios que se puedan dar en el paciente migrañoso puedan requerir más tiempo para corregirlos.

El haber podido obtener diferencias significativas en tan solo un mes de seguimiento contra placebo confiere una gran potencia a la efectividad de la enzima, ya que normalmente se considera que la respuesta a la utilización de *Alimentos dietéticos para usos médicos especiales* requieren un mayor tiempo de seguimiento y su capacidad de provocar una respuesta es menor que la de un fármaco convencional.

Consideramos altamente probable que en estudios con un mayor tiempo de seguimiento, estos resultados, no sólo se afianzarían, sino que además mejorarían al obtener una progresiva eliminación de la histamina y la paulatina disminución de fármacos concomitantes que pueden tener un importante papel e la aparición y cronificación del dolor, así como en la disminución de la actividad enzimática DAO.

### **Fármacos concomitantes**

Otra de las medidas que se tomó durante el diseño del estudio fue la de no actuar sobre los analgésicos comúnmente usados por los pacientes, aunque existen fundamentadas tal como indica Gong en sus estudios, de que estos pudieran disminuir la actividad DAO y consecuentemente ir en detrimento del efecto de la suplementación<sup>205</sup>.

Este hecho queda reforzado en al valorar la influencia obtenida sobre el consumo de triptanes, viéndose que en el grupo de un consumo superior a 10 al mes no se evidenciaron mejorías con la suplementación.

Por consideraciones éticas se permitió que el paciente siguiera tomando su medicación analgésica habitual para las crisis.

### **Aporte histamínico de la dieta**

Otro punto a debatir es que tampoco se actuó sobre el aporte histamínico procedente de la dieta. Se ha podido apreciar un porcentaje que se sitúa por encima del 80% de pacientes que durante el estudio ingirieron alimentos ricos o liberadores de histamina o que pudieran tener una acción inhibitoria sobre la enzima DAO. Recientemente Martin y Wagner han publicado artículos en que se considera que modificaciones en las pautas dietéticas en pacientes con migraña, pueden provocar una mejoría sintomática<sup>206, 207</sup>.

Estos hábitos dietéticos, que potencialmente podía aumentar los niveles de histamina por sus diferentes vías, se apreciaron tanto en el grupo de tratamiento como en el de placebo.

Por ese motivo consideraríamos que el consecuente perjuicio que haya podido ejercer sobre la mejoría clínica final, probablemente no haya variado los resultados obtenidos en las diferentes variables y subvariables analizadas, al estar ambos grupos expuestos de la misma forma.

En este sentido, y con las hipótesis y recomendaciones que están surgiendo recientemente, se plantea la posibilidad de realizar nuevos estudios incorporando como medida de intervención la restricción de alimentos con histamina de la dieta del paciente. Estas investigaciones se podrían hacer con o sin la administración de DAO para valorar su potencia de forma individual o la sumación de sus efectos.

### 7.2.8. CONSIDERACIONES FINALES

La alta prevalencia del déficit de DAO , próxima la 90% de la población con migraña, y la efectividad del la suplementación como tratamiento preventivo, puede abrir un nuevo camino terapéutico para la profilaxis de las crisis. Combinando con una serie de medidas dietéticas, encaminadas a la reducción del aporte de histamina exógena por la alimentación, así como el control de la medicación que inhiba la DAO, se puede prevenir la aparición del dolor. Consecuentemente también se disminuiría el riesgo de cronificación, con la consecuente repercusión sociolaboral y económica que tiene la migraña en la población que la padece.

Consideramos que este estudio permite abrir la puerta a la suplementación con DAO en otras patologías como podrían ser aquellas relacionadas con el aparato digestivo, cutáneo u osteomuscular en las que se piensa que la histamina puede verse relacionada.

Lógicamente, se requieren más estudios para aumentar el conocimiento de la respuesta al tratamiento con DAO, así como delimitar los grupos más susceptibles a la suplementación.

## 8. CONCLUSIONES

- La prevalencia del déficit de actividad DAO es muy elevada en pacientes con migraña, pudiendo estar presente en aproximadamente el 87% de los casos.
- La actividad DAO podría ser utilizada como línea de investigación, estudio fisiopatológico, criterio diagnóstico y diana terapéutica en pacientes con migraña.
- La suplementación con enzima DAO reduce el número de crisis en pacientes con migraña.
- En el estudio realizado, se ha evidenciado una disminución significativa en la duración de crisis de migraña en los pacientes tratados con DAO.
- Se ha demostrado una reducción global del consumo de triptanes en los pacientes que se trataron con enzima DAO.
- Dentro de los síntomas relacionados con un aumento excesivo de la histamina plasmática, el prurito mejoró significativamente en aquellos pacientes tratados con DAO.
- El tratamiento de suplementación con DAO es seguro al no haberse presentado efectos secundarios durante su administración.

---

## 9. BIBLIOGRAFÍA

- <sup>1</sup> Headache Classification Subcommittee of the International Headache Society. The International Classification of Headache Disorders: 2nd edition. *Cephalalgia*. 2004;24 Suppl 1:9-160
- <sup>2</sup> Lambert GA, Zagami AS. The mode of action of migraine triggers: a hypothesis. *Headache*. 2009 Feb;49(2):253-75
- <sup>3</sup> Lambert GA, Truong L, Zagami AS. Effect of cortical spreading depression on basal and evoked traffic in the trigeminovascular sensory system. *Cephalalgia*. 2011 Oct;31(14):1439-51
- <sup>4</sup> Akerman S, Holland PR, Goadsby PJ. Diencephalic and brainstem mechanisms in migraine. *Nat Rev Neurosci*. 2011 Sep 20;12(10):570-84
- <sup>5</sup> Asghar MS, Hansen AE, Amin FM, van der Geest RJ, Koning Pv, Larsson HB, Olesen J, Ashina M. Evidence for a vascular factor in migraine. *Ann Neurol*. 2011 Apr;69(4):635-45
- <sup>6</sup> Filipović B, Matak I, Lacković Z. Dural neurogenic inflammation induced by neuropathic pain is specific to cranial region. *J Neural Transm*. 2014 May;121(5):555-63
- <sup>7</sup> Nosedá R, Burstein R. Migraine pathophysiology: anatomy of the trigeminovascular pathway and associated neurological symptoms, CSD, sensitization and modulation of pain. *Pain*. 2013 Dec;154 Suppl 1
- <sup>8</sup> Leao AAP. Spreading depression of activity in cerebral cortex. *J Neurophysiol* 1944; 7:379-90
- <sup>9</sup> Millner P. Note on a possible correspondence between the scotomas of migraine and spreading depression of Leao. *EEG Clin Neurophysiol* 1958; 10: 705
- <sup>10</sup> Smitherman TA, Burch R, Sheikh H, Loder E. The prevalence, impact, and treatment of migraine and severe headaches in the United States: a review of statistics from national surveillance studies. *Headache*. 2013 Mar;53(3):427-36
- <sup>11</sup> Burch RC, Loder S, Loder E, Smitherman TA The prevalence and burden of migraine and severe headache in the United States: updated statistics from government health surveillance studies. *Headache*. 2015 Jan;55(1):21-34

- 
- <sup>12</sup> Stewart WF, Roy J, Lipton RB. Migraine prevalence, socioeconomic status, and social causation. *Neurology*. 2013 Sep 10;81(11):948-55
- <sup>13</sup> Láinez JM, Vioque J, Hernández Y, Titus F. Prevalence of migraine in Spain. An assesment of the questionnaire's vality by clinical interview. *Olesen J, Headache classification and epidemiology. New York: Raven Press, Ltd.; 1994.* p. 221-5
- <sup>14</sup> Rasmussen BK, Jensen R, Schroll M, Olesen J. Epidemiology of headache in a general population. A prevalence study. *J. Clin Epidemiol* 1991; 44: 1147-1157
- <sup>15</sup> Winter AC<sup>1</sup>, Berger K, Buring JE, Kurth T. Associations of socioeconomic status with migraine and non-migraine headache. *Cephalalgia*. 2012 Jan;32(2):159-70
- <sup>16</sup> Russell, M. B., & Olesen, J. (1995). Increased familial risk and evidence of genetic factor in migraine. *Bmj Clinical Research Ed.*, 311(7004), 541-544
- <sup>17</sup> Nyholt, D. R., Dawkins, J. L., Brimage, P. J., Goadsby, P. J., Nicholson, G. A., & (1998). Evidence for an X-linked genetic component in familial typical migraine. *Human Molecular Genetics*, 7(3), 459-463
- <sup>18</sup> De Fusco M, Marconi R, Silvestri L, Atorino L, Rampoldi L, Morgante L, Ballabio A, Aridon P, Casari G. Haploinsufficiency of ATP1A2 encoding the Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> pump alpha2 subunit associated with familial hemiplegic migraine type 2. *Nat Genet*. 2003 Feb;33(2):192-6
- <sup>19</sup> Ducros A. [Genetics of migraine]. *Rev Neurol (Paris)*. 2013 May;169(5):360-71
- <sup>20</sup> Silberstein SD, Dodick DW. Migraine genetics--a review: Part I. *Headache*. 2013 Sep;53(8):1207-17
- <sup>21</sup> Silberstein SD, Dodick DW. Migraine genetics: Part II. *Headache*. 2013 Sep;53(8):1218-29
- <sup>22</sup> Teigen L, Boes CJ. An evidence-based review of oral magnesium supplementation in the preventive treatment of migraine. *Cephalalgia*. 2015 Sep;35(10):912-22
- <sup>23</sup> Gaul C, Diener HC, Danesch U; Migravent® Study Group. Improvement of migraine symptoms with a proprietary supplement containing riboflavin, magnesium and Q10: a randomized, placebo-controlled, double-blind,

---

multicenter trial. *J Headache Pain*. 2015

<sup>24</sup> Holland S, Silberstein SD, Freitag F, Dodick DW, Argoff C, Ashman E; Quality Standards Subcommittee of the American Academy of Neurology and the American Headache Society. Evidence-based guideline update: NSAIDs and other complementary treatments for episodic migraine prevention in adults: report of the Quality Standards Subcommittee of the American Academy of Neurology and the American Headache Society. *Neurology*. 2012 Apr 24;78(17):1346-53

<sup>25</sup> Da Silva AN. Acupuncture for migraine prevention. *Headache*. 2015 Mar;55(3):470-3

<sup>26</sup> Sorokina ND, Selitsky GV. Tension headache and migraine: efficacy of biological feed-back in their treatment. *Zh Nevrol Psikhiatr Im S S Korsakova*. 2013;113(4):86-91

<sup>27</sup> Afridi SK, Giffin NJ, Kaube H, Goadsby PJ. A randomized controlled trial of intranasal ketamine in migraine with prolonged aura. *Neurology*. 2013 Feb 12;80(7):642-7

<sup>28</sup> Schoenen J, Vandersmissen B, Jeanette S, Herroelen L, Vandenneede M, Gérard P, Magis D. Migraine prevention with a supraorbital transcutaneous stimulator: a randomized controlled trial. *Neurology*. 2013 Feb 19;80(8):697-704

