

TESI DOCTORAL

**ENDOFENOTIPS, RISC GENÈTIC I FACTORS QUE PREDISPOSEN
A LA CRONIFICACIÓ DE LA MIGRANYA**

JESSICA FERNÁNDEZ MORALES

FACULTAT DE MEDICINA
DEPARTAMENT DE MEDICINA INTERNA
UNIVERSITAT AUTÒNOMA DE BARCELONA

DIRECTORS:

DRA. PATRICIA POZO ROSICH
DR. JOAN MONTANER VILLALONGA
DR. JOSÉ ÁLVAREZ SABÍN

Vist-i-plau dels Directors de Tesi

Doctoranda:

Dra. Patricia Pozo

Dr. Joan Montaner

Dr. José Álvarez

Jessica Fernández

Barcelona, juliol de 2013

Aquesta Tesi Doctoral s'ha realitzat en el Grup de Recerca en Cefalees i Dolor Neurològic en col·laboració amb el Laboratori d'Investigació Neurovascular de l'Institut de Recerca de l'Hospital Universitari Vall d'Hebron amb el suport de les beques de La Marató TV3 (07/2310), FIS (PI10/00876) i AGAUR (2009SGR0971).



GRUP DE RECERCA EN CEFALEES I DOLOR NEUROLÒGIC

LABORATORI D'INVESTIGACIÓ NEUROVASCULAR

INSTITUT DE RECERCA VALL D'HEBRON

HOSPITAL UNIVERSITARI VALL D'HEBRON

FACULTAT DE MEDICINA

DEPARTAMENT DE MEDICINA INTERNA

UNIVERSITAT AUTÒNOMA DE BARCELONA

- AGRAÏMENTS -

Diu una dita popular que “*no hi ha reptes impossibles, només reptes que requereixen un esforç molt més gran per a ésser aconseguits*”. Aquesta tesi doctoral n’és un bon exemple. Fa quasi sis anys que vaig iniciar un camí que em portaria a conèixer de prop la migranya, una malaltia molt comuna i discapacitant que, afortunadament, no forma part de la meva herència familiar però sí de la de moltíssimes famílies que tots coneixem. Aquest camí ha estat difícil, com ho és sempre que un s’enfronta a quelcom nou i desconegut. Els meus coneixements previs sobre neurologia eren quasi inexistent i la meva experiència en el món de la genètica molt superficial. Tot i així, vaig encarar el repte amb il·lusió i compromís. Fa uns mesos veia molt llunyà aquest moment, però ha arribat i és moment de fer una petita reflexió i adonar-me’n que hagués estat impossible recórrer aquest camí tota sola. Moltes són les persones a qui tinc quelcom a agrair, però crec que és just i necessari que abans de començar a esmentar-les doni les gràcies i el meu suport als pacients, a tantes i tantes persones que pateixen dolor, especialment a aquelles que ho fan, per desgràcia, quasi a diari.

Una tesi doctoral, però, no seria possible sense la guia i supervisió dels directors. Vull agrair a la Dra. Patricia Pozo que un dia confiés en mi, així com tot el que m’ha ensenyat, a dins i a fora de la consulta. Al Dr. Joan Montaner, que ens va acollir quan encara el grup de Cefalees i Dolor Neuròlogic era una llavor sense germinar. Al Dr. José Álvarez, que va donar-me l’oportunitat de formar part del projecte de la Dra. Pozo. I a al Dr. Israel Fernández, per l’acompanyament des de l’inici i fins el darrer dia d’aquesta aventura.

Tant a l’Hospital Vall d’Hebron com a l’Institut de Recerca, treballant al meu costat, moltes altres persones han posat el seu gra de sorra en aquest projecte. No puc deixar d’agrair a les infermeres Mercè i Emi la paciència i bona predisposició cada vegada que la “vampir” els demanava una extracció de sang, a la Raquel Arias, la Natàlia Mas i el Joan Durà, amb qui vam compartir part del pes d’una fase de reclutament que ens va deixar quasi sense alè. Al Manolo Quintana, per unir-se a la batalla amb les dades estadístiques. Als companys i companyes de fatiga, que donada la singularitat del meu grup, formen part d’altres laboratoris però que un moment o altre han fet més sostenible la càrrega de feina: la Cristina Teixidó, la Maria López, la Maria Salvadó, el Jesús, la Cris Nafria, la Dolors, l’Alberto, la Tere, l’Anna Morancho, la Mireia, la Maite, l’Anita, la Cèlia i la

Marta Vila, entre molts altres, i a tants altres companys del dia a dia: el Rai, el Tau, el Quim, el Joanet, el José Luis i la seva furgoneta de manteniment que tantes caminades Collserola-Mediterrània m'ha estalviat.

Vull agrair a l'Eulàlia i la Rosa el somriure amb que m'han rebut sempre, la seva confiança i el seu suport. Lali, gràcies per mantenir amb vida la meva orquídea!

I, abans d'entrar en l'àmbit més personal, he d'agrair sincerament a tots aquells que no ens ho han posat fàcil, ja que és gràcies als obstacles que un aprèn a caure i aixecar-se, a millorar i a continuar lluitant. I ja posats, agrair amb una mica d'humor irònic a la beneïda classificació diagnòstica de la migranya... No he patit cap migranya (encara) però uns quants maldecaps em va donar!

Molt especialment, ara sí, és el torn de la família (on no només s'inclouen aquells amb qui comparteixo gens). Vull agrair a totes les persones que, al llarg d'aquests sis anys, han viscut aquesta experiència des de l'àmbit personal i afectiu, més enllà de la barrera d'accés de personal de l'Hospital Vall d'Hebron: la Sandra "Bony", el Quim, la Judith i l'Elisenda, els meus pares Alberto i Trini, el meu germà Albert i la meva cunyada Sandra; els meus avis, especialment el iaio Paco, ben orgullós de la seva néta "doctora" com diu ell; les persones especials que han arribat fa poc, com la Raquel i els "patos moteros" així com les persones que van formar part d'això en algun moment i que, encara que ara segueixen altres camins per la vida, van donar-me el seu suport. I, perquè no, a la "Tata", per ajudar-me a fugir del món quan això era el que necessitava.

Finalment, la més sincera i profunda gratitud a l'Adrià, company i amic, el meu alè, qui ha recollit tantes llàgrimes i m'ha ajudat a combatre tantes pors. Gràcies per esperar-me quan la "tesi" em va portar lluny de casa i lluny de tu, gràcies per la teva comprensió i paciència, i sobretot, gràcies per regalar-me el teu somriure cada dia i ser l'oasi en què he descansat en els pitjors moments.

Mil gràcies a tots!

Als meus pares, per ser-hi sempre
A l'Adrià, per tot el temps no compartit

Índex

Agraïments.....	I
Índex	V
Llistat d'abreviatures i acrònims	XI
Llistat de taules i figures.....	XV

I. INTRODUCCIÓ

Introducció històrica.....	3
1.1. La migranya	5
1.1. Característiques clíniques.....	5
1.1.1. Criteris diagnòstics	5
1.1.2. Comorbilitats	7
1.2. Epidemiologia.....	8
1.2.1. Prevalença	8
1.2.2. Impacte socioeconòmic	9
1.2.3. Impacte i qualitat de vida	10
1.3. Fisiopatologia.....	11
1.3.1. Hiperexcitabilitat cortical del cervell migranyós	12
1.3.2. Activació trigeminovascular	13
1.3.3. Nocicepció i tronc de l'encèfal	14
1.3.4. Connexió entre l'aura i la cefalea	14
1.3.5. Disfunció endotelial	15
1.4. Biomarcadors en la migranya	17
1.5. Tractament la migranya	19
1.5.1. Tractament simptomàtic.....	19
1.5.2. Profilaxi.....	20
1.2. La migranya crònica	21
2.1. Característiques clíniques.....	21
2.1.1. Criteris diagnòstics	21
2.1.2. Comorbilitats	24
2.2. Epidemiologia.....	25
2.2.1. Prevalença	26
2.2.2. Impacte socioeconòmic	26
2.2.3. Impacte i qualitat de vida	26
2.3. Procés de cronificació.....	28
2.3.1. Progressió clínica i factors de risc associats	28
2.3.2. Progressió funcional i factors de risc associats	30
2.3.3. Progressió anatòmica i factors de risc associats	30
4.4. Tractament simptomàtic i profilaxi	32

I.3. L'estudi del genoma humà 33

3.1. Perspectiva històrica	33
3.2. Genoma i variació gènica.....	35
3.2.1. Polimorfismes d'un únic nucleòtid (SNP)	36
3.2.2. Insercions/deleccions.....	36
3.2.3. Seqüències repetides	37
3.2.4. Anomalies cromosòmiques	38
3.3. Estratègies per estudiar la implicació genètica en les malalties humanes	38
3.3.1. Estudis de bessons	38
3.3.2. Anàlisi de lligament en famílies	39
3.3.3. Estudis d'associació de gens candidats	40
3.3.4. Estudis d'associació de tot el genoma (GWAS)	41
3.3.5. Seqüenciació d'exomes	41
3.3.6. Estudis funcionals.....	42
3.3.7. Models animals	43
3.4. Aspectes metodològics.....	44
3.4.1. Malalties simples i complexes. Models d'herència	44
3.4.2. Fenotipatge i endofenotips	45
3.4.3. Altres consideracions metodològiques	46
3.5. Evolució dels estudis genètics	46
3.5.1. Projecte Genoma Humà	46
3.5.2. El Projecte Internacional HapMap.....	47
3.5.3. L'era <i>genomewide</i>	49

I.4. La migranya com a malaltia hereditària complexa..... 51

4.1. Heretabilitat de la migranya	51
4.2. Formes monogèniques i altres fenotips	51
4.3. Evidències genètiques en la migranya comuna	54
4.3.1. Anàlisi de lligament	54
4.3.2. Estudis d'associació de gens candidats	54
4.3.3. GWAS i migranya.....	58
4.4. Evidències genètiques en la migranya crònica	61

II. HIPÒTESI I OBJECTIUS

II.1. Hipòtesi..... 65

II.2. Objectiu general i específics 67

III. METODOLOGIA

III.1. Pacients i protocol clínic	71
1.1. Descripció del protocol d'estudi	71
1.1.1. Selecció i obtenció de la mostra	73
1.1.2. Criteris d'inclusió i exclusió	73
1.1.3. Fenotipatge	73
1.1.4. Controls	76
1.1.5. Mostres biològiques	76
1.2. Estratègia de descobriment i replicació de factors genètics de cronificació	77
1.3. Recollida, fenotipatge i genotipatge de pacients d'altres cohorts de l'IHGC	79
1.3.1. Cohort holandesa (LDN)	79
1.3.2. Cohort noruega (NRG)	80
1.4. Selecció de polimorfismes candidats	81
1.4.1. Polimorfismes descrits no replicats	81
1.4.2. Nous gens candidats	83
1.4.3. Hits secundaris del primer GWAS	85
III.2. Tècniques per a estudis genètics i de biomarcadors	87
2.1. Extracció de DNA	87
2.2. Genotipatge	88
2.3. Extracció de RNA i retrotranscripció a cDNA	88
2.4. PCR quantitativa en temps real	88
2.5. ELISA	89
2.6. Discriminació al·lèlica <i>Taqman</i>	89
2.7. Array de proteïnes <i>Searchlight</i>	90
III.3. Anàlisi estadístic i programari específic	91
3.1. Anàlisi de variables clíniques i biomarcadors	91
3.2. Anàlisi d'associació genètica	91
3.3. Metaanàlisi	92

IV. RESULTATS

IV.1. Característiques clíniques de la migranya episòdica i crònica en població espanyola	95
1.1. Descripció de la mostra utilitzada	95
1.2. Anàlisi univariant de les dades clíniques	96
1.2.1. Presència d'aura	96
1.2.2. Descriptors sociodemogràfics i comorbilitats	97
1.2.3. Descriptors de l'impacte i la discapacitat per la cefalea	99
1.2.4. Tractament preventiu de la migranya	103
1.3. Anàlisi multivariant	104
1.4. Evolució del diagnòstic a un any	105

IV.2. Caracterització d'endofenotips segons la freqüència d'atacs per identificar factors clínics de progressió 107

2.1. Descripció d'endofenotips i de la mostra utilitzada	107
2.2. Anàlisi univariant de les dades clíniques	108
2.2.1. Presència d'aura	108
2.2.2. Descriptors sociodemogràfics i comorbiditats.....	109
2.2.3. Descriptors de l'impacte i la discapacitat per la cefalea	110
2.2.4. Tractament de la migranya	114
2.3. Anàlisi multivariant.....	115
2.4. Evolució del diagnòstic de migranya episòdica de baixa i alta freqüència.....	116

IV.3. Variants polimòrfiques implicades en la migranya. Estudi cas-control d'associació de gens candidats en població espanyola..... 119

3.1. Descripció de la mostra utilitzada i validació del genotipatge.....	119
3.2. Resultats de l'anàlisi genètica cas-control	120
3.3. Resultats de la validació per qRT-PCR dels nivells de transcripció.....	121
3.3.1. Resultats amb <i>SPTAN1</i>	121
3.3.2. Resultats amb <i>CALCRL</i>	122
3.3.3. Resultats amb <i>RAMP1</i>	122
3.3.4. Resultats amb <i>EDNRB</i>	123
3.3.5. Resultats amb <i>TRPM8</i>	123
3.4. Anàlisi de l'expressió proteica mitjançant ELISA de CGRP i el seu receptor	123

IV.4. Variants polimòrfiques implicades en la progressió de la malaltia 125

4.1. Descripció de la mostra utilitzada i validació del genotipatge.....	125
4.2. Resultats de la fase de descobriment	126
4.3. Resultats de la fase de replicació i metaanàlisi	128

IV.5. Patró d'expressió de possibles biomarcadors de la migranya i migranya crònica 129

5.1. Metal·loproteïnases en la migranya	129
5.1.1. Nivells de MMP en període interictal en migranya respecte controls	129
5.1.2. Nivells de MMP en període interictal segons tipus de migranya	131
5.1.3. Perfil d'expressió temporal de MMP en l'atac de migranya	132
5.2. Nivells plasmàtics de CGRP.....	133
5.2.1. CGRP en la migranya episòdica i crònica	133
5.2.2. Nivells de CGRP en període interictal i durant l'atac de migranya	134

V. DISCUSSIÓ

Discussió	137
-----------------	-----

VI. CONCLUSIONS

Conclusions	147
-------------------	-----

BIBLIOGRAFIA

Bibliografia	151
--------------------	-----

ANNEXOS

- Annex 1. Quadern de recollida de dades (QRD CHROMIG)
- Annex 2. Escala de discapacitat MIDAS
- Annex 3. Escala d'impacte HIT-6
- Annex 4. Escala de salut general SF-36v2
- Annex 5. Escala d'ansietat STAI
- Annex 6. Escala de depressió BDI
- Annex 7. Calendari de seguiment anual
- Annex 8. Comunicacions derivades d'aquest treball

Llistat d'abreviatures i acrònims

AAS	Àcid acetil sal·licílic
aC	abans de Crist
AC	Al·lodínia cutània
AINEs	Antiinflamatoris no esteroideus
AMPP	De l'anglès, <i>American Migraine Prevalence and Prevention study</i>
BHE	Barrera hematoencefàlica
CADASIL	De l'anglès, <i>Cerebral Autosomal Dominant Arteriopathy with Subcortical Infarcts and Leukoencephalopathy</i>
CAM	Cefalea per abús de medicaments
CCD	Cefalea crònica diària
cDNA	DNA complementari, sintetitzat a partir de mRNA per retrotranscripció
CEU	Denominació de la població Caucàsica Europea (HapMap)
CHB	Població utilitzada a Hapmap, de l'anglès <i>Han Chinese in Beijing</i>
CNV	De l'anglès, Copy Number Variants
dC	després de Crist
DCP	Depressió cortical propagada
DICE	Consorti, de l'anglès <i>Dutch-Icelandic migraine genetics consortium</i>
DNA	De l'anglès, Deoxyribonucleic acid
DZ	Bessons dizigòtics
EAF	Migranya Episòdica d'Alta freqüència
EBF	Migranya Episòdica de Baixa Freqüència
ELISA	De l'anglès, <i>Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay</i>
eQTL	De l'anglès, <i>Expression quantitative trait loci</i>
FHM	De l'anglès, <i>Familial Hemiplegic Migraine</i>
GABA	Neurotransmissor inhibitori (àcid gamma-aminobutíric)
GWAS	De l'anglès, <i>Genome Wide Association Studies</i>
HERNS	De l'anglès, <i>Hereditary Endotheliopathy with Retinopathy, Nephropathy and Stroke</i>
HGP	De l'anglès, <i>Human Genome Project</i>
HIT-6	De l'anglès, <i>Headache Impact Test</i>
HRQoL	De l'anglès, <i>Health-Related Quality of Life</i>
IBD	Al·lels idèntics per descendència (heretats del mateix ancestre)
IBMS	De l'anglès, <i>International Burden of Migraine Study</i>
IBS	Al·lels idèntics per estat (quan no sabem si deriven del mateix ancestre)

ICHD	De l'anglès, International Classification of Headache Disorders
ICHD-II	De l'anglès, International Classification of Headache Disorders (2 ^a edició)
ICHD-IIR	De l'anglès, <i>International Classification of Headache Disorders</i> (annex 2006)
IHS	De l'anglès, International Headache Society
IMC	Índex de massa corporal
JPT	Població japonesa de Tokyo utilitzada a HapMap
LCA	Anàlisi de classes latents. De l'anglès, latent class analysis
LOD	De l'anglès, <i>logarithm of the odds</i> . Mesura de la proximitat entre gens (estudis lligament)
MA	Migranya amb aura
MAF	De l'anglès, <i>minor allele frequency</i>
MC	Migranya crònica
ME	Migranya episòdica
MELAS	De l'anglès, <i>Mitochondrial Encephalomyopathy, Lactic Acidosis and Stroke-like episodes</i>
MIDAS	De l'anglès, <i>Migraine Disability Assessment</i>
MMP	En genèric, metal·loproteïnases
MO	Migranya sense aura
mRNA	RNA missatger
MT	Migranya transformada
mtDNA	DNA mitocondrial
MZ	Bessons monozigòtics
OMS	Organització Mundial de la Salut
ON	Òxid nítric
OR	<i>Odds ratio</i>
PACAP	De l'anglès, Pituitary Adenylate Cyclase-Activating Peptide
PAG	Substància gris periaqüeductal
PALM	Pla d'Acció en la Lluita contra la Migranya
PCR	Reacció en cadena de la polimerasa
PREEMPT	De l'anglès, <i>Phase III REsearch Evaluating Migraine Prophylaxis Therapy</i>
qRT-PCR	De l'anglès, <i>quantitative Real-Time PCR</i>
RNA	Àcid ribonucleic
RR	Risc relatiu
SF-36v.2	Escala de salut general SF36v.2
SHM	De l'anglès, <i>Sporadic Hemiplegic Migraine</i>
SNA	Sistema nerviós autònom

SNC	Sistema nerviós central
SNP	Polimorfisme d'un únic nucleòtid (plural)
TCA	De l'anglès, <i>Trait Component Analysis</i>
TGN	Gangli trigèmin
VIP	Pèptid vasoactiu intestinal
YRI	Població Yoruba utilitzada a HapMap

Llistat de taules i figures

- Taula 1.** Sumari de la Classificació Internacional de les Cefalees (ICHD-II) (pàg.6)
- Taula 2.** Subtipus de migranya segons la Classificació Internacional de les Cefalees (pàg.7)
- Taula 3.** Criteris MO i MA segons la Classificació Internacional de les Cefalees (pàg.7)
- Taula 4.** Triptans i indicacions pel tractament simptomàtic de la crisi de migranya (adaptat de Pascual, 2012) (pàg.19)
- Taula 5.** Criteris diagnòstics de MT i MC previs a ICHD-II i ICHD-IIR (pàg.22)
- Taula 6.** Criteris diagnòstics de MC a ICHD-II i ICHD-IIR (pàg.23-24)
- Taula 7.** Prevalença de malalties comòrbides a ME i MC a l'estudi AMPP (revisat per Pozo-Rosich, 2012) (pàg.25)
- Taula 8.** Principals estudis d'associació en gens candidats amb resultats positius (adaptat de Maher i Griffiths, 2011) (pàg.57)
- Taula 9.** Resultats de la metaanàlisi (adaptat d'Anttila et al., 2013) (pàg.59)
- Taula 10.** SNP investigats en CCD o amb probable associació amb cronicitat (adaptat de Montagna et al., 2003) (pàg.62)
- Taula 11.** Dades demogràfiques i clíniques recollides en el QRD de l'estudi CHROMIG (pàg.73)
- Taula 12.** Polimorfismes candidats seleccionats de la literatura (pàg.82)
- Taula 13.** TagSNP seleccionats en nous gens candidats (pàg.84)
- Taula 14.** Llistat de hits secundaris del GWAS per a replicar (pàg.85)
- Taula 15.** Anàlisi univariant de descriptors sociodemogràfics i comorbilitats (pàg.99)
- Taula 16.** Anàlisi univariant descriptors instruments qualitat de vida en ME i MC (pàg.100)
- Taula 17.** Descriptiu univariant de les puntuacions sobre qualitat de vida en ME i MC (pàg.102)
- Taula 18.** Descriptiu univariant de puntuacions <40 sobre qualitat de vida a ME i MC (pàg.102)
- Taula 19.** Descriptiu univariant de variables associades al tractament de la migranya a ME i MC (pàg.104)

- Taula 20.** Descriptiu multivariant de variables clíniques associades independentment a MC (pàg.105)
- Taula 21.** Classificació i descripció dels pacients segons grups de freqüència (EBF, EAF i MC) (pàg.107)
- Taula 22.** Anàlisi univariant de factors sociodemogràfics i comorbiditats a EBF i EAF+MC (pàg.109)
- Taula 23.** Anàlisi univariant descriptors qualitat de vida a EBF i EAF+MC (pàg.110)
- Taula 24.** Descriptiu univariant de les puntuacions sobre qualitat de vida a EBF i EAF+MC (pàg.112)
- Taula 25.** Descriptiu univariant de les puntuacions sobre qualitat de vida a EBF i EAF+MC (pàg.113)
- Taula 26.** Anàlisi univariant de variables sobre tractament a EBF i EAF+MC (pàg.114)
- Taula 27.** Anàlisi multivariant per detectar risc de EAF+MC (pàg.115)
- Taula 28.** SNP associats en cas-control segons model additiu (pàg.120)
- Taula 29.** SNP associats en cas-control segons model dominant-recessiu (pàg.120)
- Taula 30.** Resultats de la qRT-PCR per SPTAN1 (pàg.121)
- Taula 31.** Resultats de la qRT-PCR per CALCRL (pàg.122)
- Taula 32.** SNP associats a MC i EAF en la cohort de descobriment BCN+LDN (pàg.127)
- Taula 33.** Metaanàlisi amb les cohorts BCN, LDN, NRG i NRG_GWAS (pàg.128)
- Taula 34.** Nivells plasmàtics de MMP i TIMP en l'estudi cas-control (pàg.130)
- Taula 35.** Nivells plasmàtics de MMP i TIMP en MO i MA (pàg.131)
- Taula 36.** Model de regressió logística amb MA (pàg.131)
- Taula 37.** Nivells plasmàtics de MMP i TIMP en ME i MC (pàg.131)
- Taula 38.** Nivells plasmàtics de CGRP en casos i controls (pàg.133)

- Figura 1.** Prevalença de migranya per sexe i edat (Stovner, 2006) (pàg.9)
- Figura 2.** Principals estructures anatòmiques implicades en la fisiopatologia de la migranya (Goadsby et al., 2002, Copyright Goadsby, 2002) (pàg.12)
- Figura 3.** Circuits neuronals implicats en la generació del dolor (Weir i Cader, 2011) (pàg.15)
- Figura 4.** Discapacitat MIDAS segons dies de migranya al mes a l'estudi de Blumenfeld et al, 2011. (Traduït de Pozo-Rosich, 2012) (pàg.27)
- Figura 5.** Conceptualització de la transició a MC (adaptació de Bigal i Lipton, 2008) (pàg.29)
- Figura 6.** Portades *Science* i *Nature* (PGH, 2001) (pàg.34)
- Figura 7.** Categories de variació genètica basat en la freqüència i la magnitud dels efectes (adaptat de Manolio et al., 2009) (pàg.43)
- Figura 8.** Concepte de fenotip extrem (adaptació de Kristiansson et al., 2008) (pàg.46)
- Figura 9.** GWAS publicats fins Desembre de 2012 (pàg.48)
- Figura 10a.** Hipòtesi funcional d'interacció entre gens significatius (adaptada de Anttila et al., 2013) (pàg.60)
- Figura 10b.** Xarxa d'interaccions gèniques (DAPPLE) (adaptada de Anttila et al., 2013) (pàg.60)
- Figura 11.** Diagrama de flux amb el disseny experimental del projecte CHROMIG (pàg.72)
- Figura 12.** Flux de treball per a la identificació de factors genètics de susceptibilitat a cronificació (pàg.78)
- Figura 13.** Distribució d'homes i dones segons diagnòstic ME i MC (pàg.95)
- Figura 14.** Distribució de MA, MO i MA+MO segons diagnòstic ME i MC (pàg.97)
- Figura 15a.** Representació gràfica dels nivells de discapacitat en ME i MC (pàg.100)
- Figura 15b.** Representació gràfica de l'impacte de la cefalea en ME i MC (pàg.100)
- Figura 16.** Representació dels nivells d'ansietat (estat i tret) en ME i MC (pàg.101)
- Figura 17.** Representació dels nivells de depressió en ME i MC (pàg.101)
- Figura 18.** Representació gràfica de les puntuacions <40 sobre qualitat de vida a ME i MC (pàg.102)

Figura 19. Representació de l'escala verbal de valoració de la cefalea a ME i MC (pàg.103)

Figura 20. Nombre de calendaris rebuts segons nombre de mesos de seguiment (pàg.106)

Figura 21. Evolució del diagnòstic de migranya (revisió anual) (pàg.106)

Figura 22. Presència d'aura en la migranya episòdica de baixa/alta freqüència i crònica (pàg.108)

Figura 23a. Representació gràfica dels nivells de discapacitat en EBF i EAF+MC (pàg.111)

Figura 23b. Representació gràfica de l'impacte de la cefalea en EBF i EAF+MC (pàg.111)

Figura 24. Representació dels nivells d'ansietat (estat i tret) en EBF i EAF+MC (pàg.111)

Figura 25. Representació dels nivells de depressió en EBF i EAF+MC (pàg.112)

Figura 26. Percentatge de pacients amb funcions <40 sobre qualitat de vida a EBF i EAF+MC (pàg.113)

Figura 27. Representació de l'escala verbal de valoració de la cefalea a EBF i EAF+MC (pàg.114)

Figura 28. Evolució de la freqüència de migranya anual a EBF, EAF i MC (pàg.117)

Figura 29. Evolució de la freqüència de migranya anual a EBF, EAF i MC (12mesos) (pàg.118)

Figura 30. Nivells de transcripció de mRNA de SPTAN1 segons genotip (pàg.121)

Figura 31. Nivells de transcripció de mRNA de CALCRL segons genotip (pàg.122)

Figura 32. Fases i cohorts de l'estudi genètic d'associació a MC (pàg.126)

Figura 33. Nivells plasmàtics de MMP i TIMP associades significativament a migranya en estudi cas-control (pàg.129)

Figura 34. Balanç MMP/TIMP en casos i controls (pàg.130)

Figura 35. Representació gràfica dels perfils d'expressió de MMP i TIMP durant la crisi de migranya (pàg.132)

Figura 36. Nivells plasmàtics de CGRP en casos i controls (pàg.133)

Figura 37. Nivells plasmàtic de CGRP interictals i durant un atac de migranya sense aura (pàg.134)

I

Introducció

Introducció històrica

Milions de persones a tot el món pateixen migranya, una malaltia neurològica tan antiga com la humanitat a la qual ja es feia referència en els Anals Sumeris, els documents de la civilització més antiga fins ara descoberta a la Baixa Mesopotàmia, 4.000 anys aC. Era una malaltia temuda per les antigues civilitzacions i en són prova les al·lusions que es troben en la mitologia egípcia i grega, que mencionaven que els déus Horus i Zeus havien patit aquestes terribles cefalees.

En el segle V aC, Hipòcrates va descriure el mal de cap d'un pacient com un dolor intens a la part dreta del crani precedit d'una estranya llum davant de l'ull i que millorava després de vomitar. Però la primera descripció detallada d'un episodi de migranya prové del metge Areteu de Capadòcia al segle II dC., que va denominar "heterocranea".

L'origen del terme "migranya", tal i com es coneix actualment, prové del mot grec "hemikranion", utilitzat per primera vegada per Galè de Pèrgam a finals del segle II dC. Vuit segles després, al X dC, el metge persa Avicena va ser el primer a descriure que el dolor s'exacerbava amb el moviment, que el pacient mostrava intolerància a la llum i al soroll i que necessitava retirar-se a un espai fosc i tranquil fins que desapareixia el dolor.

De la neurologia moderna destaquen els estudis sobre migranya de Thomas Willis al segle XVII. Va ser el primer a proposar la teoria vascular de la migranya, per la qual l'origen del dolor era la vasodilatació produïda en vasos sanguinis cerebrals. Durant els segles XVII i XVIII diversos investigadors introduïren el concepte d'aura (Le Pois, Wepfe, Vater, Hennicke i Tissot, entre d'altres).

Al 1937, Harold G. Wolff i John Graham varen demostrar que l'ergotamina tenia un efecte vasoconstrictor sobre aquests vasos dilatats, i produïa així la millora clínica del pacient. Aquest estudi va suposar l'inici de la investigació de les causes, efectes i tractament de la malaltia. Harold G. Wolff va fer grans contribucions a l'estudi de la migranya i va promoure la creació d'un comitè que establís un mètode de classificació de les cefalees, l'*Ad Hoc Committee on Classification of Headaches* (1962).



Harold G. Wolff (1898-1962)

Des d'aleshores, han aparegut diferents classificacions de la migranya, algunes de les quals es tractaran al llarg dels següents capítols. La voluntat de classificar i diferenciar entre tipus de migranya es basa en la necessitat de disposar d'uns criteris que tothom utilitzés com a referència. Clàssicament es diferenciava entre migranya amb i sense aura. Tot i així, al llarg de la història, molts neuròlegs havien descrit l'existència de pacients que estaven més discapacitats a causa de l'elevada freqüència de migranya. Inicialment, es va anomenar aquesta entitat com a cefalea crònica diària (CCD), però no es va incloure en la primera de les classificacions que la International Headache Society (IHS) va elaborar al 1988 (IHS, 1988). El concepte de CCD va derivar en migranya transformada (MT) (Silberstein i Lipton, 1994), i aquest en migranya crònica (MC) (IHS, 2004), ja que la diferent traducció a algunes llengües del terme "transformada" originava confusió.

Es pot considerar la MC, doncs, una malaltia caracteritzada per una elevada freqüència de migranya, establert en 15 dies per l'actual classificació de les cefalees, dels quals com a mínim 8 han de fer referència a dies de dolor migranyós, on apareixen la resta de signes associats a la migranya. Aquest procés de cronificació afecta un percentatge baix de migranyosos, aproximadament un 2%, però discapacita greument aquells que la pateixen i té un elevat impacte en la vida d'aquests pacients. Es creu que algunes persones tenen susceptibilitat per desenvolupar aquesta malaltia, i en aquest aspecte, la recerca actual intenta identificar les característiques clíniques i els factors de risc genètic que poden contribuir a la predisposició d'alguns migranyosos a MC.

En els següents capítols es tracten els aspectes relacionats amb les característiques clíniques, l'etiopatogènia, la fisiopatologia i el tractament de la migranya i la migranya crònica, així com els factors de risc que es coneixen actualment i la seva relació amb la malaltia.

1.1. La migranya

1.1. Característiques clíniques

Les cefalees es poden classificar en primàries o secundàries. Es considera que les cefalees primàries són aquelles en les quals no existeix una causa subjacent. D'aquestes, la més coneguda és la migranya.

La migranya és, doncs, una cefalea primària, de caràcter episòdic i recurrent, molt prevalent a la població. Es caracteritza per episodis de mal de cap intens i incapacitants, de naturalesa pulsativa i unilateral habitualment, que sovint s'acompanya de nàusees, vòmits, fotofòbia i/o fonofòbia i que acostuma a durar entre 4 i 72 hores si no es tracta (IHS, 2004). És un tret molt característic que el dolor empitjori amb el moviment i l'activitat física. En moltes ocasions la cefalea pot anar precedida del pròdrom, un conjunt de signes premonitoris de l'atac de migranya, sovint de naturalesa subtil, com per exemple: canvis d'humor, badalls, manca d'atenció, palidesa, gana i/o retenció de fluids. L'atac de migranya pot presentar-se precedit d'aura, un conjunt de símptomes neurològics que inclouen alteracions visuals, sensitives i trastorn del llenguatge, de curta durada (pocs minuts a 1 hora), després dels quals s'inicia el dolor intens.

1.1.1. Criteris diagnòstics

El desconeixement de marcadors biològics mesurables indicatius de la malaltia, l'heterogeneïtat en la manifestació de la simptomatologia clínica i la poca especificitat de la mateixa fan que sovint sigui difícil assignar els pacients migranyosos a una categoria. Històricament, les definicions de la migranya i de la seva simptomatologia han estat subjectives i canviants, de manera que resultava imprescindible establir un criteri rigorosos i homogenis que permetessin la classificació de les cefalees i poguessin ser utilitzats arreu del món.

L'any 1982 es va constituir la *International Headache Society* (IHS), formada per un grup d'experts en la caracterització i el diagnòstic de la migranya, que va recollir i publicar per primera vegada uns criteris diagnòstics consensuats (IHS, 1988) en forma de classificació

jerarquitzada. Aquesta classificació va ser revisada setze anys després, fruit del coneixement generat durant aquest temps (IHS, 2004). La taula 1 recull el resum general de les entitats clíniques que inclou aquesta classificació. Les entitats 1 a 4 són les cefalees primàries, des de la 5 a 12 les cefalees secundàries i la 13 i 14 són les neuràlgies. En el moment de redactar aquesta tesi doctoral, la IHS està preparant la publicació d'una 3^a edició actualitzada dels criteris del 2004.

Taula 1. Sumari de la Classificació Internacional de les Cefalees (ICHD-II, IHS 2004)

Classificació Internacional de les Cefalees, IIa edició (ICHD-II, 2004)	
<u>Estructura general de la classificació</u>	
1.	Migranya
2.	Cefalea de tensió (TTH)
3.	Clúster i altres cefalees trigeminoautòniques
4.	Altres cefalees primàries
5.	Cefalea atribuïda a trauma cranial o cervical
6.	Cefalea atribuïda a trastorn cranial o cervical vascular
7.	Cefalea atribuïda a trastorn intracraneal no vascular
8.	Cefalea atribuïda a una substància o a la seva supressió
9.	Cefalea atribuïda a una infecció
10.	Cefalea atribuïda a un trastorn de la homeòstasi
11.	Cefalea o dolor facial atribuïda a un trastorn al crani, coll, ulls, oïdes, sinus, dents, boca o d'altres estructures craneofacials.
12.	Cefalea atribuïda a trastorns psiquiàtrics
13.	Neuràlgies cranials i causes centrals de dolor facial
14.	Altres cefalees, neuràlgies cranials, dolor facial central o primari

El primer epígraf està dedicat exclusivament a la migranya i els seus subtipus (taula 2, pàgina següent). En base a aquesta classificació, es pot dividir la migranya en dos grans grups: migranya sense aura (MO) a l'epígraf 1.1 i migranya amb aura (MA) a 1.2, els criteris diagnòstics de les quals s'especifiquen a la taula 3 (pàgina següent).

A més, la classificació recull altres formes menys freqüents com les síndromes periòdiques de la infància, la migranya retiniana i les complicacions (entre les quals trobarem la MC, els criteris diagnòstics de la qual s'amplien al capítol 2).

Taula 2. Subtipus de migranya segons la Classificació Internacional de les Cefalees (ICHD-II, IHS 2004)

Classificació Internacional de les Cefalees, IIa edició (ICHD-II, 2004)	
<u>Descripció dels epígrafs del punt 1. Migranya</u>	
1.1.	Migranya sense aura
1.2.	Migranya amb aura
1.2.1.	Aura típica amb cefalea migranyosa
1.2.2.	Aura típica amb cefalea no migranyosa
1.2.3.	Aura típica sense cefalea
1.2.4.	Migranya hemiplègica familiar
1.2.5.	Migranya hemiplègica esporàdica
1.2.6.	Migranya de tipus basilar
1.3.	Síndromes periòdiques de la infància habitualment precursoras de migranya
1.3.1.	Vòmits cíclics
1.3.2.	Migranya abdominal
1.3.3.	Vertigen paroxístic benigne de la infància
1.4.	Migranya retiniana
1.5.	Complicacions de la migranya
1.6.	Migranya probable

Taula 3. Criteris MO i MA segons la Classificació Internacional de les Cefalees (ICHD-II, IHS 2004)

Classificació Internacional de les Cefalees, IIa edició (ICHD-II, 2004)	
<u>Descripció dels criteris de 1.1. MO i 1.2. MA</u>	
1.1. Migranya sense aura	
A.	Com a mínim 5 episodis que compleixin criteris B-D
B.	Cefalea d'entre 4 i 72 hores de durada (no tractada o amb tractament ineficaç)
C.	Cefalea que presenta com a mínim dues de les següents característiques:
1.	localització unilateral
2.	qualitat pulsativa
3.	intensitat de moderada a greu
4.	conduïx a evitar o està agravada per l'activitat física rutinària
D.	Durant el dolor presenta com a mínim un dels següents símptomes:
1.	nàusea i/o vòmit
2.	fotofòbia i fonofòbia
E.	No és atribuïble a cap altra causa
1.2. Migranya amb aura	
A.	Com a mínim 2 episodis que compleixin el criteri B
B.	Aura migranyosa que compleixi els criteris B i C per a un dels subtipus 1.2.1 - 1.2.6
C.	No atribuïble a cap altre trastorn

1.1.2. Comorbilitats

La migranya és comòrbida a una gran quantitat de malalties associades a alteracions relacionades amb condicions neurològiques i vasculars, fet que suggereix que és una reacció del cervell a diferents estímuls que alteren el seu funcionament. Es presenta de forma més freqüent del que s'esperaria en pacients amb depressió, ansietat, trastorns

associats a dolor crònic (fibromiàlgia, síndrome de fatiga crònica) i amb determinades alteracions cerebrals (epilèpsia). S'ha descrit connexió recíproca entre migranya i depressió: la depressió augmenta el risc de migranya (RR 3,4) mentre que la migranya augmenta el risc de depressió (RR 5,8) (Breslau et al., 2003). Un altre estudi amb una cohort gran de Noruega, el *Nord-Trondelag Health Study*, va determinar que els migranyosos tenen més probabilitat de patir depressió (OR 2,7) i síndrome ansiós (OR 3,2) (Zwart et al., 2003). També s'ha descrit comorbiditat amb els trastorns bipolars, estimant un augment de 2,5 vegades la prevalença d'aquest trastorn entre migranyosos (McIntyre et al., 2006) i amb trastorns de la son, com les apnees obstructives i la hipersòmia (Rains i Poceta, 2006). Un estudi finlandès va descriure també risc de trastorns psiquiàtrics (OR 4,09), al·lèrgies (OR 1,83) i hipotensió (OR 1,43) (Artto et al., 2006). Una metaanàlisi va estimar que el risc d'ictus isquèmic és el doble en migranyosos, especialment els que pateixen MA (Schurks et al., 2009).

1.2. Epidemiologia

1.2.1. Prevalença

La distribució geogràfica de la migranya varia en funció del sexe, l'edat i l'ètnia. S'han fet molts estudis epidemiològics, però els resultats poden variar en funció del criteri diagnòstic utilitzat per a classificar els pacients. Els estudis amb mides mostrals més grans són generalment de caire poblacional i inclouen dades recollides a partir d'enquestes a un gran grup de població, fet pel qual poden haver-hi discrepàncies en la classificació dels pacients i per tant, tenen una fiabilitat limitada.

S'ha estimat la prevalença¹ mitjana en 11,5% (migranya segons criteris ICHD-II), del qual un 4,5% correspon a MA (rang entre 1,2 i 5,8 %). Però aquesta prevalença pot variar molt en funció de la regió geogràfica, amb la prevalença de migranya més baixa detectada a Tanzània (2,6%) i la més alta a Itàlia (21,7%). Un estudi més recent, però, situa la prevalença en adults en el 14,7%, sent un 8% en homes i un 17,6% en dones (Stovner, 2010). A Espanya, la prevalença es situa en el 12,8% segons dades de l'estudi PALM

¹ Proporcio de la població que pateix la malaltia en un moment determinat (mesura de la freqüència en estudis transversals).

(Matías-Guiu et al., 2011). Globalment, la prevalença és inferior a l'Àfrica, Àsia i Orient Mitjà respecte Europa i Nord Amèrica. S'ha suggerit que aquestes diferències poden ser degudes tant a factors metodològics dels propis estudis com a la influència de factors relacionats amb l'estil de vida i l'efecte ambiental (revisat per Merikangas, 2013).

S'observa una diferent distribució entre homes i dones, sent més freqüent en dones. La relació dona-home no es distribueix de uniformement, sinó que depèn de l'edat (figura 1). Cap als 20 anys la relació ja és de 2:1 i als 40, sent 35 pels homes i 45 per dones els moments de màxima afectació segons la història natural de la malaltia, la desproporció arriba a ser 3:1 (Breslau i Rasmussen, 2001; Stovner et al., 2006), atribuïda a la fluctuació d'hormones femenines durant el cicle menstrual.

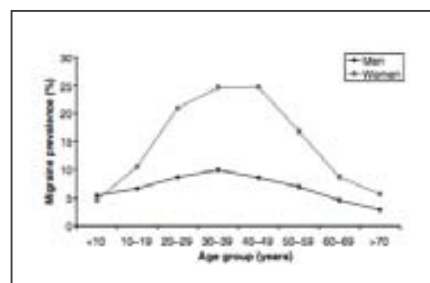


Figura 1. Prevalença de migranya per sexe i edat (Stovner, 2006)

1.2.2. Impacte socioeconòmic

Segons l'Organització Mundial de la Salut (OMS), la migranya ocupa el 19è lloc en el rànquing de malalties més severes que causen discapacitat en la població general i arriba a situar-se la 9ª entre les dones (Leonardi i Mathers, 2003).

Donat que la migranya és un trastorn incapacitant per definició, s'ha valorat l'impacte econòmic de la migranya fent estudis que mesurin les hores perdudes de productivitat (hores de feina perdudes i hores de productivitat reduïda) així com els recursos sanitaris utilitzats (atenció primària, unitats de neurologia, visites a urgències i exploracions complementàries). En la Comunitat Europea es va estimar el cost total de la migranya en 25 mil milions d'euros, en un estudi on van intervenir 15 països, sent la quantitat més elevada entre els trastorns neurològics, superior a la demència (Berg i Stovner, 2005).

A Espanya, s'ha documentat una pèrdua de productivitat que pot variar entre 1,1 hores i 4,6 hores de feina per setmana en funció de la freqüència d'episodis de migranya (Pozo-Rosich, 2012). L'impacte econòmic de la migranya a Espanya és de 1.800 milions d'euros (Matías-Guiu et al., 2011). Aquestes dades s'amplien al capítol següent dedicat a la migranya crònica.

1.2.3. Impacte i qualitat de vida

A banda de la despesa econòmica que suposa la migranya dins del sistema sanitari, cal considerar l'elevat impacte que té sobre la qualitat de vida de les persones que la pateixen. Es considera que un dia viscut amb migranya és tant incapacitant com un dia viscut amb demència, tetraparèsia o psicosi, o fins i tot més incapacitant que la ceguesa (Harwood et al., 2004). La repercussió de la migranya en la vida del pacient, però, va més enllà del malestar o incapacitat temporal que pateix durant l'atac. Segons la freqüència amb la qual es repeteixen els atacs i la seva intensitat, podem distingir entre aquestes repercussions a **curt termini** (alteració de l'estat de benestar del pacient durant la crisi) i repercussions a **llarg termini**, que poden ser de caire personal (rendiment acadèmic, èxit i productivitat laboral, benestar mental, relacions familiars, relacions socials) o econòmic (costos directes derivats del tractament específic de la migranya i indirectes, com els derivats dels recursos sanitaris i de la manca de productivitat durant els atacs).

Cal considerar, també, que les persones que no pateixen migranya ni tenen cap amic o familiar proper migranyós tendeixen a confondre la migranya amb una cefalea tensional no discapacitant, minimitzant per desconeixença, l'abast i l'impacte real que té la crisi de migranya. Això és una constant en moltes malalties que tenen com a base el dolor crònic, ja que el dolor no és mesurable ni quantificable de forma objectiva.

Els estudis epidemiològics sovint inclouen instruments per avaluar i quantificar el grau d'impacte de la migranya en la qualitat de vida i la discapacitat que produeix:

- La *Health-Related Quality of Life (HRQoL)*² i el qüestionari de salut SF-36v.2³ mesuren de forma generalitzada la percepció dels pacients del seu estat de salut en el qual han de tenir en compte la cefalea.
- La *Migraine Disability Assessment (MIDAS)*⁴ és una escala que mesura de forma específica el nivell de discapacitat provocat per la migranya.
- El *Headache Impact Test (HIT-6)*⁵ és un test per calcular l'impacte que té la cefalea en la vida del pacient.

² Centers for Disease Control and Prevention Measuring Healthy Days. Atlanta, CDC; 2000. Enllaç de consulta: [HRQoL versió espanyola \(BiblioPro\)](#)

³ Ware, 1992. Enllaç de consulta a: [SF-36v.2 versió espanyola \(BiblioPro\)](#)

⁴ Stewart et al., 1999. Enllaç de consulta a: [MIDAS versió espanyola \(BiblioPro\)](#)

Tant la MIDAS com el HIT-6 s'utilitzen específicament com a indicadors de la incapacitat produïda per la migranya a les consultes de neurologia. Ambdues donen informació similar però amb matisos: la puntuació MIDAS es veu més influenciada per la freqüència d'atacs mentre que la HIT-6 reflecteix més la intensitat del dolor (Sauro et al., 2010). Per tant, aquests instruments són especialment rellevants per caracteritzar i fenotipar pacients però també per a monitoritzar l'evolució del mateix. En el capítol següent s'analitzen algunes dades relacionades amb aquests instruments i la migranya episòdica (ME) i crònica (MC).

1.3. Fisiopatologia

La fisiopatologia de la migranya és encara poc coneguda, i no hi ha una única teoria que permeti explicar tots els fenòmens que s'esdevenen en un atac migranyós. Coexisteixen actualment dues teories sobre la fisiopatologia de la migranya: la teoria neuronal i la teoria vascular. Durant anys s'ha postulat una **teoria vascular**, que suggeria que el mal de cap seria causat per una vasodilatació, mentre que l'aura seria el resultat d'una vasoconstricció (Wolff, 1963), però s'ha pogut demostrar que el mal de cap comença abans que augmenti el flux sanguini cerebral a causa de la vasodilatació (Olesen et al., 1990). Actualment, la **teoria neuronal** en voga proposa que una disfunció neuronal desencadena un estat d'hiperexcitabilitat cortical neuronal (Pietrobon i Striessnig, 2003) que permet que es propagui una ona despolaritzant, l'anomenada depressió cortical propagada (DCP). Es considera que la DCP que avança pel còrtex és la responsable de l'aura i dels símptomes que se'n deriven, i que la intensa activitat neuronal i la reducció del flux sanguini cerebral després de la DCP activen les vies nociceptives.

Es postula, doncs, que la migranya és el resultat d'una disfunció primària al cervell que s'inicia a les neurones de determinats nuclis i desencadena una sèrie d'esdeveniments que condueixen a l'activació i sensibilització del sistema trigeminovascular, i que produeixen inflamació neurogènica i la consegüent resposta vascular mediada per diferents agents bioquímics, principalment la serotonina.

⁵ Bayliss et al., 2003. Enllaç de consulta a: [HIT-6 versió demostració online](#)

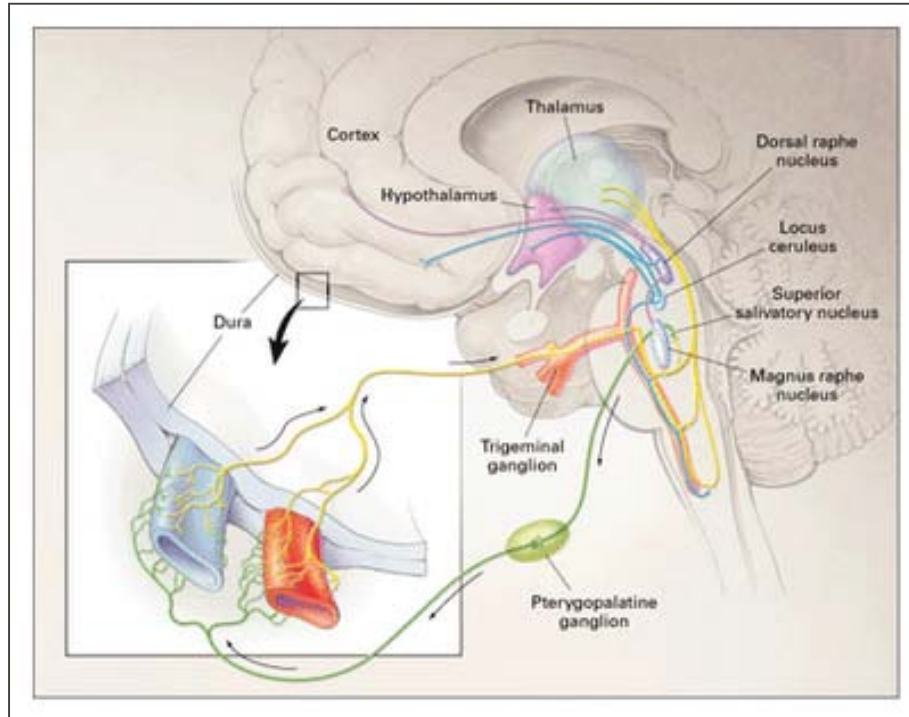


Figura 2. Principals estructures anatòmiques implicades en la fisiopatologia de la migranya (Goadsby et al., 2002, Copyright Goadsby, 2002)

1.3.1. Hiperexcitabilitat cortical del cervell migranyós

Molts estudis suggereixen que el còrtex cerebral dels pacients amb migranya és hiperexcitable, i que aquesta s'observa també en període interictal. Es considera que aquesta hiperexcitabilitat neuronal disminueix el llindar de resposta a determinats estímuls o que augmenta l'amplitud de resposta als mateixos quan aquests superen un determinat llindar (revisat per Pietrobon i Moskowitz, 2013).

En alguns estudis s'han observat diferències en el processament de la informació cortical entre el cervell d'un migranyós en període interictal i el d'un control. En condicions normals es produeix un fenomen d'habitució davant d'estímuls persistents, disminuint la resposta cortical evocada. Els individus migranyosos, en canvi, presenten el fenomen d'habitució reduït, o fins i tot activació (Ambrosini i Schoenen, 2003), que podria contribuir a la hipersensibilitat a determinats estímuls sensorials com llums intenses o olors fortes.

1.3.2. Activació trigeminovascular

El desencadenament d'una migranya depèn de l'activació i sensibilització de les fibres aferents sensorials trigeminals que innerven els teixits cranials, especialment les meninges i la seva vasculatura. L'agent causant d'aquesta activació no està clar. Alguns autors ho associen a la DCP que causa els fenòmens de l'aura, o a una DCP silent en el cas de MO. D'altres hipotetitzen que el generador s'activaria en el nucli rafe dorsal a nivell de tronc encefàlic. Sigui per la via que sigui, l'activació d'aquest generador és contralateral al costat del dolor i es deu a l'alliberament d'òxid nítric (ON) i glutamat, principalment.

Les meninges (membranes que protegeixen el sistema nerviós central) són les úniques parts del cervell sensibles al dolor i estan irrigades per vasos innervats per les fibres aferents del nervi trigemin (nociceptors), que és el mecanisme d'alerta i defensa del teixit cerebral. El dolor migranyós és conseqüència de l'activació d'aquest sistema de defensa (Moskowitz i Macfarlane, 1993). Les neurones trigèmines tenen el soma al gangli trigemin (TGN) i estableixen connexions sinàptiques amb el nucli caudal del trigemin situat al tronc de l'encèfal i amb els vasos cerebrals del còrtex i les meninges. Quan aquestes neurones s'activen per l'ON i glutamat, alliberen pèptids vasoactius pro-inflamatoris sobre les meninges: substància P, neuroquinina A i CGRP (pèptid relacionat amb el gen de la calcitonina). Aquestes substàncies produeixen vasodilatació del vasos cerebrals de les meninges, extravassació de proteïnes plasmàtiques i activació dels mastòcits de la dura mater, que alliberen citoquines i altres mediadors inflamatoris. Aquesta reacció inflamatòria local iniciada per l'activació dels nociceptors s'anomena **inflamació neurogènica** (Markowitz et al., 1987; Moskowitz i Macfarlane, 1993), que contribueix a la **sensibilització perifèrica** d'aquestes aferents trigeminals. La resposta inflamatòria, a més, s'associa a una disminució del llindar per reactivacions següents, fet que podria explicar que la migranya es prolongui en el temps i s'intensifiqui.

Després de l'estimulació química de les neurones perifèriques del trigemin, però, les neurones trigèmines centrals també es sensibilitzen i comencen a respondre a estímuls abans innocus produint **sensibilització central** (Burstein et al., 2000). Aquest mecanisme podria explicar l'associació de migranya a l'al·lodínia cutània. Aquesta sensibilització central és intermitent en la ME, però en el cas de MC persisteix de forma contínua,

explicant part de la simptomatologia que els migranyosos crònics experimenten en períodes interictals.

