



UNIVERSIDADE DA CORUÑA

FACULTADE DE CIENCIAS DA SAÚDE

MESTRADO EN ASISTENCIA E INVESTIGACIÓN SANITARIA

ESPECIALIDADE: INVESTIGACIÓN CLÍNICA

Curso académico 2017 - 18

TRABALLO DE FIN DE MESTRADO

**Actividad de la enzima diaminoxidasa en pacientes con rinitis alérgica  
(estudio DAO-RIN): Resultados preliminares**

**Miguel Mayo Yáñez**

**19 de Julio de 2018**



**TÍTULO:** Actividad de la enzima diaminoxidasa en pacientes con rinitis alérgica (estudio DAO-RIN): Resultados preliminares

**TITLE:** Activity of the enzyme diaminoxidase in patients with allergic rhinitis (DAO-RIN study): Preliminary results

**TÍTULO:** Actividade da enzima diaminoxidasa en pacientes con rinite alérxica (estudo DAO-RIN): resultados preliminares

**TUTORA:** María Graciela María Graciela Estévez Pérez



## ÍNDICE

RESUMEN.....	3
1. INTRODUCCIÓN.....	6
2. OBJETIVOS .....	10
2.1. Objetivo general del estudio .....	10
2.2. Secundarios.....	10
3. MATERIAL Y MÉTODOS.....	10
3.1. Diseño del estudio.....	10
3.2. Selección de pacientes candidatos .....	10
3.3. Criterios de inclusión.....	10
3.4. Criterios de exclusión.....	11
3.5. Criterios de finalización y de interrupción.....	11
3.6. Tamaño muestral.....	11
3.7. Análisis estadístico.....	12
3.8. Selección y manejo inicial de los participantes.....	12
3.9. Variables del estudio.....	12
3.10. Cronograma.....	13
3.11. Plan de difusión .....	14
4. COSTES .....	14
5. ASPECTOS ÉTICOS .....	15
5.1. Consideraciones generales .....	15
5.2. Consentimiento informado .....	15
5.3. Confidencialidad .....	16
5.4. Conflicto de intereses .....	17
6. RESULTADOS.....	17
6.1. Características sociodemográficas.....	17
6.3. <i>Peakflow</i> nasal inspiratorio .....	19
6.4. Severidad de sintomatología .....	20
7.5 Calidad de vida <i>ESPRINT-15</i> .....	21
7. DISCUSIÓN.....	23
8. BIBLIOGRAFÍA.....	25
9. ANEXO 1 .....	29
MODELO DOCUMENTO DE INFORMACIÓN AL PACIENTE .....	29

## RESUMEN

**Introducción:** La rinitis es una inflamación del revestimiento mucoso de la nariz caracterizada por: rinorrea, estornudos, picor nasal, congestión nasal, secreción postnasal. La histamina es una de los principales mediadores de esta patología. La intolerancia a la histamina resulta de un desequilibrio de la histamina acumulada y la capacidad para su degradación, siendo su causa principal un déficit en la degradación de la histamina causado por un error en la función enzimática de la DAO. El objetivo de este estudio es identificar la prevalencia de déficit en la actividad de la DAO en pacientes con rinitis alérgica.

**Material y métodos:** Estudio descriptivo y analítico observacional de corte transversal con pacientes diagnosticados de rinitis alérgica reclutados de manera consecutiva de las consultas externas de Otorrinolaringología del Complejo Hospitalario Universitario A Coruña.

**Resultados:** Un total de 105 pacientes con rinitis alérgica fueron reclutados, 33.33 % hombres y 66.67 % mujeres. La prevalencia de déficit de actividad DAO en pacientes con rinitis alérgica fue del 46.3% (IC95% 0.44 – 0.63). El *peakflow* nasal inspiratorio en pacientes con déficit de la actividad DAO fue de  $80.40 \pm 31.87$  L/ min frente a los  $91.72 \pm 39.83$  L/ min de los pacientes con actividad enzimática normal ( $p = 0.081$ ).

**Discusión:** El análisis preliminar de los resultados mostró que alrededor de la mitad de los pacientes con rinitis alérgica padecen de manera concomitante déficit de actividad DAO, no existiendo estudios previos que puedan servir de comparación en este tipo de población. La diferencia existente entre el flujo inspiratorio en pacientes con actividad normal frente a pacientes con déficit de actividad no resultó estadísticamente significativa. A pesar de ello, estas diferencias sí pueden ser clínicamente significativas, por lo que estos resultados preliminares deben ser tomarlos con prudencia y realizar un nuevo análisis cuando se obtenga el tamaño muestral.

**Introduction:** Rhinitis is an inflammation of the mucous lining of the nose characterized by: rhinorrhea, sneezing, nasal itching, nasal congestion, postnasal secretion. Histamine is one of the main mediators of this pathology. The histamine intolerance results from an imbalance of accumulated histamine and the capacity for its degradation, being its main cause a deficit in the degradation of histamine caused by an error in the enzymatic function of the DAO. The objective of this study is to identify the prevalence of deficit in the activity of DAO in patients with allergic rhinitis.

**Material and methods:** Cross-sectional descriptive and analytical observational study with patients diagnosed with allergic rhinitis consecutively recruited from the Otorhinolaryngology department of the Complejo Hospitalario Universitario A Coruña.

**Results:** A total of 105 patients with allergic rhinitis were recruited, 33.33% men and 66.67% women. The prevalence of DAO activity deficit in patients with allergic rhinitis was 46.3% (CI95% 0.44 - 0.63). The inspiratory nasal peakflow in patients with a deficit in DAO activity was  $80.40 \pm 31.87$  L/ min compared to  $91.72 \pm 39.83$  L/ min in patients with normal enzymatic activity ( $p = 0.081$ ).

**Discussion:** The preliminary analysis of the results showed that about half of the patients with allergic rhinitis concomitantly suffer a deficit of DAO activity, and there are no previous studies that can be used as a comparison in this type of population. The difference between inspiratory flow in patients with normal activity versus patients with activity deficit was not statistically significant. In spite of this, these differences can be clinically significant, so these preliminary results should be taken prudently and perform a new analysis when the sample size is obtained.

**Introdución:** A rinite é unha inflamación do revestimento mucoso do nariz, caracterizado por: rinorreia, espirros, prurido nasal, conxestión nasal e goteo post-nasal. A histamina é un dos principais mediadores desta patoloxía. A intolerancia a histamina resulta dun desequilibrio entre a histamina acumulada e a capacidade de degradación, sendo a súa principal causa un déficit na degradación de histamina causada por un erro na función enzimática da DAO. O obxectivo deste estudo é identificar a prevalencia de déficit na actividade da DAO en pacientes con rinite alérxica.

**Material e métodos:** Estudo observacional de tipo transversal descritivo e analítico con pacientes diagnosticados de rinite alérxica recrutados consecutivamente das consultas de Servizo de Otorrinolaringoloxía do Complexo Hospitalario Universitario A Coruña.

**Resultados:** Un total de 105 pacientes con rinite alérxica foron reclutados, 33,33% homes e 66,67% mulleres. A prevalencia do déficit de actividade DAO en pacientes con rinite alérxica foi do 46,3% (IC do 95%: 0,44 a 0,63). O *peakflow* nasal inspiratorio en pacientes con déficit de actividade DAO foi  $80,40 \pm 31,87$  L/ min contra  $91,72 \pm 39,83$  L/ min en doentes con actividade enzimática normal ( $p = 0,081$ ).