<sup>29</sup> Wells RE, Burch R, Paulsen RH, Wayne PM, Houle TT, Loder E. Meditation for migraines: a pilot randomized controlled trial. *Headache*. 2014 Oct;54(9):1484-95

<sup>30</sup> Vicente-Herrero T, Burke TA, Laínez MJ. The impact of a worksite migraine intervention program on work productivity, productivity costs, and non-workplace impairment among Spanish postal service employees from an employer perspective. *Curr Med Res Opin*. 2004 Nov;20(11):1805-14

<sup>31</sup> Terwindt GM1, Ferrari MD, Tijhuis M, Groenen SM, Picavet HS, Launer LJ. The impact of migraine on quality of life in the general population: the GEM study. *Neurology*. 2000 Sep 12;55(5):624-9

<sup>32</sup> Wagner TH1, Patrick DL, Galer BS, Berzon RA. A new instrument to assess the long-term quality of life effects from migraine: development and psychometric testing of the MSQOL. *Headache*. 1996 Sep;36(8):484-92

- 
- <sup>33</sup> Kosinski M, Bayliss MS, Bjorner JB, Ware JE Jr, Garber WH, Batenhorst A, Cady R, Dahlöf CG, Dowson A, Tepper S. A six-item short-form survey for measuring headache impact: the HIT-6. *Qual Life Res.* 2003 Dec;12(8):963-74
- <sup>34</sup> Yang M, Rendas-Baum R, Varon SF, Kosinski M. Validation of the Headache Impact Test (HIT-6™) across episodic and chronic migraine. *Cephalalgia.* 2011 Feb;31(3):357-67
- <sup>35</sup> Bagley CL<sup>1</sup>, Rendas-Baum R, Maglante GA, Yang M, Varon SF, Lee J, Kosinski M. Validating Migraine-Specific Quality of Life Questionnaire v2.1 in episodic and chronic migraine. *Headache.* 2012 Mar;52(3):409-21
- <sup>36</sup> Smelt AF, Louter MA, Kies DA, Blom JW, Terwindt GM, van der Heijden GJ, De Gucht V, Ferrari MD, Assendelft WJ. What do patients consider to be the most important outcomes for effectiveness studies on migraine treatment? Results of a Delphi study. *PLoS One.* 2014 Jun 16;9(6)
- <sup>37</sup> Raggi A, Leonardi M, Bussone G, D'Amico D. A 3-month analysis of disability, quality of life, and disease course in patients with migraine. *Headache.* 2013 Feb;53(2):297-309
- <sup>38</sup> Dale HD, Laidlaw PD. The physiological action of  $\beta$ -iminazolyl-ethylamine. *J. Physiol (Lond)* 1910;41318-44
- <sup>39</sup> Steinhoff M, Griffiths C, Church M, Luger TA, Histamine. In: Burns T, Breathnach S, Cox N, Griffiths C, eds. *Rook's textbook of dermatology.* Oxford, United Kingdom: Blackwell Science, 2004: 9.50-2
- <sup>40</sup> Maintz L, Novak N. Histamine and histamine intolerance. *Am J Clin Nutr.* 2007 May;85(5):1185-96
- <sup>41</sup> Raithel M, Ulrich P, Hochberger J, Hahn EG. Measurement of gut diamine oxidase activity. Diamine oxidase as a new biologic marker of colorectal proliferation? *Ann N Y Acad Sci.* 1998 Nov 17;859:262-6
- <sup>42</sup> Kalchmair B, Klocker J, Perkmann R, et al. Alterations in plasma amine oxidase activities in a compartment syndrome model. *Inflamm Res* 2003;52(suppl)1:S67– 8
- <sup>43</sup> Schwelberger HG, Hittmair A, Kohlwein SD. Analysis of tissue and subcellular localization of mammalian diamine oxidase by confocal laser scanning fluorescence microscopy. *Inflamm Res* 1998;47(suppl): S60–1
- <sup>44</sup> Schwelberger HG, Bodner E. Purification and characterization of diamine

---

oxidase from porcine kidney and intestine. *Biochim Biophys Acta* 1997;1340:152–64

<sup>45</sup> Brown DD, Tomchick R, Axelrod J. The distribution and properties of a histamine-methylating enzyme. *J Biol Chem* 1959;234:2948–50

<sup>46</sup> Klocker J, Matzler SA, Huetz GN, Drasche A, Kolbitsch C, Schwelberger HG. Expression of histamine degrading enzymes in porcine tissues. *Inflamm Res* 2005;54(suppl):S54–7

<sup>47</sup> Kufner MA, Ulrich P, Raithel M, Schwelberger HG. Determination of histamine degradation capacity in extremely small human colon samples. *Inflamm Res* 2001;50(suppl):S96–7

<sup>48</sup> Bieganski T, Kusche J, Lorenz W, Hesterberg R, Stahlknecht CD, Feussner KD. Distribution and properties of human intestinal diamine oxidase and its relevance for the histamine catabolism. *Biochim Biophys Acta* 1983;756:196–203

<sup>49</sup> Bieganski T. Biochemical, physiological and pathophysiological aspects of intestinal diamine oxidase. *Acta Physiol Pol* 1983;34:139–54

<sup>50</sup> Schwelberger HG, Hittmair A, Kohlwein SD. Analysis of tissue and subcellular localization of mammalian diamine oxidase by confocal laser scanning fluorescence microscopy. *Inflamm Res* 1998;47(suppl): S60–1

<sup>51</sup> Klocker J, Matzler SA, Huetz GN, Drasche A, Kolbitsch C, Schwelberger HG. Expression of histamine degrading enzymes in porcine tissues. *Inflamm Res* 2005;54(suppl):S54–7

<sup>52</sup> Schmidt WU, Sattler J, Hesterberg R, et al. Human intestinal diamine oxidase (DAO) activity in Crohn's disease: a new marker for disease assessment? *Agents Actions* 1990;30:267–70

<sup>53</sup> Schwelberger HG. Histamine N-methyltransferase (HNMT) enzyme and gene. In: Falus A, ed. *Histamine: biology and medical aspects*. Budapest, Hungary: SpringMed Publishing, 2004:53–9

<sup>54</sup> Yamauchi K, Sekizawa K, Suzuki H, et al. Structure and function of human histamine N-methyltransferase: critical enzyme in histamine metabolism in airway. *Am J Physiol* 1994;267:342–9

<sup>55</sup> Raithel M, Matek M, Baenkler HW, Jorde W, Hahn EG. Mucosal histamine content and histamine secretion in Crohn's disease, ulcerative colitis and

---

allergic enteropathy. *Int Arch Allergy Immunol* 1995;108:127–33

<sup>56</sup> Wantke F, Gotz M, Jarisch R. The red wine provocation test: intolerance to histamine as a model for food intolerance. *Allergy Proc* 1994; 15:27–32

<sup>57</sup> Zimatkin SM, Anichtchik OV. Alcohol-histamine interactions. *Alcohol* 1999;34:141–7

<sup>58</sup> Sattler J, Lorenz W. Intestinal diamine oxidases and enteral-induced histaminosis: studies on three prognostic variables in an epidemiological model. *J Neural Transm Suppl* 1990;32:291–314

<sup>59</sup> Sattler J, Hesterberg R, Schmidt U, Crombach M, Lorenz W. Inhibition of intestinal diamine oxidase by detergents: a problem for drug formulations with water insoluble agents applied by the intravenous route? *Agents Actions* 1987;20:270–3

<sup>60</sup> Sattler J, Hesterberg R, Lorenz W, Schmidt U, Crombach M, Stahlknecht CD. Inhibition of human and canine diamine oxidase by drugs used in an intensive care unit: relevance for clinical side effects? *Agents Actions* 1985;16:91– 4

<sup>61</sup> Dyer J, Warren K, Merlin S, Metcalfe DD, Kaliner M. Measurement of plasma histamine: description of an improved method and normal values. *J Allergy Clin Immunol* 1982;70:82–7

<sup>62</sup> Sattler J, Lorenz W, Kubo K, Schmal A, Sauer S, Luben L. Foodinduced histaminosis under diamine oxidase (DAO) blockade in pigs: further evidence of the key role of elevated plasma histamine levels as demonstrated by successful prophylaxis with antihistamines. *Agents Actions* 1989;27:212– 4

<sup>63</sup> Mennigen R, Kusche J, Streffer C, Krakamp B. Diamine oxidase activities in the large bowel mucosa of ulcerative colitis patients. *Agents Actions* 1990;30:264–6

<sup>64</sup> Raithel M, Ulrich P, Keymling J, Hahn EG. Analysis and topographical distribution of gut diamine oxidase activity in patients with food allergy. *Ann N Y Acad Sci* 1998;859:258–61

<sup>65</sup> Kuefner MA, Schwelberger HG, Ulrich P, Hahn EG, Raithel M. Total histamine degradation capacity (THDC) as an important biological marker of histamine metabolism in human colonic mucosa. *Inflamm Res* 2002;51(suppl):S87– 8

- 
- <sup>66</sup> Camilleri M, Oduyebo I, Halawi H. Chemical and molecular factors in irritable bowel syndrome: current knowledge, challenges, and unanswered questions. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2016 Nov 1;311(5):777-784
- <sup>67</sup> Ostertag D, Annahazi A, Krueger D, Michel K, Demir IE, Ceyhan GO, Zeller F, Schemann M. Tryptase potentiates enteric nerve activation by histamine and serotonin: Relevance for the effects of mucosal biopsy supernatants for irritable bowel syndrome patients. *Neurogastroenterol Motil*. 2017 Apr 4. doi: 10.1111/nmo.13070.
- <sup>68</sup> Kuefner MA, Schwelberger HG, Weidenhiller M, Hahn EG, Raithel M. Both catabolic pathways of histamine via histamine-N-methyltransferase and diamine oxidase are diminished in the colonic mucosa of patients with food allergy. *Inflamm Res* 2004;53(suppl): S31–2
- <sup>69</sup> Preuss CV, Wood TC, Szumlanski CL, et al. Human histamine N-methyltransferase pharmacogenetics: common genetic polymorphisms that alter activity. *Mol Pharmacol* 1998;53:708–17
- <sup>70</sup> Ionescu G, Kiehl, R. Monoamine and diamine oxidase activities in atopic eczema. *Allergy* 1988;43:318–9
- <sup>71</sup> Ring, J. Plasma histamine concentrations in atopic eczema. *Clin Allergy* 1983;13:545–52
- <sup>72</sup> Sampson HA, Jolie P. L. Increased plasma histamine concentrations after food challenges in children with atopic dermatitis. *N Engl J Med* 1984;311:372-6
- <sup>73</sup> Maintz L, Benfadal S, Allam JP, Hagemann T, Fimmers R, Novak N. Evidence for a reduced histamine degradation capacity in a subgroup of patients with atopic eczema. *J Allergy Clin Immunol* 2006;117:1106–12
- <sup>74</sup> Fiedler EM, Pelchrzim R, Focke M, Zuberbier T, Worm M. Bedeutung von exogen zugeführtem Histamin bei Patienten mit atopischer Dermatitis. (Histamine intolerance). Effect of ingested histamine on the skin status of atopic patients.) *Allergo J* 2004;13:S49–50
- <sup>75</sup> Guida B, De Martino CD, De Martino SD, et al. Histamine plasma levels and elimination diet in chronic idiopathic urticaria. *Eur J Clin Nutr* 2000;54:155–8
- <sup>76</sup> Pereira MP, Ständer S. Chronic Pruritus: Current and Emerging Treatment Options. *Drugs* 2017 May 2