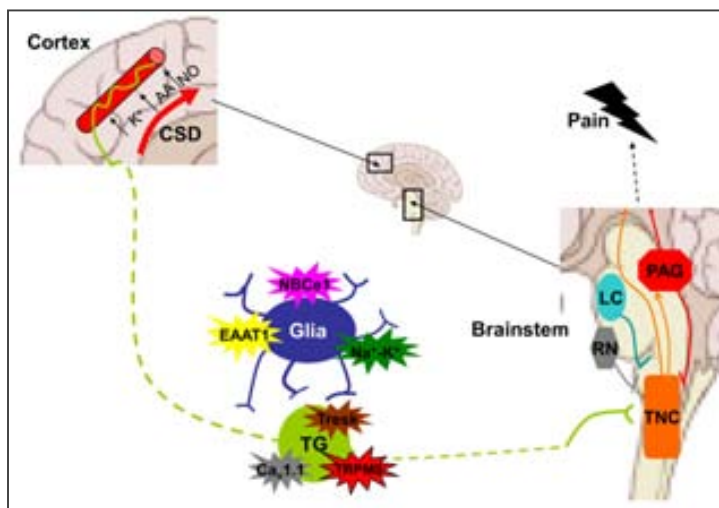
1.3.3. Nocicepció i el tronc de l'encèfal

Les fibres trigeminals sensibilitzades transmeten el senyal al nucli caudal del trigemin, al tronc de l'encèfal, de manera que s'activen altres estructures implicades en la nocicepció, com el tàlam i el còrtex somatosensorial, implicats en la percepció i localització del dolor, per tal d'activar la resposta al dolor (antinocicepció). Es posa en marxa, doncs, la via facilitadora descendent, que condueix a l'alliberament de substàncies endògenes inhibidores (opioides i GABA) que actuen modulant la transmissió de l'estímul dolorós: d'una banda, disminueix l'alliberament de glutamat i substància P i, d'altra banda, disminueix la transmissió de l'impuls dolorós cap a tàlam i còrtex mediat per serotonina i norepinefrina.

Mitjançant proves de neuroimatge funcional, s'ha comprovat l'activació de la substància gris periaqüeductal (PAG), el nucli dorsal del rafe, el locus coeruleus, l'àrea del tegment ventral i l'hipotàlam (implicats en la modulació i control autonòmic del dolor); el nucli salival superior (implicat en la vasodilatació meníngia i símptomes disautonòmics); el cingle i l'amígdala (component subjectiu i emocional del dolor) (Goadsby, 2002).

1.3.4. Connexió entre l'aura i la cefalea

Com la DCP desencadena l'activació del sistema trigeminovascular és un procés estudiat a partir de models experimentals. S'ha demostrat que en rata, la DCP induïda amb potassi o un estímul elèctric activa aferents trigeminals al còrtex, desencadenant les reaccions a nivell de meninges i tronc encefàlic que generen el dolor (Bolay et al., 2002). L'activació del trigemin podria donar-se com a conseqüència dels canvis en la composició del fluid extracel·lular induïts per la DCP, com ara l'increment en les concentracions de K^+ , H^+ , neurotransmissors, i metabòlits. Això explicaria el mecanisme en el cas de la MA. Donat que la MO és molt més freqüent, i que els pacients amb MA poden patir episodis sense aura, s'ha postulat que la DCP podria estar produint-se en àrees clínicament silencioses del còrtex cerebral (Woods et al., 1994; Cao et al., 1999) o que no arriben a un llindar suficient per a donar manifestacions clíniques de l'aura.



La DCP promou l'extravassació de proteïnes plasmàtiques dels vasos sanguinis a les meninges, que activen les aferents trigeminals. S'han descrit mutacions que redueixen el llindar d'activació de les neurones trigeminals. El senyal es transmet també al nucli trigeminal caudal, que també rep aferències d'altres àrees del tronc encefàlic, com la PAG el LC i el RN, que poden ser àrees disfuncionals en la migranya. PAG, substància gris periaqueductal; LC, locus coeruleus; RN; nucli rafe. (Weir i Cader, 2011)

Figura 3. Circuits neuronals implicats en la generació del dolor

1.3.5. Disfunció endotelial

S'ha demostrat que la DCP activa les metal·loproteïnases de matriu (MMP) que alteren la permeabilitat vascular.

Les MMP constitueixen una família d'endopeptidases zinc- i calci- dependents que degraden diferents components de la matriu extracel·lular, com la fibronectina, la laminina, els proteoglicans i el col·lagen tipus IV (Candelario i Rosenberg., 2009).

Clàssicament, les MMP es van classificar segons l'especificitat de substrat en:

- Col·lagenases: MMP-1, MMP-8, MMP-13 i MMP-18
- Estromelisines: MMP-3, MMP-10 i MMP-11
- Gelatinases: MMP-2, MMP-7 i MMP-9
- Matrilisines: MMP-7 i MMP-26
- MMP de membrana: MMP-14, MMP-15, MMP-16 i MMP-24

Les MMP són regulades tant a nivell transcripcional de la síntesi proteica com per la secreció en forma inactiva (zimògens). Però a més, les MMP poden ser bloquejades enzimàticament pels TIMP, uns enzims de baix pes molecular que inhibeixen específicament determinades MMP: TIMP-1 inhibeix principalment MMP-9; TIMP-2 inhibeix MMP-2 i, paradoxalment, contribueix a l'activació de la forma inactiva pro-

MMP-2; TIMP-3 inhibeix MMP-3 i MMP de membrana i TIMP-4, de funció desconeguda al cervell.

Les MMP, però, afecten tant la membrana extracel·lular com l'endoteli vascular, facilitant l'acumulació de molècules nociceptives al còrtex. S'ha suggerit que les MMP augmenten la permeabilitat vascular en els vasos cerebrals, alterant la composició de la BHE i contribuint a generar un ambient inflamatori que, conjuntament amb l'activació de les neurones trigeminals, pot conduir al desencadenament d'un atac de migranya (Yong et al., 2001; Gurney et al., 2006; Edvinsson et al., 2008).

En un model experimental de migranya en ratolí, els canvis en l'activitat de les MMPs als vasos es van detectar als 15 minuts de la DCP mitjançant zimografia *in situ* (Gursoy-Ozdemir, 2004). Al cap de 3-6 hores, els nivells de MMP-9 es podien mesurar mitjançant zimografia en gel en teixit ipsilateral a la DCP. Els nivells es mantenien elevats durant 48 hores. A més, es va detectar disminució en la immunoreactivitat de la laminina, la EBA (*endothelial barrier antigen*) i el marcador zona occludens-1, que suggereix que l'activació de MMP induïda per la DCP altera proteïnes crítiques per a mantenir la integritat de la barrera hematoencefàlica (BHE). L'activitat gelatinasa de la MMP-9 desapareixia en presència de l'inhibidor GM6001.

Estudis amb neuroimatge de pacients amb episodis de migranya amb aura prolongada van mostrar que hi havia extravassació de contrast gadolini a dins del parènquima, la qual cosa suggereix que hi havia disrupció de la BHE (Lindner et al., 1999; Smith et al., 2002; Iizuka et al., 2006).

A més, s'han realitzat alguns estudis amb pacients per estudiar la relació entre les MMP i la migranya amb resultats controverosos. Leira i col·laboradors van descriure que els nivells plasmàtics de MMP-9 augmentaven durant la crisi de migranya en comparació amb controls, tant en MO com en MA (Leira et al., 2007). Un altre estudi, però, va suggerir que l'augment dels nivells de MMP-9 en migranyosos era una conseqüència de l'atac, ja que van observar que els màxims nivells d'expressió es trobaven en pacients amb menys dies des del darrer atac (Imamura et al., 2008). Contràriament a aquests estudis, Ashina i col·laboradors van descriure un descens dels nivells plasmàtics de MMP-3 durant un atac

de MO, i no trobaren diferències en els nivells de MMP-9 ni de TIMP-1 (Ashina et al., 2010).

En condicions fisiològiques, el balanç entre les MMP i TIMP es regula d'una forma precisa. Alteracions d'aquest balanç proteolític poden estar associades a la fisiopatologia de trastorns neurològics en els que es produeix inflamació neurogènica (Mannello et al., 2009). En aquest sentit, un estudi va reportar un augment plasmàtic de MMP-2 i de la ràtio pro-MMP-2/TIMP-2 i un descens de la ràtio MMP-9/TIMP-1 en un estudi cas-control amb dones amb MA (Martins-Oliveira et al., 2009).

Més recentment, un estudi cas-control amb 38 migranyosos i 20 controls va estudiar el nivell plasmàtic de MMP-9 durant l'atac de migranya, des de l'inici del dolor fins al 7è dia. Van observar que el nivell de MMP-9 augmentava des de l'inici i es mantenia elevat fins al 6è dia, mostrant el pic més elevat durant el 3r dia (Gao et al., 2010). Bernecker i col·laboradors també van descriure un augment dels nivells sèrics de les MMP i TIMP (OR 7,57) en un estudi cas-control. Però a més, van determinar que l'augment de MMP en aquesta mostra també correlacionava amb altres paràmetres relacionats amb el metabolisme de lípids (colesterol, triglicèrids i LDL) i la insulina (Bernecker et al., 2011).

Malgrat que no hi ha consistència de resultats entre tots aquests estudis, probablement a causa d'importants diferències metodològiques, tots van coincidir en que no sembla que hi hagi cap diferència en els nivells plasmàtics de les MMP entre la MO i la MA.

1.4. Biomarcadors en la migranya

Un biomarcador és una mesura o característica mesurable i objectivable que es relaciona amb un determinat procés biològic o estat del procés. Es poden diferenciar **biomarcadors d'exposició** i **biomarcadors de la malaltia**. Els primers fan referència al risc de desenvolupar una malaltia i els segons són indicadors amb una potencial utilitat en el diagnòstic i/o pronòstic d'una malaltia.

Entre els biomarcadors d'exposició destaquen els **factors genètics**, com ara la presència de determinades mutacions o variants gèniques. Els factors genètics implicats en la migranya i les evidències de la susceptibilitat s'expliquen en el capítol 4 d'aquest mateix bloc.

Els biomarcadors de la malaltia, en canvi, poden ser **proteòmics**, **metabòlics**, **físics**, **fisiològics** o **patrons de neuroimatge** (Loder i Rizzoli, 2006).

En la migranya, s'han estudiat biomarcadors fisiològics com alteracions en el potencials evocats, que van permetre identificar una deficient habituació del cervell migranyós a estímuls repetitius que s'ha relacionat amb la hiperexcitabilitat cortical (Gantenbein i Sándor., 2006). Majoritàriament, però, la recerca de biomarcadors s'ha basat en l'estudi de molècules implicades en la senyalització neuronal implicades en el mecanisme fisiopatològic de la migranya, com ara: el CGRP, la substància P, la neurokinina A, l'òxid nítric, les encefalines, el pèptid vasoactiu intestinal (VIP) i el pèptid activador de l'adenilat ciclasa pituïtària (PACAP) (revisat per Edvinsson, 2006). Les MMP, com s'ha descrit anteriorment a 1.3.5, també han estat estudiades amb resultats poc consistents.

Un estudi amb microarrays va identificar fins a 15 gens expressats diferencialment en MA respecte controls, entre els quals destacaven la α -fodrina (codificada per *SPTAN1*) i la hipocalcina (codificada per *HPCAL1*). La α -fodrina és una molècula àmpliament expressada al cervell i en diferents tipus neuronals que pot ser ràpidament degradada per les MMP. La hipocalcina, en canvi, és un membre de la família de proteïnes neuronals sensibles al calci que s'expressa a les neurones piramidals hipocampals i que alguns estudis han relacionat amb una forma monogènica de la migranya, la migranya hemiplègica familiar (FHM), caracteritzada per alteracions en el canal de calci CACNA1A. (Nagata et al., 2009)

En la MC, l'estudi de biomarcadors ha suggerit associacions amb uns patrons de lesions en la substància blanca, però fins l'actualitat els resultats són poc precisos, poc replicables i aplicables sovint a subgrups molt específics de pacients. Malauradament, encara no es disposa de cap biomarcador amb utilitat diagnòstica demostrada per la migranya ni per la MC.

1.5. Tractament de la migranya

1.5.1. Tractament simptomàtic

En el tractament simptomàtic de la crisi de migranya s'utilitzen fàrmacs específics i no específics. L'avenç en el coneixement dels mecanismes fisiopatològics va permetre el descobriment dels **triptans**, un grup de fàrmacs específics de migranya que actuen mitjançant les seves propietats agonistes dels receptors de serotonina. No són útils en el tractament d'altres tipus de cefalees a excepció del Cluster.

El seu mecanisme d'acció es basa en fer de mitjancers de la vasoconstricció dels vasos de les meninges a través de l'estimulació dels receptors vasculars 5HT_{1B}, inhibir la inflamació neurogènica a través de l'estimulació dels receptors presinàptics 5HT_{1D-1F} i fins i tot poden inhibir la transmissió central del dolor. Els triptans, però, tenen una finestra terapèutica estreta que depèn de la intensitat del dolor i la presència d'al·lodínia. La taula 4 recull els tipus i les potencials indicacions dels triptans.

Taula 4. Triptans i indicacions pel tractament simptomàtic de la crisi de migranya (adaptat de Pascual, 2012)

<u>Fàrmac</u>	<u>Formulació</u>	<u>Indicacions</u>
Sumatriptan	Subcutànea 6mg Nasal 20mg Nasal 10 mg Oral 50mg	Crisis intenses resistent a via oral i nasal Crisis resistents a via oral i/o pacients amb vòmits Nens i adolescents Migranyós estàndard ó en risc d'embaràs
Zolmitriptan	Oral 2,5 i 5mg Nasal 5mg	Migranyós estàndard Resistents a via oral i/o amb vòmits
Naratriptan	Oral 2,5mg	Crisis lleus-moderades de llarga durada Efectes adversos amb altres triptans
Rizatriptan	Oral 10mg	Migranyós estàndard Crisis intenses, ràpides i de curta durada
Almotriptan	Oral 12,5mg	Migranyós estàndard Efectes secundaris amb altres triptans
Eletriptan	Oral 20 i 40mg	Crisis intenses de llarga durada
Frovatriptan	Oral 2,5mg	Crisis lleus-moderades Crisis de llarga durada Efectes adversos amb altres triptans

Entre el grup de fàrmacs no específics utilitzats per la crisi de migranya trobem **antiemètics**, l'objectiu dels quals és minimitzar les nàusees i vòmits que acompanyen el desenvolupament de la crisi, i els **analgèsics** (simples, combinats amb cafeïna i antiinflamatoris no-esteroideus ó AINE. Els analgèsics simples utilitzats habitualment són el metzamazol magnèsic i el paracetamol, tot i que acostuma a ser més freqüent l'ús de combinacions amb cafeïna i codeïna, un abús dels quals pot conduir a dependència i conseqüent CAM. Entre els AINE més utilitzats trobem l'àcid acetilsalicílic (AAS), el naproxè, l'ibuprofè, el diclofenat sòdic i el dexketoprofè.

1.5.2. Profilaxi

El tractament preventiu s'aconsella a partir de 3 episodis de migranya al mes i s'introdueix progressivament per a minimitzar els efectes adversos que pot produir. El tractament preventiu més freqüent consisteix en l'ús d'antiepilèptics ó beta-bloquejants, com el **topiramat** o el **propanol** i el **nadolol**, segons les característiques particulars del pacient a tractar. El segon nivell de preventius, quan el pacient no respon o existeix intolerància o contraindicacions pels anteriors, són la **flunarizina** (calci-antagonista) i l'**àcid valproic** (antiepilèptic). També es pot considerar l'ús d'altres fàrmacs hipertensius, com el **lisinopril** i el **candesartan**, antidepressius com l'**amitriptilina** i AINE, habitualment **naproxè** (Pascual, 2012). La **riboflavina** i la **toxina botulínica tipus A** (aprovalada recentment com a tractament preventiu quan no es respon als tractaments clàssics) també han demostrat en alguns assajos clínics la seva eficàcia com a preventius, però el mecanisme d'acció és encara força desconegut.

A banda del tractament farmacològic, existeixen una sèrie de recomanacions sobre hàbits i estil de vida que poden ajudar al pacient a controlar millor les seves migranyes: ésser molt regular amb els horaris d'àpats i de dormir, dormir les mateixes hores i menjar la mateixa quantitat cada dia, fer activitat física moderada amb regularitat, evitar situacions d'estrès, evitar llocs amb molt soroll i olors penetrants així com identificar els desencadenants habituals de les crisis de migranya. L'alcohol i les begudes/aliments rics en xantines, com ara el cafè, la xocolata, el tè, el guaranà, etc. poden actuar també com a desencadenants, especialment quan el consum és moderat-elevat.

1.2. La migranya crònica

2.1. Característiques clíniques

La MC és una malaltia caracteritzada per un augment en la severitat i freqüència dels atacs de migranya, amb o sense aura. Aquesta progressió s'ha descrit des del 1980 amb diferent nomenclatura i criteris diagnòstics sovint arbitraris i poc precisos.

2.1.1. Criteris diagnòstics

La primera classificació de les cefalees o ICHD-I (IHS, 1988) no va incloure cap criteri per classificar aquells pacients amb cefalea diària o quasi diària. D'aquí va néixer la necessitat d'establir uns criteris diagnòstics específics recollits a la taula 5 (Manack et al., 2009), els quals han patit diverses modificacions al llarg del temps.

Inicialment, es va anomenar “migranya transformada” a la progressió de la cefalea segons criteris poc específics (Mathew, 1993; Silberstein i Lipton, 1994; Silberstein i Lipton, 1996). Conceptualment, la migranya transformada provenia d'una migranya episòdica, però els criteris que s'utilitzaven es basaven en el testimoni del pacient i de com recordava el procés, de manera que sovint no es podien classificar pacients que no podien aportar informació concreta a nivell temporal.

El terme “migranya crònica” és utilitzat per primera vegada per Manzoni (Manzoni et al., 1995) i el seu criteri coexisteix amb els de Silberstein i Lipton durant un temps, definint com a MC aquells pacients amb migranya sense el típic període lliure de símptomes entre atacs. Donada la imprecisió d'aquest criteri i dels coexistents, un pacient podia ser diagnosticat de “cefalea crònica diària”, “migranya transformada” o “migranya crònica” indistintament. Quin es feia servir més depenia de criteris subjectius, però a finals dels anys noranta els més utilitzats en estudis epidemiològics van ser els de Silberstein i Lipton.

Taula 5. Criteris diagnòstics de MT i MC previs a ICHD-II (IHS, 2004) i ICHD-IIR (IHS, 2006).

<u>Nomenclatura i referència</u>	<u>Descripció i/o criteris diagnòstics</u>	<u>Limitacions</u>
Migranya transformada (MT) (Mathew, 1993)	Pacients que veuen de forma clara un augment de les seves migranyes, augmentant la severitat i freqüència (migranyes que evolucionen a quasi diàries). S'inclouen els subtipus: (1) MT associada a abús de medicaments, (2) MT no associada a abús de medicaments.	Fàcil d'aplicar però falta fiabilitat sobre l'estat de la malaltia i la progressió
Migranya crònica (MT) (Manzoni et al., 1995)	Migranya amb progressió desfavorable sense períodes lliures de símptomes entre atacs: A. Complir criteris migranya (ICHD-I, 1.1.) B. Cefalea durant 6 dies a la setmana com a mínim durant 1 any	Falten criteris d'estratificació segons abús de medicaments
Migranya transformada (MT) (Silberstein i Lipton, 1994)	Cefalea diària o quasi-diària que es va iniciar amb migranya i que es tornen menys severes i menys freqüents a mida que la freqüència de cefalees augmenta. A. Història de migranya episòdica segons alguns dels criteris ICHD-I 1.1-1.6 B. Dolor diari o quasi-diari ≥ 15 dies/mes durant >1 mes C. Durada promig >4h/dia (sense tractar) D. Història de cefalea freqüent amb disminució de la severitat dels símptomes migranyosos durant al menys 3 mesos E. Com a mínim, 1 dels següents: 1. No indicis de altres trastorns entre els grups 5-11 2. Indicis d'algun trastorn però descartable 3. Presència d'algun trastorn però separats en el temps del primer atac de migranya La transformació amb abús de medicaments es defineix com pacients que compleixen els criteris anteriors i al menys 1 dels següents durant 1 mes: 1) Analgèsics simples (>1000mg AAS i/o acetaminofen >5 dies/setmana) 2) Analgèsics combinats (cafeïna, barbitúrics): >3/dia i >2dies/setmana 3) Narcòtics: >1/dia i >2dies/setmana 4) Ergotamina (1mg PO o 0,5MG PR) durant >2 dies/setmana	Limitacions en la pràctica general per la dependència del record del pacient sobre la transformació de la seva cefalea
Migranya transformada (MT) (Silberstein i Lipton, 1996)	Es mantenen els criteris iguals criteris B, C i E anteriors (que passen a ser A, B i E, respectivament). S'afegeix: C. Com a mínim, 1 dels següents: 1. Història de migranya episòdica segons alguns dels criteris ICHD-I 1.1-1.6 2. Història d'augment de freqüència de cefalea amb disminució de la severitat dels símptomes migranyosos durant al menys 3 mesos 3. La cefalea pot concordar, en algun moment, amb els criteris establerts entre 1.1 i 1.6 a excepció de la durada D. No compleix criteris per nova cefalea diària persistent ni hemicrania contínua	El requeriment d'1 criteri de C era problemàtic: si C.2 es refereix a un pacient de migranya però no C.1 ni C.3, aleshores un pacient podia ser classificat com a MT sense haver tingut abans migranya episòdica ni experimentar-les

Traducció de la revisió de Manack et al., 2009.

La manca de criteris per trastorns crònics en la ICHD-I (IHS, 1988) va generar crítiques entre la comunitat científica, de manera que la ICHD-II (IHS, 2004) va incloure criteris per la MC sota la classificació de “complicacions de la migranya”, que es van precisar i modificar en un apèndix que es va publicar dos anys més tard, la ICHD-IIR (IHS, 2006).

Taula 6. Criteris diagnòstics de MC a ICHD-II (2004) i ICHD-IIR, (2006).

<u>Nomenclatura i referència</u>	<u>Descripció i/o criteris diagnòstics</u>	<u>Limitacions</u>
Migranya crònica (MC) (ICHD-II, 2004)	<p>Cefalea migranyosa que ocorre ≥ 15 dies/mes en absència d'abús de medicaments.</p> <p>A. Cefalea que compleix els criteris C i D de migranya sense aura (I.1) durant ≥ 15 dies/mes durant > 3 mesos.</p> <p>B. No atribuïble a altres trastorns†</p> <p>En presència d'abús de medicaments (per exemple, criteri B per algun dels subtipus de 8.2.Cefalea per abús de medicaments (CAM), es classificarà aquell pacient d'acord al tipus de migranya previ a l'abús (normalment 1.1.Migranya sense aura) i 1.6.5.Migranya crònica probable més 8.2.7.Probable cefalea per abús de medicaments.</p>	<p>Migranya ≥ 15 dies/mes era massa restrictiu, ja que describia la majoria de MC a les consultes de cefalea i el diagnòstic de MC depenia de l'absència de CAM, que només pot ser diagnosticada una vegada el pacient ja no té CAM.</p>
Migranya crònica (MC) (ICHD-IIR, 2006)	<p>Cefalea freqüent (> 15 dies/mes) amb com a mínim 8 dies/mes de migranya o migranya probable en absència d'abús de medicaments.</p> <p>A. Cefalea (tensional i/o migranya) ≥ 15 dies/mes durant > 3 mesos</p> <p>B. Que ocorre n pacients que ja han sofert > 5 atacs que compleixin criteris 1.1.Migranya sense aura.</p> <p>C. Que en > 8 dies/mes la cefalea compleixi els criteris C1 i/o C2, per tant, que hagi complert criteris de dolor i símptomes associats de migranya sense aura:</p> <p>1. Que tingui 2 entre "a" i "d":</p> <p>(a) localització unilateral</p> <p>(b) pulsatiu</p> <p>(c) intensitat moderada o severa</p> <p>(d) agreujat per o evitant l'activitat física rutinària (caminar o pujar escales)</p> <p>I al menys 1 entre "a" i "b":</p> <p>(a) náusea i/o vòmit</p> <p>(b) fotofòbia i sonofòbia</p> <p>2. Tractada i resolta amb triptans o ergòtics abans de desenvolupar els símptomes de C1</p> <p>D. Sense abús de medicaments‡ i no atribuïble a cap altre trastorn†</p>	<p>No és universalment acceptada ja que el criteri D està sotmès a debat sobre si MC és causa o conseqüència d'abús de medicaments i és un criteri difícil de determinar en estudis poblacionals a gran escala.</p> <p>La categoria C2 està subjecte a la capacitat del pacient de recordar la millora amb triptans o ergòtics abans de desenvolupar la migranya</p>
<p>†Anamnesi i exploració física i neurològica no suggereixen cap dels trastorns establerts entre els punts 5 i 12 de la classificació, o suggereixen algun dels trastorns però poden ser descartats amb proves adequades, o el trastorn és present però la cefalea no es desenvolupa en el mateix marc temporal que el trastorn.</p> <p>‡CAM es defineix amb els criteris ICHD-II revisats del 2006.</p>		

Traducció de la revisió de Manack et al., 2009.

La correcta definició de MC és encara un tema controvertit. Molts autors consideren que aquest concepte encara ha d'evolucionar però reconeixen la importància de considerar-lo una complicació de la migranya recollint el concepte de “migranya transformada” de Silberstein i Lipton (Díaz-Insa, 2012).

Un dels aspectes més arbitraris del criteri de MC és el fet d'establir en 15 el mínim de dies per a considerar que un pacient pateix MC, ja que hi ha sovint variabilitat en la durada dels episodis. Per definició, la durada d'un atac de migranya és d'entre 4 i 72 hores i comprèn fins a 4 fases (pròdrom, aura, dolor i fase resolutòria, sovint similar a la sensació de “ressaca”) però en alguns pacients les diferents fases es succeixen en un període de 12 a 24 hores i en d'altres no es resol completament en 72 hores. En un 20% de casos el dolor migranyós dura més de 72h (Pryse-Phillips et al., 2006). Per tant, la durada de l'episodi pot influenciar molt el diagnòstic, de manera que cal tenir en compte més característiques clíniques a banda del valor absolut de dies amb dolor.

Bigal, M.E. i Lipton R.B. van proposar, en relació a la freqüència de migranya, subdividir el grup de ME en episòdics de baixa freqüència (EBF), en els quals s'inclouen les MO i MA que ≤ 9 dies/mes, i episòdics d'alta freqüència (EAF), amb 10-14 dies de dolor/mes, ambdós inclosos. Aquesta distinció permetia seleccionar un grup d'episòdics amb freqüència prou elevada com per a suggerir que es trobessin en un probable procés de transformació de la seva migranya (Bigal i Lipton, 2008).

A l'espera d'una nova versió de la classificació de la IHS (en fase de revisió en el moment de redactar aquesta tesi), en aquest treball s'han aplicat els criteris més recents corresponents a la ICHD-IIR (taula 6) per a la classificació dels pacients amb MC i els criteris estàndard per MO i MA de la ICHD-II (explicats al capítol anterior) i que hem considerat com a migranya episòdica (ME) per tal de classificar pacients en funció de la freqüència de migranyes. També es van tenir en compte la suggerència de Bigal i Lipton sobre la EBF i la EAB, aplicant aquest criteri per subdividir la ME i estudiar el subgrup de pacients episòdics més susceptible a convertir-se en crònic.

2.1.2. Comorbilitats

Algunes malalties comòrbides a la migranya són especialment freqüents entre MC. L'estudi Americà de la Prevalença i Prevenció de la Migranya (AMPP), un estudi

poblacional prospectiu i longitudinal, va estudiar el perfil sociodemogràfic de pacients amb ME i MC així com la prevalença de malalties comòrbides, segons criteris ICHD-II (Lipton et al., 2007). La taula 7 compara les dades observades en aquest estudi, incloent 655 MC i 11.249 ME en el darrer seguiment efectuat al 2005.

Taula 7. Prevalença de malalties comòrbides a ME i MC a l'estudi AMPP (revisat per Pozo-Rosich, 2012).

<u>Malalties comòrbides</u>	<u>Prevalença en ME (%)</u>	<u>Prevalença en MC (%)</u>	<u>p-valor</u>
Artritis	22,2	33,6	<0,001
Dolor crònic	15,1	31,5	<0,001
Ansietat	18,8	30,2	<0,001
Depressió	17,2	30,2	<0,001
Trastorn bipolar	2,8	4,6	0,024
Obesitat (IMC≥30)	21,0	25,5	0,020
Trastorns circulatoris	11,4	17,3	≤0,001
Malalties cardíaques	6,3	9,6	0,012
Hipertensió	27,8	33,7	0,021
Ictus	2,2	4,0	0,019
Al·lèrgies	50,7	59,9	≤0,001
Asma	17,2	24,4	≤0,001
Bronquitis crònica	4,5	9,2	≤0,001
Enfisema/EPOC [†]	2,6	4,9	0,005
Sinusitis	37,0	45,2	≤0,001

[†]EPOC: malaltia pulmonar obstructiva crònica

L'elevada quantitat de malalties comòrbides a la MC, suggereix que aquests pacients tenen tendència a patir més malalties que sovint són de caràcter crònic. Si existeix un patró genètic que confereixi susceptibilitat o no és tema d'estudi en l'actualitat.

2.2. Epidemiologia

2.2.1. Prevalença

Els estudis que estimen la prevalença de MC aporten resultats molt variables que depenen en gran part del criteri de MC utilitzat. Globalment, s'estima que és aproximadament d'un 2% (Natoli et al., 2010). A Espanya, on l'estudi PALM (Matias-Guiu, 2011) havia identificat una prevalença del 12,8% de migranya, la prevalença de MT segons criteris de Silberstein i Lipton va ser estimada en un 2,4% (la meitat dels pacients que s'havien classificat com a cefalea crònica diària).

La prevalença de MC entre homes i dones no és homogènia. En dones s'ha estimat que és entre 2,5 i 6,5 vegades major que en homes. Així, la prevalença en dones està entre 1,7 i

4%, segons l'estudi, mentre que en homes està al voltant de 0,6 i 0,7% (Natoli et al., 2010). L'estudi AMPP (Lipton et al., 2007) també va indicar que els pacients amb MC tenien una mitjana d'edat superior a ME, major índex de massa corporal (IMC) i nivell socio-econòmic i cultural inferior.

2.2.1. Impacte socioeconòmic

Segons dades de l'estudi AMPP, els pacients amb MC perden de promig 4,6 hores de feina al mes a causa de la migranya, respecte 1,1 hores en els que tenen ≤ 3 dies/mes de migranya. El grup format per aquells pacients que tenen entre 10 i 14 dies de dolor al mes, els que podríem considerar EAF (Bigal i Lipton, 2008), representaven un 9,1% dels migranyosos contractats i generaven un 35% del total del temps laboral perdut (revisat per Pozo-Rosich, 2012). El cost mitjà derivat de la MC a Estats Units s'ha quantificat com el triple del derivat per la ME. Per tant, mentre que la ME ocasiona majoritàriament un cost econòmic indirecte pels dies d'absència laboral, la MC a més ocasiona cost directe derivats de l'augment en el consum de recursos sanitaris.

A Espanya, el cost anual derivat de la migranya s'ha estimat en uns 1.800 milions d'euros, però no hi ha estudis que quantifiquin el cost real directament relacionat amb la MC.

2.2.2. Impacte i qualitat de vida

La migranya és, per ella mateixa, una malaltia incapacitant. Quan aquesta augmenta la seva freqüència i es converteix en MC, les conseqüències que té sobre la qualitat de vida de les persones que la pateixen augmenten considerablement. Les dades de l'estudi AMPP (Lipton et al., 2007) revel·laren que els pacients amb MC tenien en menor proporció feina a jornada completa (37,8% en MC i 52,3% en ME), que faltaven significativament més a la feina que els ME i que perdien més activitats familiars i socials.

Un altre estudi espanyol va analitzar la qualitat de vida mitjançant l'escala de salut general SF-36v.2. En aquest cas es van utilitzar els criteris de MT, i es va trobar que presentaven diferències en aquells aspectes del qüestionari relacionats amb salut general, vitalitat i salut mental. Aquest estudi va concloure que el caràcter crònic de la MT afectava més a la qualitat de vida que el propi dolor (Guitera et al., 2002).

Més recentment, un estudi va avaluar l'impacte de la ME respecte la MC i la discapacitat que produïen mitjançant el qüestionari HIT-6 i l'escala MIDAS (descrits a 1.2.3, pàgina 10). Es van incloure 2.049 pacients, dels quals es va diagnosticar MC en un 6,4%, ME en un 42,1% i el 51,1% va ser considerat lliure de migranya. Els resultats de HIT-6 es van correlacionar amb els de l'escala MIDAS de discapacitat, la intensitat de la cefalea i els dies de cefalea/mes. Van demostrar que la MC té un impacte més gran en la vida del pacient que la ME i la utilitat de HIT-6 per discriminar l'impacte entre ME i MC. (Yang et al., 2011).

No obstant això, l'estudi internacional més gran dut a terme per mesurar la discapacitat i la qualitat de vida dels migranyosos és el *International Burden of Migraine Study (IBMS)* (Blumenfeld et al., 2011), en el que finalment es van obtenir dades de 8.726 persones, de les quals un 5,7% (n=499) es van classificar com a MC i el 94,3% (n=8.227) com a ME. Aquest estudi també va detectar que els MC tenien més discapacitat, menor qualitat de vida, més ansietat i depressió i més dies de pèrdua de productivitat laboral. La figura 4 mostra el nivell de discapacitat MIDAS (severitat progressiva de I a IV-B) segons la freqüència de dies de migranya al mes en aquest mateix estudi (revisat per Pozo-Rosich, 2012).

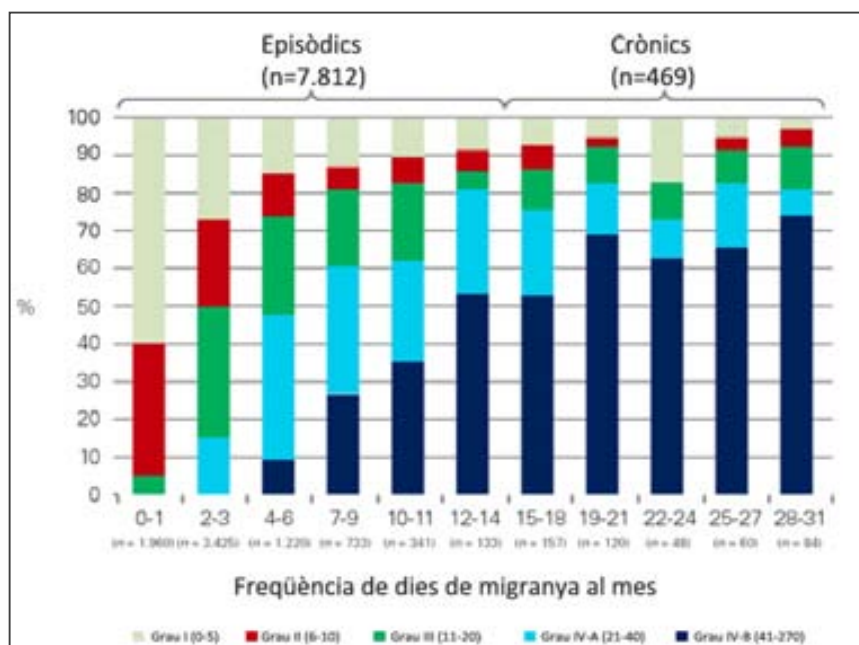


Figura 4. Discapacitat MIDAS segons dies de migranya al mes a l'estudi de Blumenfeld et al, 2011. (Traduït de Pozo-Rosich, 2012)

2.3. Procés de cronificació

La transformació de ME a MC és un procés gradual que es pot entendre com a un dels tres tipus d'evolució natural: remissió, persistència i progressió (Bigal i Lipton, 2008). S'entén com a **remissió** quan el pacient evoluciona cap a un període de temps lliure de simptomatologia, mentre que la **persistència** fa referència a un període d'estabilitat clínica relativa, sense que hi hagi indicis de progressió.

La **progressió** com a tal es pot subdividir, a la vegada, en: **progressió clínica** (augment de la freqüència), **progressió funcional** (canvis funcionals en la substància gris periaqueductal) i **progressió anatòmica** quan apareixen lesions al cervell i/o hiperintensitats en la substància blanca (revisat per Pozo-Rosich, 2012).

Les manifestacions clíniques també evolucionen durant la progressió. Les crisis migranyoses poden ser més freqüents i prolongades però menys intenses, amb més localització bilateral o cervical i amb menor associació a fotofòbia, fonofòbia, nàusees o vòmits. En canvi, altres símptomes acompanyants poden augmentar la seva freqüència (palidesa, sequedat de boca, anorèxia i/o símptomes autonòmics (Guerrero-Peral, 2012). Un mateix pacient pot presentar molta variabilitat entre atacs. En els pacients que progressen a MC, a més, és freqüent que alguns signes clínics persisteixin durant els períodes interictals, com ara: susceptibilitat ambiental, fotofòbia, fonofòbia, dolor amb moviments cefàlics i, molt típicament, al·lodínia⁶, que suggereix una sensibilització crònica de les neurones del sistema trigeminal. A més, sovint existeix un dolor residual en el període interictal que respon a triptans, per tant, amb un determinat component de caire migranyós.

2.3.1. Progressió clínica i factors de risc associats

La progressió clínica fa referència a l'augment de la freqüència, que pot conduir a MC. Bigal i Lipton (Bigal i Lipton, 2008) van conceptualitzar aquesta progressió assumint un dinamisme bidireccional entre estats de no migranya, EBF, EAF i MC (veure figura 5).

⁶ Dolor produït per un estímul que habitualment no estimula els nociceptors (definició Termcat). Aquest símptoma, descrit habitualment en ME durant els atacs, es presenta en el 70% de pacients amb MC durant el període interictal (Guerrero-Peral, 2012).

En cada transició poden existir factors de risc que influeixen i promouen la progressió de la malaltia, alguns de naturalesa biològica i d'altres ambientals. Típicament, van classificar els factors de risc entre aquells considerats com a **no-modificables** (edat, sexe, raça, factors genètics i sociodemogràfics) i **modificables** (freqüència d'atacs, obesitat, abús de medicaments, estrès, consum de cafeïna, apnees, altres trastorns associats a dolor). Hi ha d'altres factors, però, que no es poden classificar en cap dels grups anteriors, com ara l'al·lòdinia i determinats estats proinflamatoris i protrombòtics.

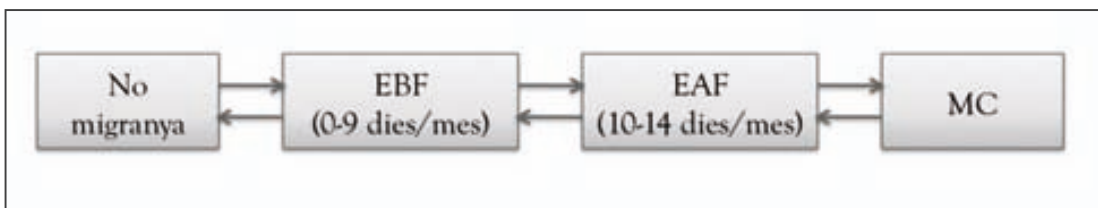


Figura 5. Conceptualització de la transició a MC. adaptació de Bigal i Lipton, 2008.

EBF, migranya episòdica de baixa freqüència; EAF, migranya episòdica d'alta freqüència; MC, migranya crònica.

En la progressió de EBF a EAF i/o CM, es creu que els factors de risc modificables més rellevants són:

- **Freqüència d'atacs:** S'ha observat que el risc de CM augmenta de forma no-lineal a partir de 3 episodis al mes, i aquest risc augmenta exponencialment a mida que augmenta el nombre basal d'episodis de migranya mensuals.
- **Obesitat (IMC ≥ 30):** La prevalença de MC augmenta de 0,9% en persones amb IMC normal fins 2,5% en persones amb obesitat severa.
- **Abús de medicació simptomàtica:** malgrat que hi ha controvèrsia entre si l'augment del consum elevat d'analgèsics és causa o conseqüència de la progressió de la malaltia, es considera un factor de risc.
- **Consum excessiu de cafeïna:** la cafeïna s'ha associat a millora en la cefalea crònica diària en alguns estudis, però el consum elevat pot contribuir també a la progressió de la malaltia.
- **Apnees obstructives:** S'ha documentat aquesta associació malgrat que el mecanisme pel qual es relacionen no es coneix amb precisió. Es creu que té relació amb les fluctuacions de pressió intracraneal i arterial en persones susceptibles a dolor, hipòxia, hipercàpnia i trastorns de la son.

- **Comorbilitats psiquiàtriques i estrès:** alguns estudis han determinat més presència d'ansietat i depressió en CM que en altres cefalees cròniques. Es consideren també factors de risc independents algunes situacions vitals que generen estrès, com ara divorcis, separacions, mudances, canvis laborals, etc.

2.3.2. Progressió funcional i factors de risc associats

El concepte de progressió funcional o fisiològica fa referència a la sensibilització de neurones sensorials de segon nivell que tenen el soma al nucli trigemin i a l'al·lodínia cutànea (AC) que té com a conseqüència.

Els estudis basats en sèries clíniques van determinar que 2/3 dels migranyosos desenvolupaven AC durant l'atac de migranya. Un estudi poblacional va determinar que era relativament més freqüent a MC (68,3%) que a ME (63,2%), però cap altre estudi ha pogut corroborar aquestes dades, el que suggereix que la progressió funcional està associada a la progressió clínica.

No es coneix en profunditat la relació entre l'al·lodínia i la freqüència d'atacs. S'hipotetitza que l'activació repetida del sistema trigèminovascular pot conduir a l'activació repetitiva de les vies nociceptives. El desenvolupament d'al·lodínia es veu influenciat també per factors de risc modificables i no-modificables. Entre els no-modificables trobem el sexe masculí, la raça Africana-Americana i baix nivell sociocultural. Alguns dels factors de risc modificables són l'elevada freqüència d'atacs, l'elevada intensitat de dolor i elevada discapacitat per la migranya (revisat per Bigal i Lipton, 2008).

2.3.3. Progressió anatòmica i factors de risc associats

Alguns estudis han relacionat el nombre de lesions al cervell (petites hiperintensitats en la substància blanca profunda) i d'ictus amb la MA, que suggereix que aquestes lesions podrien ser conseqüència de múltiples atacs de MA (Kruit et al., 2005). Per tant, els factors de risc associats a aquest tipus de lesions observades estan relacionats amb mecanismes implicats en l'aura i, en conseqüència, estarien associats a progressió anatòmica. Concretament, la DCP podria donar lloc a canvis en la perfusió que podrien

produir petites zones d'isquèmia focal que expliquessin aquesta relació amb els ictus i les lesions cerebrals.

Els estudis de neuroimatge també han evidenciat una associació entre l'acumulament de ferro en múltiples nuclis profunds del cervell i els atacs repetits de migranya (Kruit et al., 2009; Welch et al., 2001). Kruit *et al* van observar un increment de ferro en el putamen, el globus pàl·lid i el nucli vermell en migranyosos de menys de 50 anys. En l'estudi de Welch les alteracions es localitzaven en la PAG. En tots dos estudis s'associació era positiva respecte al temps d'evolució de la malaltia (anys amb migranya) i l'acúmulo de ferro a nuclis relacionats amb el processament del dolor. Es creu que l'origen d'aquests dipòsits de ferro és l'alteració de l'homeòstasi del ferro a conseqüència de la producció de radicals lliures produïts per la hiperòxia en l'atac de migranya. Cal considerar, doncs, la possibilitat que els nuclis implicats en les vies de senyalització del dolor siguin disfuncionals i donin lloc a la cronificació del dolor.

Mitjançant tècniques de morfometria, s'ha estudiat també si es produïen canvis en la PAG entre pacients amb ME i MC (Valfrè et al., 2008). Els autors van trobar una reducció de substància gris en ME i MC respecte controls en diferents regions de les vies nociceptives, però selectivament els MC presentaven reducció en el cingle anterior que correlacionava inversament amb la freqüència de migranya.

Altres factors biològics poden afavorir també la progressió anatòmica. S'han trobat associacions entre MA i hiperlipidèmia i hipertensió. A més, en aquest cas, un polimorfisme genètic (C677T) en el gen MTHFR s'associa a elevats nivells d'homocisteïna, que s'associa a la seva vegada amb risc d'ictus. Aquest polimorfisme està sobreexpressat en migranya, tot i que en aquest cas no amb MA (Schürks, 2010).

Totes aquestes evidències suggereixen que en la MC el sistema nociceptiu pateix alteracions. Els estudis de models experimentals proposen una disfunció en la modulació del sistema descendent de dolor que, en la ME, seria capaç d'activar-se i frenar l'activitat desencadenada per l'atac de migranya. Les malalties comòrbides i els factors de risc facilitarien el sistema aportant susceptibilitat a l'individu. Això, sumat a un bagatge genètic determinat que augmenti la susceptibilitat individual, explicaria per què alguns individus progressen a MC i altres no.

2.4. Tractament simptomàtic i profilaxi

El tractament de la MC no és senzill, ja que a més de tractar els episodis aguts de crisi de migranya, cal tractar els possibles factors desencadenants de la MC. Cal investigar la presència de comorbilitats que poden requerir un tractament addicional, com és el cas de l'ansietat, depressió i altres trastorns psiquiàtrics o de la personalitat.

El tractament de les crisis de migranya, en absència d'abús de medicaments, s'acostuma a indicar seguint les mateixes pautes que en la ME (revisat a 1.5.1. però recomanant especialment no sobrepassar el consum d'analgèsics mensual per tal de no experimentar un empitjorament a causa de l'abús de medicaments.

A causa del caràcter crònic de la MC, però, es fa necessari instaurar un tractament preventiu, especialment quan el pacient no compleix criteris d'abús de medicació, on la retirada absoluta del tractament simptomàtic seria considerat l'únic tractament possible. Fins a l'actualitat, només dos tractaments han aconseguit mostrar eficàcia profilàctica en la MC. Un és l'antiepilèptic **topiramàt**, que ha mostrat eficàcia amb dosis de 100 mg/dia tot i que sense grans diferències respecte el propranolol a 160mg/dia (revisat per Ferrari et al., 2011). L'altre, de recent aprovació, és la injecció de **toxina botulínica tipus A** que ha mostrat una certa eficàcia en la reducció dels símptomes, la discapacitat i la qualitat de vida, segons dades de l'estudi PREEMPT (revisat per Frampton, 2012). El mecanisme d'acció pel qual exerceix efecte analgèsic és encara força desconegut, però es creu que està relacionat amb els mecanismes de sensibilització central i perifèrica.

En la MC, a més, les recomanacions sobre un estil de vida amb horaris regulars, saludables i realitzar activitat física moderada tenen també importància per aconseguir, juntament amb el tractament farmacològic, la reducció de dies amb migranya.

1.3. L'estudi del genoma humà

3.1. Perspectiva històrica

*“We wish to suggest a structure for the salt of dextrobose nucleic acid (DNA).
This structure has novel features which are of considerable biological interest.”*

Watson, J.D, Crick, F.H. *Nature* 1953a;171:737-8

Amb aquestes paraules comença l'article més curt però revelador de la història de la genètica. James Watson i Francis Crick van plantejar una estructura en doble hèlix del DNA que van compartir amb la comunitat científica el 25 d'abril de 1953, 84 anys després que Friedrich Miescher aïllara per primera vegada aquesta molècula. El seu model va ser confirmat mesos després per altres estudis que la revista *Nature* va publicar pocs mesos després en una sèrie de 5 articles (Watson i Crick, 1953b). Aquest descobriment va suposar per a Watson i Crick l'obtenció del Premi Nobel en Fisiologia i Medicina l'any 1962, però sobretot va establir les bases per desxifrar el codi genètic.


L'existència de caràcters hereditaris, però, ja es coneixia des de feia un segle. S'havia observat que la descendència sovint presenta característiques (trets fenotípics) molt més similars als seus progenitors que a la resta d'individus de la població general. Charles Darwin havia introduït la idea d'herència en la seva formulació dels conceptes “selecció natural” i “evolució” (Darwin, 1859). Però qui és considerat el “pare de la Genètica” és Gregor Johann Mendel, qui va demostrar amb els seus estudis amb la planta del pèsol que els patrons d'herència s'ajustaven a unes regles matemàtiques, establint el que ara coneixem com “lleis de Mendel” (Mendel, 1866). Pocs anys després, Galton ja havia identificat la utilitat dels bessons per fer estudis genètics i al 1902 Garrod va identificar la primera malaltia humana amb un patró d'herència mendeliana, l'alcaptonúria (Garrod, 1902).

Els avenços de la genètica després del descobriment de l'estructura del DNA es succeïren a gran velocitat. La primera seqüència gènica va ser descrita al 1972 (Min Jou et al., 1972)

i el primer genoma complet mitjançant el mètode de seqüenciació de Sanger⁷, corresponent al bacteriòfag Phi-X174, al 1977 (Sanger et al., 1977). La seqüenciació, però, era lenta i costosa fins que al 1983 la reacció en cadena de la polimerasa (PCR) va permetre amplificar DNA d'una forma molt més ràpida i senzilla qualsevol fragment de DNA.

Des d'aleshores, l'estudi del genoma ha avançat ràpidament propulsat per l'avenç tecnològic. La primera dècada del segle XXI va marcar un abans i un després en la història de la genètica i l'estudi de les malalties hereditàries amb projectes de gran envergadura com el Projecte Genomà Humà (Lander et al., 2001; Venter et al; 2001), que va desxifrar el primer genoma humà complet i el projecte internacional HapMap (The International HapMap Consortium, 2005), que va seqüenciar diferents genomes per elaborar un mapa d'haplotips del genoma humà que permetés estudiar les similituds i diferències genètiques entre individus.



Figura 6. Portades Science i Nature, PGH (2001) www.lifesciencesfoundation.org 



⁷ Mètode de seqüenciació desenvolupat per Frederick Sanger al 1975 basat en el principi de replicació del DNA. El DNA aïllat i clonat és desnaturalitzat per tal d'utilitzar una única cadena motlle per a la seqüenciació. La base de la tècnica és l'ús de dideoxinucleòtids, nucleòtids sense el grup hidroxil del 3r carboni. Quan aquests s'incoren a una cadena de DNA en creixement, la replicació s'atura ja que no hi ha el 3'OH que la DNA polimerasa necessita per continuar elongant. El DNA motlle, la DNA polimerasa i un encebador per iniciar la reacció es posen en 4 tubs, cadascun amb una petita proporció d'un dels 4 dideoxinucleòtids (ddATP, ddTTP, ddGTP i ddCTP) i els altres nucleòtids. A cada tub s'hi produeixen fragments de diferent longitud, aturats allà on s'incorpora el dideoxinucleòtid. Mitjançant electroforesi s'obté un patró de bandes ordenades a partir del qual es pot deduir la seqüència del DNA motlle.

3.2. Genoma i variació gènica

El genoma humà té aproximadament tres bilions de parells de nucleòtids dividits en 22 parelles de cromosomes autosòmics i 1 parella de cromosomes sexuals (XY en els homes i XX en les dones) que resideixen en el nucli cel·lular. La dotació genètica és diploide, de manera que un joc de cromosomes autosòmics s'hereta del progenitor matern amb un cromosoma X i l'altre del progenitor patern junt amb un cromosoma X o Y. El conjunt complet de cromosomes d'un individu es coneix com a cariotip. Els mitocondris, a més, contenen DNA mitocondrial (mtDNA) heretat per via materna conjuntament amb els cromosomes d'origen matern. El mtDNA és molt petit, comparativament, amb entre 15.000 i 17.000 bases.

Cada cromosoma està format per una llarga molècula de DNA i un conjunt de proteïnes associades, les histones, que empaqueten i organitzen el DNA dins del nucli. El DNA està format per dues cadenes complementàries que formen una doble hèlix, a l'interior de la qual trobem parelles formades per 4 tipus de bases nitrogenades: adenina (A), citosina (C), guanina (G) i timina (T). La configuració més eficient energèticament s'aconsegueix mitjançant un doble enllaç entre A i T, i un triple enllaç entre C i G. (Watson i Crick, 1953a).

Malgrat que la distància filogenètica entre l'ésser humà i altres espècies es pot considerar petita en alguns casos, en la pròpia espècie humana no hi ha dos individus genèticament idèntics, ni tan sols els bessons monozigòtics ho són a causa de l'aparició de mutacions puntuals al llarg de la vida. La seqüència completa de dos genomes humans es diferencia en un 0,1%, és a dir, 1 canvi per cada 1.000 bases (The International Hapmap Consortium, 2005). La mutació és la principal font de variació genètica. Tot i així, podem trobar diferents maneres de classificar les fonts de variabilitat segons si el que es modifica és la seqüència del DNA (insercions, delecions, canvis d'una base) o l'ordre en la seqüència (translocacions, inversions). A més, la variacions genètiques que es poden trobar al genoma es poden classificar també en funció de la mida de la regió que afecten, de manera que poden ser grans i complexes, com en el cas de reordenacions cromosòmiques en el cariotip, o canvis petits reduïts a la mínima expressió, com els canvis d'una única base. A continuació es descriuen els diferents tipus d'alteracions que poden produir variacions en el genoma humà, dividides segons criteris de grandària.

3.2.1. Polimorfismes d'un únic nucleòtid (SNP)

Un polimorfisme implica l'existència de més d'una variant al·lèlica per un locus determinat. Els SNP són canvis que afecten un únic nucleòtid en una parella de bases (pb) i és la variació més freqüent en el genoma humà. Com a exemple, per un SNP A/C trobarem individus que tinguin una parella A-T en aquell locus i d'altres, amb una parella C-G. Es parla de **variants comunes** quan la freqüència és superior al 5% en la població i de **variants rares** quan la freqüència és inferior al 0,5%.

S'estima que hi ha uns 10 milions de SNP amb una freqüència igual o superior a l'1% en la població (un per cada 300 bases) i aproximadament un 1% es creu que tenen rellevància funcional (The International HapMap Consortium, 2005). S'estima que els SNP comuns són responsables del 90% de tota la variació del genoma.

A vegades un SNP és representatiu d'una regió del genoma que té un desequilibri de lligament⁸ elevat. Aquests SNP, coneguts com a **tagSNP**, permeten identificar variacions genètiques en una regió cromosòmica sense haver de genotipar tots els SNP que conté aquella regió. Són molt útils en estudis d'associació de SNP a tot el genoma, que poden genotipar fins a 1 milió de SNP repartits per tot el genoma. En aquesta tesi, l'estudi principal es basa en l'associació de SNP amb la migranya crònica, i una part dels SNP estudiats corresponen a tagSNP de gens rellevants en la fisiopatologia de la malaltia.

3.2.2. Insercions/delecions

Les insercions i delecions són canvis en la longitud de la seqüència a causa de l'addició o eliminació d'un o més parells de bases. Atès que la pauta de lectura en la traducció és de 3 bases, els canvis en els quals el nombre de bases implicades no és múltiple de 3, corrompen la pauta de lectura i produeixen sovint importants canvis en la proteïna o una proteïna truncada. Tradicionalment, es coneixen com a **indels** els canvis per inserció o delecio que afecten menys de 571pb.

⁸ Propietat d'alguns *loci* (posicions fixes en un cromosoma) de no segregar de forma independent, amb una taxa de recombinació inferior al 50%. Normalment és a causa de que els *loci* implicats es troben en el mateix cromosoma, de manera que la transferència per separat a la descendència és impossible amb la separació dels cromosomes en l'anafase.