**Discusión:** A análise preliminar dos resultados mostrou que preto da metade dos pacientes con rinite alérxica sofren concomitantemente déficit da actividade DAO, non existindo estudos previos que poden servir de comparación para esta poboación. A diferenza entre o fluxo inspiratorio en pacientes con actividade normal fronte a pacientes con déficit de actividade non foi estadísticamente significativo. Con todo, estas diferenzas en si pode ser clínicamente significativas, polo que estes resultados preliminares debe ser tomados con precaución e realizar unha nova análise, cando o tamaño da mostra sexa obtida.

## 1. INTRODUCCIÓN

La rinitis es una inflamación del revestimiento mucoso de la nariz que se define por su presentación clínica, caracterizada por cinco síntomas cardinales: rinorrea, estornudos, picor nasal, congestión nasal, secreción postnasal. Tradicionalmente se ha dividido en dos formas, alérgica y no alérgica. En la forma alérgica se detecta IgE específica contra aeroalérgenos, mientras que la no alérgica engloba a todas las rinitis en las que no se detecta IgE específica (1).

Se estima que entre el 10 y el 40% de la población de los países industrializados padece rinitis si nos basamos en encuestas epidemiológicas (2). Esta patología reduce la calidad de vida y el rendimiento escolar y laboral, siendo un motivo frecuente de visitas a la consulta en la práctica general, así como de grandes costos evitables.

El picor nasal, uno de los síntomas principales de la rinitis, se ha estudiado durante décadas sin llegar a conocer la fisiopatología con exactitud. Muchos mediadores, tanto centrales como periféricos, han sido puestos en relación, siendo la histamina uno de los persistentes candidatos y el más estudiado a lo largo de décadas (3).

Estos mediadores pueden actuar directamente en las terminaciones nerviosas libres o indirectamente induciendo la liberación del contenido de los mastocitos o potenciando otros mediadores (4). Se sabe que el picor es iniciado y mediado por las neuronas sensitivas primarias con soma en el ganglio de la raíz dorsal (GRD) y ganglio trigeminal, siendo las neuronas de pequeño diámetro del GRD, con axones amielínicos (fibras-C), el principal tipo involucrado.

Estudios recientes han descrito dos grandes maneras de transmisión del picor: una histamina-dependiente y otra histamina-independiente. En la segunda actuarían sistemas que incluyen proteasas, neuropéptidos, citoquinas, opioides, termorreceptores, receptores activados por proteinasas (PARs), etc. los cuales se encargarían de activar fibras-C.

Aunque el papel fisiopatológico de la histamina en el prurito se ha estudiado rigurosamente, la vía precisa de señalización corriente abajo requerida para la acción excitadora sobre las neuronas sensoriales no se conoce con exactitud (5). Se han postulado, dentro del grupo histamina-dependiente, dos vías

histaminérgicas del prurito: la “Trasient Receptor Potential Vanilloid-1” (TRPV1)-dependiente y la TRPV1-independiente (6).

El TRPV1 (también conocido como VR1, receptor vaniloide / capsaicina o OTRPC1) es un receptor del nervio sensitivo, miembro de una superfamilia de canales iónicos transmembrana relacionados estructuralmente. TRPV1 es activado por varios estímulos fisiológicos incluyendo la capsaicina, el calor, el pH bajo, el estrés osmótico y por mediadores inflamatorios endógenos, tales como histamina, prostaglandinas y lipoxigenasas. Se expresa particularmente en los nociceptores C no mielínicos y está presente en las vías respiratorias altas, donde se ha confirmado su localización en las neuronas sensitivas del trigémino que inervan el epitelio y subepitelio de la mucosa nasal. Su expresión se encuentra aumentada en la inflamación crónica y se ha demostrado que contribuye en el desarrollo de hipersensibilidad, broncoconstricción y tos en las vías respiratorias inferiores y superiores (7,8).

Por tanto, la histamina ejerce sus efectos de manera directa uniéndose a sus cuatro receptores (H1R, H2R, H3R y H4R) en las diferentes células diana (4,9) y a través de las fibras-C amielínicas histamina-sensibles, siendo esta última la vía TRPV1 independiente. Entre estas fibras, la histamina preferentemente excita fibras primarias aferentes mecano-insensibles que van por el tracto espinotalámico en la lámina superficial del cordón espinal (3–5).

Los receptores histaminérgicos (HR) son miembros de la familia de receptores acoplados a proteína-G (GPCR). El H1R es el principal receptor en relación con el prurito (6), estimulando los canales TRPV1, activando así la vía fosfolipasa A2/lipoxigenasa (PLA2/lo) (10,11). Por otro lado, existe poca evidencia sobre la involucración del H2R y el H3R en el prurito y su papel continua en debate (6,12,13). Actualmente se está estudiando en profundidad el último receptor encontrado, el H4R, el cual podría tener un papel clave en el proceso de inflamación (14).

La histamina puede ser metabolizada de dos maneras: por deaminación oxidativa gracias a la diamino-oxidasa (DAO, también conocida como histaminasa) o por metilación en anillo por la histamina-N-methyltransferasa (HNMT). La DAO es la enzima más importante en el metabolismo de la histamina

ingerida (9). En los mamíferos se expresa en unos tejidos específicos, sobre todo intestino delgado, colon ascendente, placenta y riñón. Quedando almacenada en vesículas asociadas a la membrana plasmática hasta que es necesaria, momento en el que es secretada a la circulación (figura 1). Por esta razón, se ha propuesto que la DAO es la responsable de degradar la histamina extracelular (p. e. tras una comida rica en histamina) (9), así como de la formada de manera fisiológica por las bacterias intestinales (15).

La intolerancia a la histamina (HIT) o histaminosis alimentaria pertenece al grupo de reacciones de hipersensibilidad no IgE-mediadas. Resulta de un desequilibrio de la histamina acumulada y la capacidad para su degradación. La causa principal es un déficit en la degradación de la histamina causado por un error genético o adquirido en la función enzimática de la DAO o HNMT. Recientemente se han asociado dos “*single nucleotide polymorphism*” (SNPs) con una reducción de su actividad y con la HIT (16). Se calcula que aproximadamente un 1% de la población la padece, siendo el 80% mujeres adultas (9,15,16).

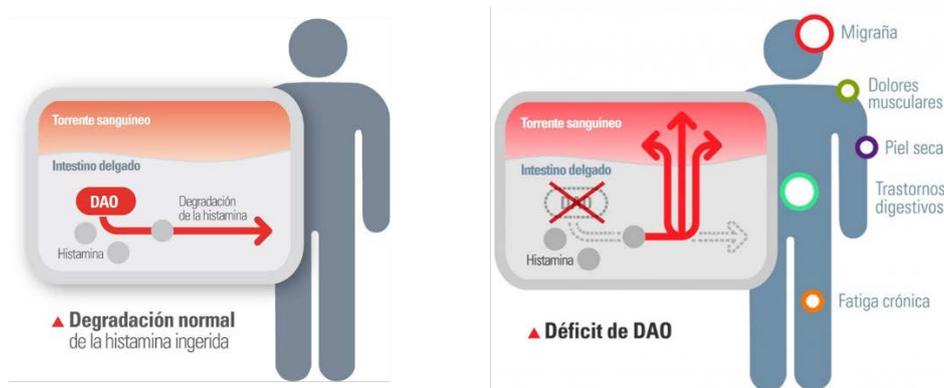


Fig. 1 – Esquema de mecanismo del ciclo de la histamina exógena y de cómo por la falta de actividad de la DAO se produce su paso al torrente sanguíneo.