- 
- <sup>77</sup> Bodis J, Tinneberg HR, Schwarz H, Papenfuss F, Torok A, Hanf V. The effect of histamine on progesterone and estradiol secretion of human granulosa cells in serum-free culture. *Gynecol Endocrinol* 1993;7:235–9
- <sup>78</sup> Kalogeromitros D, Katsarou A, Armenaka M, Rigopoulos D, Zapanti M, Stratigos I. Influence of the menstrual cycle on skin-prick test reactions to histamine, morphine and allergen. *Clin Exp Allergy* 1995;25:461–6
- <sup>79</sup> Hamada Y<sup>1</sup>, Shinohara Y, Yano M, Yamamoto M, Yoshio M, Satake K, Toda A, Hirai M, Usami M. Effect of the menstrual cycle on serum diamine oxidase levels in healthy women. *Clin Biochem*. 2013 Jan;46(1-2):99-102
- <sup>80</sup> Morel F, Surla A, Vignais PV. Purification of human placenta diamine oxidase. *Biochem Biophys Res Commun* 1992;187:178–86
- <sup>81</sup> De Lecea L, Kilduff TS, Peyron C, Gao X, Foye PE, Danielson PE, et al. The hypocretins: hypothalamus-specific peptides with neuroexcitatory activity. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1998; 95: 322-7
- <sup>82</sup> Diez-Garcia A, Garzon M. Regulation of the phases of the sleep-wakefulness cycle with histamine. *Rev Neurol*. 2017 Mar 16;64(6):267-277
- <sup>83</sup> Schwartz JC, Arrang JM, Garbarg M, Pollard H, Ruat M. Histaminergic transmission in the mammalian brain. *Rev Physiol* 1991; 71: 1-51
- <sup>84</sup> Lin JS, Anaclet C, Sergeeva OA, Haas HL. The waking brain: an update. *Cell Mol Life Sci* 2011; 68: 2499-512
- <sup>85</sup> Stein J, Scheuermann EH, Yazdi R, Lembcke B, Caspary WF. Reduced postheparin plasma diamine oxidase activity in patients with chronic renal failure. *Z Gastroenterol* 1994;32:236 –9
- <sup>86</sup> Gang V, Berneburg H, Hennemann H, Hevendehl G. Diamine oxidase (histaminase) in chronic renal disease and its inhibition in vitro by methylguanidine. *Clin Nephrol* 1976;3:171–7
- <sup>87</sup> Gang V, Stanjek J, Gaubitz W. [Diaminooxidase (histaminase) in liver diseases and experimental liver lesions]. *Verh Dtsch Ges Inn Med* 1976;82:434–6
- <sup>88</sup> Ruan P, Gong ZJ, Zhang QR. Changes of plasma D(-)-lactate, diamine oxidase and endotoxin in patients with liver cirrhosis. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int* 2004;3:58–61

- 
- <sup>89</sup> Smith MJ, Garrett RH. A heretofore undisclosed crux of eosinophilia-myalgia syndrome: compromised histamine degradation. *Inflamm Res*. 2005 Nov;54(11):435-50
- <sup>90</sup> Nijs J, Meeus M, Van Oosterwijck J, Ickmans K, Moorkens G, Hans G, De Clerck LS. In the mind or in the brain? Scientific evidence for central sensitisation in chronic fatigue syndrome. *Eur J Clin Invest*. 2012 Feb;42(2):203-12
- <sup>91</sup> Loy BD, O'Connor PJ. The effect of histamine on changes in mental energy and fatigue after a single bout of exercise. *Physiol Behav*. 2016 Jan 1;153:7-18.
- <sup>92</sup> Takimoto Y1, Yoshiuchi K, Shimodaira S, Akabayashi A. Diamine oxidase activity levels in anorexia nervosa. *Int J Eat Disord*. 2014 Mar;47(2):203-5
- <sup>93</sup> Wantke F, Proud D, Siekierski E, Kagey-Sobotka A. Daily variations of serum diamine oxidase and the influence of H1 and H2 blockers: a critical approach to routine diamine oxidase assessment. *Inflamm Res* 1998;47:396–400
- <sup>94</sup> Novotny WF, Chassande O, Baker M, Lazdunski M, Barbry P. Diamine oxidase is the amiloride-binding protein and is inhibited by amiloride analogues. *J Biol Chem* 1994;269:9921–5
- <sup>95</sup> Herberguer L. The hypothalamus and aminergic pathways in migraine. In: Perace J, ed. *Modern topics in migraine*. London: Wm Heinemann Medical Books Ltd; 1975
- <sup>96</sup> Alstadhaug KB. Migraine and the hypothalamus. *Cephalalgia*. 2009 Aug;29(8):809-17
- <sup>97</sup> Burstein R, Jakubowski M. Unitary hypothesis for multiple triggers of the pain and strain of migraine. *J Comp Neurol*. 2005 Dec 5;493(1):9-14
- <sup>98</sup> Denuelle M, Fabre N, Payoux P, Chollet F, Geraud G. Hypothalamic activation in spontaneous migraine attacks. *Headache*. 2007 Nov-Dec;47(10):1418-26
- <sup>99</sup> Philippu A, Prast H. Importance of histamine in modulatory processes, locomotion and memory. *Behav Brain Res*. 2001 Oct 15;124(2):151-9
- <sup>100</sup> Saavedra JM, Brownstein MJ, Kizer JS, Palkovits M. Biogenic amines and related enzymes in the circumventricular organs of the rat. *Brain Res*. 1976 May 7;107(2):412-7
- <sup>101</sup> Benarroch EE. Circumventricular organs: receptive and homeostatic

- 
- functions and clinical implications. *Neurology*. 2011 Sep 20;77(12):1198-204
- <sup>102</sup> García-Martín E, Martínez C, Serrador M, Alonso-Navarro H, Navacerrada F, Agúndez JA, Jiménez-Jiménez FJ. Histamine-N-methyl transferase polymorphism and risk for migraine. *Headache*. 2008 Oct;48(9):1343-8
- <sup>103</sup> Waldmeier PC. Amine oxidases and their endogenous substrates (with special reference to monoamine oxidase and the brain). *J Neural Transm Suppl*. 1987;23:55-72
- <sup>104</sup> Sjaastad O. *Cluster Headache Syndrome*. London: W.B. Saunders Company Ltd; 1992
- <sup>105</sup> Sjaastad O, Sjaastad OV. Urinary histamine excretion in migraine and cluster headache. Further observations. *J Neurol*. 1977 Sep 12;216(2):91-104
- <sup>106</sup> Theoharides TC, Konstantinidou AD. Corticotropin-releasing hormone and the blood-brain-barrier. *Front Biosci*. 2007 Jan 1;12:1615-28
- <sup>107</sup> Schwartz JC<sup>1</sup>, Arrang JM, Garbarg M, Pollard H, Ruat M. Histaminergic transmission in the mammalian brain. *Physiol Rev*. 1991 Jan;71(1):1-51
- <sup>108</sup> Karlstedt K, Nissinen M, Michelsen KA, Panula P. Multiple sites of L-histidine decarboxylase expression in mouse suggest novel developmental functions for histamine. *Dev Dyn*. 2001 May;221(1):81-91
- <sup>109</sup> Bolay H, Reuter U, Dunn AK, Huang Z, Boas DA, Moskowitz MA. Intrinsic brain activity triggers trigeminal meningeal afferents in a migraine model. *Nat Med*. 2002 Feb;8(2):136-42
- <sup>110</sup> Levy D, Kainz V, Burstein R, Strassman AM. Mast cell degranulation distinctly activates trigemino-cervical and lumbosacral pain pathways and elicits widespread tactile pain hypersensitivity. *Brain Behav Immun*. 2012 Feb;26(2):311-7
- <sup>111</sup> Li WW<sup>1</sup>, Guo TZ, Liang DY, Sun Y, Kingery WS, Clark JD. Substance P signaling controls mast cell activation, degranulation, and nociceptive sensitization in a rat fracture model of complex regional pain syndrome. *Anesthesiology*. 2012 Apr;116(4):882-95
- <sup>112</sup> Heatley RV, Denburg JA, Bayer N, Bienenstock J. Increased plasma histamine levels in migraine patients. *Clin Allergy*. 1982 Mar;12(2):145-9
- <sup>113</sup> Castillo J, Martínez F, Corredera E, Lema M, Noya M. Migraine and histamine: determining histidine in plasma and cerebrospinal fluid during

---

migraine attacks. *Rev Neurol.* 1995 Jul-Aug;23(122):749-51

<sup>114</sup> Goadsby PJ, Edvinsson L, Ekman R. Vasoactive peptide release in the extracerebral circulation of humans during migraine headache. *Ann Neurol.* 1990 Aug;28(2):183-7

<sup>115</sup> Ottosson A, Edvinsson L. Release of histamine from dural mast cells by substance P and calcitonin gene-related peptide. *Cephalalgia.* 1997 May;17(3):166-74

<sup>116</sup> Schwenger N, Dux M, de Col R, Carr R, Messlinger K. Interaction of calcitonin gene-related peptide, nitric oxide and histamine release in neurogenic blood flow and afferent activation in the rat cranial dura mater. *Cephalalgia.* 2007 Jun;27(6):481-91. Epub 2007 Apr 18

<sup>117</sup> Leurs RHL, Blanina P, Haas HL. Histamine. In Bradley STGS, Albers RW, Price DL, eds. *Basic Neurochemistry Principles of Molecular, Cellular and Medical Neurobiology.* Oxford: Elsevier Inc; 2012

<sup>118</sup> Baroncini M, Jissendi P, Balland E, Besson P, Pruvo JP, Francke JP, Dewailly D, Blond S, Prevot V. MRI atlas of the human hypothalamus. *Neuroimage.* 2012 Jan 2;59(1):168-80

<sup>119</sup> Haas HL, Sergeeva OA, Selbach O. Histamine in the nervous system. *Physiol Rev.* 2008 Jul;88(3):1183-241

<sup>120</sup> Holland P, Goadsby PJ. The hypothalamic orexinergic system: pain and primary headaches. *Headache.* 2007 Jun;47(6):951-62

<sup>121</sup> Sicuteri F. Hypothesis: migraine, a central biochemical dysnociception. *Headache.* 1976 Sep;16(4):145-59