3.2.3. Seqüències repetides

Les seqüències repetides són fragments de DNA que s'han anat copiant al llarg del genoma gràcies als transposons, seqüències de DNA que poden canviar de posició en el genoma i donen lloc a noves mutacions o en reverteixen d'altres i que afecten la mida del genoma. Històricament, aquest DNA repetit i copiat en algun lloc del genoma, s'ha considerat "DNA brossa" ja que no afecta la traducció proteica, però des del punt de vista evolutiu es pot considerar una causa de formació de nous gens per recombinació amb la seqüència preexistent (Lander et al., 2001).

Podem distingir diferents tipus de seqüències repetides segons el seu origen:

- Les **repeticions intercalades** o derivades de transposons són petits fragments de seqüència que codifica per algunes proteïnes necessàries perquè el DNA torni al nucli després de la traducció i que es troben inserides arbitràriament a diferents llocs del genoma. Comprenen un 45% de la seqüència del genoma humà.
- Les **repeticions simples** de seqüència són un tipus de repetició en el qual un o més nucleòtids es repeteixen un determinat nombre de vegades. Quan el nombre de repeticions supera un llindar, poden causar malalties, com és el cas de la corea de Huntington (Walker, 2007) i d'algunes atàxies espinocerebel·lars (Orr et al., 1993). Aquest tipus de repeticions es subdivideixen segons la longitud del fragment repetit: **DNA satèl·lit** (>500 bases); **minisatèl·lits** (14-500 bases) i **microsatèl·lits** (1-13 bases).
- **Duplicacions segmentals** són fragments d'entre 1-200 kb que es transfereixen en massa d'una localització a una altra del genoma (intra o intercromosòmica). També es poden associar a algunes síndromes, especialment quan les duplicacions segmentals estan properes entre elles.
- Les **variacions en el nombre de còpies (CNV)** són un tipus especial de repetició de seqüència, sovint <1kb de longitud, que s'han fet populars darrerament ja que existeixen plataformes capaces d'analitzar les CNV de tot un genoma. Les CNV poden fer que un individu tingui diverses còpies d'un gen o d'una regió gènica. El nombre de còpies varia entre 0 i 6. Quan la variació produeix pèrdua d'una còpia

del gen, l'efecte acostuma a ser considerable i produeix fenotips severos, com en el cas del retard mental (Webber et al, 2009). En canvi, no es coneix amb precisió la rellevància biològica de tenir un excés en el nombre de còpies. Es coneix que molts CNV contenen tagSNP, de manera que els estudis d'associació de SNP han cobert aquestes zones sense identificar variants amb grans efectes, fet que suggereix que potser no tenen un paper important en les malalties comunes. S'estan estudiant amb grans expectatives els CNV que siguin variants rares (Walters et al., 2010).

3.2.4. Anomalies cromosòmiques

Les anomalies cromosòmiques són canvis majors en l'estructura cromosòmica que impliquen milions de bases. Es poden classificar en 5 subtipus segons el tipus de canvi: les **deleccions** i **duplicacions**, que poden tenir conseqüències importants per la supervivència de l'individu; les **inversions**, que consisteixen en la rotació d'un fragment de DNA que sovint no afecta la longitud de la seqüència ni té conseqüències patològiques i les **insercions** i **translocacions**, que impliquen fragments cromosòmics que són inserits o intercanviats entre cromosomes i que poden ser asimptomàtics, tot i que són freqüents en alguns càncers.

3.3. Estratègies per estudiar la implicació genètica en les malalties humanes

3.3.1. Estudis de bessons

Els estudis de bessons acostumen a ser un punt de partida per investigar les causes genètiques d'una malaltia, ja que permeten estimar la contribució relativa dels factors ambientals i genètics. Els bessons monozigòtics (MZ) comparteixen pràcticament el 100% del seu genoma mentre que els dizigòtics (DZ) només el 50% (com qualsevol parella de germans). A més, els bessons habitualment comparteixen molts aspectes ambientals (ambient uterí, estil de criança, entorn sociocultural, ...). Per aquest motiu, la discordança entre bessons MZ proporciona informació interessant sobre els factors ambientals. Els estudis comparatius entre MZ i DZ permeten calcular la contribució de la càrrega genètica i estimar-ne l'**heretabilitat**, que és la proporció de la variació fenotípica atribuïble a la

variació genètica. Els estudis amb bessons han demostrat que bona part dels trets fenotípics d'un individu són influenciats per les diferències genètiques, en major o menor grau segons el cas. A més, la influència genètica pot ser complexa, ja que un mateix tret pot estar afectat per diferents gens. És el cas de les malalties complexes.

3.3.2. Anàlisi de lligament en famílies

Els estudis de lligament tenen com a objectiu localitzar els *loci* on es troben els gens de predisposició a una malaltia o fenotip determinat i condueixen a la identificació de regions cromosòmiques associades a una malaltia. Existeixen dos tipus d'anàlisi de lligament: el **paramètric**, que s'aplica a malalties monogèniques, i el **no paramètric**, que s'aplica a malalties complexes (Dawn i Barrett, 2005).

El lligament paramètric consisteix en l'anàlisi de la co-segregació de marcadors genètics i del fenotip d'interès al llarg de diverses generacions d'un pedigrí. L'herència conjunta de dos *loci* depèn de la distància que hi ha entre ells, ja que en augmentar la distància augmenta la probabilitat de recombinació meiótica. El LOD score és la mesura que s'utilitza per determinar si hi ha o no lligament (per sobre de 3 en el primer cas i per sota de -2 en el segon) i s'obté a partir d'una funció on intervé la probabilitat de recombinació meiótica entre dos *loci*, el marcador i el causant del fenotip. Els marcadors més utilitzats habitualment són els microsatèl·lits.

El lligament no paramètric s'utilitza en l'estudi de malalties complexes o multifactorials, on no hi ha un model d'herència clar. En aquests estudis convé distingir entre els conceptes IBD i IBS. Dos al·lels situats en un mateix *locus* són **idèntics per descendència (IBD)** quan han estat heretats d'un mateix ancestre, per tant, són còpies del mateix al·lel parental. En canvi, dos al·lels d'un mateix *locus* són **idèntics per estat (IBS)** quan, malgrat ser iguals, es desconeix si la procedència és del mateix ancestre.

El lligament no paramètric es basa en el fet que individus afectes emparentats comparteixen més haplotips IBD en la regió gènica causant de la malaltia del que seria esperable que compartissin per atzar. Aquest tipus d'estudi es pot fer amb parelles de germans afectes o amb grups de major parentiu.

3.3.3. Estudis d'associació de gens candidats

Una altra aproximació a l'estudi genètic de les malalties complexes són els estudis d'associació, que pretenen detectar associació entre un o més marcadors genètics, seleccionats a partir d'una determinada hipòtesi, i un tret quantitatiu o qualitatiu del fenotip mitjançant mètodes estadístics. En funció de la mostra d'individus utilitzada es poden realitzar estudis d'associació familiars o de població no emparentada, entre els quals el més habitual són els estudis **cas-control**. En els estudis cas-control s'analitzen individus afectes (casos) i no afectes (controls) aparellats per edat i sexe i es valora estadísticament si hi ha diferències en la distribució d'un al·lel o genotip en els dos grups d'individus (Cordell i Clayton, 2005).

En els estudis d'associació de gens candidats intervenen diferents variables que cal tenir presents en el disseny experimental: mostra (mida, homogeneïtat, característiques de la població), fenotip a estudiar (tret qualitatiu o quantitatiu), regió cromosòmica que es vol estudiar, marcadors seleccionats (generalment SNP) i mètodes estadístics, que depenen principalment del tipus de fenotip amb el que es busca l'associació.

Aquest tipus d'estudis han estat molt freqüents durant les darreres dècades però sovint han donat resultats contradictoris degut a múltiples factors condicionants: mostra no homogènia i no fenotipada correctament, manca de potència estadística, multiplicitat de tests realitzats o la selecció no acurada dels marcadors genètics. A més, cal tenir en compte que aquests estudis es basen en una hipòtesi inicial per la qual es seleccionen els gens candidats a estudiar i els SNP escollits per a ésser genotipats. Sovint la regió cromosòmica que cobreix la selecció de SNP és petita, ja que les regions intergèniques no s'acostumen a genotipar, i encara que es trobi una associació entre marcador i fenotip aquesta pot ser deguda a modificadors llunyans que es troben fora de la regió estudiada.

Les inconsistències entre els resultats, però, també poden ser degudes a diferències biològiques reals, ja que la complexa etiologia de les malalties multifactorials inclou fenòmens d'epistasi, interaccions entre gens i ambient i diferències en els patrons de desequilibri de lligament poblacionals que poden influenciar el resultat de l'estudi d'associació.

3.3.4. Estudis d'associació de tot el genoma (GWAS)

Els *genome wide association studies* (GWAS) són estudis d'associació similars als anteriors, amb un grup d'individus afectats i un grup de controls però amb una diferència clau en el disseny: són estudis lliures d'hipòtesi respecte a la malaltia, ja que s'analitzen pràcticament tots els gens del genoma mitjançant un panell de SNP. Es presuposa que una malaltia comú tindrà un component genètic format per variants freqüents. La no necessitat d'una hipòtesi prèvia fa que tot el genoma sigui susceptible de ser relacionat amb la malaltia, per la qual cosa proposa com a candidates les variants al·lèliques freqüents presents entre l'1% i el 5% de la població. Actualment, la tecnologia existent permet testar un fins a 1 milió de SNP distribuïts pel genoma.

Tot i que inicialment es van considerar estudis molt prometedors, cal considerar que tenen també les seves limitacions: les plataformes genètiques i els algorismes que s'utilitzen permeten analitzar SNP que són comuns a la població amb una freqüència superior al 1%, per tant les variants rares no es poden detectar mitjançant aquest tipus d'estudis i requereixen elevades mides mostrals per aconseguir una potència estadística que permeti detectar veritables associacions. Les variants comunes confereixen canvis molt petits en el risc relatiu de patir una malaltia i, per tant, contribueixen molt poc a explicar l'heretabilitat de la malaltia. Aquests estudis, doncs, pressuposen que el canvi fenotípic és a causa de l'efecte additiu de molts factors genètics de susceptibilitat.

3.3.5. Seqüenciació d'exomes

Tradicionalment, quan un estudi de gen candidat mostrava associació entre una regió concreta del genoma i una malaltia, s'ampliava la recerca de les variants rares per re-seqüenciació d'algunes regions. L'elevat cost, però, de la re-seqüenciació en un gran nombre de mostres han contribuït a l'aparició dels anomenats *whole exome studies* ó estudis d'exomes. Seqüenciar l'exoma significa seqüenciar totes les regions codificants del genoma, i és una de les més novadores estratègies per identificar variants rares o de baixa freqüència associades amb malalties. L'estudi d'exomes és una aproximació prometedora per detectar variants rares que poden tenir efectes majors que les variants comunes i podria explicar una gran part de l'heretabilitat en les malalties complexes (Ng et al., 2009). Els grans avenços en l'estudi del genoma de cada individu, ja sigui per exomes o

GWAS, ens confirma la tendència cap a l'era de la medicina personalitzada. En els darrers 5 anys han anat apareixent projectes per millorar la cobertura del genoma mitjançant aquestes estratègies, com el *GENCODE Exome Project* (Coffey et al., 2011).

3.3.6. Estudis funcionals

En l'estudi de malalties complexes es poden distingir diferents tipus d'estudis funcionals: els estudis **funcionals genòmics** (en els quals s'analitza l'expressió de diversos gens o de les proteïnes que codifiquen) i els estudis de **validació funcional** d'un polimorfisme o haplotip associat a una malaltia. Els estudis amb animals també es poden considerar estudis funcionals.

Els estudis funcionals genòmics serveixen per identificar quins gens s'expressen (transcriptòmica) o quines proteïnes es sintetitzen (proteòmica d'expressió) en determinades situacions fisiològiques i patològiques, oferint "candidats" per estudis d'associació. Cal tenir en compte, però, que el patró d'expressió d'alguns gens és específic de tipus cel·lular, teixit o condició fisiològica. A més, l'expressió diferencial d'un gen en condicions fisiològiques no implica que aquest sigui agent causal de la malaltia, sinó que es la diferència pot respondre a l'existència de mecanismes compensatoris. Els estudis transcriptòmics es fan mitjançant microarrays.

Els estudis de validació funcional serveixen per determinar la funcionalitat d'una variant nucleotídica. Per això cal analitzar el patró de desequilibri de lligament que manté aquesta variant amb els polimorfismes adjacents i decidir quin polimorfisme del bloc haplotípic és un candidat funcional. El tipus d'estudi de validació funcional depèn de diferents factors, com la posició que ocupa el polimorfisme en el gen o si implica un canvi d'aminoàcid. Els SNP que es troben en una regió reguladora es poden validar funcionalment mitjançant estudis de retardament en gel o EMSA, estudis de gen *reporter* o d'estabilitat del mRNA. Quan un SNP dona lloc a un canvi d'aminoàcid, cal estudiar l'estructura de la proteïna que codifica, la seva localització subcel·lular, l'activitat enzimàtica si codifica per un enzim o la interacció entre proteïnes.

Tanmateix, convé recordar que existeixen altres mecanismes menys coneguts que poden influenciar l'expressió de variants rares sense afectar directament la seqüència genètica, com els **mecanismes epigènètics** de metilació del DNA o remodelat de la cromatina.

3.3.7. Models animals

La recerca amb models animals per identificar *loci* responsables de trastorns es basa en l'assumpció que els gens ortòlegs humans participen de forma equivalent en la malaltia a la qual s'associen. En les formes monogèniques es poden aconseguir models animals mitjançant la manipulació genètica, introduint la mutació o generant *knock-outs* que expressin un fenotip equivalent al produït per la malaltia en humans. En les malalties complexes, però, sovint és difícil trobar un bon model animal, especialment quan no hi ha marcadors detectables que siguin claus pel diagnòstic i cal basar-se en el testimoni del pacient per a classificar-lo fenotípicament, com és el cas de la migranya.

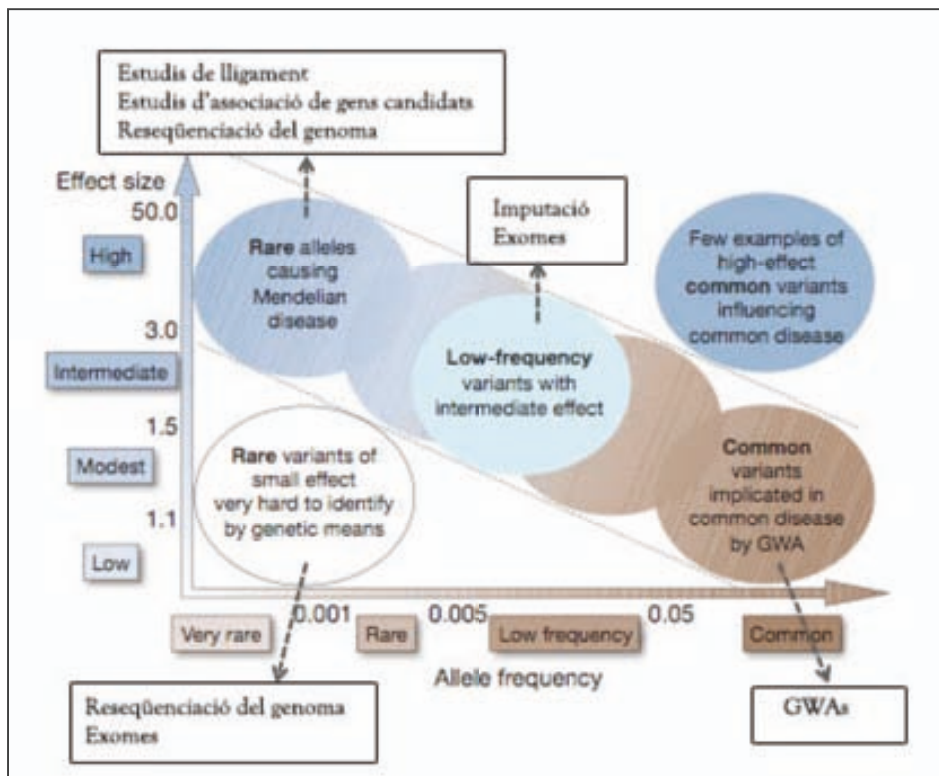


Figura 7. Categories de variació genètica basat en la freqüència i la magnitud dels efectes. Les variants rares acostumen a ser poc freqüents però tenen un gran efecte, mentre que les més comunes tenen elevada freqüència i efectes discrets. S'han afegit els principals tipus d'estudi que es pot aplicar en cada cas per l'estudi dels diferents tipus de variacions genètiques. Adaptat de Manolio et al., 2009.

3.4. Aspectes metodològics

3.4.1. Malalties simples i complexes. Models d'herència.

Una manera de classificar les malalties gèniques es basa en el model d'herència que presenta. Quan una malaltia es transmet seguint les lleis de la genètica Mendeliana es diu que és una **malaltia simple** en la qual l'agent causal és un únic gen o *locus*. Aquest tipus de malalties genètiques és poc freqüent ($<1/10.000$). És més freqüent, però, el cas de malalties simples o mendelianes que poden estar produïdes per més d'1 gen. És a dir, existeixen diferents gens causals i tots poden produir la malaltia mitjançant un model d'herència simple. Aquest és el cas de la migranya hemiplègica familiar (FHM), en la qual es coneixen 3 gens que poden desenvolupar la malaltia: *CACNA1A* (Ophoff et al., 1996), *ATP1A2* (De Fusco et al., 2003) i *SCN1A* (Dichgans et al., 2005). Es coneixen una vintena de mutacions a *CACNA1A* i una trentena a *SCN1A* (de Vries et al., 2009), que produeixen diferents fenotips migranyosos (Ducros et al., 2001).

A nivell pràctic, quan l'agent causal és només 1 gen, l'estudi és molt més dirigit i conté poques variables confusores, com la penetrància incompleta (individus amb la mateixa mutació que no expressen fenotípicament el tret en qüestió) i el fenotip o símptomes clínics en qüestió. Aquestes mutacions amb fenotips severos acostumen a tenir pressió selectiva negativa evolutivament parlant, de manera que es mantenen com a variants rares.

En el cas de malalties hereditàries comunes, com la diabetis o la depressió, l'heretabilitat pot ser a causa de la suma d'algunes variants rares, a variants freqüents que tenen un efecte petit o a una combinació d'ambdues. En aquests casos on el patró d'herència no és clar i intervenen múltiples factors, es parla de **malalties complexes**.

Ja sigui en una malaltia simple o complexa, la manera com una mutació o variant determinada afecta el fenotip depèn del model d'herència. Es parla d'herència **dominant** quan l'efecte de la mutació és fort i el fet de ser portador d'un al·lel defectuós és suficient per a causar la malaltia. En canvi, l'herència **recessiva** es basa en la necessitat de rebre dues còpies alterades per produir la malaltia. A més, podem distingir entre **herència autosòmica** (la mutació resideix en un cromosoma autosòmic), **herència lligada al sexe** (quan la mutació resideix al cromosoma X o a l'Y) i **herència mitocondrial**, quan el caràcter es troba en el mtDNA que s'hereta sempre per via materna.

3.4.2. Fenotipatge i endofenotips

Els fenotips que s'utilitzen per comparar freqüències de variants genètiques poden classificar-se en dos tipus: els **trets dicotòmics** (qualitatius) i els **trets quantitativs**. En el primer cas, el fenotip acostuma a ser una condició binària (malalt /sa, presència/absència d'un determinat tret) que permet estimar *odds ratio* (OR) en un estudi cas-control. Però a vegades, resulta arbitrari utilitzar aquest tipus de variable qualitativa, ja que no sempre existeix una diferència gran entre les dues categories, per exemple en el cas de la migranya, on el propi criteri diagnòstic considera fenotips moderats i severos com a “dolor intens” i el “dolor lleu”, a la vegada, es pot confondre amb “no dolor”. Per tant, utilitzar fenotips dicotòmics inclou aspectes subjectius de la descripció del fenotip que cal definir de forma precisa per a garantir la qualitat de l'estudi d'associació. Els trets quantitativs, en canvi, són aquells que permeten assignar un valor numèric a un fenotip (per exemple, nivells de colesterol). El tractament estadístic d'aquest tipus de variables, però, requereix estratègies d'anàlisi més sofisticades i té també factors condicionants, com ara la representativitat i precisió de la mesura.

D'altra banda, en les malalties complexes, trobar una variant polimòrfica clarament associada a la malaltia és difícil i requereix mostres molt grans, ja que no podem determinar quins fenotips són a causa d'aquesta variant o a les altres variants que hi intervenen. Per aquest motiu, alguns estudis han desenvolupat mètodes per a millorar el fenotipatge i maximitzar les opcions d'obtenir millors resultats, com l'**anàlisi de classes latents (LCA)** (Nyholt et al., 2004) i els **endofenotips** (Paunio et al., 2004).

- El LCA és un mètode estadístic que identifica subgrups de casos a partir de variables clíniques multivariants de tipus categòric (Rindskopf i Rindskopf, 1986).
- L'estudi d'endofenotips, en canvi, es basa en estudiar fenotips intermediaris assumint que, probablement, en molts casos estan controlats per menys factors de susceptibilitat que el conjunt de malaltia (Bearden et al., 2004). El problema de l'ús d'endofenotips és que sovint es desconeix l'heretabilitat dels mateixos.

L'alternativa en els estudis d'associació passa per centrar-se, doncs, en **fenotips extrems** (fenotip sever, història familiar positiva i inici precoç de la malaltia). Quan es consideren només els valors extrems de la distribució d'una variable fenotípica es pot convertir una mesura quantitativa en en una variable dicotòmica.

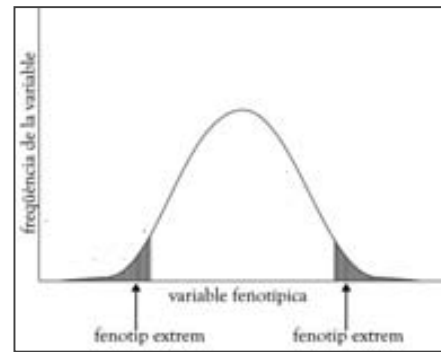


Figura 8. Concepte de fenotip extrem (adaptació de Kristiansson et al., 2008).

3.4.3. Altres consideracions metodològiques

En els estudis d'associació genètica intervenen moltes dades, fet que requereix l'aplicació de mètodes de correcció estàndards. En el cas dels GWAS, per exemple, es requereix comprovar si es compleix l'equilibri Hardy-Weinberg⁹ (Hardy, 1908), la freqüència de l'al·lel minoritari (MAF), la taxa d'èxit del genotipatge, l'heterozigotat i el gènere, així com estratificació de la població.

3.5. Evolució dels estudis genètics

3.5.1. Projecte Genoma Humà

La base dels estudis genètics moderns prové de l'estudi del primer genoma humà complet pel projecte *Human Genome Project* (HGP), que va compilar una seqüència consens de DNA a partir del DNA de dos homes i dues dones anònims. El primer esborrany va ser comunicat al 2001 (Lander et al., 2001; Venter et al., 2001) però el projecte no va ser completat fins al 2004 (International Human Genome Sequencing Consortium, 2004).

⁹ Principi aplicat a la genètica de poblacions que estableix que les freqüències genotípiques es mantenen en equilibri sempre i quan no actui la selecció natural ni cap altre factor i no es produeixi cap mutació. Per un locus amb al·lells **A** i **a**, amb freqüències al·lel·liques p i q respectivament, el principi de Hardy-Weinberg prediu que la freqüència genotípica de l'homozigot dominant **AA** serà p^2 , la de l'heterozigot **Aa** serà $2pq$ i la de l'homozigot recessiu **aa** serà q^2 . Per tant, $p^2+2pq+q^2=1$.

Aquest projecte va permetre calcular el nombre de gens en el genoma humà i va permetre estandaritzar procediments per elaborar mapes genètics, establint les bases per les aproximacions *genome-wide*. A més, va estimar en un 1-2% la quantitat de seqüència codificant (la que pot ser traduïda a proteïna). Aquest projecte va ser el primer a proposar una seqüència quasi completa del genoma d'un vertebrat.

3.5.2. El projecte internacional HapMap

El projecte HapMap va continuar aprofundint en l'estudi del genoma amb l'objectiu de desenvolupar mapes d'haplotips (combinació d'al·lels de diferents *loci* propers en el cromosoma amb probabilitat de recombinació molt baixa) del genoma humà seqüenciant un petit nombre d'individus de diferents poblacions del món. Es van representar inicialment tres poblacions: els Càucàsics (CEU, *Central European in Utah*), Asiàtics (CHB+JPT, *Han Chinese in Beijing and Japanese in Tokyo*) i Africans (YRI, *Yorubans in Nibadan*, Nigeria). Es van utilitzar 30 trios formats pels dos progenitors i un descendent de CEU i YRI, així com 45 CHB i 44 JPT no emparentats. El projecte s'actualitza per fases, augmentant el nombre d'individus i el nombre de SNP. En el moment de redactar aquesta tesi es disposa de la Fase III, en la qual s'ha ampliat el nombre d'individus a 1,184 i 11 poblacions diferents i informació de 3,1 milions de SNP. (The International HapMap 3 Consortium, 2010).

El mapa d'haplotips dona informació sobre quins marcadors genètics s'hereten conjuntament i va ser una eina útil per interpretar el genoma seqüenciat en el HGP, ja que mostrava com les seqüències variaven entre individus i poblacions. El HapMap també permet localitzar els SNP i les dades són accessibles a través d'una base de dades pública que s'actualitza periòdicament.

Aquesta base de dades (disponible a <http://hapmap.ncbi.nlm.nih.gov/>) pot ser consultada per validar i interpretar resultats així com per realitzar tècniques d'imputació (estratègia que permet, mitjançant complexos algorismes, estimar les freqüències de SNP no genotipats directament a partir de la informació dels tagSNP disponibles).

Aquest projecte va donar peu a l'aparició dels GWAS, i actualment es pot consultar al web de HapMap el cariotip humà amb totes les dades de GWAS disponibles per diferents

trets fenotípics que estiguin publicats al *NHGRI Catalog of Published Genome-Wide Association Studies* que tinguin al menys un estudi de replicació i un p-valor inferior a 10^{-5} .

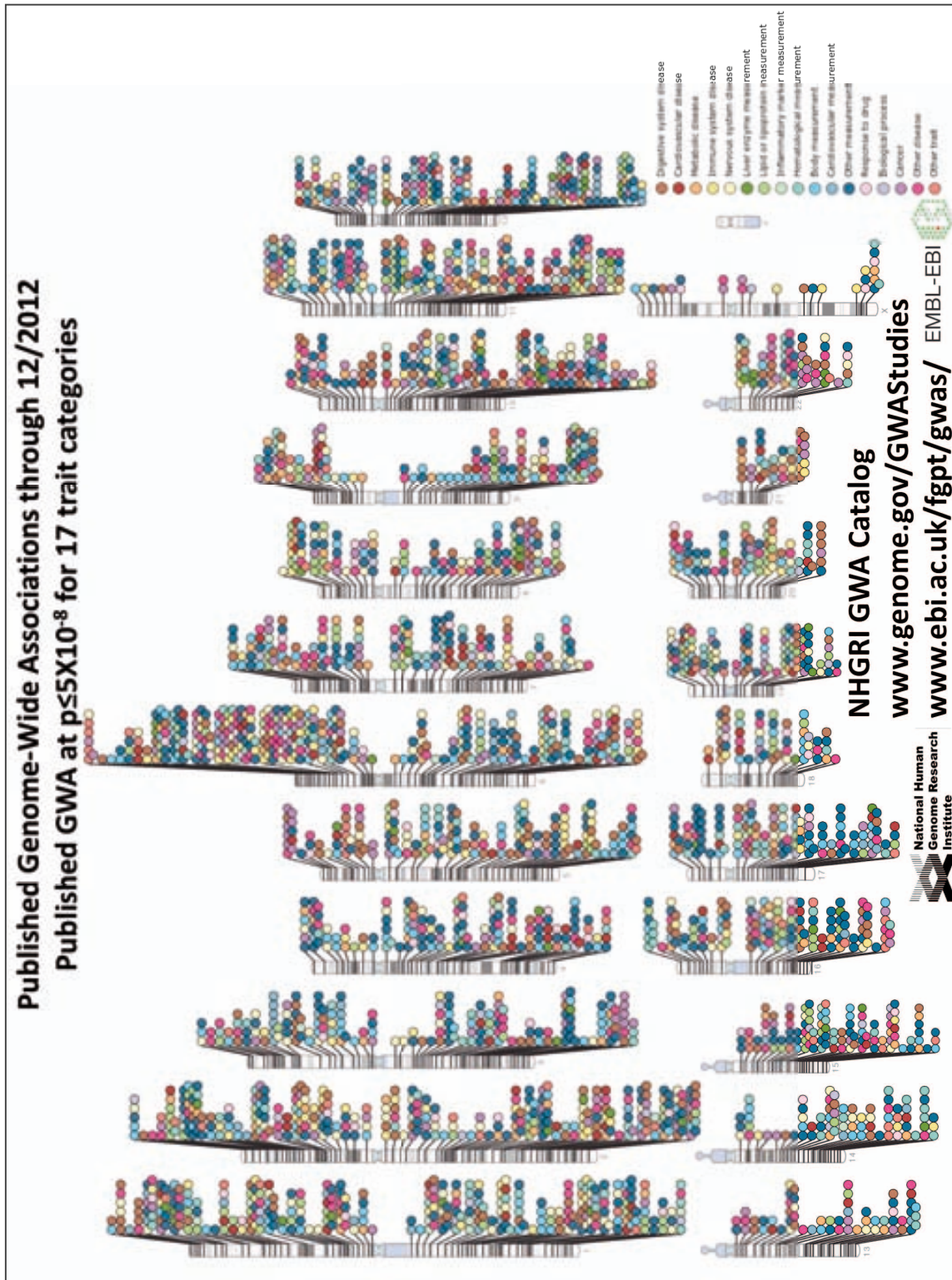


Figura 9. GWAS publicats fins Desembre de 2012. Descarregat de <http://www.genome.gov/gwastudies/>.

3.5.3. L'era *genome-wide*

Disposar del mapa del genoma humà i de una gran quantitat d'informació sobre variants genètiques ha fet possible dissenyar chips que permeten genotipar simultàniament una gran quantitat de variants al llarg del genoma. Els estudis d'associació de gens candidats, anteriors a l'era dels *genome wide studies* han quedat en desús quan es disposa de cohorts suficientment grans per a realitzar estudis a escala genòmica. Els estudis GWAS, però, tenen utilitat per l'estudi de variants comunes d'efecte petit, per tant, no permeten explicar tota l'heretabilitat d'una determinada variant (veure figura 6, pàgina 43, Manolio et al., 2009). Per aquest motiu, l'estudi en profunditat dels factors genètics associats a una malaltia hauria de combinar diferents estratègies per tal d'incloure l'estudi de variants menys freqüents però que tinguin efectes més significatius sobre el fenotip.

A més, convé considerar l'existència de factors moduladors desconeguts de l'efecte d'aquestes variants en el genotip i ampliar el coneixement sobre la rellevància biològica de les associacions que es puguin trobar mitjançant tècniques de genotipat a gran escala. Per tant, aquests tipus d'estudi representen una aproximació inicial al coneixement dels factors genètics però sovint no expliquen per ells mateixos la causa d'una determinada malaltia.

Finalment, per tal de maximitzar el rendiment d'aquest tipus de disseny experimental, convé tenir present la importància d'un fenotipatge precís i homogeni, sovint un factor limitant en estudis que engloben diferents cohorts recollides de forma independent per diferents grups de recerca.

1.4. La migranya com a malaltia hereditària complexa

4.1. Heretabilitat de la migranya

En l'àmbit clínic hi ha la percepció que molts dels pacients tenen antecedents familiars de primer grau de migranya. Molts estudis descriuen història familiar positiva, i tant els estudis poblacionals com els estudis amb bessons suggereixen que la migranya és una malaltia hereditària complexa on intervenen factors ambientals i genètics (Goadsby, 2005). Existeixen algunes excepcions, però, de famílies que presenten patró d'herència mendeliana (formes monogèniques) o mitocondrial (Russell et al., 1995).

Els estudis clàssics de concordança de bessons indiquen que la migranya té un fort component hereditari. En MO, la concordança en bessons monozygòtics (MZ) s'ha estimat en un 43%, mentre que en bessons dizigòtics (DZ) era del 31% (Gervil et al., 1999). En MA la concordança és encara més significativa, del 50% en MZ i del 21% en DZ (Ulrich et al. 1999). Un gran estudi poblacional amb gairebé 30.000 parelles de bessons de sis poblacions diferents va estimar una heretabilitat per a la migranya d'entre el 34% i el 57% (Mulder et al., 2003).

Tenir un familiar de primer grau amb migranya augmenta el risc de patir algun tipus de migranya (Russell et al., 1993). Un estudi Danès va trobar que els familiars de primer grau amb MO tenien un increment de risc de 1,9 de patir MO i de 1,4 patir MA respecte la població general. Però els familiars de primer grau de pacients amb MA tenien un increment de risc de 3,8 vegades de patir MA, mentre que el risc de MO no s'incrementava (Russell i Olesen 1995).

4.2. Formes monogèniques i altres fenotips

Les anàlisis de lligament genètic en famílies que patien una forma severa de migranya familiar d'herència mendeliana, la migranya hemiplègica familiar (FHM), van permetre localitzar gens responsables del fenotip de la malaltia. L'anàlisi mutacional d'aquests gens candidats va permetre la identificació de variants genètiques etiològicament relacionades amb la patologia.

La FHM és un tipus de migranya autosòmica dominant per la qual s'han descrit mutacions en tres gens que codifiquen per canals iònics: *CACNA1A* (FHM1) (Ophoff et al., 1996), *ATP1A2* (FMH2) (De Fusco et al., 2003) i *SCN1A* (FHM3) (Dichgans et al., 2005). Existeix també una forma esporàdica coneguda com a SHM.

CACNA1A, localitzat al cromosoma 19p13, codifica per la subunitat $\alpha 1$ del canal de calci Cav2.1 dependent de voltatge, expressat àmpliament al SNC. S'han descrit 25 mutacions de canvi de sentit en aquest gen que s'associen a un guany de funció (de Vries, B. et al. 2009) i que es relacionen a un espectre fenotípic ampli. Aquest gen presenta una gran heterogeneïtat al·lèlica amb rellevants implicacions clíniques. S'han descrit altres mutacions que introdueixen codons de parada de la traducció o que alteren la pauta de lectura i causen pèrdua de funció del canal que donen lloc a atàxia episòdica tipus 2 (EA), així com expansions del polimorfisme (CAG)_n a 3'UTR, amb un efecte dominant negatiu, que causen atàxia espinocerebel·losa de tipus 6 (SCA6) (Pietrobon, 2010). Recentment, es va identificar una nova mutació a l'exò 5 que causa un canvi d'aminoàcid, però de moment es desconeix l'efecte d'aquesta mutació (Stuart et al., 2012)

El gen *ATP1A2*, situat al cromosoma 1q23, codifica la subunitat $\alpha 2$ de l'ATPasa de Na⁺/K⁺, d'expressió ubiqua. S'han descrit fins ara 47 mutacions, totes associades a pèrdua de funció del canal per canvi d'aminoàcid, introducció de codons de parada prematurs, delecions o insercions (de Vries, B. et al. 2009).

SCN1A, situat a 2q24 (Dichgans et al., 2005) codifica la subunitat $\alpha 1$ del canal de sodi Nav1.1 dependent de voltatge. En aquest gen s'han descrit més de 700 mutacions associades a epilèpsia infantil i 5 mutacions que causen guany de funció associades a migranya hemiplègica (de Vries, B. et al. 2009).

Aquestes mutacions, però, no expliquen la totalitat de casos de migranya hemiplègica. Només una petita proporció de pacients són portadors de mutacions en aquests gens: un 7% dels afectats són portadors de mutacions a *CACNA1A*, un 7% a *ATP1A* i rarament mutacions a *SCN1A* (Pagon et al., 2013).

A més, s'han descrit altres locus implicats: es va identificar un locus de susceptibilitat a FHM a 1q31, anomenat FHM4/MGR6 (Gardner et al., 1997) i un locus al cromosoma

14q32, malgrat que encara no s'ha determinat quin és el gen causal subjacent (Cuenca-Leon et al., 2009).

S'han descrit mutacions també altres mutacions als gens *EAAT1* i a *SLC4A4*. *EAAT1* codifica per un transportador de glutamat i es va identificar una mutació que produïa guany de funció que contribuïa a la hiperexcitabilitat neuronal (Jen et al., 2005). *SLC4A4* codifica per a la proteïna NBCe1 (cotransportador de $\text{Na}^+\text{-HCO}_3$) i s'han descrit mutacions en aquest gen que poden produir FHM, MA o MO quan es troben en homozigosi. En aquest cas, els autors també postulen que les mutacions alteren l'excitabilitat neuronal mitjançant canvis de pH que poden acabar provocant el mal de cap (Suzuki et al., 2010).

La cerca de *loci* lligats a migranya s'ha realitzat en altres formes menys comunes de migranya i a síndromes que cursen amb migranya. S'han identificat 18 *loci* lligats a diferents fenotips migranyosos però només s'ha identificat un gen lligat a una forma familiar de migranya amb aura, el gen *KCNK18* que codifica per la proteïna TRESK (canal de potassi tipus K2P) que s'expressa als ganglis sensorials i gangli trigemin (Lafreniere et al., 2010). La mutació identificada causa pèrdua de funció del canal. Aquest canal modula l'excitabilitat neuronal i podria estar implicat en vies de senyalització del dolor.

A partir de l'estudi de malalties sindròmiques que cursen amb migranya s'han identificat mutacions a altres gens però no s'ha confirmat la seva implicació a migranya: *NOTCH3*, causant de la malaltia CADASIL (de l'anglès *cerebral autosomal dominant arteriopathy with subcortical infarcts and leukoencephalopathy*); *TREX1*, causant de la retinopatia vascular o HERNS (de l'anglès *retinopathy, vascular, cerebral and renal involvement, Raynaud and migraine attacks*) i *MTTL1* al mtDNA associat a la malaltia MELAS (de l'anglès *mitochondrial encephalomyopathy, lactic-acidosis, stroke-like episodes*) (revisat per Di Lorenzo et al., 2012).

4.3. Evidències genètiques en la migranya comuna

4.3.1. Anàlisi de lligament

L'anàlisi de lligament amb pedigrís familiars grans ha estat una de les estratègies per identificar *loci* associats a migranya. Existeixen diferents estudis, malgrat que la majoria no han aconseguit ser replicats. El principal motiu de la manca de replicació és que molts marcadors estan sobrerepresentats ja que són una variant rara típica d'alguna família concreta però no són freqüents en la població general (Maher i Griffiths, 2011).

S'han dissenyat estratègies alternatives per realitzar aquests estudis amb més precisió utilitzant l'anàlisi de **TCA** (*trait component analysis*), mitjançant el qual s'utilitzen trets fenotípics individuals d'alguna característica clínica o símptoma de la migranya per a determinar associació en estudis de lligament de tot el genoma amb famílies amb migranya, enlloc d'utilitzar criteris diagnòstics MO o MA com a criteri fenotípic (Anttila et al., 2006). Així es van identificar associacions a 4q24, 17p13 (característica dolor pulsatiu), 18q12 (combinació de símptomes), 4q28 (edat d'inici), 10q22 (sonofòbia) i 12q21, 15q14 i Xp21 amb l'exacerbació del dolor amb l'activitat física.

Una altra estratègia, l'**anàlisi de classes latents (LCA)** (Nyholt et al., 2004), és un mètode estadístic que identifica subgrups de casos a partir de variables clíniques multivariants de tipus categòric. Mitjançant aquesta estratègia es va identificar la regió 5q21 associada a dolor de tipus pulsatiu (Nyholt et al., 2005) i la 18p11 (Lea et al., 2005).

Finalment, un estudi que combinava les diferents estratègies va identificar associació consistent de 10q22-23 amb 5 fenotips TCA, el criteri de MA (ICHD-II) i la LCA de dolor migranyós en població Finlandesa, que va ser replicat després en població Australiana (Anttila et al., 2008).

4.3.2. Estudis d'associació de gens candidats

A banda de tots aquests *loci* de susceptibilitat, i malgrat la manca de replicacions positives, s'han estudiat gens candidats en aquests *loci* (revisat per Maher i Griffiths, 2011), com ara:

- Gens candidats a 19p13: *CACNA1A* (canal iònic), *INSR* (receptor insulina), *NOTCH3* (homòleg 3 gen notch), i *LDLR* (receptor de lipoproteïnes de baixa densitat).
- Gens candidats a Xq24-28: *5HT2C* (receptor serotonina), *GRIA3* (receptor glutamaèrgic), *GABRE*, *GABRQ* i *GABRA3* (receptors gabaèrgics).
- Gens candidats a 15q11-13: *GABRB3*, *GABRA5* i *GABRG3* (subunitats GABA-A)
- Gens candidats a 10q25: *KCNK18* (canal iònic)

Clàssicament la selecció de gens candidats s'ha relacionat amb les funcions biològiques que aparentment podien ser rellevants en la fisiopatologia de la migranya. Majoritàriament, es poden agrupar en 4 tipologies de gens segons la seva funció (revisat per Maher i Griffiths, 2011):

- **Gens amb funcions relacionades amb el sistema nerviós:** Es poden considerar candidats els neurotransmissors (dopaminèrgics, serotoninèrgics i glutamaèrgics), els neuropèptids, els seus receptors i els seus canals associats. La hipòtesi en la qual es basa aquesta selecció de gens candidats és que la disfunció a nivell neuronal podria induir el sistema vascular i activar els senyals de dolor. (veure taula 10)
- **Gens relacionats amb el sistema hormonal:** A causa de la desproporció entre dones i homes afectats de migranya, es creu que els receptors hormonal podrien estar implicats. Alguns estudis s'han centrat en els receptors d'estrogen (*ESR*) i de progesterona (*PRG*) (veure taula 10).
- **Gens relacionats amb el sistema vascular:** En aquest grup trobem el gen més clarament associat a migranya, el *MTHFR*. L'enzim codificat per aquest gen està implicat en el metabolisme de l'homocisteïna, un regulador vascular important. L'al·lel TT del polimorfisme C677T de *MTHFR* s'ha associat en diverses poblacions a una lleugera hiperhomocisteïnèmia (veure taula 8)
- **Canals iònics:** *CACNA1A*, *ATP1A2* i *SCN1A*

Diversos estudis han investigat el rol dels gens *CACNA1A* i *ATP1A2*, tradicionalment relacionats amb les formes monogèniques de migranya, en les formes comunes d'aquest trastorn, amb resultats contradictoris (de Vries, B. et al., 2009). L'estudi d'associació més extens realitzat fins ara entre la migranya i gens candidats va incloure 841 pacients i 884 controls, i cobria genèticament 155 gens que codifiquen canals iònics (incloent els *CACNA1A*, *ATP1A2* i *SCN1A*) i altres proteïnes relacionades. Es van identificar associacions nominals amb 66 marcadors de tipus SNP amb MA, però aquests resultats no es van poder replicar. Els resultats indiquen que variants genètiques comunes en aquests canals iònics no juguen un paper important en la migranya comuna, tot i que el disseny no permetia detectar variants rares o d'efecte menor (Nyholt et al., 2008).

Els estudis d'associació han donat resultats contraposats, han estat difícils d'interpretar i tenen considerables biaxos procedimentals: ús d'eines diagnòstiques diferents, biaix de publicacions cap a resultats positius, grups poblacionals petits amb poc poder estadístic. Per tal d'uniformar resultats contradictoris s'han utilitzat les metaanàlisis i estudis de replicació en diferents poblacions que permeten disminuir el nombre de falsos positius.

Taula 8. Principals estudis d'associació en gens candidats amb resultats positius (adaptat de Maher i Griffiths, 2011)

Gen	Locus	Referències	Població	Casos	Controls	SNP estudiats	SNP associat	p-valor
Estudis d'associació positius amb gens candidats neurològics								
<i>Serotonineràgics:</i>								
<i>HTR1E</i>	6q14-q15	Corominas et al., 2010	Espanyola	528	528	8	rs828358 rs1581774	0,0018 0,016* (MA)
<i>HTR2A</i>	13q14-21		Espanyola	528	528	24	rs7984966 rs73222347 rs9534511 rs6561332	0,037* (MO) 0,07* (MO) 0,012* (MA) 0,016 (MA)
<i>HTR2C</i>	Xq24		Espanyola	528	528	9	rs4911871 rs2428721	0,029* 0,036* (MA)
<i>HTR3A</i>	11q23.1		Espanyola	528	528	4	rs1176717	0,042* (MA)
<i>HTR3B</i>	11q23.1		Espanyola	528	528	9	rs11214775	0,025* (MO)
<i>HTR4</i>	5q31-q33		Espanyola	528	528	17	rs7721747	0,034* (MO)
<i>HTR7</i>	10q21-q24		Espanyola	528	528	11	rs1298056	0,0058* (MA)
<i>DDC</i>	7p12.2		Espanyola	528	528	15	rs1982406 rs6944090	0,0035* (MA) 0,021* (MA)
<i>MAOA</i>	Xp11.3		Espanyola	528	528	2	rs3027400 rs2072743	0,0093* (MO) 0,043* (MO)
<i>Dopaminèrgics:</i>								
<i>DBH</i>	9q34	Fernandez et al., 2006	Australiana	275	275	2	19 bp in/del	0,003 (MA)
		Fernandez et al., 2009	Australiana	200	200	-	rs16111115	0,012
			Australiana	300	300	-	rs16111115	0,031
		Todt et al., 2009	Alemanya	650	2937	1	rs2097629	5,57·10 ⁻⁴
		Corominas et al., 2009a	Espanyola	263	274	11	rs1611131	0,04
<i>SLC6A3</i>	5p15.3	Todt et al., 2009	Alemanya	650	2937	1	rs40184	6,36·10 ⁻⁷
<i>DRD2</i>	11q23	Todt et al., 2009	Alemanya	650	2937	1	rs7131056	0,034
<i>DRD3</i>	3q13.3	Corominas et al., 2009a	Espanyola	263	274	10	rs12363125 rs22832265	0,03 0,008
<i>Receptors glutamèrgics:</i>								
<i>GRIA1</i>	5q31.1	Formicola et al., 2010	Italiana	250	260	6	Rs2195450 Rs548294	0,00002 (MA) 0,0003 (MO)
			Italiana	250	250	8	Rs3761555	0,0001 (MA)
<i>GRIA3</i>	Xq25							
Estudis d'associació positius amb gens candidats relacionats amb hormones								
<i>Receptor progesterona</i>	11q22	Colson et al., 2005	Australiana	275	275	1	-	0,02
			Australiana	300	300	1	-	0,003
<i>ESR1</i>	6q25.1	Colson et al., 2004	Australiana	224	224	1	Rs2228480	0,003
			Australiana	260	260	1	Rs2228480	8·10 ⁻⁶
		Oterino et al., 2006	Espanyola	240	160	-	Rs1801132	0,008 (dones)
Estudis d'associació positius amb gens candidats relacionats amb hormones								
<i>ACE</i>	17q23.3	Joshi et al., 2009	India	150	150	-	rs4646994	0,04 (MA)
			India	191	201	-	rs4646994	<0,05
			India	176	248	-	rs4646994	<0,01 (MA)
<i>MTHFR</i>	1p36.3	Kowa et al., 2000	Japonesa	74	261	1	rs1801133	<0,01
			Turca	102	136	2	rs1801133	0,015
			Australiana	270	270	1	rs1801133	0,017 (MA)
			Australiana	275	275	2	rs3815188 rs1043994	0,002 (MO) 0,0001 (MA)
<i>NOTCH3</i>	19p13.2-13.1	Schwaag et al., 2006	Caucàsica	97	97	2	rs1043994	0,005
			Australiana	275	275	2	rs3815188 rs1043994	0,002 (MO) 0,0001 (MA)
			Australiana	300	300	2	rs3815188 rs1043994	0,06 (MO) 0,003 (MA)
<i>EDNRA</i>	4q31.22	Tikka-Kleemola et al., 2009	Finlandesa	850	900	13	rs2048894	0,015 (MA)

+ Altres estudis no han demostrat associació entre migranya i aquests gens

* Valor de p no corregit

4.3.3. GWAS i migranya

El primer GWAS de migranya va ser publicat per l'IHGC (*International Headache Genetics Consortium*) al 2010 (Anttila et al., 2010). Va ser un estudi realitzat en dues fases i que va implicar set sèries clíniques, amb un total de 2.731 MA i 10.747 controls en la fase de descobriment i 3.202 casos (MA, MO) i 40.062 controls en la fase de replicació. L'anàlisi es va fer per MO, MA i MO+MA. Aquest estudi va permetre identificar el primer loci de susceptibilitat per la MO. D'entre els marcadors més prometedors es va trobar: rs1835740 a 8q22.1 entre els gens *MTDH* i *PGCP*, i sembla que modula l'homeòstasi de glutamat; rs11172113, en el gen *LRP1*, implicat també en la via del glutamat i rs10166942 en el gen *TRPM8*, que codifica un receptor nociceptiu del fred. Els SNP a *LRP1* i *TRPM8* es van replicar després en un altre estudi (Freilinger et al., 2012). Un altre estudi, en aquest cas amb població espanyola, no va replicar un dels principals hits, el rs1835740 (Sintas et al., 2012).

El segon GWAS, realitzat pel consorci DICE (*Dutch-Icelandic migraine genetic consortium*), va ser publicat al 2011 (Ligthart et al., 2011). En aquest cas es van utilitzar 5 cohorts poblacionals amb 2.446 casos i 8.534 controls. Per la replicació, es van utilitzar 2.957 casos i 5.774 controls. Aquesta vegada, però, no es va trobar cap SNP associat amb migranya amb el nivell de significació dels GWAS, habitualment de $p < 10^{-9}$. El millor resultat que van trobar va ser l'associació de rs9908234, amb una $p = 10^{-8}$, i que es localitza al gen *NGF* (factor de creixement de nervis). Es van seleccionar un total de 32 SNP amb $p < 10^{-5}$ per replicació, però no van aconseguir replicar-ne cap (Shürks et al., 2012).

El tercer GWAS publicat fins ara també va ser un estudi amb cohorts de base poblacional (Chasman Di et al., 2011). L'estudi va incloure 3 cohorts de base poblacional i informació recollida per l'IHGC. Les cohorts incloses en aquest cas van ser la WGHS (*Women's Genome health Study*), la GEM (*Genetic Epidemiology of Migraine*) i la SHIP (*Study of Health in Pomerania*). La fase de descobriment va incloure 5.122 dones amb migranya i 18.108 dones que no patien migranya, ambdues de la cohort americana WGHS. No es van identificar variants a nivells de significació dels GWAS, però es van identificar 7 loci on hi havia al menys 1 SNP amb $p < 5 \cdot 10^{-6}$. L'SNP més significatiu de cada loci es va replicar en les cohorts GEM (774 migranyosos i 942 no migranyosos), SHIP (306 migranyosos i 2.260 no migranyosos) i les dades de l'IHGC (2.748 migranyosos i 10.7474

controls). Es van trobar associacions que anaven en la mateixa direcció que en la WGHS en les 3 cohorts de replicació per rs2651899, rs10166942 i rs11172113. La metaanàlisi posterior de totes les dades va trobar associacions significatives a nivell de GWAS: rs2651899 (OR 1,11; $p=3,8 \cdot 10^{-9}$) es localitza a 1p36.32, en el primer intró de *PRDM16*; rs10166942 (OR 0,85; $p=3,8 \cdot 10^{-9}$), localitzat a 2q37, molt proper a l'inici de transcripció de *TRPM8* i el rs11172113 (OR 0,9; $p=4,3 \cdot 10^{-9}$) a 12q13.3 en el primer intró de *LRP1*.

Recentment, s'acaba de publicar una metaanàlisi que inclou dades de 29 GWAS, amb un total de 23.285 casos de migranya i 95.425 controls, aparellats per poblacions (Anttila et al., 2013). Han identificat 12 loci (taula 9) associats a susceptibilitat a migranya ($p < 5 \cdot 10^{-8}$), 5 dels quals no s'havien descrit prèviament. D'aquests, 3 es van identificar en associació amb la malaltia. Alguns d'aquests nous gens són especialment interessants des de la perspectiva de la possible rellevància biològica: el gen *AJAP1* s'expressa a cervell i s'ha relacionat amb invasió tumoral i regulació de la MMP-10; *TSPAN2*, a 1p13, codifica per a una proteïna de superfície cel·lular que està implicada en la regulació del desenvolupament cel·lular i curiosament, també s'ha demostrat que actua com a regulador de l'activitat de les MMP i *MMP16*, que codifica per una MMP de matriu, la MT-MMP2 que degrada *LRP1*, un dels gens identificats a altres GWAS.

Taula 9. Resultats de la metaanàlisi (adaptat d'Anttila et al., 2013)

SNP	Crom	Loc	Gen	Al·lel minoritari	OR (95% CI)	p-valor	Grup amb p-valor inferior/altres subgrup
rs2651899	1	Gènic	<i>PRDM16</i> *	C	1,09 (1,07-1,12)	$3,28 \cdot 10^{-14}$	Migranya (tots)
rs10915437	1	Intergènic	Proper <i>AJAP1</i>	G	0,86 (0,82-0,91)	$2,81 \cdot 10^{-9}$	Clin
rs12134493	1	Intergènic	Proper <i>TSPAN2</i>	A	1,14 (1,10-1,18)	$6,71 \cdot 10^{-14}$	Migranya (tots)
rs2274316	1	Gènic	<i>MEF2D</i> *	C	1,07 (1,04-1,09)	$3,14 \cdot 10^{-9}$	Migranya (tots)
rs7577262	2	Gènic	<i>TRPM8</i> *	A	0,87 (0,84-0,90)	$3,27 \cdot 10^{-11}$	Migranya/ clin i MO
rs6790925	3	Intergènic	Proper <i>TGFBR2</i> *	T	1,15 (1,10-1,21)	$2,16 \cdot 10^{-9}$	Clin
rs9349379	6	Gènic	<i>PHACTR1</i> *	G	0,86 (0,82-0,90)	$2,81 \cdot 10^{-10}$	MO/Migranya (tots)
rs13208321	6	Gènic	<i>FHL5</i>	A	1,18 (1,13-1,24)	$2,15 \cdot 10^{-12}$	Migranya (tots)/MO
rs4379368	7	Gènic	<i>C7orf10</i>	T	1,11 (1,08-1,15)	$1,46 \cdot 10^{-9}$	Migranya (tots)/MO
rs10504861	8	Intergènic	Proper <i>MMP16</i>	T	0,86 (0,81-0,90)	$1,32 \cdot 10^{-9}$	MO
rs6478241	9	Gènic	<i>ASTN2</i> *	A	1,16 (1,11-1,22)	$1,04 \cdot 10^{-9}$	Clin/Migranya (tots)
rs11172113	12	Gènic	<i>LRP1</i> *	C	0,90 (0,88-0,92)	$2,69 \cdot 10^{-10}$	Migranya (tots)/MO

Gens*, descrits prèviament en altres estudis; Es mostra el p-valor de l'associació més significativa;

Grups d'anàlisi: Migranya (tots, cohorts clíniques i poblacionals); Clin (cohorts clíniques); MO (migranya sense aura)

Els GWAS, per tant, són una eina potent per a descobrir nous gens implicats en la susceptibilitat a una malaltia, però a causa de la no existència d'una hipòtesi inicial, cal analitzar després els resultats des de la perspectiva de la significació biològica.