La ingestión de comida rica en histamina (productos con fermentación microbiana como el queso, carne procesada, tomate, espinacas, pescado azul, etc. (17,18)), de alcohol o fármacos que liberen histamina o bloqueen la DAO en estos pacientes e incluso en gente sana (15,19), puede provocar síntomas en diversos órganos (sistema gastrointestinal, sistema cardiovascular, sistema nervioso, sistema respiratorio, etc.), dependiendo de la expresión de los receptores de histamina (H1-H4) en ellos (20) (figura 2). Debido a esta

variabilidad de síntomas la existencia de HIT es frecuentemente infraestimada (9,15).

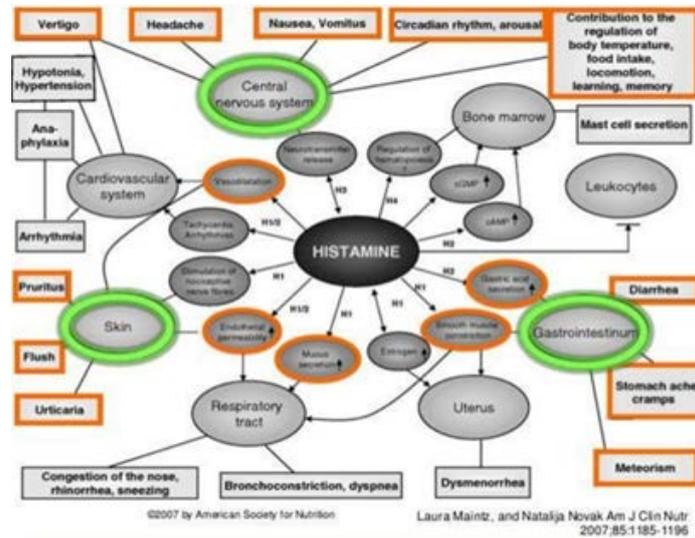


Fig. 2 – Relación existente entre la histamina y los diferentes aparatos y sistemas del organismo y su traducción sintomatológica.

Dado que la histamina es un importante mediador de síntomas de la reacción alérgica clásica tipo I (Ig-E mediada) de hipersensibilidad, es difícil diferenciar dicha reacción de la HIT, que tiene básicamente las mismas manifestaciones clínicas. A diferencia de la IgE-mediada donde pequeñas cantidades de antígeno provocan síntomas, en la HIT la cantidad acumulada es la que juega un papel clave (15).

La migraña y su relación con el déficit DAO es de las patologías debidas a la HIT más estudiadas. Recientemente se ha demostrado la eficacia del tratamiento sustitutivo de DAO como prevención de las migrañas en personas con déficit de su actividad (21). También se ha observado que la suplementación con DAO o la dieta baja en histamina reducen significativamente los síntomas relacionados con la HIT (22–24). Curiosamente existen estudios donde hay correlación entre la prevalencia de la migraña y la rinitis (25).

Partiendo de estas premisas, el objetivo de este estudio es identificar la prevalencia de déficit en la actividad de la DAO en pacientes con rinitis alérgica (RA).

## 2. OBJETIVOS

### 2.1. Objetivo general del estudio

Estimar la prevalencia del déficit de actividad de la enzima DAO en pacientes diagnosticados de rinitis alérgica.

### 2.2. Secundarios

- Evaluar el grado de obstrucción nasal de manera objetiva mediante el *peakflow* nasal inspiratorio en función de la actividad DAO.
- Evaluar la severidad de la rinitis alérgica en función de la actividad DAO
- Evaluar la calidad de vida en pacientes con rinitis alérgica en función de la actividad DAO mediante el cuestionario ESPRINT-15.

## 3. MATERIAL Y MÉTODOS

### 3.1. Diseño del estudio

Estudio descriptivo y analítico observacional de corte transversal.

### 3.2. Selección de pacientes candidatos

Los pacientes candidatos fueron reclutados, según cumplieron los criterios de inclusión, de manera consecutiva de las consultas externas del Servicio de Otorrinolaringología – Cirugía de Cabeza y Cuello del Complejo Hospitalario Universitario de A Coruña.

### 3.3. Criterios de inclusión

- Sujetos diagnosticados de RA por el Servicio de Otorrinolaringología – Cirugía de Cabeza y Cuello del Complejo Hospitalario Universitario de A Coruña según los criterios diagnósticos de la guía clínica ARIA (2).
- Pacientes que, tras haber recibido información sobre el diseño, los fines del proyecto, los posibles riesgos que de él pudieran derivarse, y de que en cualquier momento podrían denegar su colaboración, otorgasen por escrito su consentimiento para participar en el estudio.
- No presentar deformidades nasales grave.

- Sujetos que no estén tomando la enzima DAO.
- Mujeres no embarazadas.

#### 3.4. Criterios de exclusión

- Pacientes diagnosticados de rinitis mixta.
- Sospecha de consumo de drogas.
- Participación en algún estudio con fármacos en investigación en los 3 meses previos.
- Paciente que bajo el punto de vista del facultativo no seguirá las instrucciones del estudio.
- Pacientes que estén a tratamiento con amitriptilina, cimetidina, dobutamina, verapamilo, aspirina o alprenolol.

#### 3.5. Criterios de finalización y de interrupción

El protocolo de investigación contempló que los abandonos del estudio fueran por decisión propia de los participantes, del investigador o por algún acontecimiento adverso grave relacionado con las pruebas complementarias realizadas. No se reemplazarían aquellos sujetos y sería debidamente recogido el motivo de abandono.

No han existido abandonos hasta el momento.

#### 3.6. Tamaño muestral

Una muestra aleatoria de 259 individuos es suficiente para estimar, con una confianza del 95% y una precisión de +/- 5 unidades porcentuales, un porcentaje poblacional que previsiblemente será de alrededor del 20%. En porcentaje de reposiciones necesaria se ha previsto que será del 5%.

Actualmente se han reclutado 105 pacientes y la inclusión de nuevos participantes continua, por lo que los datos presentados se tratan de un análisis preliminar.

### 3.7. Análisis estadístico

Usando el paquete estadístico R 3.4.2 (The R Foundation for Statistical Computing®), se realizó un análisis descriptivo de las características de los pacientes y de las puntuaciones de las escalas utilizadas. Las variables cuantitativas se expresaron como media  $\pm$  desviación estándar, mediana y rango según procediera. Las variables cualitativas fueron descritas con valor absoluto y porcentaje. Se utilizó la prueba de Chi-cuadrado de homogeneidad. Para la comparación de medias entre grupos se aplicaron pruebas paramétricas (t de Student y ANOVA) para variables que verificaron la hipótesis de normalidad (test de Shapiro-Wilk) y para la comparación de varianzas el test de Levene. En los casos que la no normalidad resultó significativa se aplicaron métodos no paramétricos (test de Wilcoxon y test de Kruskal Wallis).

### 3.8. Selección y manejo inicial de los participantes

Tras ser diagnosticados de RA, y asegurarse del cumplimiento de los criterios de inclusión a los pacientes se les ofreció la posibilidad de participar en el estudio.