<sup>122</sup> Brown RE, Sergeeva OA, Eriksson KS, Haas HL. Convergent excitation of dorsal raphe serotonin neurons by multiple arousal systems (orexin/hypocretin, histamine and noradrenaline). *J Neurosci.* 2002 Oct 15;22(20):8850-9

<sup>123</sup> Westerink BH, Cremers TI, De Vries JB, Liefers H, Tran N, De Boer P. Evidence for activation of histamine H3 autoreceptors during handling stress in the prefrontal cortex of the rat. *Synapse.* 2002 Mar 15;43(4):238-43

<sup>124</sup> Lin JS, Anaclet C, Sergeeva OA, Haas HL. The waking brain: an update. *Cell Mol Life Sci.* 2011 Aug;68(15):2499-512

<sup>125</sup> Kagan R, Kainz V, Burstein R, Nosedá R. Hypothalamic and basal ganglia projections to the posterior thalamus: possible role in modulation of migraine

---

headache and photophobia. *Neuroscience*. 2013 Sep 17;248:359-68

<sup>126</sup> Haas H, Panula P. The role of histaminergic and the tuberomamillary nucleus in the nervous system. *Nat Rev Neurosci* 2003; 4: 121

<sup>127</sup> Swaab DF. Tuberomamillary complex. In: Aminoff MJ, Boller F, Swaab DF, eds. *The Human Hypothalamus: Basic and Clinical Aspects*. Amsterdam. Elsevier; 2003:269-279

<sup>128</sup> Leone M, Franzini A, Bussone G. Stereotactic stimulation of posterior hypothalamic gray matter in a patient with intractable cluster headache. *N Engl J Med*. 2001 Nov 8;345(19):1428-9

<sup>129</sup> Akerman S, Holland PR, Goadsby PJ. Diencephalic and brainstem mechanisms in migraine. *Nat Rev Neurosci*. 2011 Sep 20;12(10):570-84

<sup>130</sup> Fox AW, Davis RL. Migraine chronobiology. *Headache*. 1998 Jun;38(6):436-41

<sup>131</sup> Alstadhaug K, Salvesen R, Bekkelund S. 24-hour distribution of migraine attacks. *Headache*. 2008 Jan;48(1):95-100

<sup>132</sup> Alstadhaug KB, Odeh F, Salvesen R, Bekkelund SI. Prophylaxis of migraine with melatonin: a randomized controlled trial. *Neurology*. 2010 Oct 26;75(17):1527-32

<sup>133</sup> Kelman L. The triggers or precipitants of the acute migraine attack. *Cephalalgia*. 2007 May;27(5):394-402

<sup>134</sup> Zeitzer JM, Kodama T, Buckmaster CL, Honda Y, Lyons DM, Nishino S, Mignot E. Time-course of cerebrospinal fluid histamine in the wake-consolidated squirrel monkey. *J Sleep Res*. 2012 Apr;21(2):189-94. doi: 10.1111/j.1365-2869.2011.00957.x. Epub 2011 Sep 13

<sup>135</sup> Tottene A1, Conti R, Fabbro A, Vecchia D, Shapovalova M, Santello M, van den Maagdenberg AM, Ferrari MD, Pietrobon D. Enhanced excitatory transmission at cortical synapses as the basis for facilitated spreading depression in Ca(v)2.1 knockin migraine mice. *Neuron*. 2009 Mar 12;61(5):762-73

<sup>136</sup> Karthik N, Sinha S, Taly AB, Kulkarni GB, Ramachandraiah CT, Rao S. Alteration in polysomnographic profile in 'migraine without aura' compared to healthy controls. *Sleep Med*. 2013 Feb;14(2):211-4

<sup>137</sup> Engstrøm M, Hagen K, Bjørk MH, Stovner LJ, Gravdahl GB, Stjern M, Sand

---

T. Sleep quality, arousal and pain thresholds in migraineurs: a blinded controlled polysomnographic study. *J Headache Pain*. 2013 Feb 14;14:12

<sup>138</sup> Alstadhaug K, Salvesen R, Bekkelund S. Insomnia and circadian variation of attacks in episodic migraine. *Headache*. 2007 Sep;47(8):1184-8

<sup>139</sup> Alstadhaug KB, Bekkelund S, Salvesen R. Circannual periodicity of migraine? *Eur J Neurol*. 2007 Sep;14(9):983-8

<sup>140</sup> Xu Y, Padiath QS, Shapiro RE, Jones CR, Wu SC, Saigoh N, Saigoh K, Ptáček LJ, Fu YH. Nature. Functional consequences of a CK1delta mutation causing familial advanced sleep phase syndrome. 2005 Mar 31; 434(7033):640-4

<sup>141</sup> van Oosterhout F, Michel S, Deboer T, Houben T, van de Ven RC, Albus H, Westerhout J, Vansteensel MJ, Ferrari MD, van den Maagdenberg AM, Meijer JH. Enhanced circadian phase resetting in R192Q Cav2.1 calcium channel migraine mice. *Ann Neurol*. 2008 Sep;64(3):315-24

<sup>142</sup> Cote NK, Harrington ME. Histamine phase shifts the circadian clock in a manner similar to light. *Brain Res*. 1993 Jun 4;613(1):149-51

<sup>143</sup> Jacobs EH, Yamatodani A, Timmerman H. Is histamine the final neurotransmitter in the entrainment of circadian rhythms in mammals? *Trends Pharmacol Sci*. 2000 Aug;21(8):293-8

<sup>144</sup> Zee PC, Attarian H, Videnovic A. Circadian rhythm abnormalities. *Continuum (Minneapolis)*. 2013 Feb;19(1 Sleep Disorders):132-47

<sup>145</sup> Martinez-Mir MI, Pollard H, Moreau J, Arrang JM, Ruat M, Traiffort E, Schwartz JC, Palacios JM. Three histamine receptors (H1, H2 and H3) visualized in the brain of human and non-human primates. *Brain Res*. 1990 Sep 3;526(2):322-7

<sup>146</sup> Tiligada E, Kyriakidis K, Chazot PL, Passani MB. Histamine pharmacology and new CNS drug targets. *CNS Neurosci Ther*. 2011 Dec;17(6):620-8

<sup>147</sup> Koval'zon VM. The role of histaminergic system of the brain in the regulation of sleep-wakefulness cycle. *Human Physiol* 2013; 39: 574-83

<sup>148</sup> Abbott NJ, Rönnbäck L, Hansson E. *Nat Rev Neurosci*. Astrocyte-endothelial interactions at the blood-brain barrier. 2006 Jan;7(1):41-53

<sup>149</sup> Krabbe AA, Olesen J. Headache provocation by continuous intravenous infusion of histamine. Clinical results and receptor mechanisms. *Pain*. 1980

---

Apr;8(2):253-9

<sup>150</sup> Ignarro LJ, Lipton H, Edwards JC, Baricos WH, Hyman AL, Kadowitz PJ, Gruetter CA. Mechanism of vascular smooth muscle relaxation by organic nitrates, nitrites, nitroprusside and nitric oxide: evidence for the involvement of S-nitrosothiols as active intermediates. *J Pharmacol Exp Ther.* 1981 Sep;218(3):739-49

<sup>151</sup> Olesen J, Thomsen LL, Lassen LH, Olesen IJ. The nitric oxide hypothesis of migraine and other vascular headaches. *Cephalalgia.* 1995 Apr;15(2):94-100.

<sup>152</sup> Saxena PR. The significance of histamine H1 and H2 receptors on the carotid vascular bed in the dog. *Neurology.* 1975 Jul;25(7):681-687

<sup>153</sup> Lewis DW, Diamond S, Scott D, Jones V. Prophylactic treatment of pediatric migraine. *Headache.* 2004 Mar;44(3):230-237

<sup>154</sup> Rao BS1, Das DG, Taraknath VR, Sarma Y. A double blind controlled study of propranolol and cyproheptadine in migraine prophylaxis. *Neurol India.* 2000 Sep;48(3):223-6

<sup>155</sup> Togha M1, Ashrafian H, Tajik P. Open-label trial of cinnarizine in migraine prophylaxis. *Headache.* 2006 Mar;46(3):498-502

<sup>156</sup> Kelley NE, Tepper DE. Rescue therapy for acute migraine, part 2: neuroleptics, antihistamines, and others. *Headache.* 2012 Feb;52(2):292-306

<sup>157</sup> Tek D, Mellon M. The effectiveness of nalbuphine and hydroxyzine for the emergency treatment of severe headache. *Ann Emerg Med.* 1987 Mar;16(3):308-13

<sup>158</sup> McCormick DA, Williamson A. Modulation of neuronal firing mode in cat and guinea pig LGNd by histamine: possible cellular mechanisms of histaminergic control of arousal. *J Neurosci.* 1991 Oct;11(10):3188-99

<sup>159</sup> Nanda RN, Arthur GP, Johnson RH, Lambie DG. Cimetidine in the prophylaxis of migraine. *Acta Neurol Scand.* 1980 Aug;62(2):90-5

<sup>160</sup> Anthony M, Lord GD, Lance JW. Controlled trials of cimetidine in migraine and cluster headache. *Headache.* 1978 Nov;18(5):261-4

<sup>161</sup> Schentag JJ, Cerra FB, Calleri G, DeGlopper E, Rose JQ, Bernhard H. Pharmacokinetic and clinical studies in patients with cimetidine-associated mental confusion. *Lancet.* 1979 Jan 27;1(8109):177-81

<sup>162</sup> Leurs R, Bakker RA, Timmerman H, de Esch IJ. The histamine H3 receptor:

---

from gene cloning to H3 receptor drugs. *Nat Rev Drug Discov.* 2005 Feb;4(2):107-20

<sup>163</sup> Shaid M, Tripathi T, Sobia F, Moin S, Siddiqui M, Khan R. Histamine, histamine receptors, and their role in immunomodulation: An updated systematic review. *The Open Immunology Journal.* 2009;2:9-41

<sup>164</sup> Millán-Guerrero RO, Baltazar-Rodríguez LM, Cárdenas-Rojas MI, Ramírez-Flores M, Isais-Millán S, Delgado-Enciso I, Caballero-Hoyos R, Trujillo-Hernández B. A280V polymorphism in the histamine H3 receptor as a risk factor for migraine. *Arch Med Res.* 2011 Jan;42(1):44-7

<sup>165</sup> Flores-Clemente C, Osorio-Espinoza A, Escamilla-Sánchez J, Leurs R, Arias JM, Arias-Montaño JA. A single-point mutation (Ala280Val) in the third intracellular loop alters the signalling properties of the human histamine H<sub>3</sub> receptor stably expressed in CHO-K1 cells. *Br J Pharmacol.* 2013 Sep;170(1):127-35

<sup>166</sup> Millán-Guerrero RO, Isais-Millán R, Barreto-Vizcaíno S, Rivera-Castaño L, Garcia-Solorzano A, López-Blanca C, Membrilla-Maldonado M, Muñoz-Solis R. Subcutaneous histamine versus sodium valproate in migraine prophylaxis: a randomized, controlled, double-blind study. *Eur J Neurol.* 2007 Oct;14(10):1079-84