Els autors de la metaanàlisi de GWAS suggereixen que, mitjançant anàlisis de l'expressió quantitativa de *loci* (eQTL) del teixit cerebral, els potencials gens candidats funcional poden ser *APOA1BP*, *TBC1D7*, *FUT9*, *STAT6* i *ATP5B*, localitzats a 4 *loci*.

A més, hipotetizen sobre com les direccions directes entre alguns gens dels *loci* amb associació significativa a migranya poden contribuir a l'estrés oxidatiu (figura 10a). També han realitzat un estudi sobre les interaccions dels diferents gens a *loci* significatius (figura 10b).

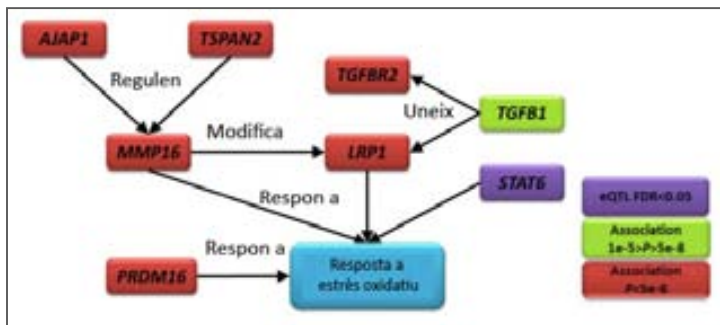


Figura 10a. Hipòtesi funcional d'interacció entre gens significatius, adaptada de Anttila et al., 2013 (figura suplementària 8)

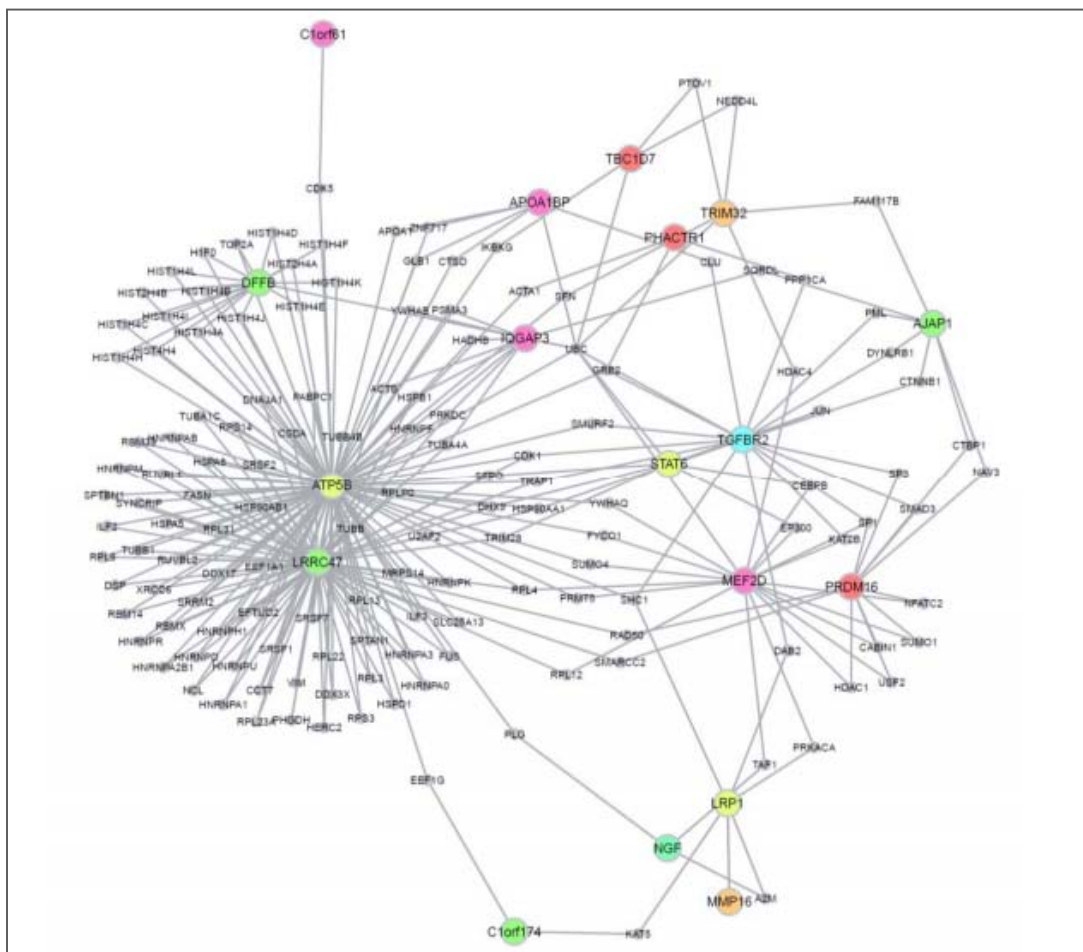


Figura 10b. Xarxa d'interaccions gèniques (anàlisi DAPPLE), adaptada de Anttila et al., 2013 (figura suplementària 8b)

4.4. Evidències genètiques de la migranya crònica

La migranya crònica, a diferència de la MO i la MA, no s'ha estudiat fins ara des de la perspectiva de la susceptibilitat genètica. Si es consulta la base de dades HuGE Navigator¹ en relació al nombre de gens associats a migranya en totes les seves formes, s'identifiquen fins a 231 gens implicats en 104 vies de senyalització en el moment de redactar aquesta tesi.

En canvi, les evidències genètiques quan es fa la cerca amb migranya crònica com a malaltia només apareixen 7 gens (*CYP1A2*, *GNB3*, *MAOA*, *CYP3A4*, *HCRTR2*, *OPRM1* i *SLC6A4*) implicats en 15 vies de senyalització, principalment relacionades amb el metabolisme de fàrmacs, d'alguns aminoàcids, de la cafeïna, dels xenobiòtics. Però si s'analitzen els estudis concrets a partir dels quals apareix l'evidència a la cerca, veurem que la relació d'aquests gens amb la migranya crònica és indirecta. En cap cas es reporta una associació entre cap variant d'aquests gens i la susceptibilitat a migranya. Aquests gens s'han identificat majoritàriament a partir d'estudis relacionats amb trastorns psiquiàtrics comòrbids a la migranya, malalties que cursen amb dolor crònic i, més específicament, amb l'eficàcia dels triptans i el metabolisme del fàrmac en pacients de MC (Gentile et al., 2010a; Gentile et al., 2010b).

Concretament, es van investigar variants als gens *CYP1A2*, *CYP3A4* i *MAOA*, i es va trobar una associació entre la variant *CYP1A2*1F* (rs762551) i la migranya crònica en un grup de 104 pacients MC (Gentile et al., 2010a), així com un SNP de la *MAOA* amb la resposta a zolmitriptà (Gentile et al., 2010b). Entre les evidències que mostra la base de dades trobem connexions entre: *GNB3* i estudis relacionats amb la cefalea tipus clúster, obesitat, risc cardiovascular, depressió i trastorns crònics, entre d'altres; *HCRTR2* en migranya comuna i clúster, *SLC6A4* i el metabolisme de la serotonina i *OPRM1* amb dolor i trastorns de caràcter crònic.

A banda d'aquestes sospites d'associacions, s'han realitzat alguns estudis d'associació amb la cefalea crònica diària (CCD), revisats per Montagna i col·laboradors (Montagna et al., 2003) que es recullen a la taula 10.

¹ <http://hugenavigator.net/HuGENavigator/home.do> - Base de dades que ofereix el coneixement actualitzat relacionat amb epidemiologia del genoma humà, prevalença de variants gèniques, associacions gens i malaltia, interaccions gèniques i gens-ambient, de lliure accés, creada al 2001.

Taula 10. SNP investigats en CCD o amb probable associació amb cronicitat (adaptat de Montagna et al., 2003)

Gen (nom)	Locus	Referències	Polimorfisme	Resultats
<i>DRD2</i>	11q22	Peroutka et al., 1998	Al·lel NcoI C/T (His313His)	Al·lel C amb MA comòrbida a ansietat i depressió
<i>ACE</i>	17q23	Paterna et al., 2000	Al·lel D	Genotip DD associat a augment de la freqüència d'atacs de migranya
<i>COMT</i>	22q11	Cevoli et al., 2003	G158A	No associació amb CCD ni abús de medicació
<i>MAOA</i>	Xp11.23	Cevoli et al., 2003	T1460C	No associació amb CCD ni abús de medicació
<i>DRD4</i>	11p15.5	Cevoli et al., 2003	VNTR exó3	Sobrerrepresentació al·lel 4 en CCD vs migranya episòdica i controls
<i>SLC6A3</i>	5p15.3	Cevoli et al., 2003	VNTR	Sobrerrepresentació al·lel 9 i genotip 9/10 en CCD vs migranya episòdica

†Altres estudis publicats que no mostren associació a migranya

II

Hipòtesi i objectius

II.1. Hipòtesi

El coneixement actual sobre la fisiopatologia de la migranya i la seva heretabilitat ens confirma que es tracta d'una malaltia complexa multifactorial. Els estudis de lligament en famílies i els estudis amb bessons, a més de l'existència de formes monogèniques, revelen que el component genètic és important i que determina la transmissió de la malaltia. S'ha constatat l'elevada heretabilitat de la migranya però... es pot heretar la predisposició a MC de la mateixa manera? El treball realitzat en aquesta tesi doctoral pretén contribuir a respondre aquesta pregunta per identificar aquells pacients que tenen elevat risc de cronificació per tal d'aplicar mesures preventives que puguin evitar la progressió.

Assumint aquestes consideracions inicials, la hipòtesi sobre la qual es fonamenten els estudis realitzats en aquest treball de tesi doctoral es pot formular de la següent manera:

“Si la migranya és una malaltia hereditària complexa, aleshores el bagatge genètic de cada individu contribueix a la seva susceptibilitat a la malaltia. De la mateixa manera, doncs, aquells pacients que desenvolupen migranya crònica poden tenir un patró genètic determinat i unes característiques clíniques associades que incrementi el risc de cronificació”.

II.2. Objectiu general i específics

L'objectiu global dels treballs¹ presentats en aquesta tesi doctoral és aprofundir en el coneixement dels factors que poden modular la predisposició d'un individu a patir migranya i a la seva progressió.

Amb aquest propòsit general, el treball realitzat pretén abordar els següents objectius específics:

1. Conèixer les característiques clíniques i factors de risc per la progressió de la migranya episòdica i crònica en una mostra de població espanyola.
2. Caracteritzar endofenotips segons la freqüència d'atacs per trobar indicadors clínics de progressió.
3. Estudiar les variants polimòrfiques implicades en la migranya mitjançant un estudi d'associació de gens candidats en població espanyola.
4. Estudiar les variants polimòrfiques implicades en la progressió de la malaltia a migranya crònica
5. Estudiar el patró d'expressió de possibles biomarcadors de la migranya episòdica i crònica.

¹ Aquests treballs es van realitzar principalment a partir de dades i mostres obtingudes durant l'estudi CHROMIG (Genotipatge del Risc de Desenvolupar Migranya Crònica), un estudi descriptiu unicèntric que es va realitzar en la Unitat de Cefalees de l'Hospital Universitari Vall d'Hebron amb el suport de la beca de La Marató TV3 (07/2310) i FIS (PI10/00876).

III

Metodologia

III.1. Pacients i protocol clínic

1.1. Descripció del protocol de l'estudi

Per a la realització dels diferents treballs es van utilitzar pacients amb migranya inclosos a l'estudi CHROMIG (Genotipatge del Risc de Desenvolupar Migranya Crònica). L'objectiu general d'aquest estudi era investigar els factors que predisposen el malalt migranyós a desenvolupar migranya crònica, i que inclouen tant aspectes clínics com factors genètics. Per aquest propòsit, es va establir un protocol d'inclusió de pacients i de recollida de mostres biològiques que va començar al juny de 2008 i que es va estendre fins al febrer de 2010. Durant aquest temps es van dur a terme diferents activitats relacionades amb la difusió d'aquest estudi entre el col·lectiu mèdic i la població general mitjançant intervencions en diversos mitjans de comunicació catalans (premsa i televisió).

Els migranyosos que es van incloure en l'estudi van ser entrevistats en profunditat a la consulta per tal de garantir la qualitat del procés de fenotipatge i es van aplicar els criteris diagnòstics de la *International Headache Society* (IHS, 2004; IHS, 2006), fent èmfasi en la diferenciació de la migranya episòdica i crònica. A banda de l'extensa informació recollida el dia de la inclusió del pacient a l'estudi, es va fer un seguiment d'un any mitjançant un calendari en el qual els pacients havien de marcar els dies que patien migranya, la intensitat (lleu/moderada/greu), la durada, la presència o absència d'aura, el tractament i el probable desencadenant. Trimestralment, els pacients enviaven els fulls del calendari per tal d'identificar processos de cronificació o de remissió de la freqüència d'atacs.

Per investigar si existeix un patró genètic de susceptibilitat per desenvolupar migranya crònica es va dissenyar un estudi d'associació genètica mitjançant una estratègia de gens candidats, que incloïen polimorfismes prèviament reportats a la literatura però que no s'havien replicat fins al moment i es van estudiar per primera vegada altres polimorfismes en gens rellevants en la fisiopatologia de la malaltia que no s'havien associat a migranya.

La figura 11 (pàgina 72) resumeix el flux de treball derivat d'aquest estudi: les dades clíniques recollides es van analitzar com a estudi descriptiu per trobar factors associats a la migranya i a la MC. A més, es va fer una subanàlisi per grups de freqüència,

subclassificant la ME en *migranya episòdica de baixa freqüència* (EBF) si no es superaven els 9 dies de dolor al mes i *migranya episòdica d'alta freqüència* (EAF) quan la freqüència era de 10 a 14 dies al mes.

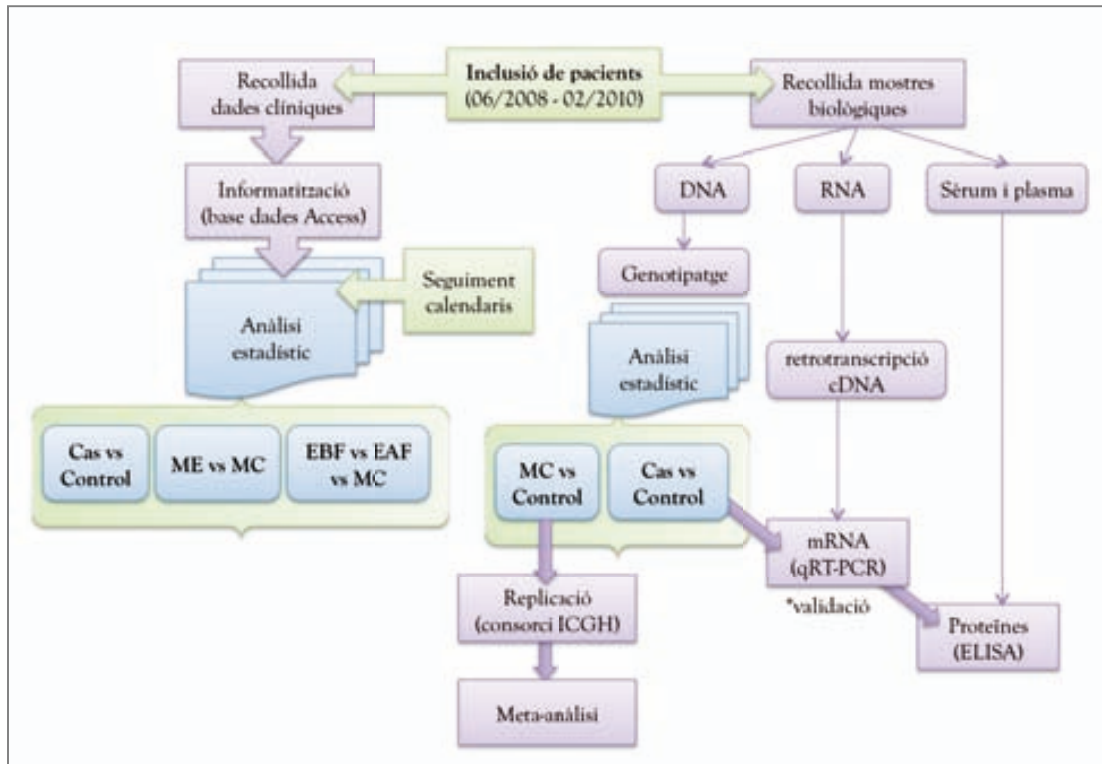


Figura 11. Diagrama de flux amb el disseny experimental del projecte CHROMIG.

L'estudi d'associació genètica es va fer a partir del genotipatge de les mostres recollides durant l'estudi. L'anàlisi principal per determinar factors de risc de cronificació es va fer conjuntament amb mostres d'un grup col·laborador holandès membre del IHGC, ja que la mida de la mostra espanyola de MC era insuficient. A més, es va fer una replicació d'aquest estudi amb noves mostres recollides al nostre grup i al grup holandès i finalment es va fer una metaanàlisi en la qual es van incloure dues cohorts addicionals de *International Headache Genetics Consortium* (IHGC) (ampliat a bloc 3, apartat 1.3, pàgina 79). Paral·lelament, es va fer un estudi cas-control amb la mostra espanyola, que es va validar mitjançant estudis d'expressió gènica (quantificació de mRNA per qRT-PCR). Finalment, es va investigar la funcionalitat d'aquests polimorfismes analitzant l'expressió proteica mitjançant la tècnica ELISA.

1.1.1. Selecció i obtenció de la mostra

Aquest estudi es va caracteritzar per un elevat rigor en la selecció de la mostra i per un estricte fenotipatge, sovint un factor limitant en molts estudis d'associació genètica amb elevat nombre de participants. A continuació s'expliquen amb detall els diferents criteris i procediments que es van seguir durant el reclutament de pacients.

1.1.2. Criteris d'inclusió i d'exclusió

Es van incloure homes i dones caucasicomediterranis majors de 18 anys amb migranya amb aura, migranya sense aura i migranya crònica d'acord als criteris establerts per la IHS. Es van excloure dones embarassades així com migranyosos amb relació de parentiu entre ells, per tal de garantir la qualitat de l'estudi d'associació poblacional.

Van quedar exclosos també aquells migranyosos amb *cefalea per abús de medicaments* segons criteris de la IHS, aquells que patien *cefalea de tensió crònica* (definit com a 15 o més dies de dolor tensional al mes), qualsevol forma monogènica de migranya, les *cefalees en raïm* o *clúster* (episòdic i crònic) i totes les cefalees secundàries.

En tots els casos es va comunicar als pacients la informació rellevant relacionada amb l'estudi, es va respondre els dubtes i inquietuds i es va sol·licitar consentiment informat per escrit i per duplicat, d'acord amb la Declaració de Hèlsinki i amb l'aprovació del Comitè Ètic de l'Hospital Vall d'Hebron.

1.1.3. Fenotipatge

Es va elaborar un quadern de recollida de dades (QRD) a partir del qual es va estructurar l'entrevista del pacient candidat a l'estudi, a fi de recollir les dades de l'anamnesi necessàries per a un fenotipatge de qualitat que ens permetés treballar amb una mostra representativa de migranyosos episòdics i crònics. En aquest QRD¹ s'enregistraren totes les dades relacionades amb el pacient i amb la seva patologia (taula 11), a excepció de les dades personals identificadores, que es recolliren en un document separat amb un codi per anonimitzar el QRD.

¹ Vegeu Annex 1: Quadern de recollida de dades estudi CHROMIG

Taula 11. Dades demogràfiques i clíniques recollides en el QRD de l'estudi CHROMIG.

Demogràfiques	Antecedents personals i estil de vida	Comorbiditats i patologies relacionades	Antecedents familiars	Característiques de la cefalea	Tractament farmacològic
<ul style="list-style-type: none"> • Sexe • Edat • Ètnia • Nivell d'estudis • Nivell socioeconòmic • Estat civil • Socialització • Activitat laboral 	<ul style="list-style-type: none"> • Tabaquisme • Consum d'alcohol • Activitat física • Consum de xantines • Índex de massa corporal (pes i talla) 	<ul style="list-style-type: none"> • Vertigen • Cinetosi • Síntomes cíclics en l'infància • Al·lèrgies • Trastorns psiquiàtrics • Sd. Ansiosa • Sd. Ansiosa-depressiva • Epilèpsia • Fibromiàlgia • Sd. Fatiga Crònica • Hipertensió • Dislipèmia • Diabetes • Ictus • Angina vasoespàstica • Trastorns cicle menstrual • Trastorns de la son 	Presència de: <ul style="list-style-type: none"> • Trastorns psiquiàtrics • Migranya amb i sense aura *En pares, avis, germans i fills.	<ul style="list-style-type: none"> • Diagnòstic • Edat d'inici • Tipus de dolor • Localització • Desencadenants • Pròdroms • Aura (tipus i durada) • Fotofòbia • Sonofòbia • Osmofòbia • Nàusees i vòmits • Mareig • Freqüència • Durada dels atacs • Al·lodínia (escala ASC-II) 	<ul style="list-style-type: none"> • Tipus de fàrmac • Dosi terapèutica • Eficàcia • Tolerància • Durada del tractament *Tant per tractament profilàctic com per tractament agut de l'atac de migranya

La informació relacionada amb la freqüència dels atacs de migranya (mesurada com a dies de dolor/mes) va ser contrastada amb l'obtinguda mesos després a partir de l'enviament de calendaris.

A més, es va demanar a cada pacient que omplís un conjunt d'escalles² autoaplicades per valorar: la discapacitat produïda per la migranya (escala MIDAS); el seu impacte en la qualitat de vida (HIT-6); l'autopercepció sobre l'estat de salut general (SF-36v2) i el grau d'ansietat i depressió (STAI - *State and Trait Anxiety Inventory* i BDI-II - *Beck Depression Inventory*, respectivament). Totes aquestes escales són autoaplicades i es disposa de traduccions validades a diferents idiomes. La interpretació dels resultats d'aquestes escales es va fer segons els criteris de puntuació publicats per cadascuna d'elles.

- STAI és un qüestionari autoaplicat que mesura dos aspectes diferents relacionats amb l'ansietat: l'ansietat com a estat i com a tret característic. L'estat es refereix a un estat emocional transitori caracteritzat per sentiments subjectius que són



² Vegeu Annexos 2,3,4,5 i 6

percebuts conscientment. L'ansietat com a **tret** indica propensió a l'ansietat que caracteritza els individus amb tendència a percebre les situacions com a amenaçadores. Cada aspecte es valora mitjançant 20 preguntes multiresposta i el resultat es basa en la comparació amb uns barems poblacionals per sexes. Es van establir 3 categories de gravetat: no ansietat (centils 0 a 54), lleu a moderada (centils 55 a 70) i moderada a greu (centils ≥ 71).

- L'inventari de depressió Beck-II (BDI -II) és un instrument autoaplicat de 21 ítems. A cada ítem el pacient ha d'escollir entre quatre alternatives per descriure el seu estat, ordenades de menor a major gravetat i que es corresponen amb una puntuació de 0 a 3. Aquest instrument indica la presència de símptomes depressius consistents amb el DSM-IV i la seva intensitat. S'utilitza freqüentment com a *screening* per a detectar persones amb trastorn depressiu en una mostra de població general. S'estableixen quatre categories de gravetat segons la puntuació obtinguda: mínima (sovint considerada com a absència d'indicis, de 0 a 13 punts), lleu (de 14 a 19), moderada (de 20 a 28) i greu (≥ 29).
- L'escala de salut general SF-36v.2 és un instrument autoaplicat que aporta informació sobre vuit dimensions a partir de 36 preguntes relacionades amb la percepció del pacient de diferents aspectes relacionats amb la salut general, com la Funció Física (FF, 10 preguntes); Rol Físico (RF, 4); Dolor corporal (DC, 2); Salut General (SG, 5); Vitalitat (VT, 4); Funció Social (FS, 2); Rol Emocional (RE, 3) i 2 components sumatius (Físic i Mental). Les puntuacions van de 0 a 100 en cada dimensió. L'aplicació que vam fer d'aquesta escala entre grups de pacients va considerar que una determinada funció o dimensió estava alterada quan la puntuació en algun ítem era < 40 , llindar determinat a partir de barems poblacionals publicats. Així, en algunes anàlisis, es van tractar les dades com a categòriques sí/no segons la presència o no de funció alterada.
- L'escala MIDAS mesura la discapacitat produïda a causa de la migranya en base a 5 preguntes relacionades amb el nombre de dies perduts laborals i extralaborals. La puntuació s'obté de la suma de dies perduts, a partir de la qual es defineixen els diferents rangs: discapacitat nul·la o mínima (puntuació 0 a 5), lleu (6 a 10), moderada (11 a 20) i greu (≥ 21).

- El qüestionari HIT-6 mesura l'impacte de la migranya en la vida del pacient. Consisteix en 6 preguntes multiresposta amb 5 alternatives relacionades amb la freqüència temporal (mai, rarament, algunes vegades, sovint i sempre). Cada resposta porta associada una puntuació, de manera que la suma global permet determinar si l'impacte és: poc o cap impacte (≤ 49), cert impacte (50 a 55), important (56 a 59) i molt sever (≥ 60).

1.1.4. Controls

Es van genotipar 810 controls no migranyosos proporcionats pel grup de Neurologia Pediàtrica de l'Hospital Vall d'Hebron, grup de recerca liderat pel Dr. Alfons Macaya. Tots els controls van ser voluntaris majors d'edat, caucasicomediterranis i sense antecedents familiars de primer grau amb migranya o cefalees recurrents que van ser reclutats en el Servei d'Extracció de l'hospital quan acudien a analítiques de control rutinàries.

1.1.5. Mostres biològiques

Es va recollir sang venosa perifèrica de tots els pacients en els següents tubs: 1 tub de 9ml i 2 de 4 ml amb l'anticoagulant EDTA, 2 tubs de 4 ml amb l'anticoagulant citrat i un tub de 9 ml sense anticoagulant. El tub EDTA de 9 ml es va conservar a -80°C fins al moment de l'extracció del DNA. La resta es va centrifugar durant 15 minuts a 3500 rpm a 4°C per tal de separar i obtenir sèrum i plasma. Addicionalment, es van recollir 500 μl de la fracció blanca ó *buffy coat* que queda entre el plasma i les restes cel·lulars en els tubs amb EDTA centrifugats i es van conservar en eppendorfs RNAsa-free amb 1,5 ml de RNA Later (Ambion), per tal d'extreure RNA. Totes les mostres biològiques es van al·lquotar i conservar a -80°C fins a la seva utilització.

Pels estudis de biomarcadors es van utilitzar mostres de plasma de pacients migranyosos i control recollits prèviament durant l'estudi CHROMIG. Les mostres obtingudes el dia de la inclusió del pacient a l'estudi corresponien a períodes intercrítics, per tant, fora de l'atac de migranya. Aquestes mostres es van considerar mostres "basals".

Per estudiar el perfil temporal d'expressió d'algunes proteïnes i biomarcadors, es va extreure sang a diferents temps (fins a 6h de l'inici del dolor, 24h i 72h) per obtenir

plasma de pacients durant un atac de migranya. Els pacients van acceptar no tractar farmacològicament aquestes crisis per no afectar les anàlisis de quantificació proteiques. Atès que tots els pacients que hi van participar formaven part de l'estudi CHROMIG, no es van demanar dades clíniques addicionals a excepció de la durada, intensitat i característiques de l'atac de migranya durant el qual es van obtenir les diferents mostres seriades.

1.2. Estratègia de descobriment i replicació de factors genètics de cronificació

L'objectiu principal de l'estudi CHROMIG era identificar factors genètics associats a migranya crònica. Atesa la baixa freqüència de MC entre la població migranyosa es va utilitzar com a mostra de descobriment una cohort formada per les MC recollides a Barcelona (BCN) i una cohort recollida a Leiden (LDN) per un grup de recerca del IHGC. La cohort holandesa disposava de dades de GWAS que permetia obtenir les freqüències gèniques dels nostres polimorfismes candidats. El conjunt de polimorfismes associats a MC en aquesta cohort mixta, a la qual em referiré al llarg del treball com a BCN+LDN, es van testar també en un subgrup de migranyosos EAF, considerats probables candidats a un procés de cronificació atesa l'elevada freqüència de dies de migranya al mes que pateixen. Aquells polimorfismes que mostraren associació nominal en ambdues anàlisis es van proposar per a una replicació Taqman amb noves mostres recollides tant a Barcelona (amb el mateix protocol descrit com a estudi CHROMIG) com a Leiden mitjançant seqüenciació Taqman. Aquestes cohorts, però, eren de mida mostral inicial a la mostra de descobriment i, en aquell moment, un altre grup de Noruega (NRG) membre del consorci IHGC va oferir-se per participar en la replicació amb una cohort de pacients que encara no havien estat genotipats.

Finalment, es van analitzar els resultats de la replicació per a cada cohort independent i es va realitzar una metaanàlisi que va incloure també dades d'un grup de mostres del grup NRG que havien estat incloses en un GWAS i de la qual disposàvem de dades sobre el diagnòstic de MC. Les fases i els grups que hi van participar finalment es mostren en la figura 12 (pàgina 78).

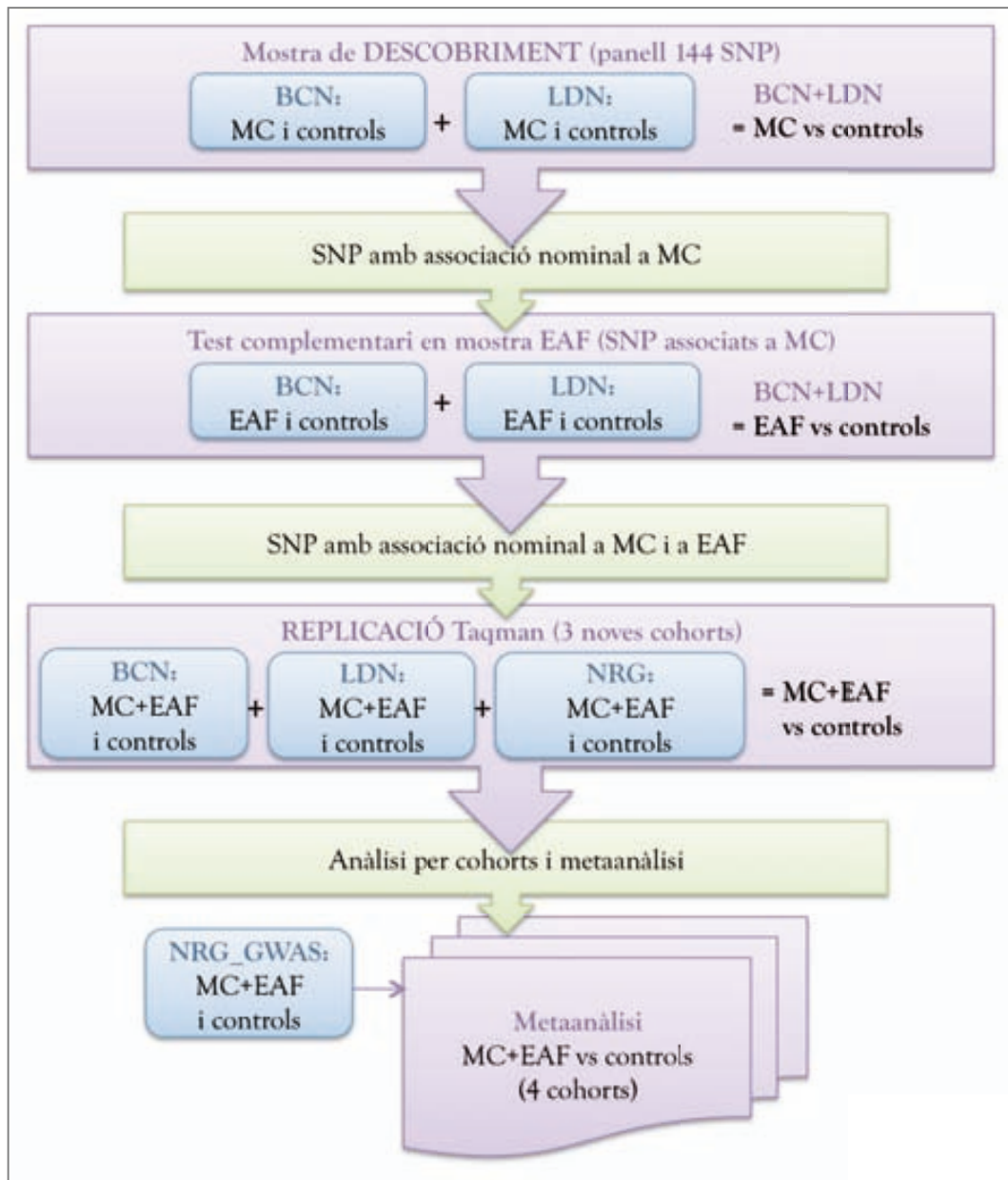


Figura 12. Flux de treball per a la identificació de factors genètics de susceptibilitat a cronificació. BCN, Barcelona; LDN, Leiden; NRG, Noruega.

1.3. Recollida, fenotipatge i genotipatge de pacients d'altres cohorts de l'IHGC

1.3.1. Cohort holandesa (LDN)

Mostres de la fase de descobriment:

La cohort LDN va incloure un grup de pacients diagnosticats de MC ó EAF i controls reclutats a partir d'un estudi clínic anomenat *Leiden University Migraine Neuro Analysis study* (LUMINA) realitzat a Holanda. Inicialment, es van reclutar migranyosos a partir d'un qüestionari autoaplicat al web del projecte amb un conjunt de preguntes validades anteriorment en un estudi poblacional (Launer et al., 1999). Els participants que acomplien els criteris completaven un qüestionari més extens dirigit a explorar els signes i símptomes de la migranya i de l'aura segons els criteris ICHD-II (IHCC, 2004). El diagnòstic individual de cada pacient es va obtenir mitjançant un algoritme basat en aquests criteris i validat mitjançant una entrevista telefònica semiestructurada per metges experts i residents entrenats (Van Oosterhout et al., 2011). Un subgrup de pacients, a més, van ser visitats a la consulta de Neurologia. Els controls van ser donants voluntaris que acudiren al banc de sang de Leiden.

Les mostres de sang es van recollir en tubs EDTA i es va aïllar DNA amb la tècnica d'extracció estàndard de *salting-out*³. El genotipatge de les mostres que vam incloure en la cohort de descobriment havien estat prèviament genotipades en un estudi GWAS (metodologia publicada a Anttila et al., 2010).

Mostres de la fase de replicació Taqman®

El protocol de selecció, diagnòstic i classificació de pacients va ser el mateix que s'ha descrit per la cohort de descobriment. Aquestes mostres, recollides després del primer GWAS, no es van incloure en la mostra de descobriment perquè no estaven genotipades. El grup control va ser un nou conjunt de mostres obtingudes del banc de sang de Leiden.

El genotipatge es va realitzar mitjançant *Taqman® SNP Genotyping Assay* (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA). Una PCR estàndard es va realitzar amb *TaqMan Universal PCR Master Mix*. L'anàlisi dels clústers es va fer amb el *Lightcycler LC480* i el

³ Tècnica descrita a Bloc III, 2.1. Extracció de DNA

software *LightCycler*® 480 1.5.0, versió 1.5.0.39 (Roche Applied Science, Penzberg, Upper Bavaria, Alemanya) en plaques de 384 pouets i seguint les instruccions del fabricant.

1.3.2. Cohorts noruega (NRG)

Mostres de la fase de replicació Taqman®

Les mostres de la cohort noruega formaven part de l'estudi Nord-Trøndelag Health Study (HUNT-3), recollides entre 2006 i 2008. En aquest estudi es va convidar a participar tots els habitants majors de 20 anys, que van respondre 14 preguntes orientades al diagnòstic de la migranya segons els criteris revisats de la ICHD-II. Aquesta classificació basada en el qüestionari s'havia validat amb entrevistes, mostrant un 51% de sensibilitat i un 95% d'especificitat pel diagnòstic de la migranya (Hagen et al., 2010). Els controls van ser obtinguts a partir del mateix estudi poblacional HUNT-3 d'entre els voluntaris sans sense migranya.

El DNA es va extreure de sang perifèrica mitjançant tècniques basades en el *salting-out* amb els kits *Autopure Kit* (Qiagen, Duesseldorf, Alemanya) i *Masterpure Kit* (Medinor, Oslo, Noruega). La quantitat i qualitat del DNA es va controlar cada 8 mostres amb els espectrofotòmetres NanoDrop ND1000 i ND8000 (Nanodrop, Wilmington, DE, USA).

Mostres de la fase de replicació *in silico*

Els casos i controls rutilitzats per la replicació *in silico* es van reclutar durant l'estudi *Nord-Trøndelag Health Study* (HUNT-2) entre 1995 i 1997. El diagnòstic i classificació d'aquests pacients es va fer a partir d'un qüestionari que va ser validat amb una entrevista segons els criteris ICHD, (IHCC, 1988), amb valor predictiu positiu del 87% i negatiu del 75% (Hagen et al., 2000). Els controls es van obtenir també de l'estudi poblacional HUNT-2 després de descartar que complissin algun criteri de migranya.

L'extracció de DNA i la monitorització de la quantitat i qualitat del DNA es va fer amb la mateixa metodologia descrita per les mostres de la fase de replicació *Taqman*®. Les freqüències gèniques d'aquesta mostra vingueren de l'estudi GWAS (Anttila et al., 2010) amb la plataforma Illumina 670k. Per aquells SNP que no estaven inclosos en el xip 670k, es van utilitzar dades provinents de la imputació amb Impute v.2.1.2 i la informació disponible de població CEU a HapMap2.

1.4. Selecció de polimorfismes candidats

Basant-nos en la hipòtesi de que un determinat perfil genètic pot incrementar el risc de desenvolupar MC, es va dissenyar un estudi d'associació de gens candidats que podrien estar associats a migranya i a comorbiditats i factors de risc per la progressió de la malaltia. Es va utilitzar una combinació de diferents estratègies per seleccionar 144 variants polimòrfiques que conformarien el nostre panell de SNP candidats.

D'una banda, es va fer una extensa revisió de la literatura (Pubmed, Hüge Navigator) per tal d'identificar variants polimòrfiques que s'haguessin estudiat en població Caucàsica i per les quals no s'hagueren dut a terme estudis de replicació que permetessin consolidar el resultat.

D'altra banda, es van proposar possibles nous candidats no estudiats prèviament, escollint gens que codifiquessin per molècules rellevants en el mecanisme fisiopatològic de la malaltia i seleccionant tagSNP per aquests gens a partir de les dades de HapMap2 en població CEU i l'eina de selecció per parelles considerant una $r^2 > 0,8$ (Haploview, web HapMap).

Finalment, a causa de la coincidència temporal amb la realització del primer GWAS de migranya (Anttila et al., 2010) i amb l'inici de la col·laboració del nostre grup amb l'IHGC que havia liderat el projecte del GWAS, se'ns va proposar incloure un grup de 25 variants de la llista de *hits* secundaris d'aquest estudi com a rèplica prèvia a la publicació.

1.4.1. Polimorfismes descrits no replicats

S'havien fet molts estudis d'associació amb resultats sovint inconsistents (De Vries et al., 2009), de manera que es van seleccionar de la literatura variants genètiques descrites en associació amb migranya, factors de risc de migranya, comorbiditats i dolor crònic en població Caucàsica però no replicades o amb resultats contradictoris. Es van utilitzar les bases de dades de recerca bibliogràfica Pubmed, HuGe Navigator i SNPedia. Segons aquests criteris, es van seleccionar un grup de 42 SNP en 27 gens (taula 12, pàgina 82).

Taula 12. Polimorfismes candidats seleccionats de la literatura

Funció	Gen	ID (NCBI)	Localització cromosòmica	SNP	Variant	Referència
Metabolisme del transport iònic	<i>CACNB2</i>	783	10p12	rs7076100 [†]	A/T	Nyholt <i>et al.</i> , Hum Mol Genet 2008
	<i>KCNB2</i>	9312	8q13.2	rs1431656 [†]	C/T	
Transport sinàptic	<i>STX1A</i>	6804	7q11.23	rs4363087 [†] rs941298 [†] rs6951030 [†]	C/T C/T G/T	Corominas, R. Neurosci Lett. 2009
Disfunció endotelial	<i>EDN1</i>	1906	6p24.1	rs2070699 [‡] rs1626492 [‡]	G/T A/G	Tzourio <i>et al.</i> , Neurology 2001 MacClellan <i>et al.</i> , Stroke 2009 Tikka-Kleemola <i>et al.</i> , Cephalalgia 2009
	<i>EDNRA</i>	1909	4q31.22	rs1801708 ^{nc} rs2048894 [†] rs5334 ^b	A/G C/T A/G	
	<i>EDNRB</i>	1910	13q22	rs2329047 [†]	G/T	
Metabolisme dopaminèrgic	<i>DBH</i>	1621	9q34	rs1611115 [‡]	C/T	Fernandez <i>et al.</i> , Neurogenetics 2009
Metabolisme serotoninèrgic	<i>HTR2B</i>	3357	2q36.3- q37.1	rs10194776 [†] rs16827801 [†]	C/T A/G	Corominas, R. Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet 2010
Metabolisme hormonal	<i>ESR1</i>	2099	6q25.1	rs2234693 [†] rs2347867 [†] rs4870062 [†] rs6557170 [†] rs6557171 [†]	C/T A/G G/T A/G C/T	Colson <i>et al.</i> , Neurogenetics 2004; Kaunisto <i>et al.</i> , Cephalalgia 2006; Oterino <i>et al.</i> , Neuroreport 2006; Corominas <i>et al.</i> , Eur J Neurol 2009; Joshi <i>et al.</i> , Cephalalgia 2009
Malalties vasculars	<i>IL9</i>	3578	5q31.1	rs2069885 [‡]	C/T	Schurks <i>et al.</i> , Headache Pain 2012; Rainero <i>et al.</i> , Neurology 2004; Mazaheri <i>et al.</i> , J Neurol 2006
	<i>KNCK17</i>	89822	6p21.1	rs10947803 [†]	A/C	
	<i>LRP1</i>	4035	12q13.3	rs7956957 [†]	C/G	
	<i>MMP12</i>	4321	11q22.3	rs2276109 [‡]	A/G	
	<i>MTHFD1</i>	4522	14q24	rs2236225 [‡]	C/T	
	<i>NOS3</i>	4846	7q36	rs10275136 [†] rs3918226 [‡] rs310585 [‡] rs3918166 [‡]	C/T C/T A/G A/G	
	<i>SCNN1A</i>	6337	12p13	rs5742912 [‡]	C/T	
	<i>TGFBI</i>	7040	19q13.1	rs1800469 [‡]	C/T	
	<i>TNF</i>	7124	6p21.3	rs1800750 [‡] rs1800629 [‡] rs673 [‡]	A/G A/G A/G	
	Disfunció sistema nerviós autònom	<i>GNAS</i>	2778	20q13.3	rs7121 ^b	
<i>KCNJ1</i>		3758	11q24	rs2846679 [†]	A/G	Tobin <i>et al.</i> Hypertension 2008
Resposta a estrès	<i>BDNF</i>	627	11p13	rs6265 [‡]	A/G	Yoshida <i>et al.</i> , J Psychopharmacol 2007

(continua a la pàgina següent)

Relació amb trastorns psiquiàtrics (ansietat i depressió)	<i>COMT</i>	1312	22q11.21	rs4680 [*]	A/G	Krugel <i>et al</i> , PNAS 2009
	<i>CRY1</i>	1407	12q23-q24.1	rs2287161 [‡]	C/G	Soria <i>et al</i> , Neuropsychopharmacology 2010
	<i>VIPR2</i>	7434	7q36.3	rs885861 ^U	C/T	
	<i>RGS2</i>	5997	1q31	rs4606 ^U	C/G	Smoller JW <i>et al</i> , Arch Gen Psychiatry 2008
	<i>SCN9A</i>	6335	2q24	rs6746030 [‡]	A/G	Di Lorenzo <i>et al</i> , Neurosci Lett 2007

SNP: rs[†] (localitzat a regió intrònica); rs[‡] (localitzat a regió 5' propera al gen); rs^{nc} (ncRNA); rs^U (localitzat a regió 3'UTR); rs^S (localitzat a regió codificant però no produeix canvi d'aminoàcid); rs^{*} (localitzat a regió codificant i produeix canvi d'aminoàcid).

1.4.2. Nous gens candidats

Es van seleccionar tagSNP que cobrissin gens que codifiquen per molècules que poden tenir un paper rellevant en la fisiopatologia de la migranya, com el gen *CALCA* que codifica per CGRP (*calcitonin-gene related peptide*) i els gens que codifiquen per les dues subunitats del seu receptor, *CALCRL* i *RAMP1*; el gen *ADCYAP1* que codifica per PACAP (*pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide*), un pèptid neuroexcitador que s'allibera a la PAG durant la inflamació neurogènica, i *ADCYAP1R1* que codifica pel seu receptor.

Atesa la probable relació entre el metabolisme hormonal i la migranya, es van incloure també tagSNP del gen *GPR30*, l'únic receptor d'estrògens que encara no s'havia estudiat en associació amb la migranya. La periferina, codificada per *PRPH*, és una proteïna del citoesquelet localitzada a les neurones del sistema nerviós perifèric l'expressió de la qual s'ha associat a *GPR30* i que es va incloure també com a gen candidat (Liverman *et al*, 2009).

La fractalquina, una quimiocina codificada per *CX3CL1*, resultava interessant ja que s'ha proposat la seva implicació en processos d'inflamació i s'ha associat amb neuroprotecció (Combadière *et al*, 2008). També es va estudiar el seu receptor, codificat per *CX3CR1*.

Es va seleccionar també els gens que codifiquen per dues molècules proposades com a probables biomarcadors associats a MA en un estudi de microarrays (Nagata *et al*, 2009): la alfa-fodrina (codificada per *SPTAN1*) i la proteïna hipocàlcin-like (codificada per

HPCAL1). La primera és una proteïna del citoesquelet de la família de les espectrines i la segona és membre de la família de proteïnes que uneixen el calci i que és específica de neurones, implicada en senyalització neuronal en el sistema nerviós central.

Finalment, es va abordar la possible relació entre migranya i ritmes circadians i/o regulació metabòlica mitjançant l'estudi de *CLOCK*, un dels gens clau en aquesta via.

En total, doncs, es van incloure 77 variants gèniques en 12 gens no estudiades prèviament en associació amb migranya (taula 13).

Taula 13. TagSNP seleccionats en nous gens candidats

Probable implicació	Gen	ID (NCBI)	Localització cromosòmica	tagSNP (CEU, HapMap2)
Mecanisme fisiopatològic	<i>CALCA</i>	796	11p15.2	rs2956
	<i>CALCRL</i>	10203	2q32.1	rs12621307; rs17464221; rs2063505; rs3821182; rs6719550; rs858745.
	<i>RAMP1</i>	10267	2q36-q37.1	rs10172504; rs1080519; rs11675777; rs11680171; rs11898345; rs1198826; rs12465864; rs12473236; rs13405506; rs1469772; rs1584243; rs1867934; rs302671; rs302673; rs302676; rs302679; rs302680; rs3769050; rs3820797; rs4663269; rs4663804; rs6431563; rs6717794; rs6722961; rs6741923; rs6746771; rs7557078; rs7578855; rs7590248; rs895572.
	<i>ADCYAPI</i>	116	18p11	rs2231187; rs8192595
	<i>ADCYAPIR1</i>	117	7p14	rs12668955; rs1610037; rs17723231; rs2249714; rs2267727; rs2267730; rs2267732; rs2267733; rs2267737; rs2267738; rs2299908; rs2391937; rs3779247; rs741051; rs758995.
Metabolisme hormonal	<i>GPR30</i>	2852	7p22.3	rs10235056; rs1133043; rs3808353; rs3808354.
	<i>PRPH</i>	5630	12q12-q13	rs2236746
Inflamació i dany neuronal	<i>CX3CL1</i>	6376	16q13	rs170361; rs170364; rs4151117; rs8102.
	<i>CX3CRI</i>	1524	3p21.3	rs3732378; rs3732379.
Probables biomarcadors	<i>SPTAN1</i>	6709	9q34.11	rs13299607; rs10819406.
	<i>HPCAL1</i>	3241	2p25.1	rs3755260; rs75638886.
Bioritmes	<i>CLOCK</i>	9575	4q12	rs11932595; rs17777927; rs2035691; rs2070062; rs3792603; rs6824955; rs6850524; rs1554483.

1.4.3. Hits secundaris del primer GWAS

L'anàlisi del primer GWAS va permetre obtenir una llista de possibles SNP associats a migranya fins ara no estudiats. La nostra vinculació amb el IHGC va resultar en una col·laboració per tal d'incloure 25 d'aquests candidats (taula 14) i replicar-los en la nostra cohort. Amb aquest objectiu es van incloure, doncs, 15 polimorfismes intergènics i 10 variants localitzades en regions gèniques codificants (*ACSL5*, *C4Orf22*, *DCC*, *INSIG2*, *OPCML*, *OR9Q1*, *RELN*, *SMYD3*, *STAMBPL1* i *TRPM8*).

Taula 14. Llistat de hits secundaris del GWAS per a replicar

SNP	Posició cromosòmica	Variants	Gen	Cromosoma
rs1038530	81545247	T>C	<i>C4Orf22</i>	4
rs1835740	98236089	G>A	Intergènic	8
rs1374111	137147604	G>A	Intergènic	2
rs16940918	14469783	A>G	Intergènic	17
rs1569007	53998890	A>G	Intergènic	7
rs2060123	132443784	C>T	<i>OPCML</i>	11
rs7097946	90635321	A>G	<i>STAMBPL1</i>	10
rs4598109	29454205	C>T	Intergènic	6
rs1510846	103208938	C>T	<i>RELN</i>	7
rs2256368	114176614	A>G	<i>ACSL5</i>	10
rs3853676	57650543	G>T	<i>OR9Q1</i>	11
rs7232617	49278804	C>T	<i>DCC</i>	18
rs17528324	118572626	G>A	<i>INSIG2</i>	2
rs7753655	49644523	G>A	Intergènic	6
rs7214255	66838583	A>G	Intergènic	17
rs2496585	143771140	C>A	Intergènic	6
rs2048762	117263684	G>A	Intergènic	2
rs217693	61472554	T>C	Intergènic	14
rs12084862	244269837	G>A	<i>SMYD3</i>	1
rs8060725	83371654	C>A	Intergènic	16
rs473422	56453633	T>C	Intergènic	15
rs10888075	13804790	T>G	Intergènic	8
rs17862920	234492734	C>T	<i>TRPM8</i>	2
rs10111769	21003036	C>T	Intergènic	8
rs16950073	14479442	T>C	Intergènic	17

III.2. Tècniques per a estudis genètics i de biomarcadors

2.1. Extracció de DNA

El DNA es va obtenir a partir dels limfòcits de sang perifèrica en el Centre de Regulació Genòmica (CRG, Barcelona, Espanya) mitjançant el kit d'extracció Chemagen® (Perkin Elmer, Alemanya) i al Departament de Genètica (Facultat de Biologia, Universitat de Barcelona, Barcelona, Espanya) mitjançant un procediment estàndard d'extracció per *salting-out* (Miller et al., 1988). Les mostres del darrer trimestre del període d'inclusió es van extreure amb aquest mateix protocol al nostre laboratori.

La tècnica de *salting-out* es basa en el principi de la interacció electrolit-no electrolit per a la separació de molècules orgàniques poc solubles a elevades concentracions de sal. En una solució aquosa, els aminoàcids hidrofílics de la molècula interaccionen amb les molècules d'aigua, però quan la concentració de sal augmenta, les molècules d'aigua són atretes per ions de la sal, el nombre de molècules d'aigua disponibles disminueix i la molècula orgànica es plega sobre ella mateixa establint interaccions hidrofòbiques en el procés conegut com a *salting-out*.

El protocol comença amb la lisi cel·lular amb una solució hipertònica que trenca els eritròcits amb Tris 2M pH = 7,5 i MgCl₂ 1M. En la següent fase es realitza la digestió proteica amb una solució de lisi de leucòcits, SDS 10% i proteinasa K. La part final correspon al procés de *salting-out* mitjançant l'addició de NaCl 5'5M (saturat) que fa augmentar la concentració de sal en el solvent. S'utilitza cloroform v/v per polaritzar els enllaços i etanol absolut 2v/v per precipitar la molècula de DNA, que es condensa formant una "medusa" visible que pot ser "pescada" i que es resuspèn, una vegada evaporades les restes d'etanol, en tampó TE (Tris 2M a pH = 7,5, EDTA 0,25 M a pH = 8 i aigua milliQ autoaclarada).

La quantitat i la qualitat del DNA es va determinar mitjançant l'espectrofotòmetre NanoDrop ND1000 (Nanodrop, Wilmington, DE, USA).

2.2. Genotipatge

El genotipatge de 144 polimorfismes en la mostra recollida durant l'estudi CHROMIG es va fer al Centre de Regulació Genòmica mitjançant la tecnologia *VeraCode GoldenGate* (Illumina, CRG, Barcelona, Espanya). Els *VeraCode GoldenGate Genotyping Kits* permeten genotipar simultàniament 48, 96, 144, 192 o 384 polimorfismes en plaques de 96 pouets.

Es van preparar plaques de 96 amb les mostres i els controls seguint les instruccions de la plataforma genòmica del CRG a 120 ng/ul mesurat amb NanoDrop. Es van incloure mostres duplicades i controls interplaca per a confirmar la fiabilitat dels resultats. El control de qualitat postgenotipatge va descartar 16 polimorfismes de 144 amb una taxa d'èxit en la seqüenciació inferior al 90%.

2.3. Extracció de RNA i retrotranscripció a cDNA

Per tal de validar els resultats obtinguts de l'anàlisi genètic es va intentar determinar si els polimorfismes afectaven els nivells d'expressió gènica per PCR quantitativa en temps real (RT-qPCR). Per això calia obtenir primer cDNA, de manera que es va procedir a extreure RNA a partir del *buffy coat* conservat en RNA Later (Ambion, Life Technologies, USA) que després es va retrotranscriure a cDNA.