En las personas que firmasen el consentimiento se procedió a recolectar las variables sociodemográficas y a realizar una extracción de sangre para saber el grado de actividad de la enzima DAO. Además, se realizó:

- Cuestionario ESPRINT-15 (2,26).
- Escala EVA (2,27).
- *Peakflow* nasal inspiratorio (28).

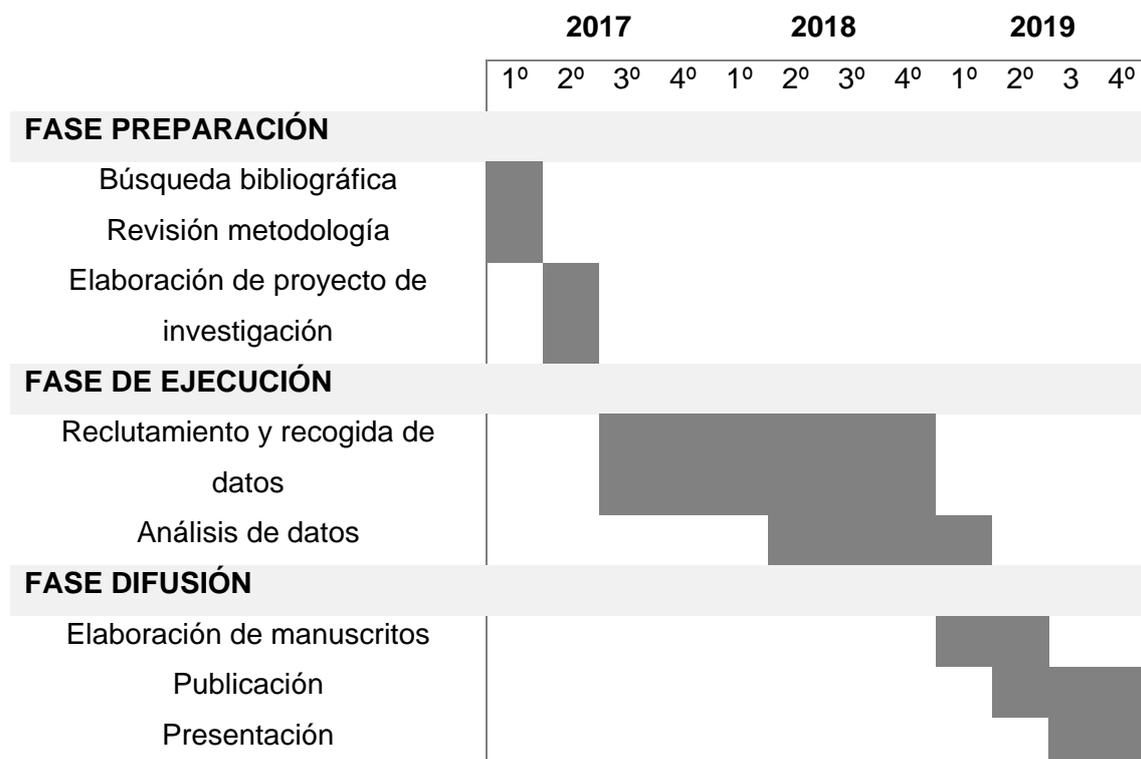
### 3.9. Variables del estudio

- Variables sociodemográficas (fecha de nacimiento, sexo, raza)
- Calidad de vida según el ESPRINT-15.
- Escala EVA de severidad de rinitis y de sintomatología en particular.
- Tratamientos habituales.
- Nivel actividad DAO, medido mediante enzimo-inmunoanálisis.
- Grado obstrucción nasal mediante *peakflow* nasal inspiratorio.

Para la valoración del déficit de actividad de la enzima DAO se usó un test que evalúa la actividad de la enzima DAO en sangre mediante una técnica de radioinmunoanálisis (29). Dicho test se realiza en el Laboratorio Reference S. L., de Barcelona. La actividad se considera reducida por debajo de 80 unidades degradantes de histamina (H DU) y muy reducida por debajo de 40 H DU/ mL. Los requisitos son:

- Muestra: 1 mL de plasma EDTA, separar rápidamente y congelar a  $-20^{\circ}\text{C}$ . Conservar/transportar congelada.
- Ayuno de 8 horas. Suspender medicación inhibidora de la DAO. No realizar durante el embarazo.

### 3.10. Cronograma



## 3.11. Plan de difusión

Publicación en revistas científicas	
Publicaciones nacionales	
Revista	Factor de impacto
"Acta de la Sociedad Española de Otorrinolaringología". ISSN :0001-6519 Institución: Sociedad Española de Otorrinolaringología y Cirugía de Cabeza y Cuello (SEORL CCC) y de la Academia Iberoamericana de Otorrinolaringología.	0.28
Publicaciones internacionales	
Revista	Factor de impacto
"European Archives of Oto-Rhino-Laryngology and Head and Neck". ISSN: 0937-4477	1.66
"Rhinology". Official organ of the international and european Rhinologic Societies". ISSA 0300-0729.	2.35
Difusión en congresos	
"70 Congreso Nacional de la Sociedad Española de Otorrinolaringología – Cirugía de Cabeza y Cuello" (Santiago de Compostela. 4-7 Octubre de 2019).	

## 4. COSTES

La totalidad de los gastos derivados de la realización de pruebas analíticas y la aportación de la suplementación fue asumido por el laboratorio DR Healthcare S. L., con sede en C/ Escuelas Pías, 49, 08017 - Barcelona (ESPAÑA). Mismo laboratorio que actualmente comercializa el Daosin®, tratamiento sustitutivo del déficit de actividad enzimática.

## 5. ASPECTOS ÉTICOS

### 5.1. Consideraciones generales

Este estudio se desarrolla de acuerdo con el protocolo y con las normas de Buena Práctica Clínica (GCP), tal como se describe en:

- Normas Tripartitas Armonizadas de la ICH para Buena Práctica clínica 1996. Directiva 91/507/EECC: Normas sobre Buena Práctica Clínica para ensayos con productos médicos en la Comunidad Europea.
- Declaración de Helsinki referente a la investigación médica en seres humanos ("Recomendaciones para los médicos que participan en investigación biomédica con seres humanos"). Puede accederse a ella a través de la página web de la Organización Médica Mundial <http://www.wma.net/e/policy/b3.htm>.
- Marco legal, según las leyes:
  - o Ley 14/2007 (LIB)
  - o RD 1716/2011 (Muestras biológicas)
  - o Ley 41/2002 (Historia clínica)
  - o Ley Orgánica 15/1999 (LOPD)

Este protocolo de estudio ha recibido el informe favorable del CEI (Coruña-Ferrol) así como del Comité Autonómico de Ética de la Investigación de Galicia y la conformidad/ Contrato con el centro (CHUAC) a través de la Gerencia de Gestión Integrada de A Coruña.

El investigador accedió, con la firma de este protocolo, a seguir las instrucciones y procedimiento descritos en el mismo y por lo tanto cumplirá los principios de Buena Práctica Clínica en los cuales se basa.

### 5.2. Consentimiento informado

El investigador debe explicar a cada paciente (o representante legalmente autorizado) la naturaleza del estudio, sus propósitos, procedimientos, duración prevista y los potenciales riesgos y beneficios relacionados con la participación en el estudio, así como cualquier inconveniente que este le pueda suponer. Cada

uno de los participantes debe ser advertido de que su participación en el estudio es voluntaria y de que puede abandonarlo en cualquier momento, sin que esto afecte a su tratamiento médico posterior, ni a su relación con el médico que le trata. Esta información se le facilita por escrito a cada candidato a participar (Anexo 1).