<sup>167</sup> Millán-Guerrero RO, Isais-Millán R, Barreto-Vizcaíno S, Gutiérrez I, Rivera-Castaño L, Trujillo-Hernández B, Baltazar LM

Subcutaneous histamine versus topiramate in migraine prophylaxis: a double-blind study. *Eur Neurol.* 2008;59(5):237-42

<sup>168</sup> Millán-Guerrero RO, Isais-Millán S, Barreto-Vizcaíno S, Rivera-Castaño L, Rios-Madariaga C. Subcutaneous histamine versus botulinum toxin type A in migraine prophylaxis: a randomized, double-blind study. *Eur J Neurol.* 2009 Jan;16(1):88-94

<sup>169</sup> Cannon KE1, Nalwalk JW, Stadel R, Ge P, Lawson D, Silos-Santiago I, Hough LB. Activation of spinal histamine H3 receptors inhibits mechanical nociception. *Eur J Pharmacol.* 2003 Jun 6;470(3):139-47

<sup>170</sup> Jablonowski JA, Carruthers NI, Thurmond RL. The histamine H4 receptor and potential therapeutic uses for H4 ligands. *Mini Rev Med Chem.* 2004 Nov;4(9):993-1000

- 
- <sup>171</sup> Strakhova MI<sup>1</sup>, Nikkel AL, Manelli AM, Hsieh GC, Esbenshade TA, Brioni JD, Bitner RS. Localization of histamine H4 receptors in the central nervous system of human and rat. *Brain Res.* 2009 Jan 23;1250:41-8
- <sup>172</sup> Connelly WM<sup>1</sup>, Shenton FC, Lethbridge N, Leurs R, Waldvogel HJ, Faull RL, Lees G, Chazot PL. The histamine H4 receptor is functionally expressed on neurons in the mammalian CNS. *Br J Pharmacol.* 2009 May;157(1):55-63
- <sup>173</sup> Lang E, Kaltenhäuser M, Neundörfer B, Seidler S. Hyperexcitability of the primary somatosensory cortex in migraine--a magnetoencephalographic study. *Brain.* 2004 Nov;127(Pt 11):2459-69
- <sup>174</sup> Galeotti N, Sanna MD, Ghelardini C. Pleiotropic effect of histamine H4 receptor modulation in the central nervous system. *Neuropharmacology.* 2013 Aug;71:141-7
- <sup>175</sup> Hsieh GC, Chandran P, Salyers AK, Pai M, Zhu CZ, Wensink EJ, Witte DG, Miller TR, Mikusa JP, Baker SJ, Wetter JM, Marsh KC, Hancock AA, Cowart MD, Esbenshade TA, Brioni JD, Honore P. H4 receptor antagonism exhibits anti-nociceptive effects in inflammatory and neuropathic pain models in rats. *Pharmacol Biochem Behav.* 2010 Mar;95(1):41-50
- <sup>176</sup> Bekkelund SI, Alstadhaug KB. Migraine prophylactic drugs - something new under the sun? *Expert Opin Investig Drugs.* 2011 Sep;20(9):1201-10
- <sup>177</sup> Schwelberger HG, Bodner E. Purification and characterization of diamine oxidase from porcine kidney and intestine. *Biochim Biophys Acta* 1997;1340:152-64
- <sup>178</sup> Krajewska M, Rydzewski W. Histaminase activity in serum of patients with migraine. *Neurol Neurochir Pol.* 1973 Jan-Feb;7(1):55-8
- <sup>179</sup> Maintz L, Yu CF, Rodríguez E, Baurecht H, Bieber T, Illig T, Weidinger S, Association of single nucleotide polymorphisms in the diamine oxidase gene with diamine oxidase serum activities. *Novak N.Allergy.* 2011 Jul;66(7):893-902
- <sup>180</sup> García-Martín E, Martínez C, Serrador M, Alonso-Navarro H, Ayuso P, Navacerrada F, Agúndez JA, Jiménez-Jiménez FJ. Diamine oxidase rs10156191 and rs2052129 variants are associated with the risk for migraine. *Headache.* 2015 Feb;55(2):276-86
- <sup>181</sup> Ebile AW, Ateudjieu J, Yakum MN, Djuidje MN, Watcho P. Assessing the detection, reporting and investigation of adverse events in clinical trial protocols

---

implemented in Cameroon: a documentary review of clinical trial protocols. *BMC Med Ethics*. 2015 Sep 29;16(1):67

<sup>182</sup> Tryding N, Willert B. Determination of plasma diamine oxidase (histaminase) in clinical practice. A comparison between a biological method and a radiochemical micromethod. *Scand J Clin Lab Invest*. 1968;22(1):29-32

<sup>183</sup> Manzotti G, Breda D, Di Gioacchino M, Burastero SE. Serum diamine oxidase activity in patients with histamine intolerance. *Int J Immunopathol Pharmacol*. 2016 Mar;29(1):105-11

<sup>184</sup> Yoshikawa T, Yanai K. Histamine Clearance Through Polyspecific Transporters in the Brain. *Handb Exp Pharmacol*. 2016 Sep 28

<sup>185</sup> Gupta S, Nahas SJ, Peterlin BL. Chemical mediators of migraine: preclinical and clinical observations. *Headache*. 2011 Jun;51(6):1029-45

<sup>186</sup> Storey JR, Calder CS, Hart DE, Potter DL. Topiramate in migraine prevention: a double-blind, placebo-controlled study. *Headache*. 2001 Nov-Dec;41(10):968-75

<sup>187</sup> Nosedá R, Borsook D, Burstein R. Neuropeptides and Neurotransmitters That Modulate Thalamo-Cortical Pathways Relevant to Migraine Headache. *Headache*. 2017 May;57 Suppl 2:97-111

<sup>188</sup> Farzaei MH, Bahramsoltani R, Abdollahi M, Rahimi R. The Role of Visceral Hypersensitivity in Irritable Bowel Syndrome: Pharmacological Targets and Novel Treatments. *J Neurogastroenterol Motil*. 2016 Oct 30;22(4):558-574

<sup>189</sup> Camilleri M, Oduyebo I, Halawi H. Chemical and Molecular Factors in Irritable Bowel Syndrome: Current Knowledge, Challenges and Unanswered Questions. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2016 Sep 8

<sup>190</sup> Bagley CL1, Rendas-Baum R, Maglante GA, Yang M, Varon SF, Lee J, Kosinski M. Validating Migraine-Specific Quality of Life Questionnaire v2.1 in episodic and chronic migraine. *Headache*. 2012 Mar;52(3):409-21. 19

<sup>191</sup> Yang M, Rendas-Baum R, Varon SF, Kosinski M. Validation of the Headache Impact Test (HIT-6™) across episodic and chronic migraine. *Cephalalgia*. 2011 Feb;31(3):357-67

<sup>192</sup> Messali A, Sanderson JC, Blumenfeld AM, Goadsby PJ, Buse DC, Varon SF, Stokes M, Lipton RB. Direct and Indirect Costs of Chronic and Episodic Migraine in the United States: A Web-Based Survey. *Headache*. 2016

---

Feb;56(2):306-22

<sup>193</sup> Gooch CL, Pracht E, Borenstein AR. The Burden of Neurological Disease in the United States: A Summary Report and Call to Action. *Ann Neurol*. 2017 Feb 15. doi: 10.1002/ana.24897

<sup>194</sup> Folstein MF, Luria R. Reliability, validity, and clinical application of the Visual Analogue Mood Scale. *Psychol Med*. 1973 Nov;3(4):479-86

<sup>195</sup> Luria RE. The validity and reliability of the visual analogue mood scale. *J Psychiatr Res*. 1975 Apr;12(1):51-7

<sup>196</sup> Pacheco D. Measurement of pain in musculoskeletal diseases. *Medwave* 2008 Dic;8(11):e3658

<sup>197</sup> Doenicke A, Brand J, Perrin VL. Possible benefit of GR43175, a novel 5-HT<sub>1</sub>-like receptor agonist, for the acute treatment of severe migraine. *Lancet*. 1988 Jun 11;1(8598):1309-11

<sup>198</sup> Lai TH, Chou KH, Fuh JL, Lee PL, Kung YC, Lin CP, Wang SJ. Gray matter changes related to medication overuse in patients with chronic migraine. *Cephalalgia*. 2016 Dec;36(14):1324-1333

<sup>199</sup> Ohtsu H, Seike M. Histamine and Histamine Receptors in Allergic Dermatitis. *Handb Exp Pharmacol*. 2016 Oct 28.

<sup>200</sup> Takahashi A, Tani S, Murota H, Katayama I. Histamine Modulates Sweating and Affects Clinical Manifestations of Atopic Dermatitis. *Curr Probl Dermatol*. 2016;51:50-6

<sup>201</sup> Albrecht M, Dittrich AM. Expression and function of histamine and its receptors in atopic dermatitis. *Mol Cell Pediatr*. 2015 Dec;2(1):16

<sup>202</sup> Wagner N, Dirk D, Peveling-Oberhag A, Reese I, Rady-Pizarro U, Mitzel H, Staubach P. A Popular myth - low-histamine diet improves chronic spontaneous urticaria - fact or fiction? *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2016 Sep 13. doi: 10.1111/jdv.13966

<sup>203</sup> Tomasello G, Mazzola M, Leone A, Sinagra E, Zummo G, Farina F, Damiani P, Cappello F, Gerges Geagea A, Jurjus A, Bou Assi T, Messina M, Carini F. Nutrition, oxidative stress and intestinal dysbiosis: Influence of diet on gut microbiota in inflammatory bowel diseases. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub*. 2016 Oct 26. doi: 10.5507/bp.2016.052

---

<sup>204</sup> Harmon BE, Carter M, Hurley TG, Shivappa N, Teas J, Hébert JR. Nutrient Composition and Anti-inflammatory Potential of a Prescribed Macrobiotic Diet. *Nutr Cancer*. 2015;67(6):933-40

<sup>205</sup> Gong B, Boor PJ. The role of amine oxidases in xenobiotic metabolism. *Expert Opin Drug Metab Toxicol*. 2006 Aug;2(4):559-71

<sup>206</sup> Martin VT, Vij B. Diet and Headache: Part 1. Headache. 2016 Oct;56(9):1543-1552

<sup>207</sup> Wagner N, Dirk D, Peveling-Oberhag A, Reese I, Rady-Pizarro U, Mitzel H, Staubach P. A Popular myth - low-histamine diet improves chronic spontaneous urticaria - fact or fiction? *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2016 Sep 13

---

## 10. PRINCIPALES ABREVIATURAS

AAG	Acontecimiento Adverso Grave
AINES	Antiinflamatorios no esteroideos
ATP	Adenosina trifosfato
CACNA	Voltage-Gated Calcium Channels
CEIC	Comité de Ética e Investigaciones Clínicas
CGRP	Péptido Relacionado con el Gen de la Calcitonina
CIE	Clasificación Internacional de Enfermedades
DAO	Diamino-oxidasa
ELISA	Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay
EVA	Escala Visual Analógica
GWAS	Genome-wide association study
HDU/ml	Histamine Degradation Units/mililitro
HIT-6	Headache Impact Test
ICHD-III	International Classification of Headache Disorders
IHS	International Headache Society
	International Standard Randomised Controlled Trial
ISRCTN	Number
MHF	Migraña Hemipléjica Familiar
MSQOL	Multiple Sclerosis Quality of Life
ON	Óxido Nítrico
PET	Positron Emission Tomography
PMAT	Plasma membrane monoamine transporter
REM	Rapid Eye Movements
SPSS	Statistical Product and Service Solutions

## 11. ANEXOS

### 11.1 DETERMINACIÓN ANALÍTICA DE LA ACTIVIDAD DAO

El test D-HIT es uno de los más utilizados en la actualidad para la determinación de la actividad enzimática. Este test se basa en la técnica ELISA y mide la cantidad de histamina degradada por la DAO en la muestra.