Per extreure RNA es va utilitzar el kit comercial RiboPure™-Blood (Ambion, Life Technologies, USA). Està optimitzat per sang total humana i es basa en un protocol d'extracció amb columnes que comença amb una lisi cel·lular, una precipitació àcid-fenol:cloroform i una sèrie de procediments de purificació del RNA i tractament amb DNasa I per eliminar restes de DNA genòmic. El RNA obtingut es va conservar a -80°C en el tampó d'elució proporcionat pel kit fins a la seva utilització.

La retrotranscripció (RT-PCR) es va fer mitjançant el kit de PCR reversa *High Capacity cDNA Reverse Transcription Kit*™ (Ambion, Life Technologies, USA), que utilitza una transcriptasa reversa que retrotranscriu el RNA a cDNA.

2.4. PCR quantitativa en temps real

La PCR quantitativa en temps real (RT-qPCR) és una tècnica que permet amplificar i quantificar a la vegada el producte de transcripció (mRNA) del gen d'interès, per tant permet analitzar el perfil d'expressió d'un gen determinat. És una variant de la PCR que

utilitza com a motlle el cDNA obingut per retrotranscripció del RNA. La quantificació es va fer de forma relativa respecte l'expressió d'un gen d'expressió constitutiva o *housekeeping*, que en el nostre cas va ser el *PPIA* (peptidylprolyl isomerase A). S'utilitzen sondes específiques per cada gen *Taqman*TM Gene Expression marcades amb FAM i una *TaqMan*[®] Universal PCR Master Mix (Applied Biosystems, Life Technologies, USA) que conté els dNTPs i una polimerasa termoestable.

Es va optimitzar la reacció per 20ul en plaques de 96 pous i es va dur a terme en el *ABI PRISM*[®] 7000 Sequence Detection System (Applied Biosystems, Life Technologies, USA) de la Unitat d'Alta Tecnologia (UAT) de l'Institut de Recerca Vall d'Hebron.

La interpretació dels resultats de la qRT-PCR es va fer mitjançant el software *ABI PRISM 7000 SDS version 1.1* (Applied Biosystems, Life Technologies, USA).

2.5. ELISA

La tècnica ELISA, acrònim de *Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay*, és una tècnica que permet quantificar una proteïna determinada en sèrum i/o plasma. En aquest cas, es van utilitzar kits comercials (Cusabio, USA) per determinar si els polimorfismes identificats associats a migranya modulaven la traducció a proteïna comparant nivells plasmàtics de la proteïna en qüestió amb els diferents genotips. Els kits comercials contenen plaques de 96 pous amb l'anticòs primari precotinat i els reactius necessaris per la determinació. Durant la hibridació, la proteïna present a la mostra s'uneix a l'anticòs primari. Seguidament s'incuba amb un anticòs secundari específic conjugat a biotina. La incubació amb HRP (*horseradish peroxidase*) conjugat a avidina permet la detecció mitjançant una reacció colorimètrica en presència del seu substrat. Finalment, s'atura la reacció i es mesura la intensitat del color amb un espectrofotòmetre de plaques a la longitud d'ona recomanada pel fabricant.

2.6. Discriminació al·lèlica *TaqMan*[®]

En la fase de replicació en una nova cohort es va realitzar la determinació de polimorfismes al nostre laboratori mitjançant un protocol de discriminació al·lèlica mitjançant *TaqMan*[®] Pre-designed SNP Genotyping Assay (Applied Biosystems, Life Technologies, USA). Aquestes sondes contenen dos marcadors fluororimètrics (VIC i

FAM), un per cada al·lel. La reacció es basa en la tècnica PCR, de manera que s'amplifica el fragment que conté el polimorfisme d'interès utilitzant com a cebadors les sondes específiques marcades. Els reactius necessaris els aporta la *TaqMan® Universal PCR Master Mix* (Applied Biosystems, Life Technologies, USA), que conté els dNTPs i una polimerasa termoestable.

Es va optimitzar la reacció per un volum de 5ul en plaques de 384 pous, donant l'elevat nombre de determinacions a realitzar. Es va utilitzar la plataforma genòmica *ABI PRISM® 7900HT Sequence Detection System* (Applied Biosystems, Life Technologies, USA) de la Unitat d'Alta Tecnologia (UAT) de l'Institut de Recerca Vall d'Hebron. La interpretació dels resultats de la discriminació al·lèlica es va fer mitjançant el software *ABI PRISM 7900HT SDS version 2.2* (Applied Biosystems, Life Technologies, USA).

2.7. Array de proteïnes *Searchlight®*

L'array de proteïnes és un sistema basat en la tècnica d'ELISA múltiple, mitjançant el qual es poden determinar simultàniament les concentracions de diferents proteïnes en un mateix pou. Aquestes plaques d'ELISA contenen diferents anticossos precotinats en el pou. El procediment és molt similar al d'un ELISA sandvitx convencional. Cada mostra es carrega i s'analitza per duplicat seguint el protocol recomanat pel fabricant amb la diferència que la reacció enzimàtica final és quimioluminiscent enlloc de colorimètrica. El senyal quimioluminiscent es detecta amb una càmera freda (CCD, Pierce, USA). Les imatges obtingudes s'analitzen amb el software *Array Vision v8.0* (Imaging Research, Canadà).

En aquest cas, es va utilitzar utilitzar el *SearchLight Human MMP Array 1* (Aushon, USA) amb 50 ul de plasma a dilució 1:50. Aquesta placa ens permet detectar 9 proteïnes de la nostra mostra al mateix temps: les gelatinases (MMP-2 and MMP-9), les col·lagenases (MMP-1, MMP-8, i MMP-13), les estromelisines (MMP-3 and MMP-10) i els inhibidors endògens de les MMPs, el TIMP-1 i el TIMP-2.

III.3. Anàlisi estadística i programari utilitzat

3.1. Anàlisi de variables clíniques i biomarcadors

Es va realitzar un estudi descriptiu univariant de les dades clíniques mitjançant el software estadístic SPSS v15. Les variables categòriques es van analitzar mitjançant els estadístics *Chi* quadrat i *Fisher*, considerant el nivell de significació quan $p < 0.05$.

En el cas de variables quantitatives contínues es va analitzar primerament la distribució normal de la mostra mitjançant el test *Kolmogorov-Sminov*. Aquest estadístic no paramètric mostra la uniformitat de les dades. Si el resultat és $p < 0.05$, s'ha de refusar la hipòtesi inicial i acceptar la hipòtesi de contrast, determinant així que les mostres no segueixen una distribució normal. Per a l'anàlisi de dades contínues que segueixen una distribució normal es van aplicar els tests paramètrics *T-Student* i *ANOVA* d'un factor amb contrast *Tukey's post-hoc* quan s'analitzaren respecte variables categòriques de dos i tres o més valors, respectivament. Les dades contínues que no segueixen una distribució normal es van analitzar amb tests no paramètrics equivalents, com *U Mann-Whitney* amb variables categòriques de dos valors i *Kruskal-Wallis* per categòriques de tres o més valors.

Finalment, es van realitzar anàlisis multivariants mitjançant regressió logística.

3.2. Anàlisis d'associació genètica

La descripció estadística d'un polimorfisme associat a una malaltia consisteix en estimar la prevalença en la població de cada al·lel i genotip possible, per tant, estimar les freqüències al·lèliques i genotípiques en una mostra de malalts i una de controls (sans). En base a això, es van aplicar els diferents models d'anàlisi genètic: additiu, dominant, recessiu i codominant. Les dades van ser corregides mitjançant la correcció *Bonferroni* per test múltiple.

El **model additiu** es basa en l'anàlisi de la freqüència al·lèlica. Aquest model suposa que cada còpia de l'al·lel incrementa el risc en una quantitat additiva, de manera que l'homozigot (aa ó bb) per un determinat al·lel té el doble de risc que l'heterozigot (ab).

El **model dominant** suposa que una única còpia d'un determinat al·lel és suficient per modificar el risc, i que ser portador de dues còpies té el mateix efecte que tenir-ne una. Per tant, el risc de l'heterozigot (ab), per exemple, és igual que el de l'homozigot per l'al·lel de risc (aa). El **model recessiu**, en canvi, suposa que són necessàries les dues còpies per a modificar el risc, per tant, l'heterozigot (ab) té el mateix risc que l'homozigot per l'al·lel més freqüent (aa). Només l'homozigot recessiu (bb) té increment de risc.

El **model codominant**, en canvi, considera que cada genotip confereix un risc diferent i no additiu. Es compara l'heterozigot (ab) i l'homozigot recessiu (bb) de forma independent respecte l'homozigot més freqüent (aa).

Les anàlisis d'associació genètica del cas-control es van realitzar amb SPSS v.15 mitjançant *Chi quadrat* i *Fisher*, considerant el resultat estadísticament significatiu quan $p < 0.05$.

Per a realitzar les anàlisis d'associació genètica de MC es va utilitzar software específic desenvolupat per treballar amb grans quantitats de dades genètiques, com les obtingudes a partir d'estudis GWAS, ja siguin polimorfismes que havien estat seqüenciats directament o obtinguts posteriorment per protocols d'imputació amb HapMap. Es van utilitzar PLINK v1.07 desenvolupat per Shaun Purcell (Purcell et al., 2007) i SNPTEST v2.2.0 (Marchini et al., 2007). GTOOL¹, un software desenvolupat per Colin Freeman i Jonathan Marchini, es va utilitzar per a la creació i manipulació d'arxius amb dades extretes de fitxers de grans cohorts de GWAS.

3.3. Metaanàlisi

Les dades genètiques de la replicació de l'estudi d'associació a MC amb un conjunt de mostres de Barcelona i un altre de Leiden es van incloure en una metaanàlisi juntament amb una tercera cohort formada per mostres d'un grup de Noruega, col·laboradors també a l'IHGC. Aquesta cohort estava formada per mostres que es van genotipar juntament amb la cohort de replicació de Leiden així com un grup de mostres de les quals es disposava informació de GWAS i que permetia l'anàlisi dels polimorfismes seleccionats. La metaanàlisi es va fer amb el software GWAMA (Mägi i Morris, 2010), dissenyat per aquest tipus d'anàlisi amb dades de GWAS.

¹ Disponible a <http://www.well.ox.ac.uk/~cfreeman/software/gwas/gtool.html>

IV

Resultats

IV.1. Característiques clíniques de la migranya episòdica i crònica en població espanyola

1.1. Descripció de la mostra utilitzada

L'estudi CHROMIG, el disseny del qual s'explica en profunditat al capítol 1 de Metodologia, va aconseguir incloure 1.109 pacients de migranya, tots ells reclutats a l'Hospital Universitari Vall d'Hebron (HUVH). A partir d'una entrevista estructurada es van classificar en ME i MC segons els criteris diagnòstics ICHD-IIR (explicats a 1.1.1 i 2.1.1). Finalment, 855 pacients (77,1%) van ser diagnosticats de ME i 254 (22,9%) de MC, segons els criteris ICHD-IIR (explicats a 1.1.1 i 2.1.1).

La prevalença de MC en aquesta mostra clínica va ser molt superior a la prevalença en la població general, que és d'un 2-3%, però és una dada raonable considerant que la mostra es va reclutar en la consulta monogràfica de Cefalees i que l'HUVH és un centre sanitari i universitari públic de tercer nivell.

L'edat dels pacients dels dos grups no va mostrar diferències significatives, sent l'edat promig i la desviació estàndard del grup ME de $42,85 \pm 12,35$ anys i la del grup MC de $43,34 \pm 11,98$ anys. La figura 13 mostra la distribució d'homes i dones als dos grups. La proporció dona-home va ser de 3,76:1, amb un total de 876 dones (79%) i 233 homes (21%), sense diferències significatives entre ME i MC.

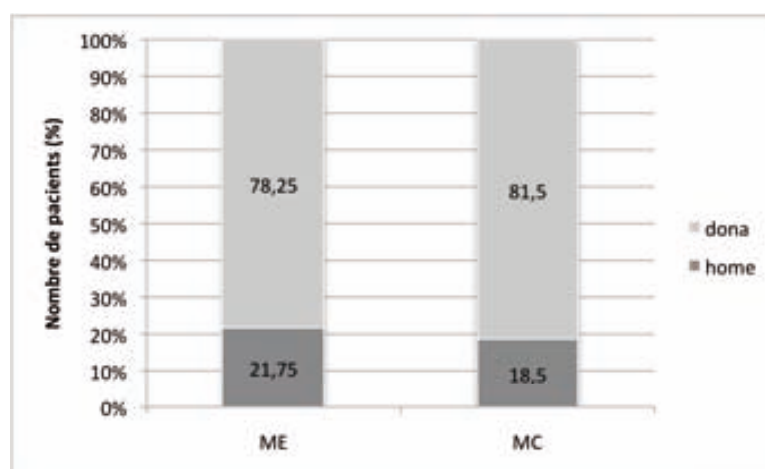


Figura 13. Distribució d'homes i dones segons diagnòstic ME i MC

1.2. Anàlisi descriptiu univariant de les característiques clíniques

L'anàlisi descriptiva i estadística de les freqüències es va fer mitjançant SPSS v15.0. Les taules a continuació mostren les variables clíniques que en l'anàlisi univariant s'associaven amb una $p \leq 0,1$. Malgrat que la significació estadística es va considerar quan $p \leq 0,05$, aquelles variables considerades com a "tendència" es van incloure posteriorment a l'anàlisi multivariant.

Les variables que no seguien una distribució normal es van expressar com a mediana (rang interquartilic). La significació estadística de les diferències entre grups es va determinar mitjançant Chi quadrat (Pearson) o test exacte de Fisher per variables categòriques i T-Student o U-Mann Whitney per variables quantitatives contínues.

1.2.1. Presència d'aura

La presència d'aura en la mostra es va determinar amb el següent criteri:

- MO, quan el pacient reconeixia no haver experimentat aura (visual, sensitiva i/o llenguatge) o l'ha patit en menys d'1/3 dels episodis
- MA, quan el pacient confirmava la presència d'aura (visual, sensitiva i/o llenguatge) en 2/3 del total d'episodis
- MA+MO, quan el pacient reconeixia experimentar aures de qualsevol tipus de forma ocasional, estimant la freqüència de MA en 1/3 del total d'episodis

La figura 14 (pàgina 97) mostra les proporcions de MA, MO i MA+MO en el grup ME i en el MC. S'observa diferència en la proporció de MA+MO en el grup de MC respecte ME (18,5% respecte 8,66%). Les proporcions de MO i MA van ser lleugerament inferior en el grup MC. En absència d'evidències a la literatura que relacionin l'aura *per se* amb la progressió de la malaltia, aquest resultat suggereix que el caràcter crònic de la malaltia tendeix a alterar la manifestació clínica de l'aura. Sí que s'ha descrit prèviament que les característiques de la cefalea canvien durant la progressió, augmentant la freqüència però disminuint la intensitat.

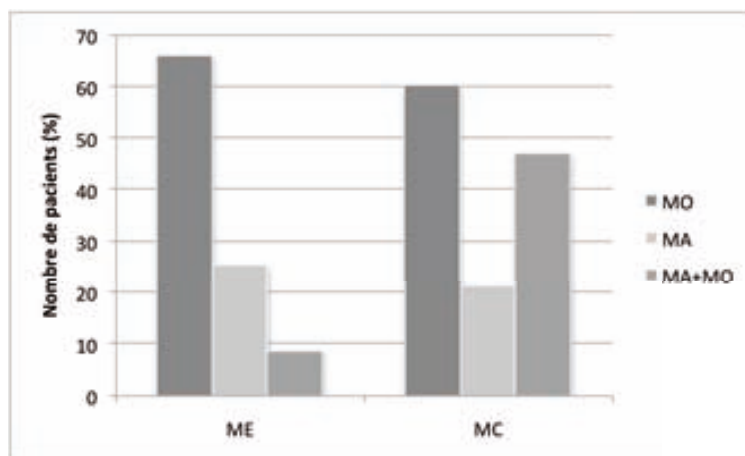


Figura 14. Distribució de MA, MO i MA+MO segons diagnòstic ME i MC

1.2.2. Descriptors sociodemogràfics i comorbiditats

La taula 15 (pàgina 99) mostra l'anàlisi univariant dels descriptors sociodemogràfics i comorbiditats. Segons les dades relacionades amb el **nivell d'estudis**, en el grup MC es pot observar que hi ha major percentatge de pacients "sense estudis" o amb "estudis primaris" i menor percentatge d'estudis "universitaris", reflectint en certa manera la tendència observada a altres estudis poblacionals que suggereixen el baix nivell sociocultural com a factor de risc no modificable per la MC.

No es va observar, però, l'associació de MC a un $IMC \geq 30$, com s'ha descrit en els grans estudis epidemiològics americans. El percentatge de sobrepes ($IMC=25-29,9$) sí que va ser superior en MC que ME (37,8% respecte 27,6%) però el grup que presentava major diferència relativa va ser el de pes inferior al normal ($IMC < 18,5$), que en el grup de MC va ser cinc vegades superior. Una possible explicació d'aquesta dada podria ser l'elevada freqüència de tractament preventiu amb topiramats entre els crònics, que sovint produeix pèrdua de pes com a efectes adversos. La manca d'associació entre obesitat i MC en la nostra mostra podria ser deguda a l'estil de vida mediterrani que habitualment s'acompanya d'una dieta més equilibrada que en països com Amèrica del Nord, on l'obesitat, la hiperlipidèmia i la diabetis són força prevalents en la població.

Totes les comorbiditats que van mostrar diferències estadísticament significatives van ser més freqüents en el grup MC respecte ME (veure taula 15). Podem destacar, per l'elevada prevalença en MC, la freqüència de Síndrome Ansiosa-depressiva que afectava més de la

meitat dels migranyosos crònics de la mostra (56,3%) i la presència d'algun tipus de trastorn de la son (80,7%), especialment l'insomni (56,7%) i el bruxisme (53,8%).

L'**abús de medicaments** es va considerar quan el nombre de comprimits/mes era superior al que estableixen els criteris de CAM de la ICHD-II. Tot i així, l'elevat consum de comprimits no es relacionava sempre amb presència de CAM entesa com a l'empitjorament de la cefalea deguda a l'abús. En els casos en què el diagnòstic va ser CAM es va classificar al pacient segons el tipus de migranya que patia abans de desenvolupar CAM (ME o MC). Les dades mostren que un 20,9% de MC consumien analgèsics per sobre de les recomanacions del neuròleg respecte un 3% de ME.

Finalment, la prevalença d'**al·lodínia** va ser lleugerament inferior a la descrita en altres estudis, que la situen per sobre del 50% en MC i MT. En aquesta mostra, el 45,7% dels pacients amb MC i el 35,3% de ME reconeixien la presència d'al·lodínia.

Taula 15. Anàlisi univariant de descriptors sociodemogràfics i comorbiditats (dades mostrades si $p < 0,1$)

DESCRIPTORS SOCIODEMOGRÀFICS I COMORBILITATS	ME (n=855)	MC (n=254)	P
Nivell estudis			
Sense estudis	0,9%	1,6%	0,017
Primaris	17,2%	24,5%	
Batxillerat	16,5%	18,6%	
Superiors	24,4%	24,5%	
Universitaris	41,1%	30,8%	
Grups IMC			
1 (IMC<16)	1,3%	5,5%	<0,001
2 (IMC=18,5-24,5)	56,8%	48%	
3 (IMC≥25)	27,6%	37,8%	
4 (IMC≥30)	14,3%	8,7%	
Sd. Ansiosa-depressiva	38%	56,3%	<0,001
Vertigen	28,3%	34,6%	0,050
Fibromiàlgia	3,5%	6,7%	0,027
Sd. Fatiga crònica	1,4%	4,7%	0,001
Còlon irritable	7,8%	12,2%	0,032
Endometriosi	3,3%	6,7%	0,028
Presència trastorns son	68,6%	80,7%	<0,001
Disomnies	6,3%	11%	0,012
Insomni	39,6%	56,7%	<0,001
Trastorn psiquiàtric	25,1%	37%	<0,001
Abús medicaments	3%	20,9%	<0,001
Bruxisme	44,6%	53,8%	0,010
Al·lodínia	35,3%	45,7%	0,003
Mareig	28%	38,7%	0,001

IMC, índex de massa corporal. Malalties comòrbides testades com a “absència/presència”.

1.2.3. Descriptors de l'impacte i la discapacitat per la cefalea

En aquest apartat es presenten les dades relacionades amb els instruments de mesura utilitzats per determinar l'impacte (HIT-6) i la discapacitat (MIDAS) produïts per la migranya. També s'inclouen les valoracions del grau d'ansietat, mesurat amb l'escala STAI que permet diferenciar l'estat ansiós (situació present) i el tret ansiós com a característica habitual en l'individu de forma generalitzada. D'altra banda, l'escala de depressió BDI-II va permetre establir el nivell de depressió.

Taula 16. Anàlisi univariant descriptors instruments qualitat de vida en ME i MC (dades mostrades si $p < 0,1$)

INSTRUMENT / GRAU D'AFECTACIÓ	ME (n=855)	MC (n=254)	P
Discapacitat MIDAS			
Nula o mínima	27,7%	15%	<0,001
Lleu	17,9%	7,7%	
Moderada	21,7%	17,5%	
Greu	32,6%	59,8%	
Impacte HIT6			
Poc o cap	7%	4,2%	<0,001
Cert impacte	14,4%	3,8%	
Important	17,1%	7,9%	
Molt sever	61,5%	84,2%	
STAI (estat)			
No ansietat	72,4%	50,2%	<0,001
Lleu a moderada	16%	18,6%	
Moderada a greu	11,6%	31,2%	
STAI (tret)			
No ansietat	64,6%	45,1%	<0,001
Lleu a moderada	17%	17,9%	
Moderada a greu	18,4%	37%	
BDI – II (Depressió)			
Absència	62%	38,6%	<0,001
Lleugera	29,3%	38,6%	
Moderada	8%	16,9%	
Greu	0,8%	5,9%	
EVV (escala verbal dolor)			
2 ("moderat")	2,3%	2%	<0,001
3 ("intens")	17,1%	16,3%	
4 ("fort")	51,5%	34,7%	
5 ("insuportable")	28,6%	47%	

Com es pot observar a les figures 15a i 15b, l'escala MIDAS va indicar que la proporció de MC amb discapacitat greu era molt superior en el grup de crònics (59,8% en MC respecte 32,6% en ME, $p < 0,001$). L'impacte de la migranya va ser predominantment intens en ambdós grups (61,5% en ME i 84,2% en MC, $p < 0,001$), indicant que la migranya habitualment és intensa i té un impacte molt sever en la vida del migranyós, especialment en la MC.

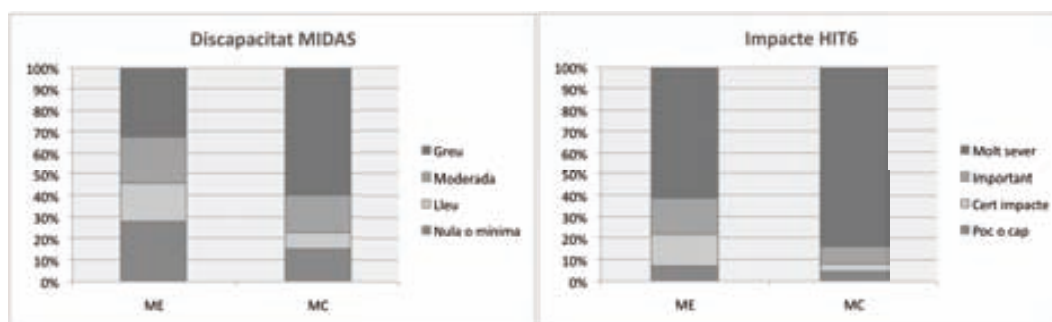


Figura 15. Representació gràfica dels nivells de discapacitat (fig 15a) i impacte (fig 15b) en ME i MC.

L'instrument utilitzat per avaluar l'estat ansiós i el tret ansiós va donar dades aparentment contradictòries amb la presentada a la taula 16 (pàgina 100) sobre la presència/absència d'ansietat i/o depressió. Si bé la variable qualitativa feia referència a la resposta subjectiva del pacient sobre si alguna vegada havia patit aquests trastorns, el qüestionari STAI és un instrument objectiu i validat per determinar el nivell d'ansietat. Com es veu a la figura 16, l'ansietat moderada-greu representa el 31,2% en MC i l'11,6% en ME, sent els percentatges lleugerament superiors quan es tracta de l'ansietat com a "tret" característic (37% en MC i 18,4% en ME). Com s'ha descrit prèviament, la migranya i l'ansietat són comòrbides, però sovint es planteja el dubte de si és causa o conseqüència. Aquestes dades suggereixen que la MC es podria relacionar amb la tendència a ser una persona ansiosa, considerant doncs el tret ansiós com un factor de risc.

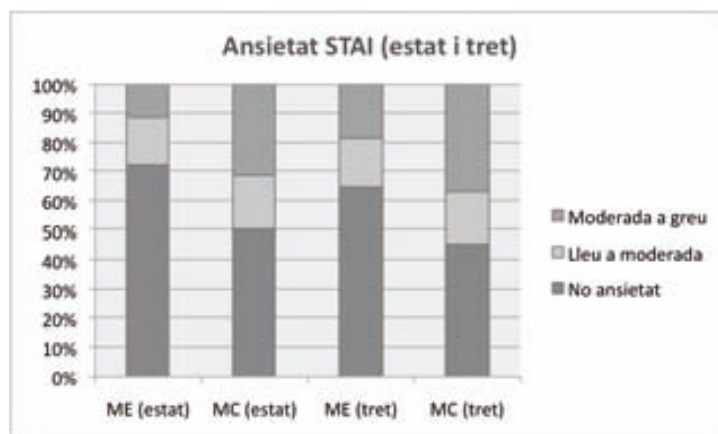


Figura 16. Representació dels nivells d'ansietat (estat i tret) en ME i MC.

D'altra banda, la depressió moderada i greu mesurada amb el qüestionari BDI-II va ser poc freqüent en ME (8% i 0,8%, respectivament), mentre que en la MC va ser lleugerament més freqüent (16,9% i 5,9%), respectivament (figura 17).

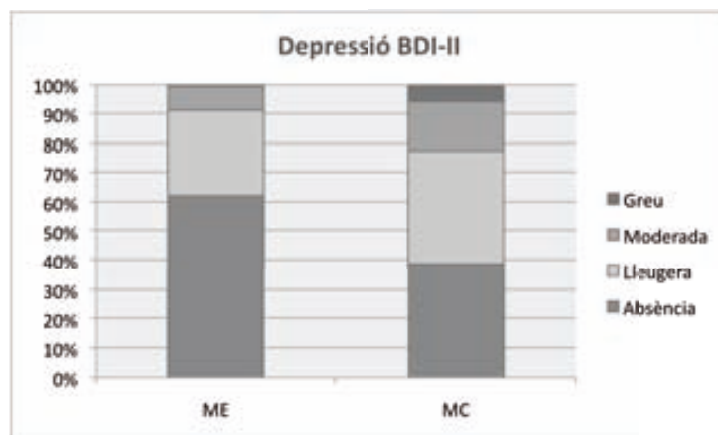


Figura 17. Representació dels nivells de depressió en ME i MC.

La percepció sobre la qualitat de vida en funció de l'estat de salut valorat amb l'instrument SF-36v.2, va donar puntuacions significativament inferiors a totes les dimensions explorades en MC respecte ME (taula 17), destacant que la qualitat de vida global es valorava de mitjana uns 13,5 punts menys (ME 71,3 i MC 57,8).

Taula 17. Descriptiu univariant de les puntuacions globals sobre qualitat de vida en ME i MC

QUALITAT DE VIDA (SF-36v.2) (0-100)	ME (n=855)	MC (n=254)	P
Funció Física	90 (75-100)	80 (65-95)	<0,001
Rol funcional	68,7 (50-81,2)	50 (37,5-68,8)	<0,001
Dolor corporal	51 (41-72)	41 (22-52)	<0,001
Salut general	67 (50-82)	52 (35-67)	<0,001
Vitalitat	56,2 (43,7-75)	50 (31,2-62,5)	<0,001
Funcionalitat social	75 (62,5-100)	62,5 (37,5-75)	<0,001
Rol emocional	100 (75-100)	93,3 (58,3-100)	<0,001
Salut mental	70 (55-85)	60 (45-75)	<0,001
Q.V. global (mediana)	71,3 (61,1-80,2)	57,8 (45,8-69,1)	<0,001
Q.V. Física-Mental (mediana)	80 (67,50-87,5)	70 (55,2-82,5)	<0,001

La taula 18, en canvi, mostra les mateixes dades considerant com a funció alterada o afectada quan la puntuació era inferior a 40 en algun ítem. Aquestes dades reflecteixen més clarament l'impacte de la MC sobre la qualitat de vida del pacient (figura 18).

QUALITAT DE VIDA (Funcions alterades <40)	ME (n=855)	MC (n=254)	P
Funció física	4%	4,7%	0,604
Rol funcional	9,9%	30,6%	<0,001
Dolor corporal	24,8%	49,4%	<0,001
Salut general	12,8%	26,8%	<0,001
Vitalitat	17,7%	41,1%	<0,001
Funcionalitat social	10%	32%	<0,001
Rol emocional	3,5%	8,8%	0,001
Salut mental	6,9%	13,9%	0,001
Q.V. global (mediana)	4,3%	15,5%	<0,001
Q.V. Física-Mental (mediana)	2,3%	3,4%	0,330

Taula 18. Descriptiu univariant de les puntuacions <40 sobre qualitat de vida a ME i MC. S'expressen com a percentatges de pacients ME i MC que veuen alterada alguna de les funcions.

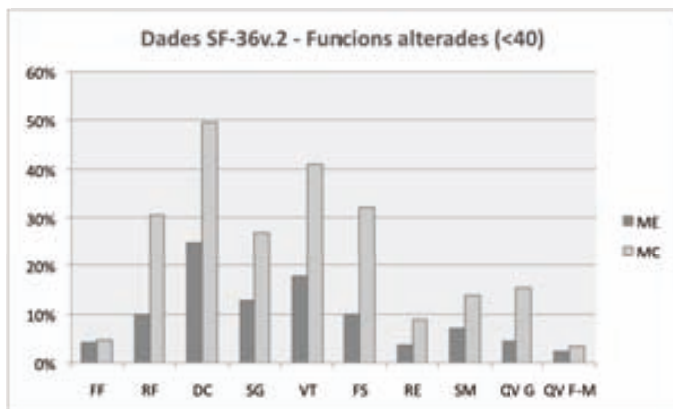


Figura 18. Representació gràfica de les puntuacions <40 sobre qualitat de vida a ME i MC.

FF, funció física; RF, rol funcional; DC, dolor corporal; SG, salut general; VT, vitalitat; FS, funció social; RE, rol emocional; SM, salut mental; QV-G, qualitat de vida global; QV F-M, qualitat de vida global física-mental

Finalment, l'EVV (figura 19) es va aplicar per tal de conèixer la valoració qualitativa subjectiva del pacient per descriure les seves migranyes. L'escala anava de 0 a 5 amb els següents ítems associats, respectivament: sense dolor, lleu, moderat, intens, fort i insuportable. En cap cas els pacients van utilitzar els termes "sense dolor" i "lleu", com és d'esperar donada la naturalesa dolorosa de la migranya. Malgrat que s'ha descrit que la intensitat de la cefalea disminueix a mida que augmenta la freqüència, un 47% dels pacients amb MC respecte un 28,6% de ME van utilitzar el terme "insuportable" per descriure el dolor, suggerint que els MC viuen amb desesperació i gran impacte l'elevada freqüència de migranyes.

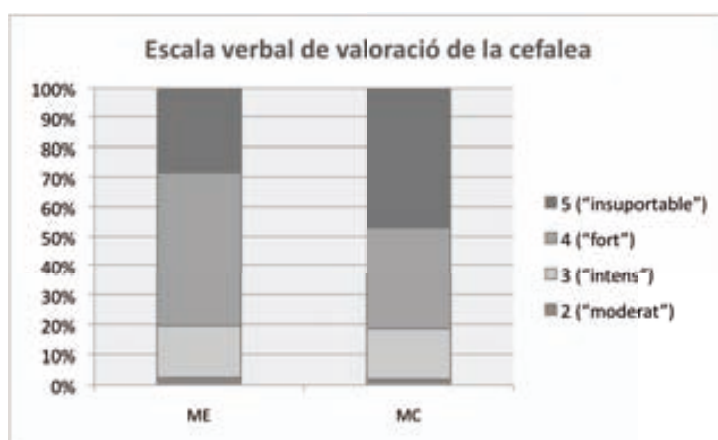


Figura 19. Representació de l'escala verbal de valoració de la cefalea a ME i MC.

1.2.4. Tractament preventiu de la migranya

El tractament preventiu està recomanat a partir de 3 episodis de migranya al mes. Sovint, però, els pacients refusen iniciar el tractament quan la freqüència d'episodis comença a augmentar, ja que majoritàriament són antidepressius i anticomercials amb efectes adversos. L'inici de tractament preventiu abans de la progressió, quan els primers indicis indiquen que existeix el risc, seria beneficiós pels pacients i podria reduir la probabilitat d'acabar desenvolupant MC. En base a aquestes consideracions, es va analitzar la freqüència amb que els pacients de la mostra estaven realitzant tractament preventiu en el moment de la inclusió a l'estudi.

El 72,3% de MC estaven prenent tractament preventiu, dada significativament superior al 53,4% de ME. D'aquests, només el 8,1% de ME i el 18,9% de MC prenen com a preventiu el topiramát, que és el que ha demostrat més eficàcia reduint el nombre de dies dolor/mes però un dels que presenta efectes adversos més sovint (Ferrari et al., 2011). L'amitriptilina va resultar ser força freqüent, tant entre ME i MC, amb un 16,3% i 23,2%, respectivament.

Finalment, l'anàlisi del nombre de comprimits al mes, com era esperable, va ser més elevat en MC, amb un promig de 30 comprimits/mes de qualsevol analgèsic utilitzat pel tractament sintomàtic de la migranya respecte 8 comprimits/mes en ME.

Taula 19. Descriptiu univariant de variables associades al tractament de la migranya a ME i MC.

TRACTAMENT	ME (n=855)	MC (n=254)	P
Tx preventiu (presència)	53,4%	72,3%	<0,001
Tx preventiu – Amitriptilina	16,3%	23,2%	0,011
Tx preventiu - Topiramát	8,1%	18,9%	<0,001
Nº comprimits/mes	8 (4-15)	30 (15-50)	<0,001

Nombre de comprimits/mes expressat com a mediana i rang interquartílic.

1.3. Anàlisi multivariant

Les variables associades en l'anàlisi univariant es van introduir en un model de regressió logística multivariant per identificar quins factors s'associaven independentment amb la MC. Les variables sobre qualitat de vida del qüestionari SF-36v.2 es van incorporar com a dades qualitatives "sí/no" en referència a si presentaven alteració o no, definint alteració com a puntuació inferior a 40 en algun dels ítems valorats.

En realitzar el model de regressió logística, les variables que vàrem trobar associades de forma independent a la migranya crònica varen ser (taula 20, pàgina 105): l'abús de medicació (OR 4,46, $p < 0,001$); nivell alt de discapacitat (MIDAS greu OR, 2,38); estat ansiós (STAI moderat-greu) (OR 2,05, $p < 0,05$); les comorbilitats endometriosis (OR 2,76, $p < 0,05$) i insomni (OR 1,57, $p < 0,05$) i el mareig com a símptoma associat a MC (OR 1,6,

$p < 0,05$). A més, els ítems “vitalitat” i “dolor corporal” alterats en el qüestionari de salut SF-36v.2, amb puntuacions inferiors a 40, s’associa també amb MC (OR 1,57 i OR 1,6, $p < 0,05$, respectivament).

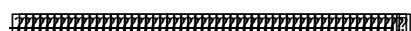
Taula 20. Descriptiu multivariant de variables clíniques associades independentment a MC

Variables	Odds Ratio (I.C.95%)
Cefalea por abús de medicaments	4,464 (2,378-8,377) P<0,001
MIDAS greu	2,377 (1,605-3,520) P<0,001
STAI-Estat moderat-greu	2,054 (1,272-3,314) P=0,003
Endometriosi	2,759 (1,236-6,156) P=0,013
Vitalitat (<40)	1,566 (1,020-2,405) P=0,040
Dolor corporal (<40)	1,605 (1,065-3,520) P=0,024
Insomni	1,570 (1,065-2,313) P=0,023
Mareig	1,607 (1,088-2,376) P=0,017

1.4. Evolució del diagnòstic a un any (seguiment anual amb calendaris)

Com s’ha descrit prèviament a l’apartat Metodologia, l’estudi contemplava el seguiment durnat 1 any dels pacients per observar l’evolució del seu diagnòstic i determinar si s’ha produït remissió, estabilització o progressió. Aquest seguiment es va fer mitjançant un calendari anual que els pacients enviaven trimestralment a la consulta amb el registre de cefalees¹. Se’ls demanava que enregistressin freqüència, intensitat i durada dels atacs, presència d’aura, aspectes relacionats amb la menstruació i l’ús d’anticonceptius, així com el tipus de tractament preventiu i simptomàtic de la crisi de migranya.

L’estudi CHROMIG va incloure un total de 1.109 migranyosos, dels quals es va entregar calendari de seguiment a 1.087 (es van descartar aquells pacients que no manifestaven cap compromís ni voluntat d’entregar-ho). Un 48,3% (n=525) dels pacients que van rebre calendari el van retornar amb les dades sol·licitades. Per les anàlisis es van excloure aquells pacients dels quals es disposava només d’1-2 mesos de seguiment, ja que el diagnòstic es basa en un trimestre. Per tant, l’estudi es va fer a partir de 509 calendaris amb informació de seguiment entre 3 i 12 mesos (figura 20, pàgina 106). S’ha calculat el



¹ Vegeu Annex 7

compliment en ≥ 6 mesos en un 26% del total, que representa el 61% (n=309) dels que van enviar el calendari.

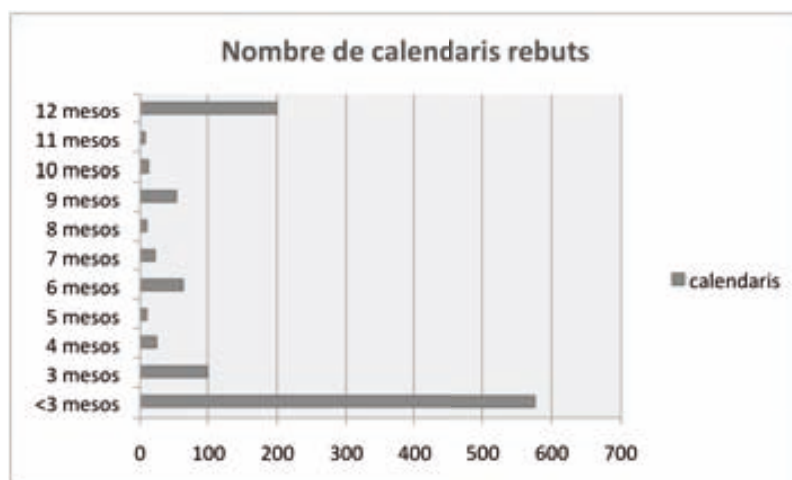


Figura 20. Nombre de calendaris rebuts segons nombre de mesos de seguiment.

Una de les qüestions que volíem respondre era l'evolució del diagnòstic. La migranya és dinàmica, la seva freqüència es pot veure alterada segons l'estil de vida i els factors ambientals que envolten el migranyós. Per tant, és molt probable que un pacient que incloem amb un determinat diagnòstic en base al caràcter episòdic o crònic canviï amb el temps. Per això vàrem revisar el diagnòstic inicial i el diagnòstic final basat en la freqüència d'atacs.

Amb les dades de què disposàvem es va detectar que el 87,23% (n=444) van mantenir el seu diagnòstic inicial, per tant, correspondria als que estan en un període d'estabilització; el 10,81% (n=55) passaren de MC a ME (remissió) i el 1,96% (n=10) passaren de ME a MC (progressió). La taxa de progressió és similar a la descrita en altres sèries.

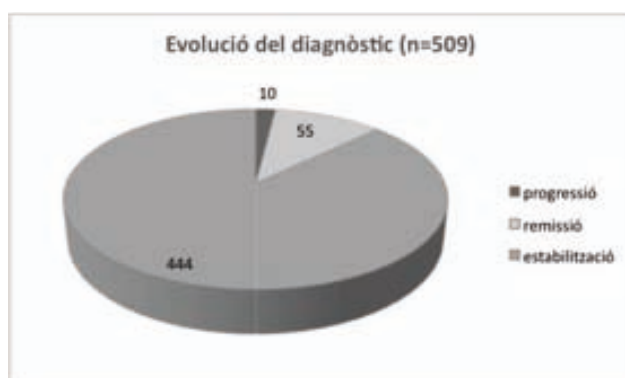


Figura 21. Evolució del diagnòstic de migranya (revisió anual).

IV.2. Caracterització d'endofenotips segons la freqüència d'atacs per identificar factors clínics de progressió

2.1. Descripció d'endofenotip i de la mostra utilitzada

Aquesta part del treball es basa en l'anàlisi d'endofenotips en la mostra reclutada durant l'estudi CHROMIG (capítol 1, bloc Metodologia). Els endofenotips són fenotips intermedis definits com a “marcadors de vulnerabilitat”, per tant, són característiques fenotípiques que es poden associar a susceptibilitat a una determinada malaltia. Considerant la progressió cap a MC com la malaltia en qüestió i entenent que aquesta depèn de l'augment de freqüència d'atacs, els endofenotips que podem estudiar en relació amb la progressió seran aquells subgrups que comparteixin característiques fenotípiques en funció d'alguna mesura de la freqüència de migranyes.

Per aquest motiu, es va assignar un fenotip complementari a cada pacient que ens permetés classificar-ho en funció de la freqüència de migranyes i ens permetés diferenciar la ME i la MC amb un fenotip intermedi que pugui indicar quins pacients estan en risc de progressar a MC. El criteri que es va utilitzar va ser el proposat per Bigal i Lipton, (Bigal i Lipton, 2008), pel qual la ME es pot subdividir en:

- EBF: episòdica de baixa freqüència, quan el pacient pateix entre 0 i 9 dies de dolor migranyós al mes (ambdós inclosos)
- EAF: episòdica d'alta freqüència, quan el pacient pateix entre 10 i 14 dies de dolor migranyós al mes (ambdós inclosos)

La taula 21 recull la subclassificació que es va fer atenent a aquest criteri dels 1.109 pacients inclosos en l'estudi CHROMIG.

Taula 21. Classificació i descripció dels pacients segons grups de freqüència (EBF, EAF i MC)

DESCRIPTORS MOSTRA	EBF (n=648)	EAF (n=207)	MC (n=254)
Edat (mitja \pm SD)	43,02 \pm 12,36	42,32 \pm 12,33	43,34 \pm 11,98
Home, n (%)	156 (24,1%)	30 (14,5%)	47 (21%)
Dona, n (%)	492 (75,9%)	177 (85,5%)	207 (79%)

2.2. Anàlisi univariant de les dades clíniques

L'anàlisi descriptiu i estadístic de les freqüències de les variables es va fer seguint la mateixa metodologia que al capítol 1, mitjançant el software SPSS v15.0.

Considerant el grup EAF com un endofenotip de la MC, l'objectiu d'aquesta anàlisi era observar les diferències entre el grup EBF (n=648) i el grup format per EAF+MC (n=461) per detectar variables que siguin significativament diferents entre aquests grups de comparació i permetin identificar prematurament aquells pacients susceptibles a cronificació de la malaltia.

2.2.1. Presència d'aura

La presència d'aura en la mostra es va determinar segons els mateixos criteris utilitzats en el capítol 1 de Resultats (veure descripció a pàgina 96).

La figura 22 mostra les proporcions de MA, MO i MA+MO en els grups EBF, EAF i MC.

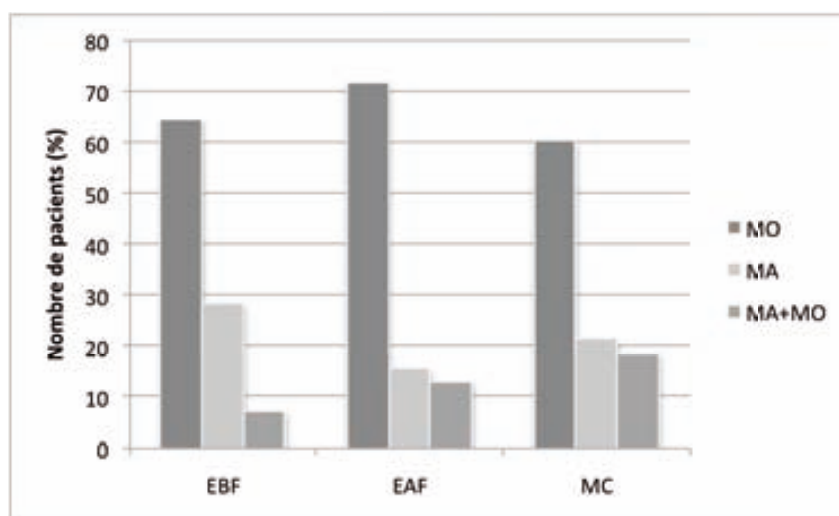


Figura 22. Presència d'aura en la migranya episòdica de baixa/alta freqüència i crònica.

S'observa un decrement de la proporció de MA en el grup de EBF respecte EAF (28, % respecte 15,5%). Si entenem el grup EAF com un subgrup de pacients que comencen a experimentar més dies de dolor al mes però que encara no arriben a complir criteris de MC, aquesta disminució de la MA es podria relacionar amb la presència de més dies de dolor que no compleixen tots els criteris de MO i MA però que es contabilitzen en el criteri de MC (el criteri admet fins a 7 dies de dolor sense complir tots els criteris de migranya).

2.2.2. Descriptors sociodemogràfics i comorbilitats

A continuació es mostren les variables clíniques que en l'anàlisi univariant s'associaven amb una $p \leq 0,1$ i que per tant, van ser incloses posteriorment a l'anàlisi multivariant.

Taula 22. Anàlisi univariant de factors sociodemogràfics i comorbilitats a EBF i EAF+MC.

DESCRIPTORS/COMORBILITATS	EBF (n=648)	EAF+MC (n=461)	P
Sexe (dona)	75,9%	83,3%	0,003
Grupo IMC			
1 (IMC<16)	1,4%	3,5%	0,009
2 (IMC=18,5-24,5)	54,8%	54,9%	
3 (IMC≥25)	28,7%	31,7%	
4 (IMC≥30)	15,1%	10%	
Alcohol	18,1%	13,4%	0,040
Sd. Ansiosa-depressiva	37%	49,5%	<0,001
Vertigen	27,2%	33,2%	0,033
Fibromiàlgia	3,1%	5,9%	0,024
Sd. Fatiga crònica	1,2%	3,5%	0,012
Còlon irritable	7,6%	10,6%	0,077
Presència trastorns son	67,3%	77,2%	<0,001
Disòmnies	5,9%	9,6%	0,020
Insomni	37,2%	52,4%	<0,001
Trastorn psiquiàtric	24,8%	32%	0,009
Abús medicaments	0,6%	16,3%	<0,001
Sd. Cames inquietes	4,3%	7,2%	0,038
Bruxisme	43,5%	51,2%	0,012
Al·lodínia	35,2%	41,2%	0,041
Mareig	26%	36,7%	<0,001

Totes les comorbilitats i variables descriptives que van mostrar diferències estadísticament significatives van ser més freqüents en el grup EAF+MC respecte EBF (veure taula 22), a excepció del consum d'alcohol, on el percentatge de consum regular va ser lleugerament superior en pacients EBF (18,1% respecte 13,4%). Tanmateix, són percentatges baixos de pacients, probablement degut a que l'alcohol és sovint reconegut com a desencadenant habitual per molts migranyosos.

Podem destacar, per l'elevada prevalença en el grup EAF+MC, la freqüència de Síndrome Ansiós-Depressiu (49,5%) d'aquests pacients, l'insomni (52,4%) i el mareig durant la crisi

(36,7%), tots amb $p < 0,001$ respecte el grup de baixa freqüència. Si comparem aquestes dades amb les del grup MC sol, explicades al capítol anterior, veurem que realment la prevalença de Sd. Ansiós-Depressiu, insomni i mareig (56,3%, 56,7% i 38,7%, respectivament) són molt similars a les del grup EAF+MC, suggerint que el grup EAF es comporta de forma similar al MC.

L'abús de medicaments, que es va mesurar com a comprimits/mes per determinar si es sobrepassava el nombre de comprimits màxims recomanats al mes per la ICHD-II, va ser molt més elevat en el grup EAF+MC (16,3%) respecte el grup EBF (0,6%), com s'esperava.

2.2.3. Descriptors de l'impacte i la discapacitat per la cefalea

En aquest apartat es presenten les dades obtingudes amb els instruments de mesura de l'impacte (HIT-6) i la discapacitat (MIDAS) produïts per la migranya. També s'inclouen les valoracions del grau d'ansietat (STAI) i de depressió (BDI-II).

Taula 23. Anàlisi univariant descriptors qualitat de vida a EBF i EAF+MC (dades mostrades si $p < 0,1$).

INSTRUMENT/GRAU D'AFECTACIÓ	EBF (n=648)	EAF+MC (n=461)	P
Discapacitat MIDAS			
Nula o mínima	31,8%	15,2%	<0,001
Lleu	20,6%	8,7%	
Moderada	22,2%	18,7%	
Greu	25,4%	57,4%	
Impacte HIT6			
Poc o cap	9%	2,8%	<0,001
Cert impacte	15,6%	6,9%	
Important	18,5%	10,1%	
Molt sever	56,9%	80,2%	
STAI estat			
No ansietat	75,6%	55,8%	<0,001
Lleu a moderada	15%	18,8%	
Moderada a greu	9,4%	25,5%	
STAI tret			
No ansietat	65,9%	52,1%	<0,001
Lleu a moderada	17,8%	16,4%	
Moderada a greu	16,3%	31,5%	
BDI - II (Depressió)			
Absència	65,5%	44,3%	<0,001
Lleugera	27%	37,5%	
Moderada	7%	14,2%	
Greu	0,5%	4%	
EVV (escala verbal dolor)			
2 ("moderat")	2,6%	1,8%	<0,001
3 ("intens")	17%	16,8%	
4 ("fort")	52,2%	41,4%	
5 ("insuportable")	27,7%	40%	

Com es pot observar a la figura 23a, l'escala MIDAS va indicar que la proporció de MC amb discapacitat greu era el doble en el grup de més freqüència de migranyes (25,4% en EBF respecte 57,40% en EAF+MC, $p<0,001$). L'impacte de la migranya va ser molt sever en ambdós grups però amb major freqüència al grup EAF+MC (56,9% en EBF i 80,2% en EAF+MC, $p<0,001$), indicant que la migranya habitualment és intensa i té un impacte molt sever en la vida del migranyós (figura 23b).

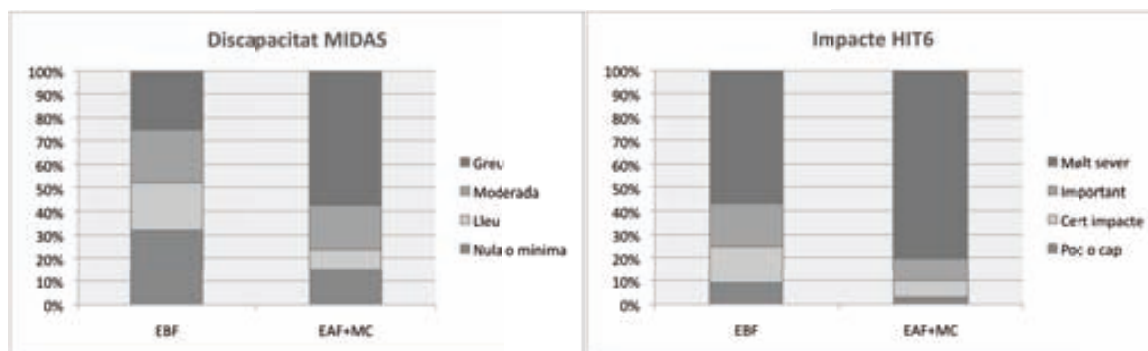


Figura 23. Representació gràfica dels nivells de discapacitat (23a) i impacte (23b) produïts en migranya EBF i EAF+MC.

L'anàlisi de les dades del qüestionari STAI sobre l'estat ansiós i el tret ansiós va donar subtils diferències entre els dos grups. L'ansietat moderada-greu com a "tret" va ser dues vegades més freqüent en el grup EAF+MC (figura 24), amb un 32% dels pacients respecte el 16,2% dels EBF. Per tant, les dades suggereixen que el tret ansiós podria ser factor de risc per cronificació.

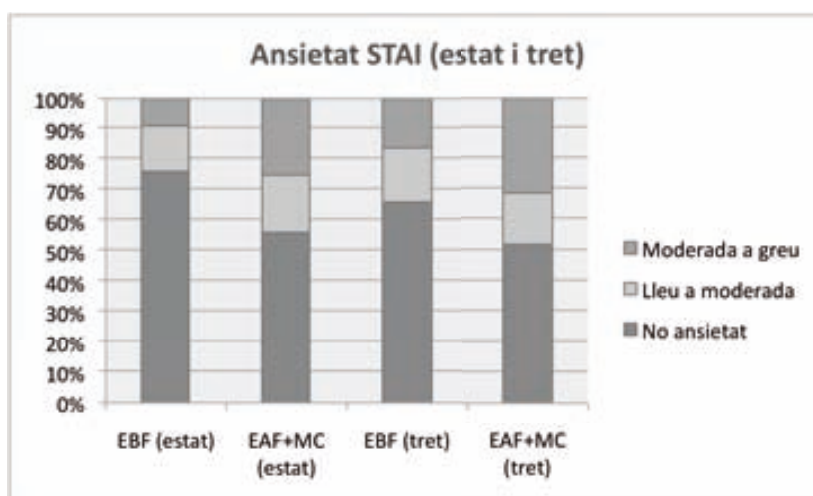


Figura 24. Representació dels nivells d'ansietat (estat i tret) en EBF i EAF+MC.

D'altra banda, la depressió moderada i greu mesurada amb el qüestionari BDI-II va ser poc freqüent en EBF (7% i 0,5%, respectivament), mentre que en la EAF+MC va representar el doble (14% i 4%), respectivament (figura 25).