El consentimiento informado es proporcionado mediante un escrito estándar, en lenguaje fácilmente comprensible para el participante. El paciente ha de escribir su nombre y el del médico informante de su puño y letra y, fechar y firmar el consentimiento informado, así como recibir una copia del documento firmado.

Si el sujeto no pudiera leer o firmar los documentos se realiza una presentación oral en presencia de al menos un testigo o se obtiene la firma del representante legal autorizado del sujeto, siempre que lo presencie un testigo no involucrado en el estudio y se mencione en el mismo documento y/o historia clínica.

Cuando quien haya de otorgar el consentimiento sea una persona con discapacidad, la información se le ofrece en formatos adecuados, según las reglas marcadas por el principio de diseño para todos, de manera que le resulte accesible y comprensible, y se arbitrarán las medidas de apoyo pertinentes para favorecer que pueda prestar por sí su consentimiento (RD 223/2004 y su modificación, RD 1276/2011).

Ningún paciente puede ser incluido en el estudio sin haber otorgado previamente su consentimiento informado.

Cualquier cambio en el consentimiento informado propuesto por el investigador debe ser aprobado por el CEIC/CEI.

### 5.3. Confidencialidad

Mediante la firma del protocolo, el investigador se compromete a mantener toda la información proporcionada en estricta confidencialidad y de que insistirá en el mantenimiento de la misma por parte de su equipo y del CEIC/CEI. Los documentos del estudio proporcionados (protocolos, manual del investigador, cuadernos de recogida de datos y otros materiales) deberán ser guardados convenientemente para asegurar su confidencialidad.

#### 5.4. Conflicto de intereses

El investigador principal del estudio y el resto de investigadores del mismo, declaran no tener ningún tipo de conflicto de interés. Así como ningún tipo de vinculación contractual/económica con el laboratorio DR Healthcare S. L. ni con el Laboratorio Reference S. L.

## 6. RESULTADOS

### 6.1. Características sociodemográficas

Un total de 105 pacientes con rinitis alérgica fueron reclutados. De estos, 36 eran hombres (33.33 %) y 72 (66.67 %) mujeres. La edad media del conjunto fue de  $32.91 \pm 12.8$  años. Atendiendo al sexo, fue de  $34.15 \pm 11.79$  años para los hombres, y de  $32.28 \pm 13.31$  años para las mujeres ( $p = 0.323$ ).

El 64.15 % de la población era no fumadora, el porcentaje restante se dividía entre los fumadores (16.68 %) y los exfumadores (18.87 %). Analizando el hábito tabáquico en cuanto al sexo no se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas ( $p = 0.062$ ), la distribución puede apreciarse en la tabla 1.

Tabla 1 – Distribución del hábito tabáquico según el sexo.

	HOMBRE	MUJER
	N (%)	N (%)
<b>NO FUMADOR</b>	22 (20.8)	46 (43.4)
<b>FUMADOR</b>	10 (9.4)	8 (7.5)
<b>EXFUMADOR</b>	4 (3.8)	16 (15.1)

### 6.2. Actividad degradadora de histamina de la enzima DAO

La prevalencia de déficit de actividad DAO en pacientes con rinitis alérgica fue del 46.3% (IC95% 0.44 – 0.63). La media de la determinación en sangre de la actividad de la enzima DAO fue de  $91.20 \pm 40.81$  HDU/ mL, siendo de  $96.66 \pm 37.88$  HDU/mL en los hombres y de  $88.47 \pm 42.19$  HDU/ mL en las mujeres ( $p = 0.100$ ). Dividiendo a la población según la determinación analítica, la actividad degradadora fue de  $118.29 \pm 37.49$  HDU/ mL en el grupo con actividad normal

frente a  $59.77 \pm 11.19$  HDU/ mL en el grupo con déficit ( $p < 0.000$ ) (figura 3). El resto de los valores de actividad se encuentran descritos en la tabla 2.

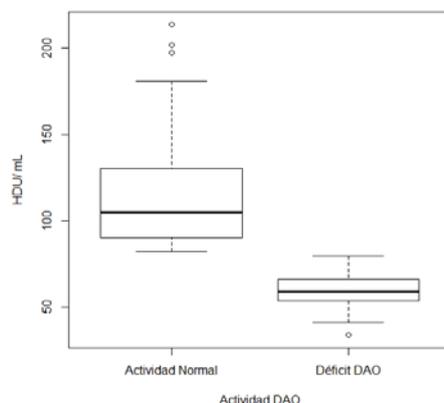


Fig. 3 – Actividad degradadora de histamina en pacientes con rinitis alérgica.

Tabla 2. Valores de actividad DAO

	N (%)	HDU/ ML (MEDIA $\pm$ DE)	P-VALOR
<b>ACTIVIDAD DAO POBLACIÓN</b>	108	91.20 $\pm$ 40.81	
<b>DÉFICIT DAO</b>	50 (46.3)	59.77 $\pm$ 11.19	
<b>ACTIVIDAD DAO NORMAL</b>	58 (53.7)	118.29 $\pm$ 37.49	< 0.000
<b>HOMBRES</b>	36 (33.33)	96.66 $\pm$ 37.88	
<b>MUJERES</b>	72 (66.67)	88.47 $\pm$ 42.19	0.100
<b>ACTIVIDAD NORMAL</b>			
<b>HOMBRES</b>	26 (24.1)	112.89 $\pm$ 30.95	
<b>MUJERES</b>	32 (29.6)	122.68 $\pm$ 42.04	0.531
<b>DÉFICIT DAO</b>			
<b>HOMBRES</b>	10 (9.3)	54.47 $\pm$ 13.44	
<b>MUJERES</b>	40 (37)	61.09 $\pm$ 10.33	0.101

Atendiendo al hábito tabáquico, no parecen existir diferencias en la prevalencia del déficit enzimático ( $p = 0.885$ ) (Tabla 3) ni en los niveles de actividad en el grupo con déficit ( $p = 0.453$ ). Si parece existir una diferencia estadísticamente

significativa en el grupo con actividad normal ( $p = 0.014$ ), donde los pacientes no fumadores obtuvieron una media de actividad de  $109.18 \pm 32.77$  HDU/ mL frente a los  $128.36 \pm 15.95$  HDU/ mL de los fumadores y los  $137.24 \pm 53.89$  HDU/ mL de los exfumadores.

Tabla 3. Prevalencia del déficit de actividad DAO según el hábito tabáquico.

	EXFUMADOR	FUMADOR	NO FUMADOR
	N (%)	N (%)	N (%)
<b>ACTIVIDAD NORMAL</b>	12 (60)	10 (55.6)	36 (52.9)
<b>DÉFICIT DAO</b>	8 (40)	8 (44.4)	32 (47.1)

### 6.3. *Peakflow* nasal inspiratorio

La media del *peakflow* nasal inspiratorio de la muestra fue de  $86.48 \pm 36.64$  L/ min, siendo de  $101.38 \pm 39.99$  L/ min para los hombres y de  $79.02 \pm 32.64$  L/min para las mujeres ( $p = 0.001$ ) (Figura 4).