El principio en que se basa este test es el siguiente:

#### Principle of the assay

50  $\mu$ l of human serum and EDTA-plasma may be used as analyte.

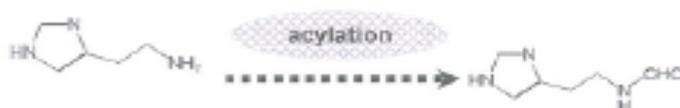
For activity calculation in plasma a correction factor must be used !

With D-HIT activity of diamine oxidase is determined for the first time by degradation of histamine. The result is given in HDU (histamine degrading units) per ml. 1 HDU corresponds to the activity of DAO that degrades 1 pmol/ml (0,11 ng/ml) of histamine. All assays used until now employ radiolabelled putrescine as a substrate for the enzyme. Activity towards Histamine and Putrescine are different<sup>13,14</sup>

In the first step 50  $\mu$ l of sample are pipetted in a microwell plate containing histamine. During the incubation over night histamine is degraded by DAO present in the sample.

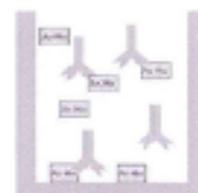


In the next step the remaining histamine is acetylated.

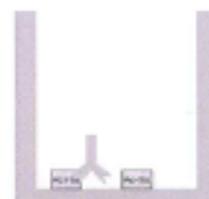


An aliquot of the reaction mixture is transferred into the ELISA plate and Antibody is added.

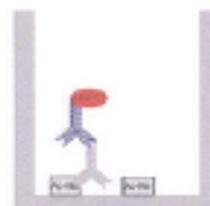
Acylated histamine and coated acyl histamine compete for the binding sites of the antibody.



All unbound substances are removed in a washing step.



The amount of antibody bound to the plate is detected using a HRP-labelled secondary antibody (Conjugate). The signal is directly proportional to the activity of DAO in the sample.



---

## Contents of the Kit

- Standards  
The 6 vials contain diamine oxidase (DAO, EC 1.4.3.6.) from porcine kidney, lyophilized. The actual concentration is stated on the label and on the QC-protocol
- Controls  
The 2 vials contain diamine oxidase (DAO, EC 1.4.3.6.) from porcine kidney, lyophilized. The actual concentration is stated on the label and in the QC-protocol
- Incubation Plate (marked blue). The wells contain lyophilized histamine
- Antibody lyophilized
- EUSA-Plate. The wells are coated with acylated histamine
- Assay Reagent 35 ml, ready to use
- 1 vial Acylation reagent 3 ml, ready to use  
ATTENTION: Acylation Reagent freezes at temperatures < 18°C, this does not affect the activity of the reagent!
- Assay Buffer 30 ml, ready to use
- 10x Wash Buffer concentrate 60 ml
- Conjugate 13 ml, ready to use
- Substrate 13 ml, ready to use
- Stop Solution 7 ml, ready to use
- Instruction manual
- 4 sealing tapes
- Quality Control Protocol of the respective batch
- Protocol sheet

## Additional material and equipment required

- Precision pipettes in the range of 20 µl to 1000 µl
- Multichannel pipette
- Multipette
- Combitips 10 µl or 20 µl for multipette
- Incubator 37°C (preferably shaker-incubator 37°C / 400 rpm)
- ELISA-reader with filter 450 nm (optional reference 620/630 nm)
- Graph paper or software for calculation of results

## Performance of the assay

**As the activity of DAO strongly depends on the actual physical status of the patient, samples must be drawn during or at latest 2 days after the presence of symptoms of histamine intolerance!**

Freshly collected samples (serum or EDTA-plasma) must be cooled to 2°C - 8°C within 3 hours after sampling, for prolonged storage samples must be frozen at -20°C.

**For transport samples must be cooled.**

Lipemic or hemolytic samples may give erroneous results.

Samples should be mixed well before assay performance.

All Reagents must reach room temperature before use!

We recommend duplicates for all determinations.

### **ATTENTION:**

Incubation times in brackets have to be used if no shaker is available or if the test is run in an automatic ELISA roboter

### **Day 1:**

1. Take needed microtiter strips of **Incubation Plate** (marked blue) out of the foil pouch – appearance of the wells can vary – this has no influence on assay quality ; seal unused strips with plastic and store in the foil pouch with desiccant at 4°C (Silicagel in desiccant bag should stay orange, otherwise plate has to be thrown away)
2. Prepare assay protocol , you may use the sheet packed with the kit
3. Add 50 µl of **Assay Reagent** to each well, mix gently
4. Incubate strips for 30 min at room temperature (18-26°C), **DO NOT SEAL!** during incubation redissolve standards and controls as follows:
  - 4.1. Dissolve **Standards** in 0,5 ml **Assay Reagent**; leave for 15 min at RT (18-26°C), mix well (Vortex). Store unused standards up to 3 days at 2°C – 8°C, for prolonged storage freeze at -20°C. Do not thaw solution more than 2 times.
  - 4.2. Dissolve **Controls** in 0,5 ml **Assay Reagent**; leave for 15 min at RT (18-26°C), mix well (Vortex). Store unused control up to 3 days at 2°C – 8°C, for prolonged storage freeze at -20°C. Do not thaw solution more than 2 times.
5. Add each of 50 µl **Standards, Controls** and **Samples** into respective wells of **Incubation Plate** (marked blue).
6. Cover strips and incubate over night (at least 18 hours) at 37°C, if possible shake at 400 rpm. Cover strips thightly with sealing tape. Only use the tape packed in the kit!  
To avoid desiccation of the wells make sure the tape seals every well perfectly!

---

### Day 2:

7. Bring Acylation Reagent at room temperature (>18°C).
8. Add 20 µl of **Acylation Reagent** in every well of **Incubation Plate** (marked blue) with multipipette. To avoid drift effects pipette whole plate within 5 minutes!  
*ATTENTION: Acylation Reagent is an organic solvent and should be pooled in glass bottles only. Removes labeling from Multipipette tips – do not soak tip in solution!*
9. Incubate strips for 30 min at 37°C (shake if possible at 400 rpm), **DO NOT COVER!**  
During incubation prepare washing buffer and antibody as follows
  - 9.1. Dilute **10 x Wash buffer concentrate** with aqua deion. 1 + 9 (60 ml washing buffer concentrate plus 540 ml aqua deion.) Diluted washing buffer is stable at 2°C - 8°C until expiry date stated on the label.
  - 9.2. Reconstitute **Antibody** in 20 ml of **Assay Buffer**.  
Store unused antibody up to 3 days at 2°C - 8°C, for prolonged storage freeze at -20°C.
10. Add 150 µl **Assay Reagent** to all wells.
11. Incubate strips for 30 min (40 min without shaker) at 37°C on a shaker at 400 rpm  
**DO NOT COVER!**
12. Take microtiter strips of **ELISA Plate** needed out of the foil pouch, store unused strips sealed with plastic in the foil pouch with desiccant at 2°C - 8°C (Silicagel in desiccant bag should stay orange, otherwise plate has to be thrown away).
13. Transfer 30 µl of reaction mixture from **Incubation Plate** (marked blue) into respective wells of **ELISA Plate** (use Multi channel pipette). Mix the contents of the Incubation plate well with the pipette before transfer.  
To ensure correct results we strongly recommend using a multichannel pipette. Make sure all pipetting tips are tightened thoroughly.
14. Add 150 µl of dissolved **Antibody** (as described in 9.2.) into each well
15. Cover strips and incubate for 45 min (60 min without shaker) at 37°C on a shaker at 400 rpm
16. Discard contents of wells and wash 4 times with 350 µl of diluted wash buffer.
17. Pipette 100 µl of **Conjugate** into all wells.
18. Cover strips and incubate for 30 min (45 min without shaker) at 37°C on a shaker at 400 rpm.
19. Discard contents of wells and wash 4 times with 350 µl of diluted wash buffer.
20. Add 100 µl of **Substrate** into all wells.
21. Incubate for 20 min at room temperature (18-26°C).
22. Add 50 µl of **Stop Solution** into all wells.
23. Read absorbance at 450 nm in a **ELISA-Reader** (use 620 nm as reference).

## Calculation

Construct the Standard curve using the Standard values. Use commercially available software or graph paper. Obtain sample concentration from this Standard curve.

The graph shows a typical calibration curve of the assay.

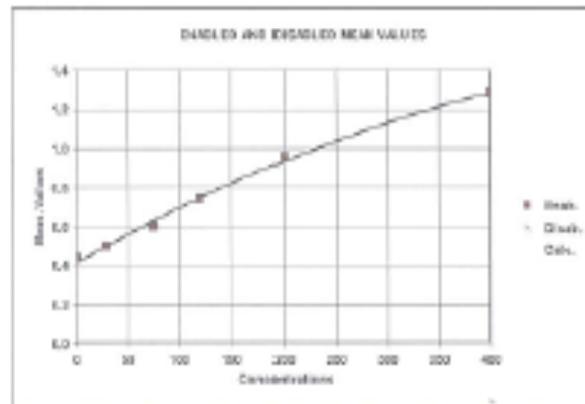
### ATTENTION:

*Results of plasma samples have to be multiplied with the factor 1,25 to adjust for matrix effects.*

Target concentration of Controls is stated on the label!

The graph shows an EXAMPLE of calibration curve.

**THIS GRAPH MUST NOT BE IMPLIED FOR THE CALCULATION OF MEASURED VALUES!**



## Test characteristics

### Reference values

DAO > 80 HDU/ml:	normal activity of DAO
DAO 40-80 HDU/ml:	reduced activity of DAO
DAO < 40 HDU/ml:	highly reduced activity of DAO

It is **IMPOSSIBLE** to determine histamine intolerance in case of anaphylactic shock and during pregnancy!

Intake of **ALCOHOL** and particular **DRUGS** influence DAO value (see introduction)!