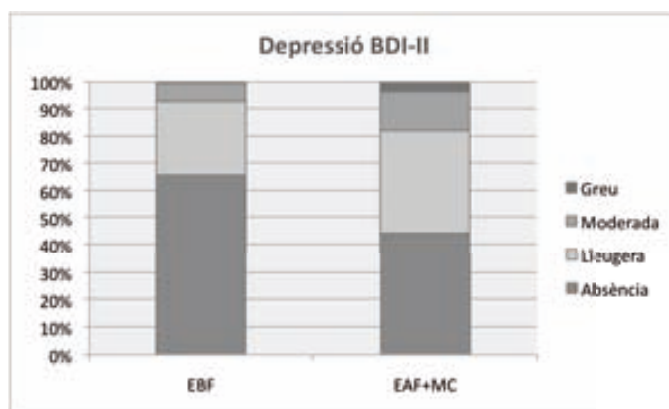


Figura 25. Representació dels nivells de depressió en EBF i EAF+MC.

La percepció sobre la qualitat de vida en funció de l'estat de salut valorat amb l'instrument SF-36v.2, també va donar en aquest cas puntuacions inferiors en el grup EAF+MC respecte el EBF (taula 24).

Taula 24. Descriptiu univariant de les puntuacions globals sobre qualitat de vida a EBF i EAF+MC.

QUALITAT DE VIDA (SF-36v.2) (0-100)	EBF (n=648)	EAF+MC (n=461)	P
Funció Física	90 (75-100)	85 (70-95)	<0,001
Rol funcional	75 (50-87,5)	56,2 (43,7-75)	<0,001
Dolor corporal	61 (41-74)	41 (22-61)	<0,001
Salut general	67 (50-82)	57 (40-72)	<0,001
Vitalitat	62,5 (50-75)	50 (31,2-62,5)	<0,001
Funcionalitat social	75 (62,5-100)	62,5 (50-87,5)	<0,001
Rol emocional	100 (75-100)	83,3 (66,7-100)	<0,001
Salut mental	75 (60-85)	65 (45-80)	<0,001
Q.V. global (mediana)	72,6 (62,5-81,7)	62,3 (49,5-74,2)	<0,001
Q.V. Física-Mental (mediana)	80 (70-87,5)	72,5 (60-82,5)	<0,001

Igual que en el capítol anterior, quan es comparava ME i MC, s'han treballat les dades per a mostrar la funció alterada quan la puntuació era inferior a 40 (taula 25, pàgina 113). Aquestes dades reflecteixen que la qualitat de vida es veu més afectada en tots els ítems valorats en aquells que pateixen més dies de dolor. Alguns dels ítems experimenten un

considerable augment en el grup EAF+MC, com és el cas de la vitalitat, el rol funcional, el dolor corporal i la funcionalitat social. La qualitat de vida global té puntuacions inferiors a 40 en un 2,9% de EBF i fins a un 12,4% de EAF+MC (figura 26).

Taula 25. Descriptiu univariant de les puntuacions globals sobre qualitat de vida a EBF i EAF+MC. S'expressen com a percentatges de pacients ME i MC que veuen alterada alguna de les funcions amb una puntuació <40.

QUALITAT DE VIDA (Funcions alterades <40)	EBF (n=648)	EAF+MC (n=461)	P
Funció física	3,8%	4,7%	0,464
Rol funcional	8,6%	23%	<0,001
Dolor corporal	21,7%	42,4%	<0,001
Salut general	11,9%	21,5%	<0,001
Vitalitat	15,9%	35,1%	<0,001
Funcionalitat social	8,5%	23,9%	<0,001
Rol emocional	3,1%	6,9%	0,005
Salut mental	5,3%	12,9%	<0,001
Q.V. global (mediana)	2,9%	12,4%	<0,001
Q.V. Física-Mental (mediana)	2%	3,3%	0,226

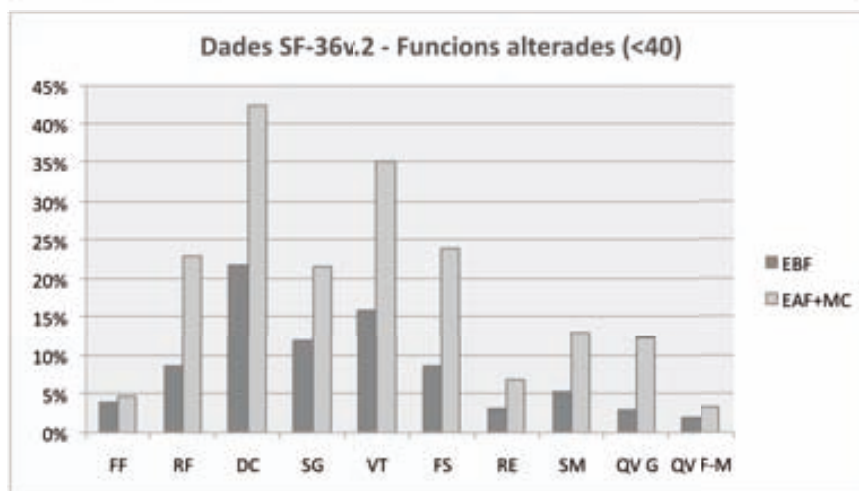


Figura 26. Percentatge de pacients amb funcions <40 sobre qualitat de vida a EBF i EAF+MC. FF, funció física; RF, rol funcional; DC, dolor corporal; SG, salut general, VT, vitalitat; FS, funció social; RE, rol emocional; SM, salut mental; QV-G, qualitat de vida global; QV F-M, qualitat de vida global física-mental.

Finalment, l'EVV (figura 27, pàgina 114) es va aplicar per tal de conèixer la valoració qualitativa subjectiva del pacient per descriure les seves migranyes. En aquest cas, les valoracions subjectives sobre la intensitat del dolor són molt semblants a les obtingudes

quan es va comparar els grups com a ME i MC. En aquest cas, el terme “insuportable” va ser utilitzat pel 27,7% de EBF i el 40% de EAF+MC.

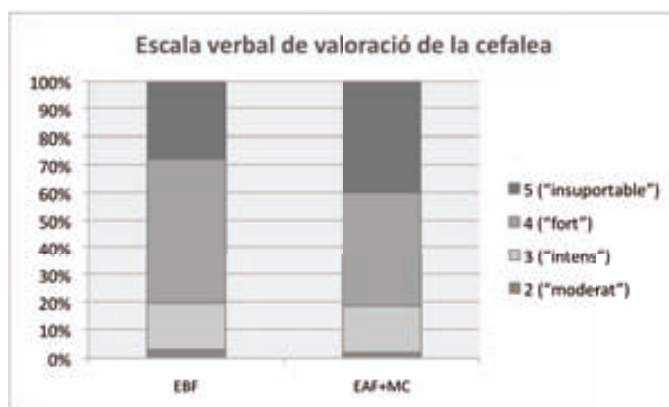


Figura 27. Representació de l'escala verbal de valoració de la cefalea a EBF i EAF+MC.

Totes aquestes dades semblen indicar que els EAF són molt similars fenotípicament als MC, ja que sovint les diferències que s'observaven entre ME (en el qual estaven inclosos tant els EBF com els EAF) i MC es remarquen més quan EAF i MC es consideren un mateix grup.

2.2.4. Tractament de la migranya

Si bé el tractament amb triptans no va donar diferències significatives entre els grups de comparació establerts, en aquesta anàlisi es va detectar el grup EAF+MC prenia AINE com a tractament simptomàtic més freqüentment que els EBF (70,3% respecte 62,8%) (taula 26). Això pot ser indicatiu de l'augment del nombre de dies de dolor amb característiques no migranyoses del grup susceptible a progressió de la malaltia.

Taula 26. Anàlisi univariant de variables sobre tractament a EBF i EAF+MC.

TRACTAMENTS	EBF (n=648)	EAF+MC (n=461)	P
Tx Simptomàtic - AINES	62,8%	70,3%	0,010
Tx preventiu (presència)	50,3%	68,2%	<0,001
Tx preventiu - Amitriptilina	14,7%	22,3%	0,001
Tx preventiu - Topiramát	7,6%	14,8%	<0,001
Tx global-Nº comprimets/mes	6 (3-10)	20 (12-40)	<0,001

Nombre de comprimets expressat com a mediana i rang interquartilic.

El 68,2% de EAF+MC prenia tractament preventiu en el moment de l'inclusió, a diferència del 50,3% de EBF. L'ús de topiramát com a principal preventiu va ser del 7,6% en EBF i el 14,8% de EAF+MC, mentre que l'amitriptilina va resultar ser una mica més freqüent, amb un 14,7% i un 22,3%, respectivament.

Finalment, l'anàlisi del nombre de comprimits al mes, com era esperable, va ser més elevat en EAF+MC, amb una mitjana de 20 comprimits/mes (inferior a 30 comprimits/mes que s'havia observat prèviament a MC) de qualsevol analgèsic utilitzat pel tractament sintomàtic de la migranya. En el grup EAF, el consum d'analgèsics mensuals va ser de 6 de mitjana.

2.3. Anàlisi multivariant

Les variables associades en l'anàlisi univariant es van introduir en un model de regressió logística multivariant per identificar quins factors s'associaven independentment amb el fenotip EAF+MC. Dela mateixa manera que es va fer en l'anàlisi del capítol 1, les variables sobre qualitat de vida del qüestionari SF-36v.2 es van incorporar com a dades qualitatives "si/no" en referència a si presentaven alteració o no, definint alteració com a puntuació inferior a 40 en algun dels ítems valorats.

Taula 27. Anàlisi multivariant per detectar risc de EAF+MC. (I.C, interval de confiança)

Variables	Odds Ratio (I.C, 95%)
Cefalea per abús de medicació	27,480 (8,310-90,872) P<0,001
MIDAS greu	3,009 (2,197-4,123) P<0,001
STAI-Estat moderat-greu	2,370 (1,535-3,660) P<0,001
Impacte HIT6 molt sever	1,667 (1,178-2,359) P=0,004
Vitalitat (<40)	1,566 (1,086-2,258) P=0,016
Mareig	1,432 (1,045-1,961) P=0,026

En realitzar el model de regressió logística, es va observar que l'abús de medicació augmentava el risc de EAF+MC (OR 27,4, $p<0,001$). Cal tenir en compte, però, el significat real d'aquesta dada. Considerant que la variable representa el nombre de

comprimits analgèsics mensuals que prenen els pacients, la interpretació d'aquesta dada suggereix que aquest "abús" és conseqüència de l'augment de dies de dolor que condueix al conseqüent augment en el consum d'analgèsics.

En canvi, les variables associades en l'anàlisi multivariant relacionades amb les escales i qüestionaris de valoració de l'impacte de la migranya sí que podrien ser utilitzades per a determinar la susceptibilitat a EAF+MC: la discapacitat greu valorada amb l'escala MIDAS (OR 3, $p < 0,001$); estat ansiós (STAI moderat-greu) (OR 2,37, $p < 0,001$); impacte HIT6 molt sever (OR 1,67, $p < 0,01$) i la reducció en la vitalitat per sota de 40 al qüestionari SF-36v.2 (OR 1,57, $p < 0,05$). Aquests resultats són força similars als obtinguts en l'anàlisi ME respecte MC descrits al capítol 1, però quan es considera el grup de risc com aquells que pateixen EAF+MC, l'impacte sever valorat amb HIT6 s'associa també de forma independent, suggerint que es podria utilitzar la combinació de MIDAS greu i HIT6 molt sever per a determinar amb més precisió el risc de cronificació.

El mareig com a símptoma associat a EAF+MC també s'associa de forma independent (OR 1,43, $p < 0,05$).

2.4. Evolució del diagnòstic de migranya episòdica de baixa i alta freqüència

Per aprofundir en l'anàlisi de l'evolució del diagnòstic a un any es van utilitzar les dades obtingudes a partir dels calendaris. En aquest cas, l'objectiu va ser determinar el percentatge de pacients que experimentaven:

- Millora: reducció del promig de dies de dolor (passen de EAF a EBF)
- Empitjorament: augment del promig de dies de dolor (passen de EBF a EAF)
- Manteniment: es mantenen amb el seu diagnòstic inicial

Aquest estudi es va fer a partir dels 398 calendaris amb informació de seguiment entre 3 i 12 mesos inicialment diagnosticats com a ME, dels quals el 77,89% (n=310) es van subclassificar com a EBF i 22,11% (n=88) com a EAF.

Tal i com es mostra a la figura 28a, el 2,76% (n=11) van passar d'un diagnòstic d'EBF a EAF si es compara el promig de dolor anual amb el nombre de dies de dolor en el moment de la inclusió. En canvi, el 18,59% (n=74) va experimentar millora. Quan

comparem el diagnòstic inicial amb el diagnòstic final calculat només amb el promig de dies de dolor dels darrers 3 mesos de seguiment (figura 28b), la taxa d'empitjorament augmenta fins al 3,77% (n=15) mentre que la taxa de millora es manté igual.

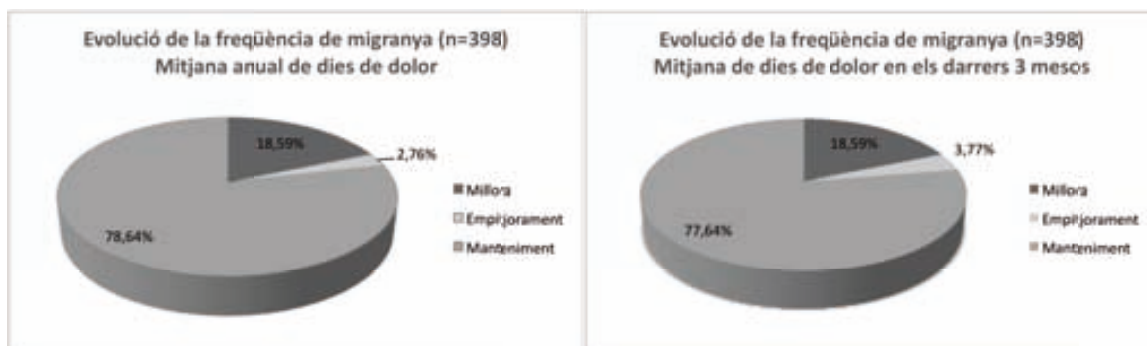


Figura 28. Evolució de la freqüència de migranya anual a EBF, EAF i MC.

La figura 28a mostra la taxa de millora, empitjorament i manteniment segons l'anàlisi de la mitjana anual de dies de dolor. La figura 28b representa les dades segons l'anàlisi dels darrer tres mesos de seguiment dels quals es disposa de cada pacient. Millora: EAF a EBF; empitjorament: EBF a EAF; Manteniment; mateix diagnòstic.

L'elevat percentatge de millora, però, es pot atribuir a diferents factors: cal considerar la intervenció terapèutica duta a terme el dia de la visita inicial (modificació dels tractaments simptomàtics i recomanació de preventius), la sobreestimació subjectiva dels dies de dolor quan els pacients van ser interrogats per l'especialista i una probable manca de rigor inestimable quan apuntaven els dies de dolor al calendari.

La taxa d'empitjorament és força similar a la taxa de cronificació obtinguda en l'anàlisi considerant ME i MC. Per tant, sembla que la mitjana del nombre de dies de dolor i l'augment respecte al nombre inicial sembla una eina útil per determinar quins pacients són més susceptibles a la progressió de la malaltia.

Un altre aspecte a ser considerat en la interpretació d'aquests resultats és la no uniformitat de les dades, és a dir, el nombre de mesos de seguiment no és el mateix en tots els pacients degut a una gran quantitat de dades *missing*, atribuïbles a l'enviament de calendaris sense identificar i l'oblit del pacient d'enviar algun mes. Per aquest motiu, es va realitzar la mateixa anàlisi considerant només aquells pacients amb l'any de seguiment complet (figura 29a, pàgina 118). Aquesta anàlisi va incloure 158 pacients, dels quals el 78,48% (n=124) eren inicialment EBF i el 21,52% (n=34) eren EAF. Aquesta anàlisi més rigorosa amb pacients amb 12 mesos de seguiment va donar taxes similars quan s'analitzava la mitjana anual de dies de dolor però diferències quan es prenen com a

referència pel diagnòstic els darrers 3 mesos de seguiment (figura 29b). En aquest cas, la taxa de millora es va reduir al 6,33% i la d'empitjorament va augmentar al 17,09%.

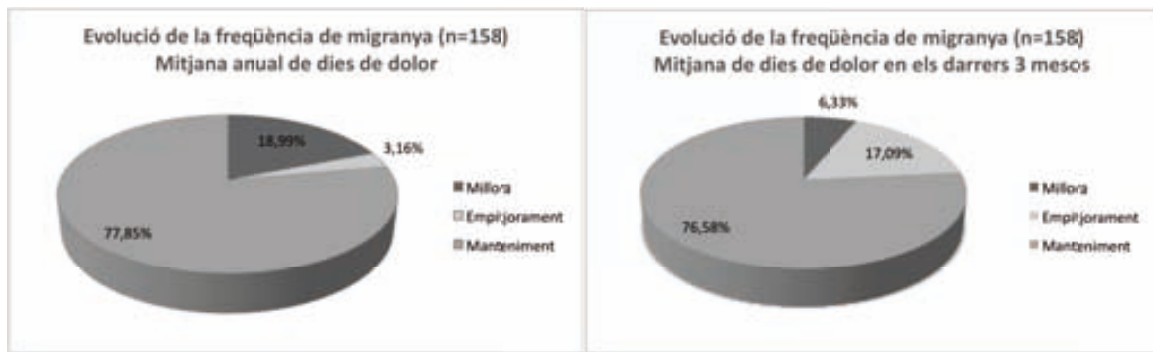


Figura 29. Evolució de la freqüència de migranya anual a EBF, EAF i MC (pacients amb seguiment de 12 mesos) La figura 29a mostra la taxa de millora, empitjorament i manteniment segons l'anàlisi de la mitjana anual de dies de dolor. La figura 29b representa les dades segons l'anàlisi dels darrer tres mesos de seguiment dels quals es disposa de cada pacient. Millora: EAF a EBF; empitjorament: EBF a EAF; Manteniment; mateix diagnòstic.

IV.3. Variants polimòrfiques implicades en la migranya. Estudi cas-control d'associació de gens candidats en població espanyola

3.1. Descripció de la mostra utilitzada i validació del genotipatge

L'anàlisi genètic cas-control es va fer amb DNA corresponent a pacients inclosos a l'estudi CHROMIG i controls, tots caucàsicomediterranis. Es van excloure les mostres corresponents a altres ètnies i els parents de 1r i 2n grau. En el cas dels controls, es va descartar la presència d'antecedents en familiars de 1r grau de migranya o cefalees recurrents.

Es van enviar a genotipar un total de 987 casos i 810 controls en plaques de 96 pouets. La taxa d'èxit de genotipat de SNP va ser del 88,89% (128 de 144 SNP), un percentatge molt similar al 89,60% que té de promig aquesta plataforma genètica amb la tecnologia *Veracode Golden Gate* (Illumina). Els errors acostumen a ser conseqüència de la baixa intensitat dels marcadors o baixa separació entre clústers (grups segons genotip). Quan el clúster no està degudament separat, el genotip assignat a la mostra pot ser incorrecte. En el nostre cas, 4 dels 16 SNP no genotipats van ser deguts a aquest motiu, de manera que van ser també exclosos de l'anàlisi.

Es va validar la coincidència dels duplicats intraplaca i de les mostres incloses com a controls interplaca. Els *missings* (mostres no genotipades) van ser inferiors al 10% en els 128 SNP genotipats satisfactòriament.

Finalment, doncs, es varen incloure en l'anàlisi estadística de les freqüències al·lèliques i genotípiques un total de 876 casos i 801 controls.

3.2. Resultats de l'anàlisi genètica cas-control

Després de comprovar que les freqüències gèniques dels controls estaven en equilibri Hardy-Weinberg, es va realitzar la comparació de les freqüències genotípiques per a poder determinar quins dels nostres polimorfismes s'associaven a migranya segons els models additiu i dominant-recessiu. Dels 128 SNP genotipats satisfactòriament en 876 casos i 801 controls es varen trobar 8 polimorfismes estadísticament associats a migranya (associació nominal) (taules 28 i 29), repartits en un total de 5 gens candidats:

- *CALCRL* i *RAMP1*, gens que codifiquen per les subunitats del receptor de CGRP, en els quals es van trobar 4 polimorfismes en el primer i 1 en el segon que s'associaven amb la malaltia.
- *SPTAN1*, que codifica per l'alfa-fodrina, proteïna del citoesquelet implicada en la regulació del cicle cel·lular i la reparació del DNA.
- *EDNRB*, que codifica pel receptor B de l'endotelina, un pèptid vasoconstrictor implicat en el procés de neuroinflamació.
- *TRPM8*, que codifica per un canal induït pel fred i el mentol que està implicat en l'excitabilitat neuronal induïda per estímuls nocius i baixa temperatura. Està relacionat amb la nocicepció i s'ha trobat relacionat amb migranya en estudis de genome-wide (GWAS).

Cap de les associacions nominals identificades es mantenen significatives després de la correcció per Bonferroni per test múltiple, tot i que no es va disposar d'una nova mostra per a realitzar una replicació.

Taula 28. SNP associats en cas-control segons model additiu.

GEN	SNP	A1	A2	F (A1) Casos	F (A1) Controls	OR (95% IC)	p-VALOR	p-VALOR corregit
TRPM8	rs17862920	T	C	0,08743	0,111	0,767 (0,611-0,964)	0,02275	2,912
CALCRL	rs12621307	A	G	0,5023	0,4526	1,221 (1,065-1,399)	0,004138	0,529664
	rs6719550	C	T	0,3754	0,3323	1,208 (1,048-1,393)	0,009297	1,190016
	rs17464221	T	C	0,3551	0,3071	1,243 (1,075-1,436)	0,003282	0,420096
	rs2063505	G	A	0,2977	0,3422	0,815 (0,704-0,943)	0,005946	0,761088

Taula 29. SNP associats en cas-control segons model dominant-recessiu.

GEN	SNP	A1	A2	Model	F Casos	F Controls	OR (95% IC)	p-VALOR	p-VALOR corregit
EDNRB	rs2329047	T	G	Dominant	532/338	522/262	0,790 (0,676-0,966)	0,02177	2,78656
SPTAN1	rs13299607	T	G	Dominant	258/617	271/521	0,804 (0,654-0,988)	0,0382	4,8896
RAMP1	rs6741923	C	G	Recessiu	98/775	57/735	1,631 (1,159-2,295)	0,004722	0,604416
	rs7578855	C	T	Recessiu	149/726	106/686	1,328 (1,014-1,740)	0,03897	4,98816

A1, al·lel de menor freqüència; F, freqüència, OR, odds-ratio; IC, interval de confiança.

Dominant (DD+Dd respecte dd); Recessiu (DD respecte dd+Dd), on D=A1 i d=A2.

Nivell de significació $p < 0,05$. Correcció p-valor aplicant Bonferroni.

3.3. Resultats de la validació per qRT-PCR dels nivells de transcripció

Es va estudiar l'expressió dels 5 gens en els quals s'havien identificat associacions nominals per qRT-PCR en 58 mostres de pacients (29 ME i 29 MC). Es va utilitzar el cDNA obtingut per retrotranscripció de pacients de migranya i es va analitzar segons el genotip. Es van realitzar subanàlisis segons la presència o absència d'aura i el caràcter episòdic ó crònic de la malaltia, però en cap d'aquests casos es van trobar diferències entre els genotips i els nivells de mRNA.

En el cas de *EDNRB* i de *TRPM8* no es va poder analitzar la relació entre expressió i genotip ja que els límits de detecció del missatger estaven per sota dels límits de detecció mitjançant les sondes utilitzades en aquests assajos.

3.3.1. Resultats amb *SPTAN1*

Es va trobar una associació significativa entre els nivells de mRNA de *SPTAN1* i el genotip GG respecte el TT. A més, es va observar un augment de la transcripció de *SPTAN1* en pacients amb migranya respecte controls sans. No es va trobar associació per diagnòstic (ME respecte MC) ni per absència/presència d'aura (MA i MA+MO respecte MO).

Taula 30. Resultats de la qRT-PCR per *SPTAN1*.

GEN	SNP	Genotip	N	Mediana	IC (percentil 25-75)	p-Valor
SPTAN1	rs13299607	GG	20	1,465	1,104-2,499	0,023
		TG	22	1,509	1,073-1,930	
		TT	14	1,072	0,918-1,575	

p-Valor obtingut mitjançant test no paramètric U-Mann Whitney entre GG vs TT.
Nivell de significació $p < 0,05$.

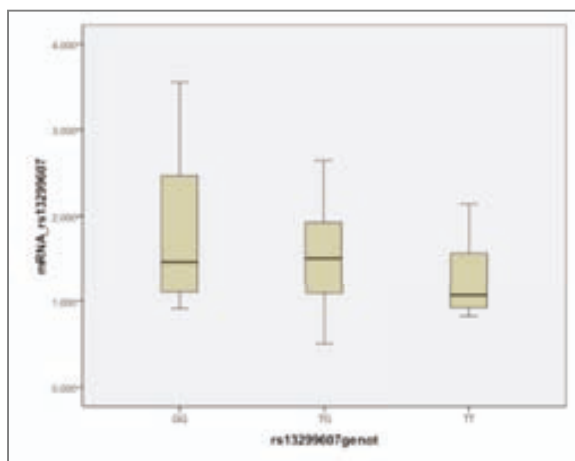


Figura 30. Nivells de transcripció de mRNA de *SPTAN1* segons genotip.

3.3.2. Resultats amb CALCRL

L'anàlisi dels nivells de transcripció de *CALCRL* es va realitzar amb els 4 tagSNP que van mostrar associació en el model additiu: rs12621307 (A vs G), rs6719550 (C vs T), rs17464221 (T vs C) i rs2063505 (G vs A). Només un d'ells, el rs17464221 va mostrar associació significativa entre el genotip i el nivell de mRNA d'aquest gen, suggerint que l'al·lel T s'associa a una menor expressió d'aquesta subunitat del receptor de CGRP. No es va trobar cap associació amb ME i MC.

Taula 31. Resultats de la qRT-PCR per *CALCRL*

GEN	SNP	Genotip	N	Mediana	IC (percentil 25-75)	p-Valor
CALCRL	rs17464221	CC	20	1,264	0,903-2,081	0,03
		TC	12	0,841	0,773-1,370	
		TT	14	0,837	0,629-1,090	

p-Valor obtingut mitjançant test no paramètric U-Mann Whitney entre CC vs TT. Nivell de significació $p < 0,05$.

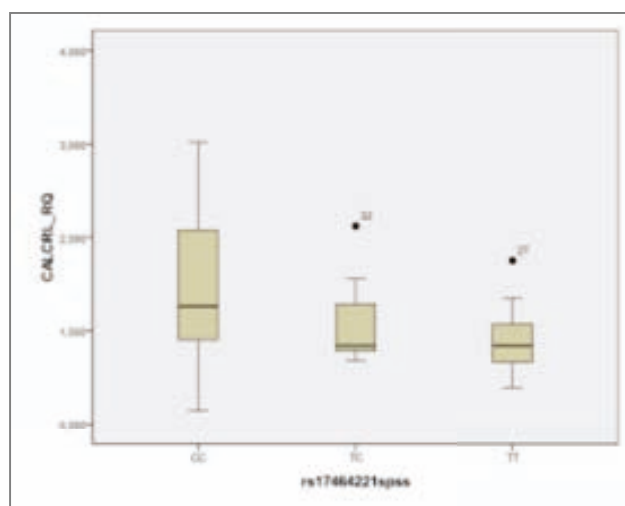


Figura 31. Nivells de transcripció de mRNA de *CALCRL* segons genotip

3.3.3. Resultats amb *RAMP1*

L'anàlisi dels nivells de transcripció de *RAMP1* també es va realitzar amb els 2 tagSNP que van mostrar associació en el model recessiu: rs6741923 (CC vs GG+CG) i rs7578855 (CC vs TT+CT). En cap dels dos casos es va trobar associació entre el genotip i els nivells de mRNA de *RAMP1*.

3.3.4. Resultats amb *EDNRB*

No es va trobar associació significativa entre els genotips de *EDNRB* i els nivells de transcripció del gen en pacients amb migranya. Convé destacar, però, que en 36 de les 58 mostres analitzades els límits de detecció del missatger estaven per sota dels límits de detecció de la sonda utilitzada. Donada la reduïda mida mostral (9GG, 3TG i 8TT) no es pot concloure que la inexistència d'associació entre els nivells de transcripció i el genotip siguin conseqüència de la manca real d'associació. Tampoc es trobaren diferències significatives en les subanàlisis per diagnòstic (ME respecte MC) ni per la presència/absència d'aura (MA i MA+MO respecte MO).

3.3.5. Resultats amb *TRPM8*

En 50/58 mostres analitzades els límits de detecció del missatger estaven per sota dels límits de detecció de la sonda de *TRPM8*. Per tant, no va ser possible realitzar anàlisis estadístiques amb aquests experiments.

3.4. Anàlisi de l'expressió proteica mitjançant ELISA de *CGRP* i el seu receptor

Les anàlisis genètiques havien mostrat per primera vegada associació entre algunes variants polimòrfiques en els gens que codifiquen pel receptor de *CGRP*: el *CALCRL* i el *RAMP1*. Donada la novetat que suposava aquest resultat i la validació amb qRT-PCR de l'associació entre rs17464221TT i una reducció en el nivell de transcripció de *CALCRL*, es va realitzar una prova per detectar mitjançant kits ELISA comercials els nivells proteics plasmàtics de casos de migranya tant de les dues subunitats que conformen el receptor com del propi lligand *CGRP*. Els kits comercials per *CALCRL* i *RAMP1* no van donar resultats conclouents, ja que la sensibilitat dels mateixos no va ser suficient per detectar els nivells plasmàtics de les proteïnes en 58 mostres (38 casos i 20 controls). En aquest cas, la mostra va ser formada íntegrament per dones i aparellades per edat per a garantir una màxima homogeneïtat en la mostra. L'elevada variabilitat entre duplicats i els pocs resultats per sobre del llindar de detecció dels kits van fer que s'hagués de descartar aquests experiments. El kit per detectar nivells de *CGRP* plasmàtics si que va funcionar correctament, malgrat que no va mostrar diferències entre casos i controls.

IV.4. Variants polimòrfiques implicades en la progressió de la migranya

4.1. Descripció de la mostra utilitzada i validació del genotipatge

L'anàlisi genètica per estudiar la implicació de les variants polimòrfiques del nostre panell de candidats amb el risc de progressió a MC es va fer tal i com s'explica a Metodologia a a l'apartat 1.7. La fase de descobriment es va dur a terme a partir d'una cohort mixta de BCN i LDN de 262 MC i 2.879 controls sans (veure figura 32, pàgina 126). Es va construir una base de dades conjunta BCN+LDN on es van incloure els genotips obtinguts mitjançant el genotipatge de la cohort espanyola realitzat al CRG i dades obtingudes per GWAS i tècniques d'imputació de les mostres holandeses prèviament genotipades. Aquells SNP que van mostrar associació amb MC a la cohort BCN+LDN van ser testats en un grup de pacients EAF, assumint que aquest grup es pot considerar grup de risc en probable procés de cronificació (cohorts descrites prèviament a Bloc 3, 1.3, pàgina 79).

Els SNP que van resultar associats a ambdues anàlisis van ser seleccionats per a replicació mitjançant Taqman en 3 noves cohorts recollides a BCN, LDN i NRG que sumaren un total de 442 casos (MC+EAF) i 1.785 controls. Es van comparar les MAF¹ i es va comprovar l'equilibri Hardy-Weinberg en les tres cohorts per garantir que el genotipatge era consistent entre les diferents cohorts. Es va fer, a més, una replicació *in silico* amb dades d'una altre cohort de NRG que disposava de dades de GWAS i imputació (89 MC+EAF i 706 controls), en la qual es va descartar un dels polimorfismes seleccionats per replicació, el rs5742912, amb un elevat percentatge de *missing data*.

La metaanàlisi final (metodologia descrita a Bloc 3, 3.3, pàgina 92) va incloure les 3 cohorts de replicació així com la cohort de replicació *in silico*.

La figura 32 mostra com es va organitzar la fase de descobriment i la replicació de resultats amb el nombre de mostres incloses a cada grup.

¹ MAF: *minor allele frequency* (freqüència de l'al·lel minoritari)

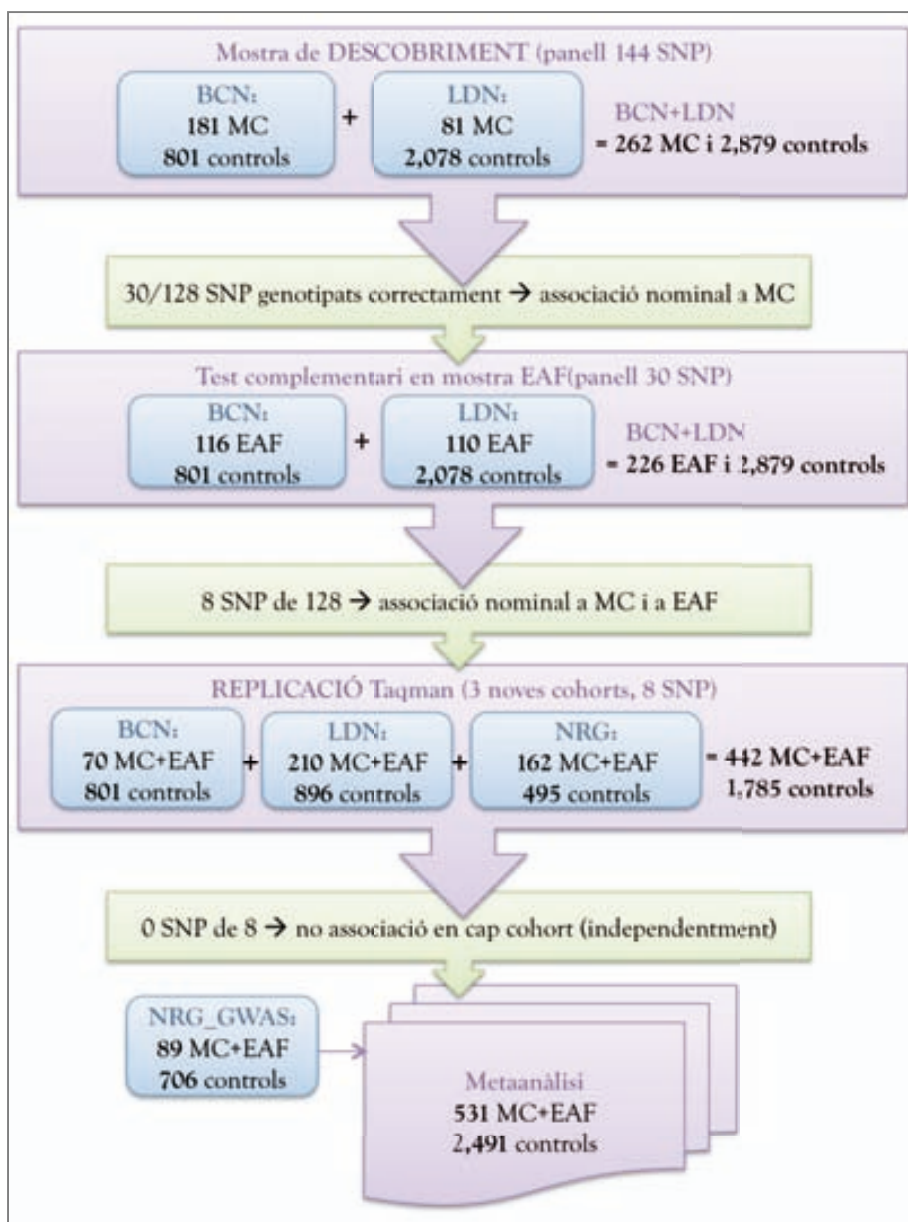


Figura 32. Fases i cohorts de l'estudi genètic d'associació a MC.

4.2. Resultats de la fase de descobriment

Es va trobar associació nominal en 30 dels 128 SNP testats a la cohort BCN+LDN que va incloure 262 casos de MC i 2.879 controls (taula 32, pàgina 127). Tres d'aquests SNP mantenien l'associació després de la correcció per Bonferroni (rs10888075 intergènic, rs2956 a CALCA i rs858745 a CALCRL). L'anàlisi d'aquests 30 SNP associats a MC es va repetir amb la cohort BCN+LDN de pacients EAF (n=226) i el grup de controls. Set SNP del panell de candidats (rs2956 a CALCA, rs302680 a RAMP1, rs858745 a CALCRL, rs3792603 a CLOCK, rs5742912 a SCNN1A, rs2267730 i rs2299908 a ADCYAP1R1) i un SNP del llistat de hits secundaris del GWAS (rs217693 a una regió intergènica) van

mostrar associació també al grup EAF. Aquests 8 SNP van ser seleccionats per a la fase de replicació.

Taula 32. SNP associats a MC i EAF en la cohort de descobriment BCN+LDN

Gen	dbSNP ID (Build 37.3)	A1	A2	MAF MC (n=262)	MAF EAF (n=226)	MAF controls (n=2.879)	Tipus associació (MC/EAF)	MC <i>p</i> -valor	EAF <i>p</i> -valor
<i>GPR30</i>	rs3808353	A	G	0,130	0,140	0,150	Gen/Gen	0,035	0,62
<i>SCN1A</i>	rs5742912	G	A	0,036	0,048	0,035	Add/Add	0,023*	0,003*
<i>COMT</i>	rs4680	G	A	0,517	0,467	0,464	Rec/Rec	0,005	0,67
<i>TNF</i>	rs1800750	A	G	0,048	0,031	0,024	Add/Add	<0,001	0,33
<i>CLOCK</i>	rs3792603	G	A	0,279	0,200	0,246	Rec/Dom	0,006*	0,004*
<i>STX1A</i>	rs941298	A	G	0,262	0,274	0,315	Add/Add	0,014	0,063
<i>EDNRA</i>	rs1801708	A	G	0,331	0,299	0,306	Rec/Rec	0,012	0,94
<i>TRPM8</i>	rs17862920	T	C	0,074	0,088	0,106	Add/Add	0,022	0,236
intergenic	rs10888075	T	G	0,204	0,153	0,146	Add/Add	<0,001‡	0,66
intergenic	rs7753655	G	A	0,250	0,287	0,298	Add/Add	0,015	0,67
intergenic	rs217693	A	G	0,242	0,256	0,209	Dom/Add	0,045*	0,019*
intergenic	rs8060725	A	C	0,311	0,288	0,281	Rec/Rec	0,028	0,75
intergenic	rs1374111	G	A	0,382	0,367	0,334	Dom/Rec	0,014	0,051
<i>CALCA</i>	rs2956	A	T	0,570	0,484	0,435	Add/Add	<0,001**	0,029*
<i>CALCRL</i>	rs858745	T	C	0,213	0,190	0,156	Rec/Rec	<0,001**	0,004*
<i>RAMP1</i>	rs17464221	T	C	0,333	0,317	0,304	Rec/Rec	0,045	0,97
	rs302679	G	T	0,225	0,215	0,199	Rec/Rec	0,029	0,062
	rs302680	G	A	0,179	0,170	0,151	Rec/Rec	0,040*	0,010*
	rs302673	A	G	0,391	0,347	0,344	Dom/Dom	0,008	0,76
	rs6741923	C	G	0,328	0,280	0,280	Rec/Rec	0,003	0,39
	rs7578855	C	T	0,406	0,387	0,377	Rec/Rec	0,014	0,27
	rs6746771	G	A	0,122	0,080	0,085	Add/Add	0,004	0,71
	rs6717794	G	A	0,351	0,291	0,312	Dom/Dom	0,009	0,26
rs4663804	T	C	0,363	0,443	0,412	Dom/Dom	0,007	0,41	
rs895572	C	T	0,502	0,425	0,447	Rec/Rec	0,001	0,70	
rs1080519	T	C	0,256	0,192	0,222	Rec/Rec	0,001	0,65	
<i>ADCYAP1R1</i>	rs17723231	T	C	0,287	0,261	0,251	Add/Add	0,027	0,55
	rs2249714	T	C	0,343	0,314	0,334	Rec/Rec	0,031	0,42
	rs2267730	T	C	0,432	0,430	0,471	Rec/Add	0,043*	0,036*
	rs2299908	A	G	0,232	0,179	0,223	Rec/Dom	0,026*	0,046*

Associació nominal considerada quan $p < 0.05$ i tendència estadística quan $p < 0.1$; A1, al·lel minoritari; A2, al·lel més freqüent; *Significatiu en les dues cohorts de descobriment; ‡*p*-valor corregit < 0.05 .
Models d'anàlisi: Gen (genotípic); Dom (dominant); Rec (recessiu); Add (additiu).

4.3. Resultats de la fase de replicació i metaanàlisi

L'anàlisi individual de les tres cohorts utilitzades per la replicació no va donar cap resultat significatiu. Atès el reduït nombre de mostres a cada grup es va realitzar una metaanàlisi que va incloure les freqüències genotípiques obtingudes mitjançant la replicació Taqman de les noves cohorts de BCN, LDN i NRG però també dades d'un subgrup de pacients de la cohort NRG que havien estat genotipats en un GWAS i dels quals es disposava informació per 7 dels 8 SNP replicats (NRG_GWAS).

La taula 33 mostra el resultat de la metaanàlisi. Cap de les associacions nominals inicials es va mantenir en la metaanàlisi.

Taula 33. Metaanàlisi amb les cohorts BCN, LDN, NRG i NRG_GWAS.

Gen	dbSNP ID (Build 37.3)	Al·lel referència	Al·lel alternatiu	OR (95% CI)	p-valor	Estudis (n)	Mostres (n)	Efectes
<i>SCNN1A</i>	rs5742912	G	A	0,872 (0,672-1,132)	0,31	3	2,108	-/?/-/-
<i>CLOCK</i>	rs3792603	G	A	1,024 (0,911-1,151)	0,69	4	2,943	-/+/-/+
Intergenic	rs217693	G	A	0,911 (0,816-1,018)	0,10	4	2,930	-/-/-/-
<i>CALCA</i>	rs2956	T	A	0,993 (0,895-1,102)	0,90	4	2,967	-/+/-/+
<i>CALCRL</i>	rs858745	T	C	1,129 (0,971-1,313)	0,12	4	2,925	+/+/-/+
<i>RAMP1</i>	rs302680	G	A	1,009 (0,887-1,147)	0,89	4	2,937	+/-/-/+
<i>ADCYAP1R1</i>	rs2267730	T	C	0,956 (0,868-1,052)	0,36	4	2,845	-/+/-/-
	rs2299908	G	A	0,946 (0,843-1,061)	0,34	4	2,871	-/-/-/-

Efecte (+), increment de risc; Efecte (-), disminució del risc; Efecte (?), no calculat (*missing data*) .

IV.5. Patró d'expressió de possibles biomarcadors de la migranya i migranya crònica

5.1. Metal·loproteïnases en la migranya

L'screening mitjançant l'array de MMP *Human Matrix Metalloproteinase Array* (Searchlight) va incloure 79 pacients amb migranya reclutats en l'estudi CHROMIG (37 homes i 42 dones) i 40 controls (20 homes i 20 dones) aparellats per edat i sexe. El diagnòstic de la migranya es va seguint els criteris establerts per la ICHD-IIR per MC. Dels 79 casos, 40 van ser considerats ME i 39 MC. Del total, 39 eren MO i 40 MA. Totes les mostres corresponien a període interictal. El diagnòstic de la migranya es va seguint els criteris establerts per la ICHD-II per MO i MA i ICHD-IIR per MC.

L'edat, expressada com a mediana i rang interquartílic, va ser de $36,65 \pm 9,1$ en casos i $41,13 \pm 12,3$ en controls.

5.1.1. Nivells de MMP en període interictal en migranya respecte controls

Es van detectar nivells plasmàtics elevats en migranyosos respecte controls en la MMP-2, MMP-3 i MMP-13 i els inhibidors TIMP-1 i TIMP-2 (figura 33, taula 34).

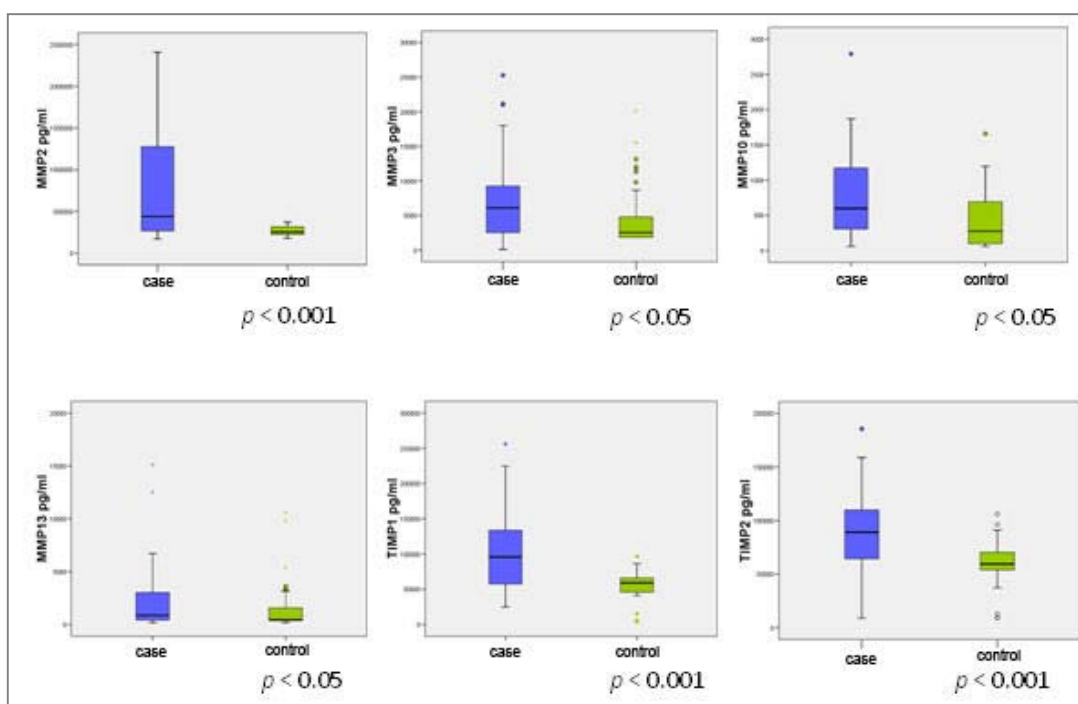


Figura 33. Nivells plasmàtics de MMP i TIMP associades significativament a migranya en estudi cas-control

La següent taula mostra els nivells plasmàtics de cadascuna de les molècules analitzades així com la ràtio entre la MMP-2 i el seu inhibidor TIMP-2 i la MMP-9 i el seu inhibidor TIMP-1.

Taula 34. Nivells plasmàtics de MMP i TIMP en l'estudi cas-control

Molècula	Casos (n = 79)	Controls (n = 40)	p-valor
MMP-1	24,11 (13,77 - 34,89)	21,32 (12,49 - 48,23)	NS
MMP-2	439,31 (264,94 - 1287,16)	253,72 (223,06 - 317,75)	$p < 0,001$
MMP-3	6,10 (2,52 - 9,50)	2,52 (1,84 - 5,34)	$p < 0,05$
MMP-8	13,24 (5,15 - 23,30)	13,24 (1,26 - 45,94)	NS
MMP-9	182,57 (128,81 - 278,17)	219,65 (122,45 - 357,18)	NS
MMP-10	0,60 (0,30 - 1,18)	0,28 (0,10 - 0,70)	$p < 0,05$
MMP-13	0,88 (0,43 - 3,03)	0,43 (0,43 - 1,57)	$p < 0,05$
TIMP-1	95,85 (57,28 - 136,74)	59,17 (45,70 - 66,19)	$p < 0,001$
TIMP-2	89,14 (64,07 - 111,56)	59,41 (53,38 - 71,76)	$p < 0,001$
MMP-2/TIMP-2	9,50 (3,84 - 12,84)	4,15 (3,77 - 4,50)	$p < 0,05$
MMP-9/TIMP-1	2,00 (1,26 - 3,41)	3,48 (2,05 - 6,41)	$p < 0,001$

Nivells plasmàtics expressats en $\mu\text{g} / \text{ml}$ (mediana i rang interquartílic).

Com es pot observar a la figura 34, la ràtio entre MMP-2 i el seu inhibidor augmenta en els casos. Aquest augment es podria explicar per un augment de l'expressió de MMP-2 o una disminució del nivell del seu inhibidor. En aquest cas, observant les dades de la taula 34, veiem que ambdós nivells són superiors als casos respecte als controls, però l'augment relatiu més gran correspon a MMP-2, els nivells de la qual estan duplicats en els casos.

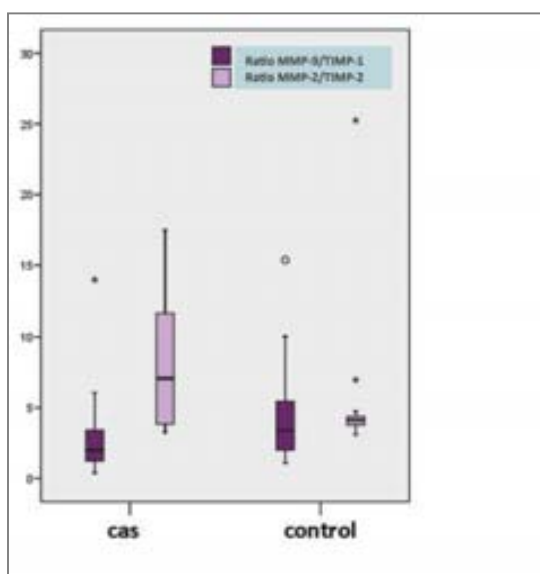


Figura 34. Balanç MMP/TIMP en casos i controls

La ràtio entre MMP-9 i el seu inhibidor, en canvi, és inferior al grup dels casos. Curiosament, a diferència d'altres estudis (Leira et al., 2006; Imamura et al., 2007), la MMP-9 no mostra diferències significatives entre els dos grups, i suggereix que l'augment de la ràtio es deu a l'augment dels nivells de TIMP-1. Mitjançant el model de regressió logística, només el TIMP-1 va romandre associat independentment a migranya (OR 27,55, $p=0,003$).

5.1.2. Nivells de MMP en període interictal segons tipus de migranya

Es van realitzar subanàlisis amb els nivells de MMP i TIMP dels pacients atenent a criteris diagnòstics de MO i MA, d'una banda, i segons el caràcter episòdic o crònic de la malaltia.

La presència d'aura es va associar a nivells més elevats de MMP-3, MMP-10, MMP-13 i TIMP-2, estadísticament significatius (taula 35). La regressió logística, però, va determinar que només la MMP-13 i el TIMP-2 s'associaven independentment a la MA (taula 36).

Taula 35. Nivells plasmàtics de MMP i TIMP en MO i MA

Molècula	MA (n=40)	MO (n=39)	p-valor
MMP-1	29,30 (15,69 – 41,74)	23,02 (10,64 – 28,86)	NS
MMP-2	705,85 (328,55 – 1235,08)	335,65 (243,97 – 1321,72)	NS
MMP-3	6,30 (4,13 – 12,46)	4,91 (2,04 – 8,28)	<i>p</i> < 0,05
MMP-8	14,97 (6,32 – 45,18)	12,44 (2,82 – 15,8)	NS
MMP-9	187,21 (146,23 – 257,11)	162,03 (93,8 – 294,52)	NS
MMP-10	0,69 (0,4 – 1,3)	0,42 (0,17 – 0,98)	<i>p</i> < 0,05
MMP-13	1,99 (0,43 – 3,38)	0,7 (0,43 – 2,25)	<i>p</i> < 0,05
TIMP-1	102,97 (65,57 – 132,03)	84,43 (55,02 – 146,25)	NS
TIMP-2	99,05 (73,98 – 115,5)	74,05 (55,13 – 104,07)	<i>p</i> < 0,05
MMP-2/TIMP-2	9,5 (3,84 – 11,59)	9,29 (3,84 – 14,41)	NS
MMP-9/TIMP-1	2,36 (1,24 – 3,4)	1,87 (1,25 – 3,52)	NS

Nivells plasmàtics expressats en µg / ml (mediana i rang interquartilic).

Taula 36. Model de regressió logística amb MA

Molècula	OR (95%CI)	p-valor
MMP-13	3,29 (1,1 – 9,86)	<i>p</i> < 0,05
TIMP-2	3,30 (1,1 – 9,89)	<i>p</i> < 0,05

No es registraren, en canvi, diferències entre els ME i MC (taula 37).

Taula 37. Nivells plasmàtics de MMP i TIMP en ME i MC

Molècula	ME (n=40)	MC (n=39)	p-valor
MMP-1	21,26 (10,64 – 35,03)	26,79 (16,52 – 34,53)	NS
MMP-2	673,61 (262,33 – 1264,74)	439,31 (265,63 – 1340,36)	NS
MMP-3	5,744 (2,52 – 9,32)	6,36 (3,63 – 9,55)	NS
MMP-8	13,24 (5,55 – 24,9)	12,17 (4,02 – 22,86)	NS
MMP-9	179,73 (131,52 – 274,7)	185,42 (126,34 – 303,29)	NS
MMP-10	0,62 (0,28 – 1,22)	0,54 (0,35 – 0,89)	NS
MMP-13	0,88 (0,43 – 3,16)	0,87 (0,43 – 3,03)	NS
TIMP-1	102,72 (58,06 – 146,11)	87,18 (57,09 – 132,74)	NS
TIMP-2	89,96 (65,01 – 110,9)	86,88 (62,89 – 113,16)	NS
MMP-2/TIMP-2	9,50 (3,84 – 12,84)	10,42 (3,86 – 14,11)	NS
MMP-9/TIMP-1	1,94 (1,47 – 3,31)	2,28 (1,09 – 4,07)	NS

Nivells plasmàtics expressats en µg / ml (mediana i rang interquartilic).

5.1.3. Perfil d'expressió temporal de MMP en l'atac de migranya

Es va analitzar el perfil temporal d'expressió de les MMP i TIMP mitjançant l'array *Human Matrix Metalloproteinase Array* (Searchlight) en 4 pacients durant un atac de MO. Cap dels 4 pacients estudiats va tractar farmacològicament la crisi ni estaven seguint tractament profilàctic per la migranya ni analgèsic diàriament per altres motius. Els pacients, identificats com a A, B, C i D van sotmetre's a una extracció de sang a l'inici del dolor (dins d'un període màxim de 6 hores), a les 24 h i a les 72 h, independentment de si el dolor havia remès. A més, es va obtenir una mostra adicional considerada "basal" durant el període intercrític. A i C eren dones mentre que B i D eren homes, tots d'edats compreses entre els 35 i 45 anys.

La reduïda mida mostral no va permetre realitzar anàlisis estadístiques però es van representar gràficament els perfils d'expressió amb l'objectiu d'identificar coincidències en el patró d'expressió.