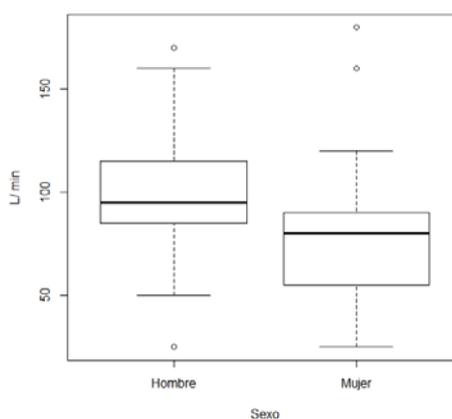


Fig. 4 – Valores del *peakflow* nasal inspiratorio según el sexo.

Atendiendo al hábito tabáquico, el *peakflow* nasal fue de  $91.76 \pm 38.45$  L/ min para los no fumadores,  $91 \pm 34.08$  L/ min para los exfumadores y de  $67.22 \pm 21.97$  L/ min para los fumadores (figura 5). Se encontraron diferencias estadísticamente significativas en el conjunto ( $p = 0.002$ ), siendo estas la existentes entre el grupo de los fumadores y los no fumadores ( $p = 0.027$ ).

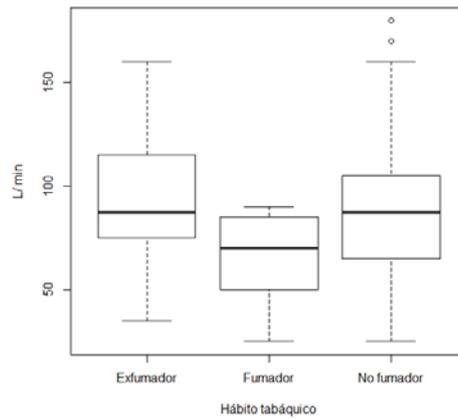


Fig. 5 – Peakflow según hábito tabáquico.

El *peakflow* nasal inspiratorio en pacientes con déficit de la actividad DAO fue de  $80.40 \pm 31.87$  L/ min frente a los  $91.72 \pm 39.83$  L/ min de los pacientes con actividad enzimática normal ( $p = 0.081$ ) (figura 6). Comparando según el sexo, en el grupo de pacientes con déficit DAO el *peakflow* nasal inspiratorio para los hombres fue de  $99.00 \pm 36.4$  L/ min frente a  $75.75 \pm 29.32$  L/ min para las mujeres ( $p = 0.047$ ). En el grupo de actividad normal fue de  $102.30 \pm 41.93$  L/ min para los hombres y  $83.12 \pm 36.45$  L/min para las mujeres ( $p = 0.055$ ).

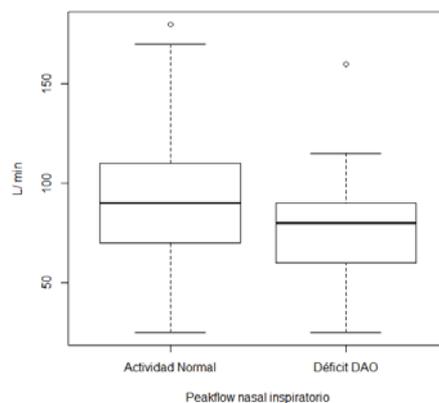


Fig. 6 – Peakflow nasal inspiratorio en función de la actividad DAO

#### 6.4. Severidad de sintomatología

La severidad de la rinitis medida con la escala EVA obtuvo una media de  $6.73 \pm 2.22$  puntos, siendo de  $6.40 \pm 2.2$  para los hombres y de  $6.89 \pm 2.21$  para las mujeres ( $p = 0.264$ ). Teniendo en cuenta otros factores asociados con una mayor

severidad, la posible existencia de diferencias en cuanto al hábito tabáquico fue estudiada, los resultados se muestran en la figura 7 ( $p = 0.316$ ).

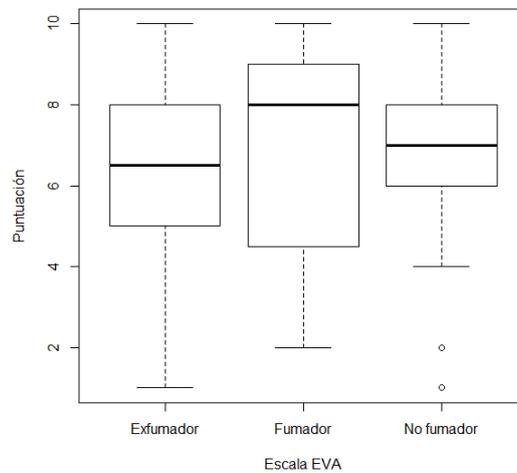


Fig. 7 – Escala de *severidad EVA* según el *hábito tabáquico*.

La severidad de la rinitis, medida mediante la escala EVA fue de  $6.48 \pm 2.36$  para las personas con actividad normal, frente a  $7.04 \pm 2.01$  para las personas con déficit enzimático ( $p = 0.166$ ) (figura 8).

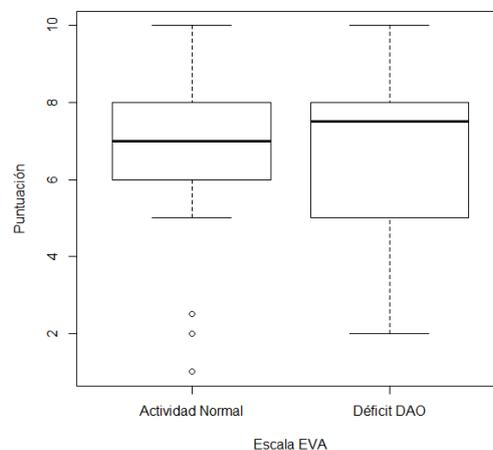


Fig. 8 – Escala de *severidad EVA* según la *actividad enzimática*

### 7.5 Calidad de vida *ESPRINT-15*

La calidad de vida en pacientes con rinitis alérgica, medida con el cuestionario *ESPRINT-15*, obtuvo una puntuación de  $39.89 \pm 18.09$ . Siendo de  $37.12 \pm 19.55$  en los hombres y de  $41.36 \pm 17.25$  en las mujeres ( $p = 0.316$ ). A la pregunta: “¿cómo diría que es su salud?”, el 45.65% de los encuestados refirieron que

buena, el 15.22% muy buena, el 32.61% regular y el 6.52% mala. Ninguno de los encuestados respondió la opción “excelente”. Las diferencias en cuanto al sexo para esta pregunta se reproducen en la figura 9 ( $p = 0.040$ ).

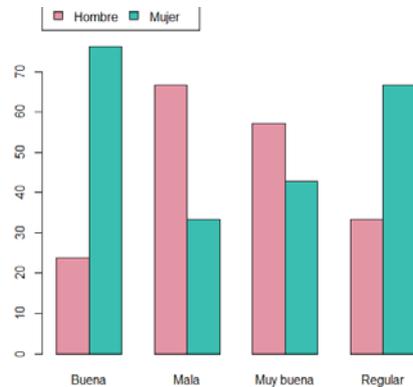


Fig. 9 - Distribución de *¿cómo diría que es su salud?* en cuanto al sexo.