Standard range: 2 to 400 HDU / ml

Sample volume: 50 µl serum or EDTA-plasma

### Reproducibility:

Intraassay: < 15%

Interassay: < 20%

### Incubation time:

over night (18-26 hours), 150 min

### Storage of the Kit:

Reagents should be stored at 2 - 8°C; shipment will be performed at ambient temperature

## 11.2 FORMULARIO DE RECOGIDA DE EFECTOS ADVERSOS

El paciente ha experimentado algún Acontecimiento Adverso?  Sí  No

Si la respuesta es Sí, documente a continuación:

Detalles del AA																																																															
Fecha de del AA	Intensidad	Causalidad	Acción tomada respecto al estudio:																																																												
<p><b>AE 01</b></p> <p>Inicio:</p> <table border="1"> <tr> <td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td> </tr> <tr> <td></td><td></td><td></td><td></td><td>2</td><td>0</td><td></td><td></td><td></td><td></td> </tr> <tr> <td>Día</td><td>Mes</td><td>Año</td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td> </tr> </table> <p>Final:</p> <table border="1"> <tr> <td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td> </tr> <tr> <td></td><td></td><td></td><td></td><td>2</td><td>0</td><td></td><td></td><td></td><td></td> </tr> <tr> <td>Día</td><td>Mes</td><td>Año</td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td> </tr> </table>															2	0					Día	Mes	Año																						2	0					Día	Mes	Año								<p>Leve <input type="checkbox"/></p> <p>Moderado <input type="checkbox"/></p> <p>Severo <input type="checkbox"/></p>	<p>Relacionado <input type="checkbox"/></p> <p>No relacionado <input type="checkbox"/></p>	<p>Retirado <input type="checkbox"/></p> <p>Reducción de dosis <input type="checkbox"/></p> <p>Interrucción de dosis <input type="checkbox"/></p> <p>Sin cambios <input type="checkbox"/></p> <p>No aplicable <input type="checkbox"/></p>
				2	0																																																										
Día	Mes	Año																																																													
				2	0																																																										
Día	Mes	Año																																																													
<p><b>AE 02</b></p> <p>Inicio:</p> <table border="1"> <tr> <td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td> </tr> <tr> <td></td><td></td><td></td><td></td><td>2</td><td>0</td><td></td><td></td><td></td><td></td> </tr> <tr> <td>Día</td><td>Mes</td><td>Año</td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td> </tr> </table> <p>Final:</p> <table border="1"> <tr> <td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td> </tr> <tr> <td></td><td></td><td></td><td></td><td>2</td><td>0</td><td></td><td></td><td></td><td></td> </tr> <tr> <td>Día</td><td>Mes</td><td>Año</td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td> </tr> </table>															2	0					Día	Mes	Año																						2	0					Día	Mes	Año								<p>Leve <input type="checkbox"/></p> <p>Moderado <input type="checkbox"/></p> <p>Severo <input type="checkbox"/></p>	<p>Relacionado <input type="checkbox"/></p> <p>No relacionado <input type="checkbox"/></p>	<p>Retirado <input type="checkbox"/></p> <p>Reducción de dosis <input type="checkbox"/></p> <p>Interrucción de dosis <input type="checkbox"/></p> <p>Sin cambios <input type="checkbox"/></p> <p>No aplicable <input type="checkbox"/></p>
				2	0																																																										
Día	Mes	Año																																																													
				2	0																																																										
Día	Mes	Año																																																													

---

## 11.3 FICHA TÉCNICA DEL PRODUCTO EN INVESTIGACIÓN:

### DAOSIN

Complemento para la intolerancia a los alimentos causada por histaminosis alimentaria.

Contiene DiAminoOxidasa (DAO)

Registrado en el grupo:

Alimento dietético para usos médicos especiales.

Complemento para el tratamiento dietético de la intolerancia alimentaria causada por histaminosis alimentaria.

Contiene un extracto de proteína exento de histamina y rico en DiAminoOxidasa (DAO) natural.

#### Lista de ingredientes

Estabilizadores: celulosa microcristalina; cubierta de la cápsula: gelatina; sacarosa; ácido ascórbico; estabilizador: almidón de arroz; recubrimiento: goma laca; hidroxipropilcelulosa; extracto de proteína con 7% diamina oxidasa; estabilizador: polivinilpirrolidona; antiaglomerante: talco; espesante: almidón aciflado; carboximetilcelulosa; colorante: óxido de titanio; humectante: glicerina.

<u>Valor nutricional</u>	<u>Valor nutricional por 100 g</u>
Valor energético:	342 kcal / 1432 kJ
Proteínas:	20,1 g
Hidratos de carbono:	63,1 g
Grasas:	< 0,1 g
Extracto de proteína con diamina oxidasa:	1,65 g (corresponde a 4,2 mg por cápsula)

#### Ingesta diaria recomendada

1-2 cápsulas con líquido, inmediatamente antes de las comidas

Observaciones importantes: DAOSIN no sustituye a una alimentación equilibrada y una forma de vida sana. Usar sólo bajo supervisión médica. Mantener fuera del alcance de los niños. Almacenar en lugar fresco y seco.

Código Nacional Daosin 30 cápsulas: 160781.2

Distribuidor en España: DR Healthcare, S.L. Escuelas Pías 49 – Barcelona, España.

Fabricante: Sciotec Diagnostic Technologies GmbH, A-1110 Viena, Austria.

---

## 11.4 CONSENTIMIENTO INFORMADO

**PROYECTO DE INVESTIGACIÓN** Estudio de doble ciego, comparativo y controlado con placebo para la evaluación de la eficacia de la suplementación con enzima Diaminooxidasa vs. Placebo en el tratamiento preventivo de la Migraña.

**MÉDICO RESPONSABLE:** Dr. Joan Izquierdo

Centro: Hospital General de Catalunya.

Nos dirigimos a usted para informarle sobre un estudio de investigación en el que se le invita a participar. El estudio ha sido aprobado por un Comité Ético de Investigación Clínica acreditado.

Nuestra intención es tan solo que usted reciba la información correcta y suficiente para que pueda evaluar y juzgar si quiere o no participar en este estudio. Para ello lea esta hoja informativa con atención y nosotros le aclararemos las dudas que le puedan surgir después de la explicación. Además, puede consultar con las personas que considere oportuno.

### **PARTICIPACIÓN VOLUNTARIA**

Debe saber que su participación en este estudio es voluntaria y puede decidir no participar o cambiar su decisión y retirar el consentimiento en cualquier momento, sin que por ello se altere la relación con su médico ni se produzca perjuicio alguno en su tratamiento.

### **DESCRIPCIÓN GENERAL DEL ESTUDIO**

Usted va a participar en un estudio en el que se evaluará la eficacia de un complemento alimenticio en la prevención de la migraña.

La base importante de este tratamiento es determinar que aquellas personas que presentan un déficit en la actividad de una proteína enzimática, que todos tenemos en nuestro cuerpo: diaminooxidasa, o también, DAO podrían verse beneficiados en la prevención de los síntomas de su Migraña.

El **objetivo** de este estudio es ver si se consigue prevenir la aparición de la sintomatología sufrida por esta enfermedad, principalmente, las crisis de migraña.

Una vez que hemos comprobado que tras la fase inicial del programa, usted cumple con el requisito de tener este déficit, mediante la extracción de una muestra de sangre, le pediremos que participe en el estudio.

**El estudio consiste en:** usted puede ser asignado un tratamiento que consiste en tomar diariamente este complemento alimenticio que contrarrestaría el déficit de la proteína, y

---

que ya está comercializado y ha pasado todos los requerimientos necesarios para su puesta en el mercado, o bien, puede ser asignado a un tratamiento paralelo, en el que tomaría diariamente una cápsula de placebo, que tiene las mismas características que el tratamiento anterior, pero sin contener el principio activo del estudio.

La toma de este tratamiento preventivo, no supondría la supresión de la medicación que usted suele tomar para paliar el dolor en sus crisis de migraña. La única medicación que debería suprimir, sería aquella que esté indicada para prevenir la aparición de su migraña.

En el estudio **participarán** junto con Vd., si así lo decide, 100 pacientes.

Las **molestias** que le ocasionará su participación en el estudio se reducen a la molestia que pueda sentir por la extracción de sangre, en caso que no posea una analítica previa de la actividad de esta proteína enzimática, y a que deberá cumplimentar un Diario de Paciente, que se le será proporcionado.

Por su participación en el estudio no recibirá ningún **beneficio** directo. Por otra parte, el consumo del suplemento alimenticio no supone ningún **riesgo** y además estaría contrarrestando su déficit de proteína enzimática.

### **CONFIDENCIALIDAD**

El tratamiento, la comunicación y la cesión de los datos de carácter personal de todos los sujetos participantes se ajustará a lo dispuesto en la Ley Orgánica 15/1999, de 13 de diciembre de protección de datos de carácter personal. De acuerdo a lo que establece la legislación mencionada, usted puede ejercer los derechos de acceso, modificación, oposición y cancelación de datos, para lo cual deberá dirigirse a su médico del estudio. Los datos recogidos para el estudio estarán identificados mediante un código y solo su médico del estudio/colaboradores podrá relacionar dichos datos con usted y con su historia clínica.

### **RECOGIDA DE MATERIAL BIOLÓGICO**

A usted se le practicará una analítica de sangre para determinar su valor de actividad enzimática. Nosotros deseáramos conservar esa muestra de sangre para futuras investigaciones. Si usted accede a donar esa muestra, se enviará a Laboratorios LABCO en Barcelona, donde se conservará y utilizará bajo la responsabilidad de personal médico.

La investigación que pueda realizarse con su sangre, no está diseñada específicamente para beneficiarle a usted, pero puede influir sobre la elección de un tratamiento específico para la migraña, en otros pacientes. Al ampliar los conocimientos en el déficit de la proteína enzimática y en la migraña, puede ayudar a otros pacientes.

La decisión de dejarnos conservar la muestra de sangre sobrante para futuras investigaciones, es enteramente suya. Sea cual sea su decisión, ésta no afectará en ninguna medida a la calidad de sus cuidados. Si su decisión es donar esa muestra, firme el consentimiento para donación de material biológico que se adjunta a continuación.

---

### **OTRA INFORMACIÓN RELEVANTE**

Si usted decide retirar el consentimiento para participar en este estudio, ningún dato nuevo será añadido a la base de datos y, puede exigir la destrucción de todas las muestras identificables previamente retenidas para evitar la realización de nuevos análisis.

También debe saber que puede ser excluido del estudio si el promotor o los investigadores del estudio lo consideran oportuno, ya sea por motivos de molestias que se produzcan o porque consideren que no está cumpliendo con los procedimientos establecidos. En cualquiera de los casos, usted recibirá una explicación adecuada del motivo que ha ocasionado su retirada del estudio

**Al firmar la hoja de consentimiento adjunta, se compromete a cumplir con los procedimientos del estudio que se le han expuesto.**

---

**PROYECTO DE INVESTIGACIÓN: Estudio de doble ciego, comparativo y controlado con placebo para la evaluación de la eficacia de la suplementación con enzima Diaminooxidasa vs. Placebo en el tratamiento preventivo de la Migraña.**

Yo: \_\_\_\_\_

*[Nombre y apellidos escritos por el propio paciente]*

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 y he sido informado por el Dr. \_\_\_\_\_

Comprendo que mi participación es voluntaria.