Les mostres que en ser analitzades mostraren un coeficient de variació $\geq 30\%$ van ser descartades. Es van obtenir resultats analitzables en els 4 casos per la MMP-1, MMP-3, MMP-13 i TIMP-1, i en 2 pacients per la MMP-9. La figura 35 mostra els perfils obtinguts per cada pacient i cada molècula seguint l'ordre "basal, inici dolor, 24 h i 72 h".

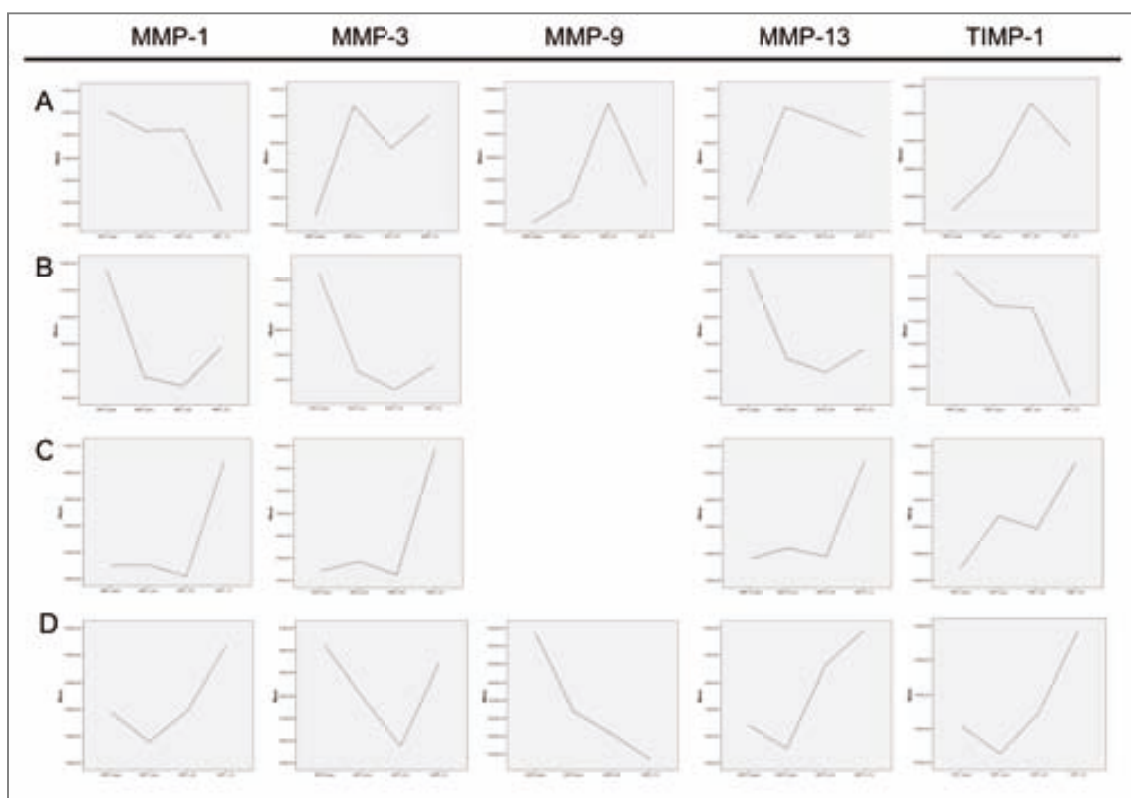


Figura 35. Representació gràfica dels perfils d'expressió de MMP i TIMP durant la crisi de migranya.

Com es pot observar en aquesta figura, hi ha una gran variabilitat entre els 4 pacients quan es mira verticalment els perfils d'expressió per a cada molècula, sense que permeti extreure'n conclusions sobre quin és el comportament del nivell plasmàtic en cada temps analitzat. En canvi, si observem els perfils horitzontalment, és a dir, els diferents perfils de cada pacient per a totes les molècules de què disposem dades, sembla que hi ha una tendència a repetir el patró, i suggereix que potser el nivell plasmàtic de les diferents molècules està més relacionat amb les característiques particulars de cada pacient i d'aquell episodi en concret.

En qualsevol cas, la dificultat per obtenir aquestes mostres seriades en el temps i la gran variabilitat obtinguda en aquesta mostra tan reduïda, no permeten concloure cap tipus de perfil temporal d'expressió. Caldria una mostra molt més àmplia i homogènia per tal de realitzar aquest tipus d'estudis.

5.2. Nivells plasmàtics de CGRP

5.2.1. CGRP en la migranya episòdica i crònica

Els nivells plasmàtics de CGRP de 20 casos en període interictal i 20 controls (totes dones, aparellades per edat) es van mesurar mitjançant un kit ELISA comercial (Cusabio, USA) amb plasma diluït 1:2 i seguint les instruccions del fabricant. Es van fer duplicats i controls interplaca, i es van eliminar de l'anàlisi les mostres que presentaren un coeficient de variació de l'absorbància $\geq 30\%$ entre duplicats així com les mostres amb concentració inferior al llindar de detecció del kit.

La quantificació de CGRP en període intercrític no va donar diferències significatives entre migranya i controls ni segons el diagnòstic de ME i MC. Els nivells de CGRP són comparables entre casos i controls durant els períodes lliures de dolor o intercrítics.

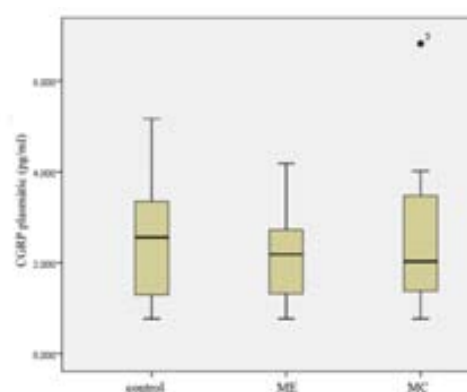


Figura 36. Nivells plasmàtics de CGRP en casos i controls

Taula 38. Nivells plasmàtics de CGRP en casos i controls

Grup	N	Mediana (rang interquartilic)	p-valor
ME	11	2,186 (1,159 - 2,984)	NS
MC	8	2,027 (1,074 - 3,746)	
Controls	17	2,561 (1,283-3,675)	

5.2.2. Nivells de CGRP en període interictal i durant l'atac

Es van analitzar també el nivell plasmàtic de CGRP de 12 pacients dels quals disposàvem de mostra interictal i una mostra corresponent a un dia amb MO, obtinguda en un període que anava des de les 6 a les 24h però sense tractament sintomàtic de cap tipus. Es va utilitzar el mateix ELISA comercial i els mateixos criteris de validació de duplicats que en el punt anterior.

No es van trobar diferències estadísticament significatives quan es va comparar el nivell plasmàtic de CGRP del període interictal i de la crisi, malgrat que en la figura 37 amb els valors individuals dels pacients es pot observar que, a excepció dels pacients P1 i P6, en tots els casos el nivell de CGRP circulant en la mostra corresponent a l'atac és lleugerament superior. No obstant això, es pot observar una gran variabilitat interindividual que dificulta la interpretació de les dades amb una mida mostral tan reduïda.

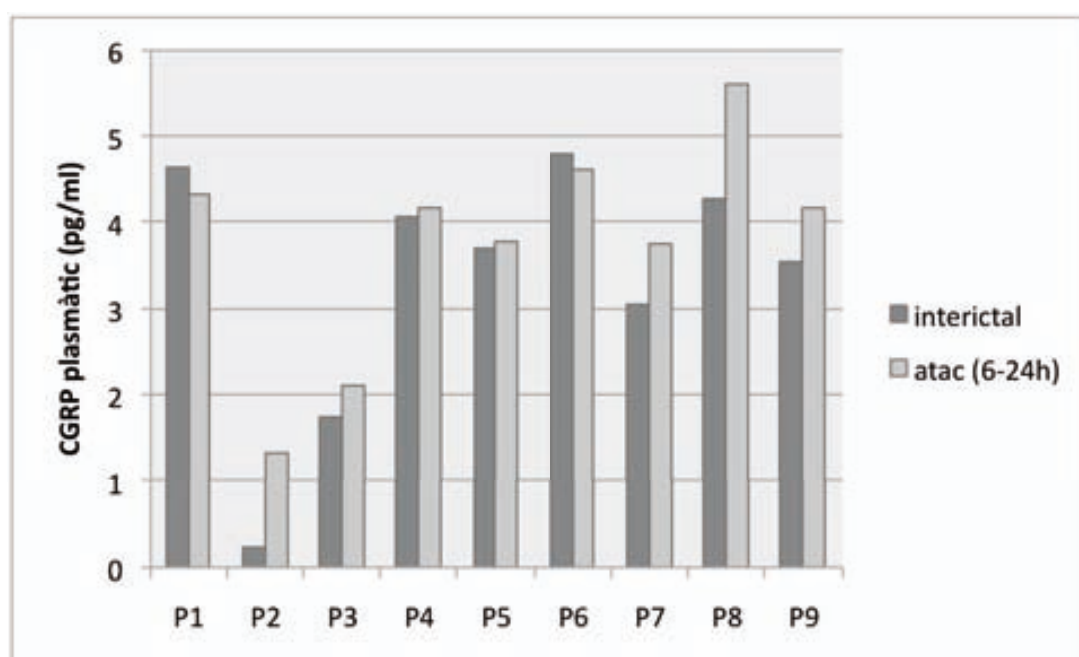


Figura 37. Nivells plasmàtic de CGRP interictals i durant un atac de migranya sense aura.

V

Discussió

Discussió

L'objectiu general d'aquesta tesi era aprofundir en el coneixement dels factors que poden modular la predisposició d'un individu a patir migranya i a la seva progressió. Els resultats obtinguts contribueixen a un millor coneixement de la malaltia i dels factors que afavoreixen la seva progressió i plantegen nous dubtes que la investigació biomèdica encara haurà de resoldre en el futur.

La MC és extremament discapacitant i complicada de gestionar a les consultes de Neurologia. Sovint els pacients crònics no responen als tractaments profilàctics estàndards i presenten una sèrie de malalties comòrbides que compliquen el tractament. Molt probablement, la identificació prematura d'aquells pacients que progressaran a MC milloraria el pronòstic i reduiria l'impacte d'aquesta malaltia en la vida del propi pacient i a nivell socioeconòmic. Per tant, resulta rellevant i necessari identificar marcadors associats a la progressió.

Com tota recerca experimental, aquest treball proposa unes conclusions que s'han de considerar tenint en compte tots els factors limitants inherents al treball. La principal dificultat per estudiar la MC rau en el caràcter dinàmic del propi diagnòstic, essent aquest variable en molts casos al llarg dels anys d'evolució de la malaltia. La migranya és una malaltia que comença en la infància i que és present tota la vida, malgrat que la freqüència i la intensitat dels episodis pot variar en les diferents etapes. Una altra dificultat gens menyspreable és el criteri diagnòstic (IHS 2004, IHS 2006) que s'utilitza per classificar un pacient com a migranyós crònic, que determina en ≥ 15 el nombre de dies amb cefalea, dels quals ≥ 8 dies han de ser dies de cefalea pròpiament migranyosa, durant al menys 3 mesos consecutius. La MC es va descriure en la Classificació Internacional de la Cefalea per primera vegada al 2004, i els criteris diagnòstics per aquest tipus de pacients es van revisar al 2006 perquè generaven confusió i no acabaven d'identificar correctament aquest grup de pacients més afectats per la migranya que els neuròlegs havien observat feia temps a la consulta. En el moment d'escriure aquesta tesi s'ha fet una nova revisió dels criteris que es publicaran properament.

La progressió a MC no té lloc de forma sobtada, encara que hi ha pacients que presenten una freqüència molt elevada des de l'inici, sinó que consisteix en un augment progressiu

de la freqüència d'atacs que s'acompanya de canvis funcionals, fisiològics i estructurals en el cervell migranyós. Per aquest motiu, alguns autors han proposat la caracterització d'un grup de pacients de fenotip intermedi no contemplat, però, a cap classificació diagnòstica de la cefalea. L'EAF o migranya episòdica d'alta freqüència, doncs, es proposa com el fenotip intermedi més susceptible a progressió cap a MC, i fa referència a aquells pacients que no compleixen criteris de MC però que tenen entre 10 i 14 dies de dolor migranyós al mes i que sovint presenten característiques clíniques i de discapacitat molt semblants a la MC.

En aquest sentit, els resultats obtinguts en la nostra sèrie confirmen que la EAF és molt similar a la MC, i suggereixen que s'hauria de considerar que la progressió de la malaltia i l'empitjorament dràstic reflectit en l'augment de la discapacitat i la reducció en la qualitat de vida, així com en la presència de malalties comòrbides a la MC, comença quan els pacients pateixen 10 o més dies de migranya al mes.

Característiques clíniques associades a MC i EAF

Majoritàriament, els grans estudis epidemiològics de la migranya són de base poblacional i la classificació dels pacients es basa en la informació recollida a partir de qüestionaris i enquestes. Per aquest motiu, algunes de les dades epidemiològiques existents a la literatura poden no concordar amb les obtingudes en el nostre estudi.

En la nostra sèrie es va fer un esforç considerable per a sistematitzar el fenotipatge i classificar els pacients després d'un coneixement exhaustiu de l'evolució de la seva malaltia i una detallada anamnesi. La majoria dels pacients que complien el criteri de MC havien pres diferents tractaments profilàctics durant períodes llargs amb baixa eficàcia. Això reafirma que, malgrat que es tracta d'una sèrie clínica on la MC està sobrerrepresentada segons la taxa de prevalença poblacional, no està sobreestimada i es correspon realment al fenotip crònic d'aquesta malaltia, observació corroborada també per les taxes de progressió i remissió determinades a partir del seguiment anual de l'evolució del diagnòstic.

La nostra sèrie és l'única sèrie clínica de migranya de més de 1.000 pacients reclutada a Espanya fins a l'actualitat. Els resultats obtinguts demostren que està ben caracteritzada clínicament. L'estudi descriptiu de les característiques clíniques i factors de risc associats a la migranya episòdica i crònica confirma que existeixen diferències significatives entre ambdues però posa de manifest, a la vegada, la complexitat que suposa estudiar aquestes diferències quan el criteri diagnòstic es basa en un criteri fixe i arbitrari de nombre de dies de dolor, observació que també es desprèn dels resultats del segon treball amb endofenotips, els resultats del qual suggereixen que els EAF són molt similars als MC.

La mostra analitzada va consistir en 1.109 migranyosos dels quals el 22,9% van ser diagnosticats com a crònics, un percentatge molt superior al 2% en què s'estima la prevalença de la MC. No obstant això, aquesta sobrerepresentació de la MC era esperable tenint en compte que la sèrie es va reclutar en una consulta monogràfica de cefalees d'un centre sanitari i universitari públic de tercer nivell. El 71% dels pacients considerats com a ME es va subclassificar per a l'anàlisi d'endofenotips segons el nombre de dies de dolor en migranya episòdica de baixa o alta freqüència, amb un 75,8% de EBF i un 24,2% de EAF. Tal i com descriuen els estudis epidemiològics, la proporció de dones i homes afectats de migranya en edat adulta va ser de 3:1 i la mitjana d'edat de 43 anys, sense diferències entre ME i MC. La proporció de MA en el conjunt total de pacients va ser del 25%, similar a la descrita en altres sèries (Stovner et al., 2006), però es van observar diferències en la proporció de MA+MO en el grup de MC respecte ME. En absència d'evidències a la literatura que relacionin l'aura *per se* amb la progressió de la malaltia, aquesta dada suggereix que la cronificació de la malaltia tendeix a alterar la manifestació clínica de la simptomatologia que acompanya la migranya i que fa reduir el nombre d'atacs que van precedits d'aura.

De les comorbilitats associades típicament a MC, els nostres resultats reflecteixen el tret ansiós que caracteritza aquests pacients, les principals comorbilitats i els principals factors de risc (taula 7, pàgina 25). D'entre els factors de risc modificables, vam trobar discrepàncies en la literatura en relació amb l'obesitat, indicant que l'IMC \geq 30 no és un factor de risc en la població espanyola. Contràriament, es va observar que la proporció de migranyosos crònics amb IMC $<$ 18,5 era cinc vegades superior a la de migranyosos episòdics. Aquesta dada podria ser conseqüència de l'elevada freqüència de tractament

preventiu amb topiramata entre els crònics de la sèrie, ja que sovint produeix pèrdua de pes com a efecte advers. La manca d'associació entre l'obesitat i la MC podria ser deguda, a més, a l'estil de vida mediterrani que habitualment s'acompanya d'una dieta més equilibrada que la de països com Amèrica del Nord, on l'obesitat, la hiperlipidèmia i la diabetis són força prevalents en la població. Es va comprovar, també, que la discapacitat greu és un indicador de risc a MC, però a més, tant la discapacitat greu mesurada amb la MIDAS com l'impacte sever mesurat amb la HIT-6 incrementaven el risc de EAF+MC. Per tant, aquests instruments corroboren l'impacte en la qualitat de vida d'aquests pacients i s'haurien de tenir en compte en la valoració de pacients susceptibles a MC. Quasi totes les associacions descrites a MC en la nostra sèrie es mantingueren associades quan es va considerar conjuntament l'endofenotip EAF i la MC, augmentant fins i tot la diferència respecte la EBF.

Globalment, els resultats obtinguts garanteixen la qualitat del fenotipatge i indiquen que el migranyós crònic està, en trets generals, més malalt i més discapacitat a mida que augmenta la freqüència de migranyes i que les característiques clíniques dels migranyosos són similars a la de pacients amb MC a partir de 10 dies de migranya al mes.

Factors genètics de susceptibilitat a migranya i a la seva progressió

Els factors de susceptibilitat genètica es consideren factors de risc no modificables, però el seu estudi resulta especialment rellevant quan s'aplica al diagnòstic primerenc de la MC o amb l'objectiu de fer una estimació precisa del risc que permeti prendre decisions terapèutiques per combatre la progressió.

En general, els estudis de susceptibilitat a malalties multifactorials i genèticament complexes com la migranya requereixen que els pacients estiguin ben fenotipats per tal de trobar associacions rellevants amb la malaltia, entenent per rellevant la significació i implicació real de la troballa en el mecanisme fisiopatològic de la malaltia, més enllà d'una probable associació estadística la credibilitat de la qual depèn d'un *p*-valor inferior a un llindar de confiança. El significat del terme "susceptibilitat" en l'àmbit mèdic fa referència a la "condició del cos que augmenta la probabilitat que l'individu desenvolupi una malaltia determinada". Per tant, per estudiar la susceptibilitat genètica a MC, caldria

classificar com a crònic qualsevol pacient que, en algun moment de la seva vida, hagués estat migranyós crònic. Tenint en compte que la migranya acompanya el pacient durant tota la seva vida i que els primers criteris de MC es van establir fa menys d'una dècada, és impossible disposar d'estudis longitudinals prospectius que hagin seguit l'evolució de migranyosos durant un temps llarg. A més, no existeixen mètodes analítics que permetin objectivar el testimoni del pacient quan s'investiga el seu passat migranyós, per tant, aquest esbiaixament de classificació hi és present en molts estudis. En el nostre cas, però, els resultats de la caracterització clínica van confirmar la qualitat del fenotipatge, minimitzant l'efecte d'aquest esbiaixament. No obstant, existeixen altres factors limitants en la nostra recerca, com les limitacions tecnològiques, les limitacions pressupostàries i la reduïda mida mostral a causa de la baixa prevalença de la MC. En aquest sentit, es va treballar en col·laboració amb l'IHGC per a disposar d'una mostra més gran. En el moment de dissenyar aquest estudi, la tecnologia GWAS era molt recent i econòmicament fora de l'abast de molts grups de recerca, motiu pel qual vam optar per una estratègia d'associació de gens candidats.

Durant molts anys, els estudis d'associació han intentat demostrar la implicació de determinades variants gèniques amb la migranya comuna. La base de dades HuGE Navigator (<http://hugenavigator.net/HuGENavigator/home.do>) identificava, en el moment d'escriure aquesta tesi, un total de 231 gens implicats en 104 vies de senyalització a partir de la consulta d'evidència genètica per migranya. Malgrat això, molts dels estudis presenten resultats contraposats i poques replicacions positives. La publicació del primer GWAS (Anttila et al., 2010) va contribuir a que l'estudi genètic de la migranya prengués una nova dimensió. Sorprenentment, aquests estudis han identificat fins ara gens associats a migranya (descriu a bloc I, 4.3.3, pàgina 58) que mai s'havien identificat mitjançant estudis d'associació i, a la vegada, cap dels gens descrits abans de l'era *genome wide* apareix com a *hit* dels GWA.

L'estudi de la predisposició genètica a MC, en canvi, és molt més recent. De fet, en el moment en què es va dissenyar el nostre estudi d'associació genètica a partir de gens candidats en població caucasicomediterrània no existien treballs de recerca al respecte.

L'estudi cas-control realitzat va aconseguir replicar un dels polimorfismes de *TRPM8* que s'havien identificat associat a migranya en el primer GWA, i va aportar evidències de la

implicació d'aquest canal iònic que s'activa en resposta al fred, però la manera en què aquesta variant gènica en *TRPM8* contribueix a reduir el risc de migranya encara s'ha de dilucidar. A més, es va detectar associació nominal de 4 SNP a *CALCRL* i 2 SNP a *RAMP1* (taules 28 i 29, pàgina 120), gens que codifiquen per les dues subunitats del receptor de CGRP i que no s'havia descrit anteriorment com a gen implicat en la susceptibilitat genètica a la migranya. L'al·lel T d'un d'aquests SNP de *CALCRL*, el rs17464221 (OR 1,24) s'associava també a una menor expressió de mRNA. Ni el gen *CALCA* que codifica per CGRP ni cap dels dos gens que codifiquen per les subunitats que conformen el receptor s'havien proposat abans com a gens candidats. Recentment, però, s'ha publicat un estudi amb població caucàsicoaustraliana amb *CALCA* i *RAMP1*, tot i que no va demostrar cap associació amb la malaltia a excepció d'un SNP de *RAMP1* en homes migranyosos respecte controls (Sutherland et al., 2013). D'altra banda, es va trobar associació d'un SNP de *EDNRB* a migranya, gen que s'ha relacionat prèviament amb la susceptibilitat a MA i risc vascular (Tikka-Kleemola et al., 2009; MacClellan et al., 2009). Finalment, rs13299607T a *SPTAN1* redueix el risc de migranya i s'associa a un augment de la transcripció de mRNA, malgrat que la rellevància biològica d'aquesta associació no està clara. Aquests resultats, però, haurien de ser replicats en una altra població fenotipada amb els mateixos criteris. Tot i així, sembla interessant aprofundir en l'estudi d'aquestes troballes, especialment de CGRP i el seu receptor que tenen un especial protagonisme en la fisiopatologia de la migranya.

El treball realitzat amb la col·laboració de l'IHGC per identificar susceptibilitat a MC és el primer estudi d'associació de gens candidats que es realitza amb MC. La fase de descobriment va revelar associacions nominals amb 30 SNP, 8 dels quals s'associaven també en l'endofenotip EAF respecte controls i dels quals 3 resistien la correcció per Bonferroni (taula 32, pàgina 126). L'EAF es va incloure en el disseny a causa de les evidències clíniques observades prèviament en la sèrie espanyola que confirmava la semblança fenotípica entre EAF i MC. Curiosament, variants polimòrfiques en *CALCA*, *CALCRL* i *RAMP1* tornaven a ser identificades en associació tant a MC com a EAF, i dos d'aquests SNP ho feien fins i tot després de la correcció per test múltiple. Ni la fase de replicació ni la metaanàlisi posterior, però, van permetre confirmar aquests resultats. Cal considerar, però, que existien diferències metodològiques en la selecció de pacients de les diferents cohorts utilitzades, que eren de base poblacional.

Per tant, malgrat que no s'ha aconseguit identificar cap associació que es repliqui positivament, aquest treball suposa un primer pas cap a l'estudi de la susceptibilitat genètica a la MC i la seva progressió. Probablement sigui necessari abordar aquest objectiu amb altres estratègies, com les anomenades *next generation sequencing* (NGS) que abasten tot el genoma i es realitzen a gran escala, la seqüenciació d'exomes, l'estudi dels transcryptomes o l'estudi dels microRNA que regulen la transcripció gènica i que permetria comparar quins canvis tenen lloc en el pacient durant la progressió o en diferents moments evolutius de la malaltia.

Probables biomarcadors de la migranya

L'estudi de biomarcadors en la migranya crònica resulta rellevant per identificar paràmetres que permetin monitoritzar el procés de progressió i que es pugin utilitzar com a indicadors que s'estan produint canvis associats a la cronificació. Tanmateix, fins a l'actualitat, no s'han descrit biomarcadors confirmats amb utilitat a la migranya crònica. El nostre treball en aquest sentit no ha aconseguit aportar dades concludents. Es va detectar una alteració en el balanç de MMP-2/TIMP-2 i MMP-9/TIMP-1 en pacients de migranya respecte controls que suggereix que hi ha una possible disfunció endotelial que predisposa a l'aparició de neuroinflamació, dades consistents amb les publicades a la literatura, però no es van trobar diferències entre la ME i la MC. L'augment de TIMP-1 s'associava de forma independent en un model de regressió logística amb migranya, i l'augment de MMP-13 i TIMP-2 ho feia en l'anàlisi de MA respecte MO. Malgrat l'existència de treballs que havien descrit un augment de MMP-9 plasmàtic en migranyosos respecte controls (Leira et al., 2007; Imamura et al., 2008), el nostre treball no va confirmar aquest augment d'expressió.

Sí que vam confirmar, tal i com apuntava l'estudi de Gupta i col·laboradors (Gupta et al., 2009), que els nivells plasmàtics de CGRP en període interictal en migranyosos és comparable al dels controls sans, sense trobar diferències entre casos i controls. El nostre estudi, a més, tampoc va trobar diferències en els nivells plasmàtics interictals de CGRP entre ME i MC ni en la comparació de mostres del mateix pacient en període interictal i amb migranya. Per tant, en aquest sentit, cal aprofundir en la recerca amb mostres de

pacients en diferents moments de la crisi. Caldria fer estudis amb més pacients i disposar de mostres recollides en el mateix període de temps des de l'inici del dolor per reduir la variabilitat però és difícil controlar el temps que el pacient triga en arribar a l'hospital en protocols d'aquest tipus.

Globalment, es pot concloure que la MC és extremament discapacitant, amb un conjunt de característiques clíniques particulars i un possible bagatge genètic de predisposició que cal estudiar més a fons per tal de contribuir a una estimació del risc fiable que faciliti la gestió per part dels neuròlegs del tractament d'aquests pacients. Convé considerar l'EAF com a endofenotip de risc, intensificar la vigilància del pacient quan aquest supera els 10 dies de migranya al mes i tenir en compte el valor pronòstic de les escales MIDAS i HIT-6. L'estudi genètic, epigenètic i/o transcriptòmic de la susceptibilitat s'ha de dirigir clarament a identificar factors de risc a la cronificació i, en el cas dels marcadors transcriptòmics, a identificar canvis que puguin ser un reflex dels canvis fisiològics que tenen lloc durant la progressió. Per tant, aquest treball suposa un primer pas en l'estudi de la MC que ha de tenir continuïtat per arribar algun dia a conèixer bé què porta un pacient amb migranya a patir una freqüència tan elevada de dies de dolor i a disposar d'eines, instruments o indicadors que permetin identificar aquests pacients abans de la progressió per tal d'optimitzar l'estratègia terapèutica i el maneig d'aquests pacients.

VI

Conclusions

Conclusions

- I. La migranya episòdica i la migranya crònica són clínicament diferents, sent la migranya crònica més discapacitant, amb un major impacte en la qualitat de vida del pacient i més comorbiditats.

- II. Els indicadors clínics de progressió s'observen a partir de 10 dies de migranya al mes. La migranya episòdica d'alta freqüència és molt similar a la migranya crònica i s'hauria de considerar en el seguiment i maneig dels pacients amb migranya.

- III. L'associació de rs17862920 (*TRPM8*) a migranya s'ha replicat. Una probable associació de variants polimòrfiques en els gens que codifiquen pel receptor de CGRP i en el gen *SPTAN1* s'han identificat per primera vegada.

- IV. El primer estudi d'associació genètica a MC ha suggerit algunes associacions inicials que no s'han replicat.

- V. Una alteració en el balanç MMP-2/TIMP-2 i MMP-9/TIMP-1 s'ha detectat en pacients amb migranya respecte controls, que suggereix una probable disfunció de l'endoteli vascular cerebral. Cap de les molècules estudiades es va trobar expressada diferencialment entre ME i MC ni en període interictal ni durant l'atac de migranya.

Bibliografia

A

A Catalog of Published Genome-Wide Association Studies [<http://www.genome.gov/gwastudies>]

Ambrosini A, Schoenen J. The electrophysiology of migraine. *Curr Opin Neurol* 2003 Jun;16(3):327-331.

Anttila V, Kallela M, Oswell G, Kaunisto MA, Nyholt DR, Hamalainen E, et al. Trait components provide tools to dissect the genetic susceptibility of migraine. *Am J Hum Genet* 2006 Jul;79(1):85-99.

Anttila V, Nyholt DR, Kallela M, Artto V, Vepsalainen S, Jakkula E, et al. Consistently replicating locus linked to migraine on 10q22-q23. *Am J Hum Genet* 2008 May;82(5):1051-1063.

Anttila V, Stefansson H, Kallela M, Todt U, Terwindt GM, Calafato MS, et al. Genome-wide association study of migraine implicates a common susceptibility variant on 8q22.1. *Nat Genet* 2010;42:869-873.

Anttila V, Winsvold BS, Gormley P, Kurth T, Bettella F, McMahon G, et al. Genome-wide meta-analysis identifies new susceptibility loci for migraine. *Nat Genet* 2013 Jun 23.

Artto V, Wessman M, Nissila M, Sako E, Liukkonen J, Teirmaa H, et al. Comorbidity in Finnish migraine families. *J Headache Pain* 2006 Oct;7(5):324-330.

Ashina M, Tvedskov JF, Lipka K, Bilello J, Penkowa M, Olesen J. Matrix metalloproteinases during and outside of migraine attacks without aura. *Cephalalgia* 2010;30:303-310.

B

Bayliss MS, Dewey JE, Dunlap I, Batenhorst AS, Cady R, Diamond ML, et al. A study of the feasibility of Internet administration of a computerized health survey: the headache impact test (HIT). *Qual Life Res* 2003 Dec;12(8):953-961.

Bearden CE, Reus VI, Freimer NB. Why genetic investigation of psychiatric disorders is so difficult. *Curr Opin Genet Dev* 2004 Jun;14(3):280-286.

Berg J, Stovner LJ. Cost of migraine and other headaches in Europe. *Eur J Neurol* 2005 Jun;12 Suppl 1:59-62.

Bernecker C, Pailer S, Kieslinger P, Horejsi R, Moller R, Lechner A, et al. Increased matrix metalloproteinase activity is associated with migraine and migraine-related metabolic dysfunctions. *Eur J Neurol* 2011;18:571-576.

Bigal ME, Lipton RB. Clinical course in migraine: conceptualizing migraine transformation. 2008;71:848-855.

Bigal ME, Lipton RB. Concepts and mechanisms of migraine chronification. 2008;48:7-15.

Blumenfeld AM, Varon SF, Wilcox TK, Buse DC, Kawata AK, Manack A, et al. Disability, HRQoL and resource use among chronic and episodic migraineurs: results from the International Burden of Migraine Study (IBMS). *Cephalalgia* 2011 Feb;31(3):301-315.

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):136-142.

Breslau N, Lipton RB, Stewart WF, Schultz LR, Welch KM. Comorbidity of migraine and depression: investigating potential etiology and prognosis. *Neurology* 2003 Apr 22;60(8):1308-1312.

Breslau N, Rasmussen BK. The impact of migraine: Epidemiology, risk factors, and comorbidities. *Neurology* 2001;56(6 Suppl 1):S4-12.

Burstein R, Yarnitsky D, Goor-Aryeh I, Ransil BJ, Bajwa ZH. An association between migraine and cutaneous allodynia. *Ann Neurol* 2000 May;47(5):614-624.

C

Candelario-Jalil E, Yang Y, Rosenberg GA. Diverse roles of matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases in neuroinflammation and cerebral ischemia. 2009;158:983-994.

Cao Y, Welch KM, Aurora S, Vikingstad EM. Functional MRI-BOLD of visually triggered headache in patients with migraine. *Arch Neurol* 1999 May;56(5):548-554.

Cevoli S, Mochi M, Cortelli P, Pierangeli G, Soriani S, Scapoli C, et al. A genetic association study of migraine with dopamine receptor 4, dopamine transporter and dopamine-beta-hydroxylase genes. *Neurol Sci* 2003 Feb;23(6):301-305.

Chasman DI, Schurks M, Anttila V, de Vries B, Schminke U, Launer LJ, et al. Genome-wide association study reveals three susceptibility loci for common migraine in the general population. *Nat Genet* 2011 Jun 12;43(7):695-698.

Coffey AJ, Kokocinski F, Calafato MS, Scott CE, Palta P, Drury E, et al. The GENCODE exome: sequencing the complete human exome. *Eur J Hum Genet* 2011 Jul;19(7):827-831.

Colson NJ, Lea RA, Quinlan S, MacMillan J, Griffiths LR. Investigation of hormone receptor genes in migraine. *Neurogenetics* 2005 Feb;6(1):17-23.

Colson NJ, Lea RA, Quinlan S, MacMillan J, Griffiths LR. The estrogen receptor 1 G594A polymorphism is associated with migraine susceptibility in two independent case/control groups. *Neurogenetics* 2004 Jun;5(2):129-133.

Combadière C, Godin O, Vidal C, Cangialosi A, Proust C, Tzourio C. Common CX3CR1 alleles are associated with a reduced risk of headaches. *Headache* 2008 Jul;48(7):1061-1066.

Cordell HJ, Clayton DG. Genetic association studies. *Lancet* 2005 Sep 24-30;366(9491):1121-1131.

Corominas R, Ribases M, Camina M, Cuenca-Leon E, Pardo J, Boronat S, et al. Two-stage case-control association study of dopamine-related genes and migraine. *BMC Med Genet* 2009 Sep 21;10:95-2350-10-95.

Corominas R, Ribases M, Cuenca-Leon E, Cormand B, Macaya A. Lack of association of hormone receptor polymorphisms with migraine. *Eur J Neurol* 2009 Mar;16(3):413-415.

Corominas R, Ribases M, Cuenca-Leon E, Narberhaus B, Serra SA, del Toro M, et al. Contribution of syntaxin 1A to the genetic susceptibility to migraine: a case-control association study in the Spanish population. *Neurosci Lett* 2009 May 15;455(2):105-109.

Corominas R, Sobrido MJ, Ribases M, Cuenca-Leon E, Blanco-Arias P, Narberhaus B, et al. Association study of the serotonergic system in migraine in the Spanish population. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet* 2010 Jan 5;153B(1):177-184.

Cuenca-Leon E, Corominas R, Montfort M, Artigas J, Roig M, Bayes M, et al. Familial hemiplegic migraine: linkage to chromosome 14q32 in a Spanish kindred. *Neurogenetics* 2009 Jul;10(3):191-198.

D

Darwin C. *On the origin of species by means of natural selection, or the preservation of favoured races in the struggle for life*. London: John Murray; 1859.

Dawn Teare M, Barrett JH. Genetic linkage studies. *Lancet* 2005 Sep 17-23;366(9490):1036-1044.

De Fusco M, Marconi R, Silvestri L, Atorino L, Rampoldi L, Morgante L, et al. Haploinsufficiency of ATP1A2 encoding the Na⁺/K⁺ pump alpha2 subunit associated with familial hemiplegic migraine type 2. *Nat Genet* 2003 Feb;33(2):192-196.

De Vries B, Frants RR, Ferrari MD, van den Maagdenberg AM. Molecular genetics of migraine. *Hum Genet* 2009 Jul;126(1):115-132.

Di Lorenzo C, Grieco GS, Santorelli FM. Migraine headache: a review of the molecular genetics of a common disorder. *J Headache Pain* 2012 Oct;13(7):571-580.

Di Lorenzo C, Sances G, Di Lorenzo G, Rengo C, Ghiotto N, Guaschino E, et al. The wolframin His611Arg polymorphism influences medication overuse headache. *Neurosci Lett* 2007 Sep 13;424(3):179-184.

Diaz-Insa S. Chronic migraine, a new and necessary concept. *Rev Neurol* 2012 Apr 10;54 Suppl 2:S1-2.

Dichgans M, Freilinger T, Eckstein G, Babini E, Lorenz-Depiereux B, Biskup S, et al. Mutation in the neuronal voltage-gated sodium channel SCN1A in familial hemiplegic migraine. *Lancet* 2005 Jul 30-Aug 5;366(9483):371-377.

Ducros A, Denier C, Joutel A, Cecillon M, Lescoat C, Vahedi K, et al. The clinical spectrum of familial hemiplegic migraine associated with mutations in a neuronal calcium channel. *N Engl J Med* 2001 Jul 5;345(1):17-24.

E

Edvinsson L. Neuronal signal substances as biomarkers of migraine. *Headache* 2006;46:1088-1094.

Edvinsson L, Tfelt-Hansen P. The blood-brain barrier in migraine treatment. *Cephalalgia* 2008 Dec;28(12):1245-1258.

F

- Fernandez F, Colson N, Quinlan S, MacMillan J, Lea RA, Griffiths LR. Association between migraine and a functional polymorphism at the dopamine beta-hydroxylase locus. *Neurogenetics* 2009 Jul;10(3):199-208.
- Fernandez F, Lea RA, Colson NJ, Bellis C, Quinlan S, Griffiths LR. Association between a 19 bp deletion polymorphism at the dopamine beta-hydroxylase (DBH) locus and migraine with aura. *J Neurol Sci* 2006 Dec 21;251(1-2):118-123.
- Ferrari A, Tiraferri I, Neri L, Sternieri E. Clinical pharmacology of topiramate in migraine prevention. *Expert Opin Drug Metab Toxicol* 2011 Sep;7(9):1169-1181.
- Formicola D, Aloia A, Sampaolo S, Farina O, Diodato D, Griffiths LR, et al. Common variants in the regulative regions of GRIA1 and GRIA3 receptor genes are associated with migraine susceptibility. *BMC Med Genet* 2010 Jun 25;11:103-2350-11-103.
- Frampton JE. OnabotulinumtoxinA (BOTOX(R)): a review of its use in the prophylaxis of headaches in adults with chronic migraine. *Drugs* 2012 Apr 16;72(6):825-845.
- Freilinger T, Anttila V, de Vries B, Malik R, Kallela M, Terwindt GM, et al. Genome-wide association analysis identifies susceptibility loci for migraine without aura. *Nat Genet* 2012 Jun 10;44(7):777-782.

G

- Gantenbein AR, Sandor PS. Physiological parameters as biomarkers of migraine. *Headache* 2006 Jul-Aug;46(7):1069-1074.
- Gao HM, Li L, Zhang KL, Chen XH, Tian SQ, Zhang ZL. Impact of migraine attacks on the blood-brain barrier. *Chin Med J* 2010;123:2559-2561.
- Gardner K, Barmada MM, Ptacek LJ, Hoffman EP. A new locus for hemiplegic migraine maps to chromosome 1q31. *Neurology* 1997 Nov;49(5):1231-1238.
- Garrod A. The incidence of Alkaptonuria: a Study in Chemical Individuality. *Lancet* 1902;ii:1616-20.
- Gentile G, Borro M, Lala N, Missori S, Simmaco M, Martelletti P. Genetic polymorphisms related to efficacy and overuse of triptans in chronic migraine. *J Headache Pain* 2010 Oct;11(5):431-435.
- Gentile G, Missori S, Borro M, Sebastianelli A, Simmaco M, Martelletti P. Frequencies of genetic polymorphisms related to triptans metabolism in chronic migraine. *J Headache Pain* 2010 Apr;11(2):151-156.
- Gervil M, Ulrich V, Kyvik KO, Olesen J, Russell MB. Migraine without aura: a population-based twin study. 1999;46:606-611.
- Goadsby PJ. Migraine pathophysiology. *Headache* 2005 Apr;45 Suppl 1:S14-24.
- Goadsby PJ, Lipton RB, Ferrari MD. Migraine-current understanding and treatment. *N Engl J Med* 2002 Jan 24;346(4):257-270.

Guerrero-Peral AL. Chronic migraine: clinical manifestations and differential diagnosis. *Rev Neurol* 2012 Apr 10;54 Suppl 2:S21-9.

Guitera V, Munoz P, Castillo J, Pascual J. Quality of life in chronic daily headache: a study in a general population. *Neurology* 2002 Apr 9;58(7):1062-1065.

Gurney KJ, Estrada EY, Rosenberg GA. Blood-brain barrier disruption by stromelysin-1 facilitates neutrophil infiltration in neuroinflammation. *Neurobiol Dis* 2006 Jul;23(1):87-96.

Gursoy-Ozdemir Y, Qiu J, Matsuoka N, Bolay H, Berman D, Jin H, et al. Cortical spreading depression activates and upregulates MMP-9. 2004;113:1447-1455.

H

Hardy GH. Mendelian Proportions in a Mixed Population. *Science* 1908 Jul 10;28(706):49-50.

Harwood RH, Sayer AA, Hirschfeld M. Current and future worldwide prevalence of dependency, its relationship to total population, and dependency ratios. *Bull World Health Organ* 2004 Apr;82(4):251-258.

I

Iizuka T, Sakai F, Suzuki K, Igarashi H, Suzuki N. Implication of augmented vasogenic leakage in the mechanism of persistent aura in sporadic hemiplegic migraine. *Cephalalgia* 2006 Mar;26(3):332-335.

Imamura K, Takeshima T, Fusayasu E, Nakashima K. Increased plasma matrix metalloproteinase-9 levels in migraineurs. *Headache* 2008;48:135-139.

International HapMap 3 Consortium, Altshuler DM, Gibbs RA, Peltonen L, Altshuler DM, Gibbs RA, et al. Integrating common and rare genetic variation in diverse human populations. *Nature* 2010 Sep 2;467(7311):52-58.

International Headache Society. Classification and diagnostic criteria for headache disorders, cranial neuralgias and facial pain. Headache Classification Committee of the International Headache Society. *Cephalalgia* 1988;8 Suppl 7:1-96.

International Headache Society Headache Classification Subcommittee. The International Classification of Headache Disorders: 2nd edition. *Cephalalgia* 2004;24 Suppl 1:9-160.

International Headache Society. Headache Classification Committee, Olesen J, Bousser MG, Diener HC, Dodick D, First M, et al. New appendix criteria open for a broader concept of chronic migraine. *Cephalalgia* 2006 Jun;26(6):742-746.

International Human Genome Sequencing Consortium. Finishing the euchromatic sequence of the human genome. *Nature* 2004 Oct 21;431(7011):931-945.

J

Jen JC, Wan J, Palos TP, Howard BD, Baloh RW. Mutation in the glutamate transporter EAAT1 causes episodic ataxia, hemiplegia, and seizures. *Neurology* 2005 Aug 23;65(4):529-534.

Joshi G, Pradhan S, Mittal B. Vascular Gene Polymorphisms (EDNRA -231 G>A and APOE HhaI) and Risk for Migraine. 2011;30:577-584.

Joshi G, Pradhan S, Mittal B. Role of the ACE ID and MTHFR C677T polymorphisms in genetic susceptibility of migraine in a north Indian population. *J Neurol Sci* 2009 Feb 15;277(1-2):133-137.

K

Kara I, Sazci A, Ergul E, Kaya G, Kilic G. Association of the C677T and A1298C polymorphisms in the 5,10 methylenetetrahydrofolate reductase gene in patients with migraine risk. *Brain Res Mol Brain Res* 2003 Mar 17;111(1-2):84-90.

Kaunisto MA, Kallela M, Hamalainen E, Kilpikari R, Havanka H, Harno H, et al. Testing of variants of the MTHFR and ESR1 genes in 1798 Finnish individuals fails to confirm the association with migraine with aura. *Cephalalgia* 2006 Dec;26(12):1462-1472.

Kowa H, Fusayasu E, Ijiri T, Ishizaki K, Yasui K, Nakaso K, et al. Association of the insertion/deletion polymorphism of the angiotensin I-converting enzyme gene in patients of migraine with aura. *Neurosci Lett* 2005 Feb 10;374(2):129-131.

Kowa H, Yasui K, Takeshima T, Urakami K, Sakai F, Nakashima K. The homozygous C677T mutation in the methylenetetrahydrofolate reductase gene is a genetic risk factor for migraine. *Am J Med Genet* 2000 Dec 4;96(6):762-764.

Kristiansson K, Naukkarinen J, Peltonen L. Isolated populations and complex disease gene identification. *Genome Biol* 2008;9(8):109-2008-9-8-109. Epub 2008 Aug 26.

Krugel LK, Biele G, Mohr PN, Li SC, Heekeren HR. Genetic variation in dopaminergic neuromodulation influences the ability to rapidly and flexibly adapt decisions. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2009 Oct 20;106(42):17951-17956.

Kruit MC, Launer LJ, Ferrari MD, van Buchem MA. Infarcts in the posterior circulation territory in migraine. The population-based MRI CAMERA study. *Brain* 2005 Sep;128(Pt 9):2068-2077.

Kruit MC, Launer LJ, Overbosch J, van Buchem MA, Ferrari MD. Iron accumulation in deep brain nuclei in migraine: a population-based magnetic resonance imaging study. *Cephalalgia* 2009 Mar;29(3):351-359.

L

Lafreniere RG, Cader MZ, Poulin JF, Andres-Enguix I, Simoneau M, Gupta N, et al. A dominant-negative mutation in the TRESK potassium channel is linked to familial migraine with aura. *Nat Med* 2010 Oct;16(10):1157-1160.

Lander ES, Linton LM, Birren B, Nusbaum C, Zody MC, Baldwin J, et al. Initial sequencing and analysis of the human genome. *Nature* 2001 Feb 15;409(6822):860-921.

Lea RA, Nyholt DR, Curtain RP, Ovcarić M, Sciascia R, Bellis C, et al. A genome-wide scan provides evidence for loci influencing a severe heritable form of common migraine. *Neurogenetics* 2005 May;6(2):67-72.

Lea RA, Ovcarić M, Sundholm J, MacMillan J, Griffiths LR. The methylenetetrahydrofolate reductase gene variant C677T influences susceptibility to migraine with aura. *BMC Med* 2004 Feb 12;2:3.

Leira R, Sobrino T, Rodríguez-Yanez M, Blanco M, Arias S, Castillo J. Mmp-9 immunoreactivity in acute migraine. *Headache* 2007;47:698-702.

Leonardi M, Mathers C. Global Burden of Migraine in the Year 2000: Summary of Methods and Data Sources. GBD 2000 Working Paper. 2003.

Ligthart L, de Vries B, Smith AV, Ikram MA, Amin N, Hottenga JJ, et al. Meta-analysis of genome-wide association for migraine in six population-based European cohorts. *Eur J Hum Genet* 2011 Aug;19(8):901-907.

Lindner A, Reiners K, Toyka KV. Meningeal hyperperfusion visualized by MRI in a patient with visual hallucinations and migraine. *Headache* 1996 Jan;36(1):53-57.

Lipton RB, Bigal ME, Diamond M, Freitag F, Reed ML, Stewart WF, et al. Migraine prevalence, disease burden, and the need for preventive therapy. *Neurology* 2007 Jan 30;68(5):343-349.

Liverman CS, Brown JW, Sandhir R, McCarson KE, Berman NE. Role of the oestrogen receptors GPR30 and ERalpha in peripheral sensitization: relevance to trigeminal pain disorders in women. *Cephalalgia* 2009 Jul;29(7):729-741.

Lionetto L, Gentile G, Bellei E, Capi M, Sabato D, Marsibilio F, et al. The omics in migraine. *J Headache Pain* 2013 Jul 1;14(1):55.

Loder E, Rizzoli P. Biomarkers in migraine: their promise, problems, and practical applications. *Headache* 2006 Jul-Aug;46(7):1046-1058.

M

MacClellan LR, Howard TD, Cole JW, Stine OC, Giles WH, O'Connell JR, et al. Relation of candidate genes that encode for endothelial function to migraine and stroke: the Stroke Prevention in Young Women study. *Stroke* 2009 Oct;40(10):e550-7.

Maher BH, Griffiths LR. Identification of molecular genetic factors that influence migraine. *Mol Genet Genomics* 2011 Jun;285(6):433-446.

Manack A, Turkel C, Silberstein S. The evolution of chronic migraine: classification and nomenclature. *Headache* 2009 Sep;49(8):1206-1213.

Mannello F. New implications of the proteolytic balance between matrix metalloproteinases and their tissue inhibitors in migraine with and without aura. *Clin Chim Acta* 2009;409:1-3.

Manolio TA, Collins FS, Cox NJ, Goldstein DB, Hindorff LA, Hunter DJ, et al. Finding the missing heritability of complex diseases. *Nature* 2009;461:747-753.

Manzoni GC, Granella F, Sandrini G, Cavallini A, Zanferrari C, Nappi G. Classification of chronic daily headache by International Headache Society criteria: limits and new proposals. *Cephalalgia* 1995 Feb;15(1):37-43.

Markowitz S, Saito K, Moskowitz MA. Neurogenically mediated leakage of plasma protein occurs from blood vessels in dura mater but not brain. *J Neurosci* 1987 Dec;7(12):4129-4136.

Martins-Oliveira A, Speciali JG, Dach F, Marcaccini AM, Goncalves FM, Gerlach RF, et al. Different circulating metalloproteinases profiles in women with migraine with and without aura. *Clin Chim Acta* 2009;408:60-64.

Mathew NT. Transformed migraine. *Cephalalgia* 1993 Apr;13 Suppl 12:78-83.

Martias-Guiu J, Porta-Etessam J, Mateos V, Diaz-Insa S, Lopez-Gil A, Fernandez C, et al. One-year prevalence of migraine in Spain: a nationwide population-based survey. *Cephalalgia* 2011 Mar;31(4):463-470.

Mazaheri S, Hajilooi M, Rafiei A. The G-308A promoter variant of the tumor necrosis factor-alpha gene is associated with migraine without aura. *J Neurol* 2006 Dec;253(12):1589-1593.

McIntyre RS, Konarski JZ, Wilkins K, Bouffard B, Soczynska JK, Kennedy SH. The prevalence and impact of migraine headache in bipolar disorder: results from the Canadian Community Health Survey. *Headache* 2006 Jun;46(6):973-982.

Mendel G. *Versuche über Pflanzen-Hybriden*. Brno; 1866.

Menon S, Cox HC, Kuwahata M, Quinlan S, MacMillan JC, Haupt LM, et al. Association of a Notch 3 gene polymorphism with migraine susceptibility. *Cephalalgia* 2011 Feb;31(3):264-270.

Merikangas KR. Contributions of epidemiology to our understanding of migraine. *Headache* 2013 Feb;53(2):230-246.

Miller SA, Dykes DD, Polesky HF. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Res* 1988 Feb 11;16(3):1215.

Min Jou W, Haegeman G, Ysebaert M, Fiers W. Nucleotide sequence of the gene coding for the bacteriophage MS2 coat protein. *Nature* 1972 May 12;237(5350):82-88.

Montagna P, Cevoli S, Marzocchi N, Pierangeli G, Pini LA, Cortelli P, et al. The genetics of chronic headaches. *Neurol Sci* 2003 May;24 Suppl 2:S51-6.

Moskowitz MA, Macfarlane R. Neurovascular and molecular mechanisms in migraine headaches. *Cerebrovasc Brain Metab Rev* 1993 Fall;5(3):159-177.

Mulder EJ, Van Baal C, Gaist D, Kallela M, Kaprio J, Svensson DA, et al. Genetic and environmental influences on migraine: a twin study across six countries. *Twin Res* 2003 Oct;6(5):422-431.

N

Nagata E, Hattori H, Kato M, Ogasawara S, Suzuki S, Shibata M, et al. Identification of biomarkers associated with migraine with aura. *Neurosci Res* 2009 May;64(1):104-110.

Natoli JL, Manack A, Dean B, Butler Q, Turkel CC, Stovner L, et al. Global prevalence of chronic migraine: a systematic review. *Cephalalgia* 2010 May;30(5):599-609.

Ng SB, Turner EH, Robertson PD, Flygare SD, Bigham AW, Lee C, et al. Targeted capture and massively parallel sequencing of 12 human exomes. *Nature* 2009 Sep 10;461(7261):272-276.

Nyholt DR, Gillespie NG, Heath AC, Merikangas KR, Duffy DL, Martin NG. Latent class and genetic analysis does not support migraine with aura and migraine without aura as separate entities. *Genet Epidemiol* 2004 Apr;26(3):231-244.

Nyholt DR, LaForge KS, Kallela M, Alakurtti K, Anttila V, Farkkila M, et al. A high-density association screen of 155 ion transport genes for involvement with common migraine. *Hum Mol Genet* 2008;17:3318-3331.

Nyholt DR, Morley KI, Ferreira MA, Medland SE, Boomsma DI, Heath AC, et al. Genomewide significant linkage to migrainous headache on chromosome 5q21. *Am J Hum Genet* 2005 Sep;77(3):500-512.

O

Olesen J, Friberg L, Olsen TS, Iversen HK, Lassen NA, Andersen AR, et al. Timing and topography of cerebral blood flow, aura, and headache during migraine attacks. *Ann Neurol* 1990 Dec;28(6):791-798.

Ophoff RA, Terwindt GM, Vergouwe MN, van Eijk R, Oefner PJ, Hoffman SM, et al. Familial hemiplegic migraine and episodic ataxia type-2 are caused by mutations in the Ca²⁺ channel gene CACNL1A4. *Cell* 1996 Nov 1;87(3):543-552.

Orr HT, Chung MY, Banfi S, Kwiatkowski TJ, Jr, Servadio A, Beaudet AL, et al. Expansion of an unstable trinucleotide CAG repeat in spinocerebellar ataxia type 1. *Nat Genet* 1993 Jul;4(3):221-226.

Oterino A, Pascual J, Ruiz de Alegria C, Valle N, Castillo J, Bravo Y, et al. Association of migraine and ESR1 G325C polymorphism. *Neuroreport* 2006 Jan 23;17(1):61-64.

Oterino A, Ruiz-Alegria C, Castillo J, Valle N, Bravo Y, Cayon A, et al. GNAS1 T393C polymorphism is associated with migraine. *Cephalalgia* 2007 May;27(5):429-434.

P

Pagon RA, Adam MP, Bird TD, et al., editors. *Gene Reviews*TM. 1993-2013.

Pascual J. Chronic migraine: treatment. *Rev Neurol* 2012 Apr 10;54 Suppl 2:S31-8.

Paterna S, Di Pasquale P, Cottone C, Seidita G, Cardinale A, Parrinello G, et al. Migraine without aura and ACE-gene deletion polymorphism: is there a correlation? Preliminary findings. *Cardiovasc Drugs Ther* 1997 Sep;11(4):603-604.