En cuanto a la calidad de vida, según el ESPRINT-15, los pacientes con actividad enzimática normal obtuvieron una puntuación de  $39.59 \pm 19.80$  frente al  $40.31 \pm 15.57$  de los pacientes con actividad disminuida ( $p = 0.814$ ). Por último, en la percepción de la salud en función del grupo DAO existen diferencias estadísticamente significativas ( $p = 0.014$ ), siendo más común que en el grupo con déficit de actividad DAO los participantes refieran un estado de salud “bueno” (57.1% vs. 42.9%), pero con un menor porcentaje de pacientes con un estado de salud “muy buena” o “regular” (28.6% vs. 71.4% y 33.3% vs. 66.7%, respectivamente). Las valoraciones se ilustran en la figura 10. Atendiendo al sexo, en el grupo de pacientes con déficit de actividad, no existen diferencias estadísticamente significativas en cuanto a la percepción de salud ( $p = 0.626$ ).

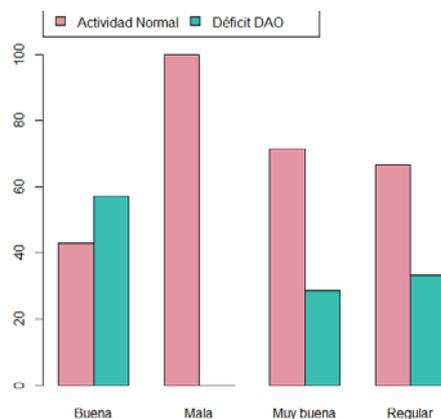


Fig. 10 - Distribución de *¿cómo diría que es su salud?* en cuanto a la actividad DAO

## 7. DISCUSIÓN

La RA se encuentra entre las enfermedades más comunes en todo el mundo y generalmente persiste durante toda la vida (2). Se ha estimado que la prevalencia de RA referida es aproximadamente del 2% al 25% en niños (30) y del 1% a más del 40% en adultos (2). Mientras que la prevalencia de RA confirmada en adultos en Europa varía de 17% a 28.5%.

La histamina fue descubierta justo después del cambio de siglo y rápidamente se hizo conocida como el mediador de reacciones alérgicas y anafilácticas. Los mecanismos de la reacción alérgica están siendo mejor comprendidos y aunque la histamina (liberada por los mastocitos y los basófilos) sigue siendo uno de los principales factores de la reacción alérgica, están implicados muchos otros mediadores producidos por diferentes tipos de células.

Dado que la HIT es el resultado de un desequilibrio de la histamina acumulada y la capacidad para su degradación, cuya causa principal es un déficit en la degradación de la histamina causado por un error genético o adquirido en la función enzimática de la DAO, existe la posibilidad de que esta entidad juegue un papel en la fisiopatología de la RA. Partiendo de esta hipótesis, el objetivo de este estudio fue identificar la prevalencia de déficit en la actividad de la DAO en pacientes con rinitis alérgica, siendo el primero realizado en este tipo de población.

El análisis preliminar de los resultados mostró que alrededor de la mitad de los pacientes con RA padecían de manera concomitante déficit de actividad DAO. No existen estudios previos que puedan servir de comparación en este tipo de población. Atendiendo a otras patologías enmarcadas dentro del espectro del déficit DAO si estudiadas, como la migraña o la dermatitis atópica, se puede apreciar que los valores de prevalencia son muy variables, situándose en el 80-90% en pacientes con migraña (21) y en el 20% en pacientes con dermatitis atópica (23), diferenciándose de los hallados en este estudio. En cuanto a la distribución del sexo sí que parece concordar con la literatura previa, con un claro predominio del sexo femenino.

En lo referente al flujo de aire inspirado, medido mediante el *peakflow* nasal inspiratorio, se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas en cuanto

al sexo. Estos hallazgos van en consonancia con los encontrados en la literatura (28), donde existe un menor flujo en el sexo femenino de manera fisiológica, pero que también podrían estar relacionados con la severidad de la rinitis en el caso de que las pacientes reclutadas tuvieran una rinitis más severa. Esta hipótesis no se encuentra apoyada por la EVA, la cual no presentó diferencias estadísticamente significativas en cuanto al sexo.

Cabe destacar la diferencia existente entre el flujo inspiratorio en pacientes con actividad normal frente a pacientes con déficit de actividad. No siendo esta estadísticamente significativa, pero estando cerca. A pesar de ello, este hecho sí puede ser clínicamente significativo, por lo que estos resultados preliminares hay que tomarlos con prudencia y analizar nuevamente esta variable cuando se obtenga el tamaño muestral.

Tampoco parecen existir diferencias en la severidad o en la afectación de la calidad de vida entre pacientes con déficit y sin déficit. Si bien es cierto que los pacientes con actividad normal enzimática obtuvieron una mayor variabilidad que los que afectados por el déficit DAO.

En resumen, hay que tener presente que se trata de un estudio con resultados preliminares y que no existen investigaciones previas sobre este tema por lo que los resultados han de ser interpretados con cautela a la hora de sacar posibles hipótesis o asociaciones.

## 8. BIBLIOGRAFÍA

1. Wilson KF, Spector ME, Orlandi RR. Types of rhinitis. *Otolaryngol Clin North Am.* 2011;44:549-59.
2. Brożek JL, Bousquet J, Agache I, Agarwal A, Bachert C, Bosnic-Anticevich S, et al. Allergic Rhinitis and its Impact on Asthma (ARIA) guidelines-2016 revision. *J Allergy Clin Immunol.* 2017;140(4):950-8.
3. Ikoma A. Analysis of the mechanism for the development of allergic skin inflammation and the application for its treatment: mechanisms and management of itch in atopic dermatitis. *J Pharmacol Sci.* 2009;110(3):265-9.
4. Yosipovitch G, Papoiu ADP. What causes itch in atopic dermatitis? *Curr Allergy Asthma Rep.* 2008;8(4):306-11.
5. Shim W-S, Tak M-H, Lee M-H, Kim M, Kim M, Koo J-Y, et al. TRPV1 mediates histamine-induced itching via the activation of phospholipase A2 and 12-lipoxygenase. *J Neurosci Off J Soc Neurosci.* 2007;27(9):2331-7.
6. Nakagawa H, Hiura A. Four Possible Itching Pathways Related to the TRPV1 Channel, Histamine, PAR-2 and Serotonin. *Malays J Med Sci.* 2013;20(4):5-12.
7. Holland C, van Drunen C, Denyer J, Smart K, Segboer C, Terreehorst I, et al. Inhibition of capsaicin-driven nasal hyper-reactivity by SB-705498, a TRPV1 antagonist. *Br J Clin Pharmacol.* 2014;77:777-88.
8. Pattanaik D, Lieberman P. Vasomotor rhinitis. *Curr Allergy Asthma Rep.* 2010;10:84-91.
9. Maintz L, Novak N. Histamine and histamine intolerance. *Am J Clin Nutr.* 2007;85:1185-96.
10. Kajihara Y, Murakami M, Imagawa T, Otsuguro K, Ito S, Ohta T. Histamine potentiates acid-induced responses mediating transient receptor potential V1 in mouse primary sensory neurons. *Neuroscience.* 2010;166:292-304.