Comprendo que puedo retirarme del estudio:

- 1.- Cuando quiera.
- 2.- Sin tener que dar explicaciones.
- 3.- Sin que esto repercuta en mis cuidados médicos o mi relación con el médico prescriptor.

Y presto libremente mi conformidad para participar en el estudio y doy mi consentimiento para el acceso y utilización de mis datos en las condiciones detalladas en la hoja de información.

Firma del paciente: \_\_\_\_\_ Fecha: \_\_\_\_\_

*[Escrita por el propio paciente]*

Firma del investigador: \_\_\_\_\_ Fecha: \_\_\_\_\_

---

**PROYECTO DE INVESTIGACIÓN: Estudio de doble ciego, comparativo y controlado con placebo para la evaluación de la eficacia de la suplementación con enzima Diaminooxidasa vs. Placebo en el tratamiento preventivo de la Migraña.**

Gracias por leer la información sobre la donación de su muestra de sangre a DR Healthcare para investigación. Por favor, lea cada una de las frases siguientes, piense en su elección y a continuación marque su elección. Si tiene cualquier pregunta, por favor consulte a su médico o enfermera. Sea cual sea su decisión, ésta no afectará en medida alguna a la calidad de sus cuidados.

- Entiendo que mi muestra de sangre se utilizará a efectos de aseguramiento de la calidad.
- Entiendo que la investigación con mi muestra de sangre sólo se realizará tras ser aprobada por el Comité Ético correspondiente.
- Entiendo que cualquier investigación garantizará en todo momento mi privacidad.
- Entiendo que puedo revocar mi consentimiento en cualquier momento. En tal caso contactaré con:  
\_\_\_\_\_ (persona de contacto).
- Escoja una opción:
  - Permiso que se utilice mi muestra de sangre en estudios de investigación.
  - No permito que se utilice mi muestra de sangre en futuras investigaciones.

*Usted tendrá una copia de este formulario. Si desea más información sobre el estudio, contacte con su médico de estudio.*

Nombre del Paciente: \_\_\_\_\_  
*[Nombre y apellidos escritos por el propio paciente]*

Firma del paciente: \_\_\_\_\_ Fecha: \_\_\_\_\_  
*[Escrita por el propio paciente]*

Firma del investigador: \_\_\_\_\_ Fecha: \_\_\_\_\_

---

## 11.5 APROBACIÓN DEL COMITÉ DE ÉTICA ASISTENCIAL DEL HOSPITAL GENERAL DE CATALUNYA



### DICTAMEN DEL COMITÉ ÉTICO DE INVESTIGACION CLÍNICA

**DR. JULIÁN ROLDAN OSUNA, PRESIDENTE DEL COMITÉ D'ÉTICO Y INVESTIGACIÓN CLÍNICA (CEIC) DEL HOSPITAL GENERAL DE CATALUNYA, sito en c/ Pedro i Pons, s/n 08190 SANT CUGAT DEL VALLÈS (Barcelona)**

### **C E R T I F I C A:**

Que este Comité ha **EVALUADO en fecha 19 julio de 2011**, las respuestas a las aclaraciones solicitadas a la propuesta **del promotor DR. HEALTHCARE, S.L.** correspondiente al estudio:

“Estudio doble ciego, comparativo y controlado con placebo para la evaluación de la eficacia de la suplementación con enzima Diaminooxidasa vs. Placebo en el tratamiento preventivo de la Migraña.”.

**Código:** MIGRADA0-002

**Versión Protocolo:** Versión v.1. mayo 2011

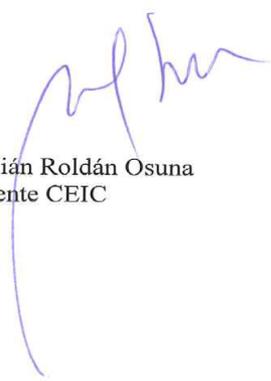
**Versión HIP y CO:** Versión v.1.1 julio 2011

Y EMITE DICTAMEN FAVORABLE para la realización de dicho estudio en:

- Capiro Hospital General de Catalunya por el Dr. Joan Izquierdo.

Lo que firmo en Sant Cugat del Vallés, a 10 de agosto de 2011.

Firmado:



Dr. Julián Roldán Osuna  
Presidente CEIC

---

## 11.6 REGISTRO ISRCTN

### Study record 32944

*Generated: 08/12/2016 21:06:05*

*Editorial Status: Submitted*

#### Title and Additional Identifiers

**Submission number**

32944

**ISRCTN**

**DOI**

**Public title**

Randomized double-blind trial of diamine-oxidase (DAO) food supplement to treat patients with episodic migraine and DAO deficiency.

**Scientific title**

Double blinded trial, comparative and controlled with placebo, to evaluate the efficiency of supplementation with diamino-oxidase versus placebo in the prophylactic treatment of migraine.

---

## 11.7 CUADERNO DE RECOGIDA DE DATOS

1. FECHA VISITA: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_\_\_

2. CONSENTIMIENTO INFORMADO:

2.1. ¿Otorga su Consentimiento?  Sí  No (Si la respuesta es sí, conteste la pregunta 2.2.)

2.2. Fecha de la Firma: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_\_\_

3. ACTIVIDAD ENZIMÁTICA DE DAO: \_\_\_\_\_ (HDU/ml)

3.1. Fecha analítica: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_\_\_

4. CRITERIOS DE ELEGIBILIDAD:  Cumple  No Cumple

- Sí  No El paciente está diagnosticado de Migraña según criterios establecidos por la IHS.
- Sí  No El paciente presenta un mínimo de 4 episodios de Migraña al mes y un máximo de 14.
- Sí  No Edad: entre 18 y 60 años.
- Sí  No Actividad Enzimática DAO < 80 HDU/ml
- Sí  No Sintomatología presente durante un mínimo de 6 meses previos a la firma del consentimiento.
- Sí  No Consentimiento Informado por escrito, firmado y fechado por el paciente.
- Sí  No El paciente no padece desórdenes psiquiátricos ni alcoholismo.
- Sí  No El paciente no está diagnosticado de hipertensión, ansiedad, obesidad o epilepsia, ni está en tratamiento para ello con ninguna de la medicación listada en el Anexo I del protocolo.
- Sí  No El paciente no utiliza la medicación listada en el Anexo I del protocolo.
- Sí  No El paciente no está utilizando ningún otro agente en investigación.
- Sí  No En el caso de que el paciente sea mujer, no está embarazada ni en periodo de lactancia.
- Sí  No En el caso de que el paciente sea mujer, la paciente utiliza un método fiable de control de natalidad.
- Sí  No La moral/religión del paciente permite el consumo de productos de origen porcino.

Si todas las respuestas anteriores son Sí, el paciente cumple con los Criterios de Elegibilidad.

---

**5. HISTORIA CLÍNICA:**

4.1. Fecha de Nacimiento: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_\_\_

4.2. Sexo:  Hombre  Mujer

4.3. Antecedentes familiares de Fibromialgia, Eczema atópico, Cólon Irritable y Urticaria crónica:

- Antecedentes **Fibromialgia**:  SI  NO  
(En caso de que la respuesta sea sí, indicar relación familiar)

\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

- Antecedentes **Eczema atópico**:  SI  NO  
(En caso de que la respuesta sea sí, indicar relación familiar)

\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

- Antecedentes **Colon Irritable**:  SI  NO  
(En caso de que la respuesta sea sí, indicar relación familiar)

\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

- Antecedentes **Urticaria crónica**:  SI  NO  
(En caso de que la respuesta sea sí, indicar relación familiar)

\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

---

- Antecedentes Migraña:     SI     NO  
(En caso de que la respuesta sea sí, indicar relación familiar)

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

**6. ENFERMEDADES Y TRATAMIENTOS ACTUALES:**

- No
- Sí    (En caso de que la respuesta sea sí, responder a las siguientes preguntas:)

➤ Enfermedad diagnosticada: \_\_\_\_\_

Fecha de diagnóstico: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_\_\_

Tratamiento farmacológico: \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

➤ Enfermedad diagnosticada: \_\_\_\_\_

Fecha de diagnóstico: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_\_\_

Tratamiento farmacológico: \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

1. FECHA VISITA: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_\_\_

2. EXPLORACIÓN FÍSICA:

2.1. Peso:    (Kg)

2.2. Altura:    (cm)

2.3. Tensión Arterial:

- Sistólica:    (mm Hg)      - Diastólica:    (mm Hg)

3. EPISODIOS DE MIGRAÑA:

3.1. Número de Episodios de Migraña en el último mes: \_\_\_\_\_

3.2. Tabla resumen de episodios:

Episodio Nº:	Duración (horas: minutos)	Intensidad (de 0 a 10)	Náuseas /Vómitos/ Diarrea/Estreñimiento	Medicación utilizada	Consumo alimentos inhibidores
1.					
2.					
3.					
4.					
5.					
6.					
7.					
8.					
9.					
10.					
11.					

12.					
13.					
14.					
15.					
16.					
17.					
18.					
19.					
20.					

**4. OTRAS VARIABLES DE ESTUDIO:**

4.1. Depresión:  Sí  No

Mejoría? \_\_\_\_\_

4.2. Ansiedad:  Sí  No

Mejoría? \_\_\_\_\_

4.3. Trastornos del Sueño:

➤ ¿Padece Insomnio?  Sí  No

Si la respuesta es sí, ¿recibe tratamiento? \_\_\_\_\_

➤ Tipo de Insomnio:

de Inicio  de Mantenimiento  de Última Fase

➤ Calidad del sueño :

0 |----|----|----|----|----|----|----|----|----| 10

4.4. Actividad sexual:

➤ Actividad:  Sí  No

---

➤ Presencia de deseo sexual:  Sí  No

4.5. Dificultad de concentración:  Sí  No

➤ Frecuencia: \_\_\_\_\_

4.6. Sequedad cutánea o atopía:  Sí  No

➤ Valoración (del 0 al 10): \_\_\_\_\_

4.7. Dolor muscular:  Sí  No

➤ Valoración (del 0 al 10): \_\_\_\_\_

4.8. Astenia:  Sí  No

➤ Valoración (del 0 al 10): \_\_\_\_\_

4.9. Prurito:  Sí  No

➤ Valoración (del 0 al 10): \_\_\_\_\_

4.10. Hipotensión:  Sí  No

➤ Valoración (del 0 al 10): \_\_\_\_\_

**5. SUPLEMENTACIÓN ENZIMÁTICA:**

Numero de envase dispensado: \_\_\_\_\_

*(Recuerde al paciente que deberá devolver todas las capsulas que no haya utilizado junto con el envase, durante la siguiente visita)*

**6. ACONTECIMIENTOS ADVERSOS:**

- El paciente ha experimentado algún Acontecimiento Adverso (AA)?  Sí  No
- Si la respuesta es Sí, documente los AA en el apartado correspondiente