11. Davidson S, Giesler GJ. The multiple pathways for itch and their interactions with pain. *Trends Neurosci.* 2010;33(12):550-8.
12. Chen B, Ye T, Shao Y, Zhang J, Zhong Q, Hu X, et al. Association between copy-number variations of the human histamine H4 receptor gene and atopic dermatitis in a Chinese population. *Clin Exp Dermatol.* 2013;38(3):295-300; quiz 300-1.
13. Rossbach K, Nassenstein C, Gschwandtner M, Schnell D, Sander K, Seifert R, et al. Histamine H1, H3 and H4 receptors are involved in pruritus. *Neuroscience.* 2011;190:89-102.
14. Walter M, Kottke T, Stark H. The histamine H(4) receptor: targeting inflammatory disorders. *Eur J Pharmacol.* 2011;668:1-5.
15. Kovacova-Hanuszkova E, Buday T, Gavliakova S, Plevkova J. Histamine, histamine intoxication and intolerance. *Allergol Immunopathol Madr.* 2015;43(5):498-506
16. Maintz L, Yu CF, Rodriguez E, Baurecht H, Bieber T, Illig T, et al. Association of single nucleotide polymorphisms in the diamine oxidase gene with diamine oxidase serum activities. *Allergy.* 2011;66:893-902.
17. Schwelberger HG. Histamine intolerance: a metabolic disease? *Inflamm Res.* 2010;59 Suppl 2:S219-21.
18. Linares DM, Del Rio B, Ladero V, Martinez N, Fernandez M, Martin MC, et al. Factors influencing biogenic amines accumulation in dairy products. *Front Microbiol.* 2012;3:180.
19. Wohrl S, Hemmer W, Focke M, Rappersberger K, Jarisch R. Histamine intolerance-like symptoms in healthy volunteers after oral provocation with liquid histamine. *Allergy Asthma Proc.* 2004;25:305-11.
20. Duelo A. Déficit de actividad funcional de DAO. Acumulación de histamina. *Médicos y Medicinas.* 2012;24:28-30.

21. Izquierdo J, Mon D, Lorente M, Singla LS. A randomized doubled blinded trial of treatment with diamino-oxidase (DAO) in patients with migraine and deficit of enzyme's activity. *J Neurol Sci.* 2013;333:e505-6.
22. Worm M, Fiedler E-M, Dölle S, Schink T, Hemmer W, Jarisch R, et al. Exogenous histamine aggravates eczema in a subgroup of patients with atopic dermatitis. *Acta Derm Venereol.* 2009;89(1):52-6.
23. Maintz L, Benfadal S, Allam J-P, 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(5):1106-12.
24. Missbichler A, Mayer I, Pongracz C, Gabor F, Komericki P. 19 Supplementation of enteric coated diamine oxidase improves intestinal degradation of food-borne biogenic amines in case of histamine intolerance. *Clin Nutr Suppl.* 2010;5:11-11.
25. Martin VT, Fanning KM, Serrano D, Buse DC, Reed ML, Bernstein JA, et al. Chronic rhinitis and its association with headache frequency and disability in persons with migraine: results of the American Migraine Prevalence and Prevention (AMPP) Study. *Cephalalgia.* 2014;34:336-48.
26. Esprint Study Group, Investigators, Valero A, Alonso J, Antepara I, Baro E, et al. Development and validation of a new Spanish instrument to measure health-related quality of life in patients with allergic rhinitis: the ESPRINT questionnaire. *Value Health.* 2007;10:466-77.
27. Fokkens WJ, Lund VJ, Mullol J, Bachert C, Alobid I, Baroody F, et al. EPOS 2012: European position paper on rhinosinusitis and nasal polyps 2012. A summary for otorhinolaryngologists. *Rhinology.* 2012;50:1-12.
28. Ottaviano G, Fokkens WJ. Measurements of nasal airflow and patency: a critical review with emphasis on the use of peak nasal inspiratory flow in daily practice. *Allergy.* 2016;71:162-74.



29. Music E, Korosec P, Silar M, Adamic K, Kosnik M, Rijavec M. Serum diamine oxidase activity as a diagnostic test for histamine intolerance. *Wien Klin Wochenschr.* 2013;125:239-43.
  
30. Asher MI, Montefort S, Björkstén B, Lai CK, Strachan DP, Weiland SK, et al. Worldwide time trends in the prevalence of symptoms of asthma, allergic rhinoconjunctivitis, and eczema in childhood: ISAAC Phases One and Three repeat multicountry cross-sectional surveys. *The Lancet.* 2006;368(9537):733-43.

## 9. ANEXO 1

### MODELO DOCUMENTO DE INFORMACIÓN AL PACIENTE

Apreciado Sr. /Sra.,

En este documento se describe el objetivo, los procedimientos, los beneficios, los riesgos, las molestias y las precauciones que supone el estudio. Describe también sus derechos como participante. No pueden garantizársele ni asegurársele en forma alguna los resultados del estudio.

Es esencial que sea completamente franco acerca de su historia médica y de cualquier otro síntoma o reacción que pueda experimentar durante el estudio. Si no fuera así, podría lesionarse a sí mismo por su participación en el estudio.

A continuación, puede encontrar una información más detallada. Es importante que lea este documento de consentimiento antes de tomar una decisión acerca de su participación. Su médico desea que comprenda lo que podrá suponer su participación en el estudio, por lo que, por favor, efectúe todas las preguntas que desee antes de tomar su decisión en cuanto a participar.

El Servicio de Otorrinolaringología del Complejo Hospitalario Universitario de A Coruña está llevando a cabo una investigación con pacientes con RINITIS ALÉRGICA. Usted puede formar parte de este estudio y por ello se solicita su colaboración.

El proyecto se denomina “ACTIVIDAD DE LA ENZIMA DIAMINOXIDASA EN PACIENTES CON RINITIS ALÉRGICA: Estudio DAO-RIN”.

Tiene el objetivo de determinar la prevalencia del déficit de actividad de la enzima diaminoxidasa en pacientes con rinitis alérgica.

La diamino-oxidasa es la principal enzima que metaboliza la histamina ingerida. Al existir una desproporción entre la histamina ingerida y la capacidad de metabolizarla por mal funcionamiento de esta, se produce la acumulación de histamina en plasma y la aparición de los efectos adversos.

La participación en el estudio es voluntaria, implica que se recabará información acerca del estado de su enfermedad, tratamientos que ha utilizado o síntomas



que padece. En cualquier momento Usted puede disponer de los mismos. Los datos recabados son confidenciales, anónimos y se encontrarán codificados. Una vez terminado el estudio se guardarán durante un período de un año, tras el cual serán destruidos.

Durante la investigación también se realizará UNA analítica de sangre. Esta extracción de sangre no forma parte de la práctica clínica habitual en este tipo de patología. A pesar de ello, es como las que se realizan rutinariamente en el centro. Los riesgos inherentes a las mismas son: sangrado leve, picor o malestar en la zona de punción. Si usted es una persona que tiene aversión a este tipo de procedimiento es posible que sienta rechazo o mareos en el momento de realizarla.

Las muestras estas serán custodiadas como exige la Ley Orgánica de Protección de Datos y la Ley de Investigación Biomédica, guardándose codificadas durante el estudio y siendo destruidas al terminarlo. Se enviarán para su procesamiento de manera anonimizadas a un laboratorio externo y privado: Laboratorio Reference S. L., de Barcelona, de acuerdo a la normativa.

Tanto los investigadores participantes, como el Servicio de Otorrinolaringología – Cirugía de Cabeza y Cuello del Complejo Hospitalario Universitario A Coruña NO recibirán remuneración de ningún tipo por la realización de este estudio.

Si Usted decide participar y posteriormente, en el curso de la investigación decide abandonarla se le solicita que lo comunique al responsable, no obstante, el abandono no tendrá, en ningún caso, consecuencias en la prestación de la atención o en los servicios sanitarios, que requiera por parte de su enfermera o de su médico habitual.

Cordialmente.

Miguel Mayo Yáñez

Promotor del Estudio.