Paterna S, Di Pasquale P, D'Angelo A, Seidita G, Tuttolomondo A, Cardinale A, et al. Angiotensin-converting enzyme gene deletion polymorphism determines an increase in frequency of migraine attacks in patients suffering from migraine without aura. *Eur Neurol* 2000;43(3):133-136.

Paunio T, Tuulio-Henriksson A, Hiekkalinna T, Perola M, Varilo T, Partonen T, et al. Search for cognitive trait components of schizophrenia reveals a locus for verbal learning and memory on 4q and for visual working memory on 2q. *Hum Mol Genet* 2004 Aug 15;13(16):1693-1702.

Peroutka SJ, Price SC, Wilhoit TL, Jones KW. Comorbid migraine with aura, anxiety, and depression is associated with dopamine D2 receptor (DRD2) NcoI alleles. *Mol Med* 1998 Jan;4(1):14-21.

Pietrobon D. CaV2.1 channelopathies. *Pflugers Arch* 2010 Jul;460(2):375-393.

Pietrobon D, Moskowitz MA. Pathophysiology of migraine. *Annu Rev Physiol* 2013;75:365-391.

Pietrobon D, Striessnig J. Neurobiology of migraine. *Nat Rev Neurosci* 2003 May;4(5):386-398.

Pozo-Rosich P. Chronic migraine: its epidemiology and impact. *Rev Neurol* 2012 Apr 10;54 Suppl 2:S3-11.

Pryse-Phillips W, Aube M, Bailey P, Becker WJ, Bellavance A, Gawel M, et al. A clinical study of migraine evolution. *Headache* 2006 Nov-Dec;46(10):1480-1486.

R

Rainero I, Grimaldi LM, Salani G, Valfre W, Rivoiro C, Savi L, et al. Association between the tumor necrosis factor-alpha -308 G/A gene polymorphism and migraine. *Neurology* 2004 Jan 13;62(1):141-143.

Rains JC, Poceta JS. Headache and sleep disorders: review and clinical implications for headache management. *Headache* 2006 Oct;46(9):1344-1363.

Rindskopf D, Rindskopf W. The value of latent class analysis in medical diagnosis. *Stat Med* 1986 Jan-Feb;5(1):21-27.

Russell MB, Iselius L, Olesen J. Inheritance of migraine investigated by complex segregation analysis. *Hum Genet* 1995 Dec;96(6):726-730.

Russell MB, Olesen J. Increased familial risk and evidence of genetic factor in migraine. *BMJ* 1995 Aug 26;311(7004):541-544.

Russell MB, Olesen J. The genetics of migraine without aura and migraine with aura. *Cephalalgia* 1993 Aug;13(4):245-248.

S

Sanger F, Air GM, Barrell BG, Brown NL, Coulson AR, Fiddes CA, et al. Nucleotide sequence of bacteriophage phi X174 DNA. *Nature* 1977 Feb 24;265(5596):687-695.

Sauro KM, Rose MS, Becker WJ, Christie SN, Giammarco R, Mackie GF, et al. HIT-6 and MIDAS as measures of headache disability in a headache referral population. *Headache* 2010 Mar;50(3):383-395.

Schurks M. Genetics of migraine in the age of genome-wide association studies. *J Headache Pain* 2012 Jan;13(1):1-9.

- Schurks M, Rist PM, Bigal ME, Buring JE, Lipton RB, Kurth T. Migraine and cardiovascular disease: systematic review and meta-analysis. *BMJ* 2009 Oct 27;339:b3914.
- Schurks M, Rist PM, Kurth T. MTHFR 677C>T and ACE D/I polymorphisms in migraine: a systematic review and meta-analysis. *Headache* 2010 Apr;50(4):588-599.
- Schwaag S, Evers S, Schirmacher A, Stogbauer F, Ringelstein EB, Kuhlenbaumer G. Genetic variants of the NOTCH3 gene in migraine—a mutation analysis and association study. *Cephalalgia* 2006 Feb;26(2):158-161.
- Silberstein SD, Lipton RB, Solomon S, Mathew NT. Classification of daily and near-daily headaches: proposed revisions to the IHS criteria. *Headache* 1994 Jan;34(1):1-7.
- Silberstein SD, Lipton RB, Solomon S, Mathew NT. Classification of daily and near-daily headaches: proposed revisions to the IHS criteria. *Headache* 1994 Jan;34(1):1-7.
- Sintas C, Carreno O, Fernandez-Morales J, Cacheiro P, Sobrido MJ, Narberhaus B, et al. A replication study of a GWAS finding in migraine does not identify association in a Spanish case-control sample. *Cephalalgia* 2012 Oct;32(14):1076-1080.
- Smith M, Cros D, Sheen V. Hyperperfusion with vasogenic leakage by fMRI in migraine with prolonged aura. *Neurology* 2002 Apr 23;58(8):1308-1310.
- Smoller JW, Paulus MP, Fagerness JA, Purcell S, Yamaki LH, Hirshfeld-Becker D, et al. Influence of RGS2 on anxiety-related temperament, personality, and brain function. *Arch Gen Psychiatry* 2008 Mar;65(3):298-308.
- Soria V, Martinez-Amoros E, Escaramis G, Valero J, Perez-Egea R, Garcia C, et al. Differential association of circadian genes with mood disorders: CRY1 and NPAS2 are associated with unipolar major depression and CLOCK and VIP with bipolar disorder. *Neuropsychopharmacology* 2010 May;35(6):1279-1289.
- Stewart WF, Lipton RB, Whyte J, Dowson A, Kolodner K, Liberman JN, et al. An international study to assess reliability of the Migraine Disability Assessment (MIDAS) score. *Neurology* 1999 Sep 22;53(5):988-994.
- Stovner LJ, Andree C. Prevalence of headache in Europe: a review for the Eurolight project. *J Headache Pain* 2010 Aug;11(4):289-299.
- Stovner LJ, Zwart JA, Hagen K, Terwindt GM, Pascual J. Epidemiology of headache in Europe. *Eur J Neurol* 2006 Apr;13(4):333-345.
- Stuart S, Roy B, Davies G, Maksemous N, Smith R, Griffiths LR. Detection of a novel mutation in the CACNA1A gene. *Twin Res Hum Genet* 2012 Feb;15(1):120-125.
- Sutherland HG, Buteri J, Menon S, Haupt LM, Macgregor EA, Lea RA, et al. Association study of the calcitonin gene-related polypeptide-alpha (CALCA) and the receptor activity modifying 1 (RAMP1) genes with migraine. *Gene* 2013 Feb 15;515(1):187-192.
- Suzuki M, Van Paesschen W, Stalmans I, Horita S, Yamada H, Bergmans BA, et al. Defective membrane expression of the Na(+)-HCO(3)(-) cotransporter NBCe1 is associated with familial migraine. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2010 Sep 7;107(36):15963-15968.

T

The International HapMap Consortium. A haplotype map of the human genome. 2005;437((7063)):1299-320-1320.

Tikka-Kleemola P, Kaunisto MA, Hamalainen E, Todt U, Gobel H, Kaprio J, et al. Genetic association study of endothelin-1 and its receptors EDNRA and EDNRB in migraine with aura. *Cephalalgia* 2009 Nov;29(11):1224-1231.

Tobin MD, Tomaszewski M, Braund PS, Hajat C, Raleigh SM, Palmer TM, et al. Common variants in genes underlying monogenic hypertension and hypotension and blood pressure in the general population. *Hypertension* 2008 Jun;51(6):1658-1664.

Todt U, Netzer C, Toliat M, Heinze A, Goebel I, Nurnberg P, et al. New genetic evidence for involvement of the dopamine system in migraine with aura. *Hum Genet* 2009 Apr;125(3):265-279.

Tzourio C, El Amrani M, Poirier O, Nicaud V, Bousser MG, Alperovitch A. Association between migraine and endothelin type A receptor (ETA -231 A/G) gene polymorphism. *Neurology* 2001 May 22;56(10):1273-1277.

U

Ulrich V, Gervil M, Fenger K, Olesen J, Russell MB. The prevalence and characteristics of migraine in twins from the general population. *Headache* 1999;39:173-180.

V

Valfre W, Rainero I, Bergui M, Pinessi L. Voxel-based morphometry reveals gray matter abnormalities in migraine. *Headache* 2008 Jan;48(1):109-117.

Venter JC, Adams MD, Myers EW, Li PW, Mural RJ, Sutton GG, et al. The sequence of the human genome. *Science* 2001 Feb 16;291(5507):1304-1351.

W

Walker FO. Huntington's disease. *Lancet* 2007 Jan 20;369(9557):218-228.

Walters RG, Jacquemont S, Valsesia A, de Smith AJ, Martinet D, Andersson J, et al. A new highly penetrant form of obesity due to deletions on chromosome 16p11.2. *Nature* 2010 Feb 4;463(7281):671-675.

Ware JE, Jr, Sherbourne CD. The MOS 36-item short-form health survey (SF-36). I. Conceptual framework and item selection. *Med Care* 1992 Jun;30(6):473-483.

Watson JD, Crick FH. Genetical implications of the structure of deoxyribonucleic acid. 1953;171:964-967.

Watson JD, Crick FH. Molecular structure of nucleic acids; a structure for deoxyribose nucleic acid. 1953;171:737-738.

Webber C, Hehir-Kwa JY, Nguyen DQ, de Vries BB, Veltman JA, Ponting CP. Forging links between human mental retardation-associated CNVs and mouse gene knockout models. *PLoS Genet* 2009 Jun;5(6):e1000531.

Weir GA, Cader MZ. New directions in migraine. *BMC Med* 2011 Oct 25;9:116-7015-9-116.

Welch KM, Nagesh V, Aurora SK, Gelman N. Periaqueductal gray matter dysfunction in migraine: cause or the burden of illness? *Headache* 2001 Jul-Aug;41(7):629-637.

Wessman M, Terwindt GM, Kaunisto MA, Palotie A, Ophoff RA. Migraine: a complex genetic disorder. *Lancet Neurol* 2007;6:521-532.

Wolff H. *Headache And Other Head Pain.* : New York Oxford University Press; 1963.

Woods RP, Iacoboni M, Mazziotta JC. Brief report: bilateral spreading cerebral hypoperfusion during spontaneous migraine headache. *N Engl J Med* 1994 Dec 22;331(25):1689-1692.

Y

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):357-367.

Yong VW, Power C, Forsyth P, Edwards DR. Metalloproteinases in biology and pathology of the nervous system. *Nat Rev Neurosci* 2001 Jul;2(7):502-511.

Yoshida K, Higuchi H, Kamata M, Takahashi H, Inoue K, Suzuki T, et al. The G196A polymorphism of the brain-derived neurotrophic factor gene and the antidepressant effect of milnacipran and fluvoxamine. *J Psychopharmacol* 2007 Aug;21(6):650-656.

Z

Zwart JA, Dyb G, Hagen K, Odegard KJ, Dahl AA, Bovim G, et al. Depression and anxiety disorders associated with headache frequency. The Nord-Trøndelag Health Study. *Eur J Neurol* 2003 Mar;10(2):147-152.

Annexos

VISITA BASAL-inclusión



CÓDIGO CHROMIG

SEROTECA

INICIALES _ _ _ _

Datos sociodemográficos

Consentimiento informac. No Si
 Sexo Hombre Mujer
 Nivel de Estudios: Sin estudios Estudios primarios Bachillerato
 Estudios superiores no universitarios Estudios Universitarios
 Raza: Caucásico mediterráneo Raza caucásicos Latinoamericano y caribeño
 Asiático Negro o africano-americano No determinado Otra raza

Lugar de origen del padre: _____ Lugar de origen de la madre: _____

Fecha de nacimiento: / / Edad:

Fecha de inclusión en el estudio: / /

Estatus civil: Soltero Casado Divorciado/separado Viudo Otros: _____

Relaciones Interpersonales:

Socialización No Si
 Vive: 1. Solo 2. Con pareja 3. Con pareja e hijos 4. Con familia de origen 5. Otros:

Actividad laboral: 1. Ama de casa 2. Activo 3. Pateo 4. Baja laboral
 5. Discapacitado 6. Jubilado 7. Estudiante 8. Otros: _____

Móvil que realiza la entrevista: _____

Entrevista (lugar de procedencia): _____

Antecedentes Personales

Hábitos:

Tabaquismo: No fumador Ex-fumador _____ años de abandono del hábito
 Fumador actual _____ cig/da _____ años

Consumo habitual de alcohol: No Si - Especificar consumo semanal: _____ g/sem

Patrón consumo: Nunca Esporádico Fin de semana Diario

TIPO	ML	UBE	LR	Ud/sem
Vino vino	100	1	10	
Cerveza (quinta)	330	1	10	
Cerveza (mediana)	330	1,85	18,5	
50 cepsa bebida destilada o licor	25	1	10	
Jerez, cava, vermut	50	1	10	
Carañito		1	10	

Actividad Física: Nula (no se mueve o hace una cama-sillón)
 Baja (caminar 30 min o 2 km menos de 3 veces/semana)
 Media (caminar 30 min o 2 km más de 3 veces/semana)
 Alta (actividad física más de 3 veces/semana: bailar, nadar, gimnasia)

VISITA BASAL-inclusió



CÓDIGO CHROMIG

SEROTECA

INICIALES _ _ _ _

Antecedentes:

ALERGIAS: No Sí No sabe

Tipsos Asma Hial Atopia

Rinocconjuntivitis Fàrmacs (tipc) _____

PAATOLOGÍAS:

Síndrome Ansioso No Sí No sabe

Síndrome Ansioso-Depressiu No Sí No sabe

Trastorn Psicòtic No Sí No sabe

Epilepsia No Sí No sabe

Altres trastornes psiquiàtics No Sí No sabe Tipc _____

Síntomas oïdics en la infància No Sí No sabe Tipc _____

TCE significativ previc No Sí No sabe

Vèrtige No Sí No sabe

Cinetosis No Sí No sabe

Aoífens No Sí No sabe

Filomatàlgia No Sí No sabe

Síndrome Fatiga Crònica No Sí No sabe

Ceden imtable No Sí No sabe

Enuorembosis No Sí No sabe

Idus No Sí No sabe Tipc _____ N° _____

Angina Vasoespàstica No Sí No sabe

Hipertensió Arterial No Sí No sabe

Lipèmia No Sí No sabe

Diabetes No Sí No sabe

Tipc 1 Tipc 2 Lesocnoduc

Pesc (kg) _____ Talla (cm) _____ IMC _____

MESTRUACIÓ: No Sí No aplica

Si menstruació: Regularitat No Sí

Qdc: /

ACCs No Sí

Nombre.....

Fecha Última Menstruación / /

NO menstruación: Menopausa No Sí

Tipc.....

T-S No Sí

Nombre.....

Qdc: /

VISITA BASAL-inclusión



CÓDIGO CHROMIG

SEROTECA

INICIALES - - - -

SUEÑO: Cíclico No Sí NS/NC

Qual.....

Insonnio No Sí NS/NC

Fecha diagnóstico: / /

Tipo: 1-Inicio 2-Mantenimiento 3-Despertar precoz

Existencia de apnea obstructiva del sueño (SAOS) No Sí NS/NC

Tratamiento con CPAP No Sí

Fecha diagnóstico: / /

Existencia pica o inquietud No Sí NS/NC

Erujido No Sí NS/NC

Antecedentes familiares

Migraña: No Sí NS/NC

	No	Sí	NS	Tipo
Madre	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	_____
Padre	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	_____
Abuelo M	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	_____
Abuela M	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	_____
Abuelo H	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	_____
Abuela H	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	_____
Hermanos	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	_____ Nº afectados: _____ E.A. Inicio: _____
Hermanas	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	_____ Nº afectados: _____ E.A. Inicio: _____
Hijos	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	_____ Nº afectados: _____ E.A. Inicio: _____
Hijas	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	_____ Nº afectados: _____ E.A. Inicio: _____

Trastorno psiquiátrico: No Sí NS/NC

	No	Sí	NS	Tipo
Madre	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	_____
Padre	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	_____
Abuelo M	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	_____
Abuela M	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	_____
Abuelo H	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	_____
Abuela H	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	_____
Hermanos	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	_____ Nº afectados: _____ E.A. Inicio: _____
Hermanas	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	_____ Nº afectados: _____ E.A. Inicio: _____
Hijos	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	_____ Nº afectados: _____ E.A. Inicio: _____
Hijas	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	_____ Nº afectados: _____ E.A. Inicio: _____

VISITA BASAL-inclusió



CÓDIGO CHROMIG

SEROTECA

INICIALES - - - -

Diagnóstico Cefalea _____

Diagnóstico Cefalea (puede haber más de un tipo):

1. Migraña episódica sin aura
2. Migraña episódica con aura
3. Migraña crónica
 - Refractaria No Refractaria
4. Cefalea por abuso de medicamentos
5. Cefalea tensión episódica
6. Cefalea tensión crónica
7. Migraña Hemipléjica Familiar
8. Migraña menstrual
9. Migraña basilar
10. Migraña retiniana

Fecha Diagnóstico Cefalea / /

Evaluación inicio migraña _____ Evaluación transformación migraña/cefalea _____

Características del dolor (puede haber más de un tipo):

Aura: Sí No NS/NC
 Visual Sensitiva Lenguaje Duración: _____ min

Tipo de dolor: Pulsátil Compresivo Explosivo Impulsivo
 Otros _____

Localización del dolor: Bilateral Hemicraneal Frontal-occipital
 Unilateral izquierdo Unilateral derecho Unilateral Alternante
 Otros (escribir) _____

Desencadenantes: Alimentos Ayuno Ansiedad/estrés
 Ejercicio Café Menstruación
 Sueño Cambio horario Otros _____

Frecuencia: No Sí Ocasional Tipo _____

Tranquilidad: No Sí Ocasional

Fotofobia: No Sí Ocasional

Sonofobia: No Sí Ocasional

Cardiofobia: No Sí Ocasional

Náuseas: No Sí Ocasional

Vómitos: No Sí Ocasional

Mareo: No Sí Ocasional

Albucina: No Sí Ocasional

Tipo: Térmica Mecánica Táctil (cepillo)

VISITA BASAL-inclusión



CÓDIGO CHROMIG

SEROTECA

INICIALES _ _ _ _

Pregunta: ¿Con qué frecuencia experimenta un aumento de dolor o sensación desagradable en la piel durante una crisis al realizar las siguientes actividades?	No me sucede a mí	Nunca	Incremento	Menos de la mitad	La mitad del tiempo o más
<i>Peinarse</i>	0 puntos	0 puntos	0 puntos	1 punto	2 puntos
<i>Mettersse una capa</i>					
<i>Llavarse la cara</i>					
<i>Llevar gafas</i>					
<i>Llevar lentes de contacto</i>					
<i>Llevar pendientes</i>					
<i>Llevar un collar</i>					
<i>Llevar ropa ajustada</i>					
<i>Ducharse (cuando el agua salpica su cara)</i>					
<i>Apoyar la cara sobre la almohada</i>					
<i>Exponerse al calor (cocinar, agua caliente...)</i>					
<i>Exponerse al frío (utilizar hielo, agua fría...)</i>					
Puntuación total					
Suma de puntuación total					

Valoración: Nada (0-2) Leve (3-4) Moderada (5-6) Severa (≥6)

Intensidad del dolor **durante crisis** _____ (puntuación según escala analógica visual: 1-10)

Escala Analógica Visual (EVA)

Sin dolor Hacer dolor imaginable

|-----|

Escala Numérica Visual (ENVA)

Sin dolor Hacer dolor imaginable

0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	----

Escala Visual de Valoración (EVI)

0 Sin dolor

1 Dolor leve

2 Dolor modesto

3 Dolor intenso

4 Dolor fuerte

5 Dolor insportable

Intensidad del dolor **intercrisis** _____ (puntuación según escala analógica visual: 1-10)

Duración crisis: <1h 1h-24h 2h-48h 48h-72h >72h Nº horas _____

Frecuencia crisis: <1/mes 1/mes 2/mes 3/mes 4/mes

5/mes 6/mes >6/mes casi diaria

Días de dolor al mes: global _____/mes migrañoso _____/mes tensional _____/mes

VISITA BASAL-inclusió



CÓDIGO CHROMIG

SEROTECA

INICIALES _ _ _ _

Funcionament escalas de ocellata:

Discapacitat MICA

MICA	Rango
<input type="checkbox"/> Discapacitat nula o minima	(0-5)
<input type="checkbox"/> Discapacitat leve	(6-10)
<input type="checkbox"/> Discapacitat moderada	(11-20)
<input type="checkbox"/> Discapacitat grave	(≥ 21)

Impacte HIT-E

HIT-E	Rango
<input type="checkbox"/> Poca o ningun impacte	(0-49)
<input type="checkbox"/> Cloro impacte	(50-55)
<input type="checkbox"/> Impacte importante	(56-59)
<input type="checkbox"/> Impacte muy severo	(≥ 60)

Escalas Anxietat Estanc-Risgc BECK (ETA) :

Estanc _____	A = _____	B = _____
Risgc _____	A = _____	B = _____

Escala Depressió BECK (ECI-II)

ECI-II	Rango
<input type="checkbox"/> Ausencia sintomas	(0-5)
<input type="checkbox"/> Depressió ligera	(6-10)
<input type="checkbox"/> Depressió moderada	(11-20)
<input type="checkbox"/> Depressió grave	(21-30)

Escala Qualitat Vida (SF-36) :

FUNCIÓN FÍSICA (FH) _____
ROL FÍSICO (FR) _____
COLOM COGNOVAL (CF) _____
SALUC GENERAL (GH) _____
VITALIDAD (VT) _____
FUNCIÓNALIDAD SOCIAL (SF) _____
ROL EMOCIONAL (RE) _____
SALUC MENTAL (MH) _____

VISITA BASAL-inclusió



CÓDIGO CHROMIG

SEROTECA

INICIALES - - - -

Tratamiento FREVENTM

PRINCIPIO ACTIVO	NOFONE	CCS5 NGDA	EFICACIA	TOLERANCIA	PAE.	PAES.	TIEMPO
Antiepilepticos							
Carbamazepina (ACB)							
Fenitoina (MHF)							
Fenobarbital (A-BMF)							
Levetiracetam (ACL)							
Clobazam (ACB)							
Pragabalin (ACP)							
Topiramato (ACT)							
Valproato (AVV)							
Zonisamida (ACZ)							
Antidopaminérgicos (ADDA)							
Amantadina (DTM)							
Imipramina (DTI)							
ISRS							
Citalopram (DCL)							
Escitalopram (DSE)							
Fluoxetina (D-S-FX)							
Fluoxetina (D-S-FV)							
Paroxetina (D-SP)							
Sertralina (DSE)							
ISRS (OTROS Antidopaminérgicos)							
Mirtazapina (D-C-MZ)							
Trazodona (D-CT)							
Venlafaxina (D-CV)							
Batax							
Tolnaftato (CTT)							
B-bloqueantes							
Metoprolol (BSM)							
Bisoprolol (BSB)							
Carvedilol (BMC)							
Nadolol (BNN)							
Propafenolol (BNP)							
Calcio antagonistas							
Amlodipino besilato (CDM)							
Diltiazem (CDB)							
Nifedipino (C-D-NF)							
Nitroglicerina (C-D-NR)							
Propranolol anti-dopaminérgico							
Bolofenolol (VVB)							
Flunarizina (VVF)							
Terapias alternativas							
Acupuntura (TAM)							
Biofeedback (TAB)							
Herborización (THH)							
Yoga (TTC)							
Otros							

EFICACIA: Según escala analógica visual 1-10.

TOLERANCIA: 0 - NO TOLERANCIA: Abandona tratamiento por intolerancia. 1 - MALA: Abandona tratamiento por efectos secundarios. 2 - REGULAR: Presencia de efectos secundarios que no implican abandono del tratamiento. 3 - BUENA: Correcta.

VISITA BASAL-inclusión



CÓDIGO CHROMIG

SEROTECA

INICIALES _ _ _ _

CUMPLIMIENTO: **ÓPTIMO:** Toma siempre la medicación prescrita (100% de cumplimiento); **BUENO:** A veces olvida algún comprimido (80-90% de cumplimiento); **REGULAR:** Olvida tomar comprimidos de forma habitual (40-80% de cumplimiento); **MALO:** No lo toma o lo toma una mínima parte del tiempo (<40% de cumplimiento).

Tratamiento CRISIS

PRINCIPAL ACTIVO	NOMBRE	DOSIS COMIS	EFICACIA	TOLERANCIA	PAS.	PIES.	TIEMPO
Triptanes (T)							
	Amisriptán (TM)						
	Eliúriptán (TE)						
	Frovriptán (TF)						
	Naratriptán (TN)						
	Rizatriptán (TR)						
	Sumatriptán (TS)						
	Zolmitriptán (TZ)						
Derivados ergólicos (DE)							
	Dihidroergotamina						
	Dihidroergotamina+cafeína						
	Ergotamina+cafeína						
	Ergotamina+cafeína+paracetamol						
ANES (A)							
	ANES						
	ANES+cafeína						
	ANES+cafeína+codaina						
	ANES+cafeína+codaina+paracetamol						
	ANES+cafeína+paracetamol						
	ANES+codaina						
	Acetaminofeno						
	Dexaloprofeno trometamol (MD)						
	Diclofenaco sódico (ND)						
	Ibuprofeno (M)						
	Indometacina (MN)						
	Ketorolaco trometamol (MK)						
	Naproxeno (N)						
Analgésicos (ANES - ST - plus / ANS - Co - binados)							
	Ibuprofeno						
	Ibuprofeno ergonómico						
	Ibuprofeno sódico						
	Paracetamol						
	Paracetamol+cafeína						
	Paracetamol+cafeína+ANES						
	Paracetamol+cafeína+codaina						
	Paracetamol+cafeína+codaina+ANES						
	Paracetamol+cafeína+variza						
	Paracetamol+codaina						
	Paracetamol+codaina+ácido ascórbico						
	Paracetamol+codilubecolol						
OTROS (O)							

EFICACIA: Según escala analógica visual 1-10.

TOLERANCIA: 0 - NO TOLERANCIA: Abandona tratamiento por intolerancia. 1 - MALA: Abandona tratamiento por efectos secundarios. 2 - REGULAR: Presencia de efectos secundarios que no implican abandono del tratamiento. 3 - BUENA: Correcta.

VISITA BASAL-inclusión



CÓDIGO CHROMIG

SEROTECA

INICIALES _ _ _ _

Resolvió crisis tras tratamiento con triptán No Sí NS/NC

Frecuencia actual de consumo de analgésicos: Diario Veces/Semana Fin de semana
 Uno/semana Otros.....

Número de comprimidos analgésicos.....

Eficacia tratamiento global de la crisis (escala 1-10)

Laboratorio _____

Estudio genético: No Sí Fecha extracción: / /

Comentarios:.....

Consumo xantinas _____

CONSUMO DE XANTINAS			
SUSTANCIA	NCS	SUSTANCIA	NCS
Café		Refrescos	
Tazas de Café expés		Latas Cola	
Tazas de Café de cafetera		Latas Cola light	
Tazas de Café de goteo		Latas Cola descafeinada	
Tazas de Café instantáneo		Botellas Cola	
Tazas de Café de máquina		Botellas Cola light	
Tazas de Café descafeinado		Botellas Cola descafeinada	
Té		Vasos Cola	
Tazas de Té de bolsa		Vasos Cola light	
Tazas de Té de hoja		Vasos Cola descafeinada	
Tazas de Té instantáneo		Combinados con cola (cubatas)	
Mate (litros)		Combinados de cola embotellados (cubatas)	
Cacao		Latas de refresco de té (Nestea)	
Piezas de chocolate con leche		Botellas de refresco de té (Nestea)	
Piezas de chocolate negro		Vasos de refresco de té (Nestea)	
Barritas de chocolate		Latas de refresco de Guaraná	
Botellas/bricks de batido de cacao (Colacao)		Vasos de refresco de Guaraná	
Vasos de batido de cacao (Colacao)		Combinados con refresco de Guaraná	
		Latas de refresco energizantes (Red Bull)	
		Botellas de refresco energizantes (Red Bull)	
		Vasos de refresco energizantes (Red Bull)	
		Combinados con refrescos energizantes	

NCS: Número de consumos por semana

VISITA BASAL-inclusió



CÓDIGO CHROMIG

SEROTECA

INICIALES _ _ _ _

Abuso analgésicos

CONSUMO DE ANALGÉSICOS									
CONSUMO	Analgésicos Simples	Analgésicos Combinados (AC)	AC con codeína	AC sin codeína	AC con cafeína	AC sin cafeína	AINES	Ergóticos	Trópicos
<i>Clasificación</i> A: < 10 días T: < 5 días									
<i>Frecuencia</i> A: 10-15 días T: 5-9 días									
<i>Abuso</i> A: ≥ 15 días T: ≥ 10 días									
<i>Dependencia</i> Empoeramiento con abuso									
NO/BI/NE FA/NA/NOCC									

Marcar con una cruz la casilla que proceda.

CÓDIGO

INICIALES _ _ _ _

Escala MIDAS**Fecha:**

ESTE CUESTIONARIO SE USA PARA DEFINIR LA PÉRDIDA DE DÍAS EN TODAS LAS ÁREAS: PERSONAL, PROFESIONAL Y FAMILIAR DURANTE LOS ÚLTIMOS 3 MESES, POR HABER SUFRIDO CRISIS DE MIGRAÑA.

INSTRUCCIONES: Por favor, conteste las siguientes preguntas respecto a todas las cefaleas que ha sufrido en los últimos 3 meses. Escriba su respuesta al lado de la pregunta. Escriba un "0" si la cefalea no ha afectado su actividad en los últimos 3 meses.

1. ¿Cuántos días en los últimos 3 meses no ha podido ir a trabajar por su cefalea? _____
2. ¿Cuántos días en los últimos 3 meses se redujo por la mitad su productividad en el trabajo por sus cefaleas? (No incluya los días que ha incluido en la pregunta 1) _____
3. ¿Cuántos días en los últimos 3 meses no ha realizado sus tareas domésticas por sus cefaleas?

4. ¿Cuántos días en los últimos 3 meses se redujo por la mitad su productividad en la realización de tareas domésticas por la presencia de cefalea? (No incluya los días mencionados en la pregunta 3) _____
5. ¿Cuántos días en los últimos 3 meses se perdió actividades familiares, sociales o lúdicas por sus cefaleas? _____

Puntuación total: _____

Puntuación	Grado Discapacidad MIDAS
0-5 puntos	<input type="checkbox"/> Discapacidad nula o mínima
6-10 puntos	<input type="checkbox"/> Discapacidad leve
11-20 puntos	<input type="checkbox"/> Discapacidad moderada
>21 puntos	<input type="checkbox"/> Discapacidad grave

- A. ¿Cuántos días en los últimos 3 meses sufrió de cefalea? (Si el dolor ha durado más de un día, contabilizar días por separado) _____
- B. En una escala de 0-10, ¿cómo se podría puntuar el dolor sufrido con su cefalea? (Donde 0=sin dolor, y 10=dolor intenso) _____



CÓDIGO

INICIALES - - -

Escala HIT-6**Fecha:**

INSTRUCCIONES: En cada pregunta debe marcar con una cruz la casilla que corresponda a su respuesta.

1. Cuando usted tiene dolor de cabeza, ¿con qué frecuencia el dolor es intenso?

Nunca	Pocas veces	A veces	Muy a menudo	Siempre
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

2. ¿Con qué frecuencia el dolor de cabeza limita su capacidad para realizar actividades diarias habituales como las tareas domésticas, el trabajo, los estudios o actividades sociales?

Nunca	Pocas veces	A veces	Muy a menudo	Siempre
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

3. Cuando tiene dolor de cabeza, ¿con qué frecuencia desearía poder acostarse?

Nunca	Pocas veces	A veces	Muy a menudo	Siempre
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

4. En las últimas 4 semanas, ¿con qué frecuencia se ha sentido demasiado cansada/o para trabajar o realizar las actividades diarias debido a su dolor de cabeza?

Nunca	Pocas veces	A veces	Muy a menudo	Siempre
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

5. En las últimas 4 semanas, ¿con qué frecuencia se ha sentido harta/o o irritada/o debido a su dolor de cabeza?

Nunca	Pocas veces	A veces	Muy a menudo	Siempre
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

6. En las últimas 4 semanas, ¿con qué frecuencia el dolor de cabeza ha limitado su capacidad para concentrarse en el trabajo o en las actividades diarias?

Nunca	Pocas veces	A veces	Muy a menudo	Siempre
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>



CÓDIGO

INICIALES

- - - -

Questionario de Salud (SF-36) v.2
Fecha:

INSTRUCCIONES: Por favor conteste las siguientes preguntas. Algunas preguntas pueden parecerse a otras pero cada una es diferente. Tómese el tiempo necesario para leer cada pregunta y marque con una X la casilla que mejor describa su respuesta. ¡Gracias por contestar a estas preguntas!.

1. En general, usted diría que su salud es:

<input type="checkbox"/> ¹	<input type="checkbox"/> ²	<input type="checkbox"/> ³	<input type="checkbox"/> ⁴	<input type="checkbox"/> ⁵
Excelente	Muy buena	Buena	Regular	Mala

2. ¿Cómo diría usted que es su salud actual, comparada con la de hace un año?:

Mucho mejor ahora que hace un año	Algo mejor ahora que hace un año	Más o menos igual que hace un año	Algo peor ahora que hace un año	Mucho peor ahora que hace un año
<input type="checkbox"/> ¹	<input type="checkbox"/> ²	<input type="checkbox"/> ³	<input type="checkbox"/> ⁴	<input type="checkbox"/> ⁵

3. Las siguientes preguntas se refieren a actividades o cosas que usted podría hacer en un día normal. Su salud actual, ¿le limita para hacer esas actividades o cosas? Si es así, ¿cuánto?

	Sí, me limita mucho	Sí, me limita un poco	No, no me limita nada
a <u>Esfuerzos intensos</u> , tales como correr, levantar objetos pesados, o participar en deportes agotadores. -----	<input type="checkbox"/> ¹	<input type="checkbox"/> ²	<input type="checkbox"/> ³
b <u>Esfuerzos moderados</u> , como mover una mesa, pasar la aspiradora, jugar a los bolos o caminar más de 1 hora. -----	<input type="checkbox"/> ¹	<input type="checkbox"/> ²	<input type="checkbox"/> ³
c Coger o llevar la bolsa de la compra. -----	<input type="checkbox"/> ¹	<input type="checkbox"/> ²	<input type="checkbox"/> ³
d Subir <u>varios</u> pisos por la escalera. -----	<input type="checkbox"/> ¹	<input type="checkbox"/> ²	<input type="checkbox"/> ³
e Subir <u>un sólo</u> piso por la escalera. -----	<input type="checkbox"/> ¹	<input type="checkbox"/> ²	<input type="checkbox"/> ³
f Agacharse o arrodillarse. -----	<input type="checkbox"/> ¹	<input type="checkbox"/> ²	<input type="checkbox"/> ³
g Caminar <u>un kilómetro o más</u> -----	<input type="checkbox"/> ¹	<input type="checkbox"/> ²	<input type="checkbox"/> ³
h Caminar varios centenares de metros. -----	<input type="checkbox"/> ¹	<input type="checkbox"/> ²	<input type="checkbox"/> ³
i Caminar unos 100 metros. -----	<input type="checkbox"/> ¹	<input type="checkbox"/> ²	<input type="checkbox"/> ³
j Bañarse o vestirse por sí mismo. -----	<input type="checkbox"/> ¹	<input type="checkbox"/> ²	<input type="checkbox"/> ³



CÓDIGO

INICIALES

_ _ _

4. Durante las 4 últimas semanas, ¿con qué frecuencia ha tenido alguno de los siguientes problemas en su trabajo o en sus actividades cotidianas, a causa de su salud física?

	Siempre	Casi siempre	Algunas veces	Sólo alguna vez	Nunca
a ¿Tuvo que <u>reducir el tiempo</u> dedicado al trabajo o a sus actividades cotidianas?	<input type="checkbox"/> 1	<input type="checkbox"/> 2	<input type="checkbox"/> 3	<input type="checkbox"/> 4	<input type="checkbox"/> 5
b ¿Hizo <u>menos</u> de lo que hubiera querido hacer?	<input type="checkbox"/> 1	<input type="checkbox"/> 2	<input type="checkbox"/> 3	<input type="checkbox"/> 4	<input type="checkbox"/> 5
c ¿Tuvo que <u>dejar de hacer algunas tareas</u> en su trabajo o en sus actividades cotidianas?	<input type="checkbox"/> 1	<input type="checkbox"/> 2	<input type="checkbox"/> 3	<input type="checkbox"/> 4	<input type="checkbox"/> 5
d ¿Tuvo <u>dificultad</u> para hacer su trabajo o sus actividades cotidianas (por ejemplo, le costó más de lo normal)?	<input type="checkbox"/> 1	<input type="checkbox"/> 2	<input type="checkbox"/> 3	<input type="checkbox"/> 4	<input type="checkbox"/> 5

5. Durante las 4 últimas semanas, ¿con qué frecuencia ha tenido alguno de los siguientes problemas en su trabajo o en sus actividades cotidianas, a causa de algún problema emocional (como estar triste, deprimido o nervioso)?

	Siempre	Casi siempre	Algunas veces	Sólo alguna vez	Nunca
a ¿Tuvo que <u>reducir el tiempo</u> dedicado al trabajo o a sus actividades cotidianas <u>por algún problema emocional</u> ?	<input type="checkbox"/> 1	<input type="checkbox"/> 2	<input type="checkbox"/> 3	<input type="checkbox"/> 4	<input type="checkbox"/> 5
b ¿Hizo <u>menos</u> de lo que hubiera querido hacer <u>por algún problema emocional</u> ?	<input type="checkbox"/> 1	<input type="checkbox"/> 2	<input type="checkbox"/> 3	<input type="checkbox"/> 4	<input type="checkbox"/> 5
c ¿Hizo su trabajo o sus actividades cotidianas <u>menos cuidadosamente</u> que de costumbre, <u>por algún problema emocional</u> ?	<input type="checkbox"/> 1	<input type="checkbox"/> 2	<input type="checkbox"/> 3	<input type="checkbox"/> 4	<input type="checkbox"/> 5

6. Durante las 4 últimas semanas, ¿hasta qué punto su salud física o los problemas emocionales han dificultado sus actividades sociales habituales con la familia, los amigos, los vecinos u otras personas?

Nada	Un poco	Regular	Bastante	Mucho
<input type="checkbox"/> 1	<input type="checkbox"/> 2	<input type="checkbox"/> 3	<input type="checkbox"/> 4	<input type="checkbox"/> 5



CÓDIGO

INICIALES — — —

7. ¿Tuvo dolor en alguna parte del cuerpo durante las 4 últimas semanas?

No, ninguno	Sí, muy poco	Sí, un poco	Sí, moderado	Sí, mucho	Sí, muchísimo
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

8. Durante las 4 últimas semanas, ¿hasta qué punto el dolor le ha dificultado su trabajo habitual (incluido el trabajo fuera de casa y las tareas domésticas)?

Nada	Un poco	Regular	Bastante	Mucho
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

9. Las preguntas que siguen se refieren a cómo se ha sentido y cómo le han ido las cosas durante las 4 últimas semanas. En cada pregunta responda lo que se parezca más a cómo se ha sentido usted. Durante las últimas 4 semanas ¿con qué frecuencia...

	Siempre	Casi siempre	Algunas veces	Sólo alguna vez	Nunca
a se sintió lleno de vitalidad?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
b estuvo muy nervioso?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
c se sintió tan bajo de moral que nada podía animarle?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
d se sintió calmado y tranquilo?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
e tuvo mucha energía?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
f se sintió desanimado y deprimido?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
g se sintió agotado?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
h se sintió feliz?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
i se sintió cansado?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

10. Durante las 4 últimas semanas, ¿con qué frecuencia la salud física o los problemas emocionales le han dificultado sus actividades sociales (como visitar a los amigos o familiares)?

Siempre	Casi siempre	Algunas veces	Sólo alguna vez	Nunca
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>



CÓDIGO

INICIALES _ _ _ _

11. Por favor diga si le parece CIERTA o FALSA cada una de las siguientes frases:

	Totalmente cierta	Bastante cierta	No lo sé	Bastante falsa	Totalmente falsa
a Creo que me pongo enfermo más facilmente que otras personas	<input type="checkbox"/> 1	<input type="checkbox"/> 2	<input type="checkbox"/> 3	<input type="checkbox"/> 4	<input type="checkbox"/> 5
b Estoy tan sano como cualquiera	<input type="checkbox"/> 1	<input type="checkbox"/> 2	<input type="checkbox"/> 3	<input type="checkbox"/> 4	<input type="checkbox"/> 5
c Creo que mi salud va a empeorar	<input type="checkbox"/> 1	<input type="checkbox"/> 2	<input type="checkbox"/> 3	<input type="checkbox"/> 4	<input type="checkbox"/> 5
d Mi salud es excelente	<input type="checkbox"/> 1	<input type="checkbox"/> 2	<input type="checkbox"/> 3	<input type="checkbox"/> 4	<input type="checkbox"/> 5

Gracias por contestar a estas preguntas

SF-36v2™ Health Survey © 1993, 2003 Health Assessment Lab, Medical Outcomes Trust, and QualityMetric Incorporated.
SF-36® is a registered trademark of Medical Outcomes Trust. (SF-36v2 Estándar, España (Español) Versión 2.0)

Puntuación total:

FUNCIÓN FÍSICA (PH)____
 ROL FÍSICO (PR)____
 DOLOR CORPORAL (BP)____
 SALUD GENERAL (GH)____
 VITALIDAD (VT)____
 FUNCIONALIDAD SOCIAL (SF)____
 ROL EMOCIONAL (RE)____
 SALUD MENTAL (MH)____



CÓDIGO

INICIALES _ _ _ _

Inventario de Ansiedad-Rasgo (STAI)Fecha: **ANSIEDAD-ESTADO**

INSTRUCCIONES: A continuación encontrará unas frases que se utilizan corrientemente para describirse uno a sí mismo. Lea cada frase y señale la puntuación de 0 a 3 que indique mejor cómo se siente ***usted ahora mismo***, en este momento. No hay respuestas buenas ni malas. No emplee demasiado tiempo en cada frase y conteste señalando la respuesta que mejor describa su situación presente.

<p>1. Me siento calmado.</p> <p>0. Nada</p> <p>1. Algo</p> <p>2. Bastante</p> <p>3. Mucho</p> <p>2. Me siento seguro.</p> <p>0. Nada</p> <p>1. Algo</p> <p>2. Bastante</p> <p>3. Mucho</p> <p>3. Estoy tenso.</p> <p>0. Nada</p> <p>1. Algo</p> <p>2. Bastante</p> <p>3. Mucho</p> <p>4. Estoy contrariado.</p> <p>0. Nada</p> <p>1. Algo</p> <p>2. Bastante</p> <p>3. Mucho</p> <p>5. Me siento cómodo (estoy a gusto).</p> <p>0. Nada</p> <p>1. Algo</p> <p>2. Bastante</p> <p>3. Mucho</p> <p>6. Me siento alterado.</p> <p>0. Nada</p> <p>1. Algo</p> <p>2. Bastante</p> <p>3. Mucho</p> <p>7. Estoy preocupado ahora por posibles desgracias futuras.</p> <p>0. Nada</p> <p>1. Algo</p> <p>2. Bastante</p> <p>3. Mucho</p>	<p>8. Me siento descansado.</p> <p>0. Nada</p> <p>1. Algo</p> <p>2. Bastante</p> <p>3. Mucho</p> <p>9. Me siento angustiado.</p> <p>0. Nada</p> <p>1. Algo</p> <p>2. Bastante</p> <p>3. Mucho</p> <p>10. Me siento confortable.</p> <p>0. Nada</p> <p>1. Algo</p> <p>2. Bastante</p> <p>3. Mucho</p> <p>11. Tengo confianza en mí mismo.</p> <p>0. Nada</p> <p>1. Algo</p> <p>2. Bastante</p> <p>3. Mucho</p> <p>12. Me siento nervioso.</p> <p>0. Nada</p> <p>1. Algo</p> <p>2. Bastante</p> <p>3. Mucho</p> <p>13. Estoy desasosegado.</p> <p>0. Nada</p> <p>1. Algo</p> <p>2. Bastante</p> <p>3. Mucho</p> <p>14. Me siento muy "atado" (como oprimido).</p> <p>0. Nada</p> <p>1. Algo</p> <p>2. Bastante</p> <p>3. Mucho</p>
--	---



CÓDIGO

INICIALES - - -

CONTINÚA EN LA PÁGINA SIGUIENTE →

<p>15. Estoy relajado. 0. Nada 1. Algo 2. Bastante 3. Mucho</p> <p>16. Estoy satisfecho. 0. Nada 1. Algo 2. Bastante 3. Mucho</p> <p>17. Estoy preocupado. 0. Nada 1. Algo 2. Bastante 3. Mucho</p> <p>18. Me siento aturdido y sobreexcitado. 0. Nada 1. Algo 2. Bastante 3. Mucho</p> <p>19. Me siento alegre. 0. Nada 1. Algo 2. Bastante 3. Mucho</p> <p>20. En este momento me siento bien. 0. Nada 1. Algo 2. Bastante 3. Mucho</p>	
---	--

____ **Puntuación Total**

A= ____

B= ____



CÓDIGO

INICIALES _ _ _

ANSIEDAD-RASGO

INSTRUCCIONES: A continuación encontrará unas frases que se utilizan corrientemente para describirse uno a sí mismo. Lea cada frase y señale la puntuación de 0 a 3 que indique mejor cómo se siente usted en general, en la mayoría de las ocasiones. No hay respuestas buenas ni malas. No emplee demasiado tiempo en cada frase y conteste señalando la respuesta que mejor describa cómo se siente usted generalmente.

<p>1. Me siento bien. 0. Casi nunca 1. A veces 2. A menudo 3. Casi siempre</p> <p>2. Me canso rápidamente. 0. Casi nunca 1. A veces 2. A menudo 3. Casi siempre</p> <p>3. Siento ganas de llorar. 0. Casi nunca 1. A veces 2. A menudo 3. Casi siempre</p> <p>4. Me gustaría ser tan feliz como otros. 0. Casi nunca 1. A veces 2. A menudo 3. Casi siempre</p> <p>5. Pierdo oportunidades por no decidirme pronto. 0. Casi nunca 1. A veces 2. A menudo 3. Casi siempre</p> <p>6. Me siento descansado. 0. Casi nunca 1. A veces 2. A menudo 3. Casi siempre</p> <p>7. Soy una persona tranquila, serena y sosegada. 0. Casi nunca 1. A veces 2. A menudo 3. Casi siempre</p>	<p>8. Veo que las dificultades se amontonan y no puedo con ellas. 0. Casi nunca 1. A veces 2. A menudo 3. Casi siempre</p> <p>9. Me preocupo demasiado por cosas sin importancia. 0. Casi nunca 1. A veces 2. A menudo 3. Casi siempre</p> <p>10. Soy feliz. 0. Casi nunca 1. A veces 2. A menudo 3. Casi siempre</p> <p>11. Suelo tomar las cosas demasiado seriamente. 0. Casi nunca 1. A veces 2. A menudo 3. Casi siempre</p> <p>12. Me falta confianza en mí mismo. 0. Casi nunca 1. A veces 2. A menudo 3. Casi siempre</p> <p>13. Me siento seguro. 0. Casi nunca 1. A veces 2. A menudo 3. Casi siempre</p> <p>14. No suelo afrontar las crisis o dificultades. 0. Casi nunca 1. A veces 2. A menudo 3. Casi siempre</p>
---	---



CÓDIGO

INICIALES _ _ _

CONTINÚA EN LA PÁGINA SIGUIENTE →

15. Me siento triste (melancólico).

- 0. Casi nunca
- 1. A veces
- 2. A menudo
- 3. Casi siempre

16. Estoy satisfecho.

- 0. Casi nunca
- 1. A veces
- 2. A menudo
- 3. Casi siempre

17. Me rondan y molestan pensamientos sin importancia.

- 0. Casi nunca
- 1. A veces
- 2. A menudo
- 3. Casi siempre

18. Me afectan tanto los desengaños que no puedo olvidarlos.

- 0. Casi nunca
- 1. A veces
- 2. A menudo
- 3. Casi siempre

19. Soy una persona estable.

- 0. Casi nunca
- 1. A veces
- 2. A menudo
- 3. Casi siempre

20. Cuando pienso sobre asuntos y preocupaciones actuales me pongo tenso y agitado.

- 0. Casi nunca
- 1. A veces
- 2. A menudo
- 3. Casi siempre

___ Puntuación Total

A= ___

B= ___



C3DIGO

INICIALES _ _ _

Inventario Depresi3n de Beck
Fecha:

INSTRUCCIONES: Este cuestionario consiste en 21 grupos de afirmaciones. Por favor, lea con atenci3n cada uno de ellos y, a continuaci3n, se3ale cu3l de las afirmaciones de cada grupo describe mejor **su estado de 3nimo (situaci3n actual)**.

Rodee con un c3rculo la letra que corresponda a la afirmaci3n que haya elegido. Marque s3lo una respuesta en cada apartado y no deje ninguno en blanco. **Aseg3rese de leer todas las afirmaciones dentro de cada grupo antes de efectuar la elecci3n.**

1. Tristeza.

- 0 No me siento triste.
- 1 Me siento triste.
- 2 Siempre me siento triste o afligido y no puedo evitarlo.
- 3 Me siento tan triste o afligido que no puedo soportarlo.

2. Pesimismo.

- 0 No me siento especialmente desanimado ante el futuro.
- 1 Me siento desanimado ante el futuro.
- 2 No hay nada que me haga ilusi3n.
- 3 Creo que las cosas no pueden mejorar y no tengo ninguna esperanza de futuro.

3. Sentimientos de Fracaso.

- 0 No me siento fracasado.
- 1 Me siento m3s fracasado que la mayor3a de la gente.
- 2 Cuando recuerdo mi pasado no veo m3s que fracaso.
- 3 Creo que soy un fracaso total como persona.

4. P3rdida de placer.

- 0 Me siento tan satisfecho como antes.
- 1 Ya no me gustan las cosas tanto como antes.
- 2 Ya no me satisface nunca nada.
- 3 Estoy insatisfecho o aburrido de todo.

5. Sentimientos de culpa.

- 0 No me siento especialmente culpable.
- 1 A veces me siento culpable.
- 2 La mayor parte del tiempo me siento bastante culpable.
- 3 Continuamente me siento culpable.

6. Sentimientos de castigo.

- 0 No me siento maltratado.
- 1 Tengo la sensaci3n de que me pueden maltratar.
- 2 Creo que me maltratan.
- 3 Tengo la sensaci3n de que me est3n maltratando.

7. Insatisfacci3n con uno mismo.

- 0 No me siento decepcionado conmigo mismo.
- 1 Estoy decepcionado conmigo mismo.
- 2 Estoy asqueado de m3 mismo.
- 3 Me odio.

8. Auto-cr3ticas.

- 0 No creo que sea peor que los dem3s.
- 1 Soy cr3tico conmigo mismo por mis debilidades o errores.
- 2 Me culpo continuamente por mis equivocaciones.
- 3 Me culpo continuamente de todo lo que va mal.

9. Pensamientos o Deseos de Suicidio.

- 0 No tengo pensamientos de matarme.
- 1 Tengo pensamientos de matarme.
- 2 Me gustar3a matarme.
- 3 Me matar3a si tuviese la oportunidad.

10. Llanto.

- 0 No lloro m3s de lo normal.
- 1 Lloro m3s que antes.
- 2 Ahora lloro siempre.
- 3 Antes acostumbraba a llorar, pero ahora ya no puedo aunque quiera.

CONTIN3A EN LA P3GINA SIGUIENTE →



C3DIGO

INICIALES

- - -

11. Agitaci3n.

- 0 No estoy m3s irritado que antes.
- 1 Me preocupo o me irrito m3s f3cilmente que antes.
- 2 Me siento irritado continuamente.
- 3 Ya no me irritan en absoluto cosas que antes me irritaban.

12. P3rdida de inter3s.

- 0 No he perdido el inter3s por la gente.
- 1 Estoy menos interesado por la gente que antes.
- 2 He perdido gran parte del inter3s por la gente.
- 3 Ya no puedo tomar ninguna decisi3n nunca m3s.

13. Indecisi3n.

- 0 Tomo decisiones tan bien como siempre.
- 1 Retraso las decisiones m3s que antes.
- 2 Me cuesta tomar las decisiones m3s que antes.
- 3 Ya no puedo tomar ninguna decisi3n nunca m3s..

14. Aspecto.

- 0 No creo que tenga un aspecto peor que antes.
- 1 Me preocupa tener un aspecto envejecido o poco atractivo.
- 2 Creo que hay cambios permanentes en mi apariencia que me dan un aspecto poco atractivo.
- 3 Creo que parezco feo.

15. P3rdida de Energ3a.

- 0 Puedo trabajar tan bien como antes.
- 1 Me supone un esfuerzo extra empezar a hacer alguna cosa.
- 2 Tengo que esforzarme much3simo para hacer cualquier cosa.
- 3 No puedo hacer ning3n tipo de trabajo.

16. Cambios en el Patr3n de Sue3o

- 0 Puedo dormir tan bien como antes.
- 1 No duermo tan bien como antes.
- 2 Me despierto una o dos horas m3s temprano que antes y no puedo volver a dormir.
- 3 Me despierto varias horas m3s temprano que antes y no puedo volver a dormir.

17. Cansancio.

- 0 No me canso m3s que antes.
- 1 Me canso con m3s facilidad que antes.
- 2 Me canso al hacer casi cualquier cosa.
- 3 Estoy demasiado cansado para hacer algo.

18. P3rdida de apetito.

- 0 No tengo menos hambre que antes.
- 1 No tengo tanta hambre como antes.
- 2 Actualmente tengo mucha menos hambre.
- 3 Ya no tengo hambre nunca.

19. P3rdida de peso.

- 0 No he perdido peso o casi nada 3ltimamente.
- 1 He perdido m3s de 2,5 kg.
- 2 He perdido m3s de 5 kg.
- 3 He perdido m3s de 7,5 kg.

20. Hipocondr3a.

- 0 Mi salud no me preocupa m3s que antes.
- 1 Estoy preocupado por molestias f3sicas como dolores, o bien molestias g3stricas, o bien estre3imiento.
- 2 Estoy muy preocupado por molestias f3sicas y me resulta dif3cil pensar en otras cosas.
- 3 Estoy tan preocupado por molestias f3sicas que no puedo pensar en nada m3s.

21. L3bido.

- 0 No he notado ning3n cambio reciente en mi inter3s por el sexo.
- 1 Estoy menos interesado por el sexo que antes.
- 2 Estoy bastante menos interesado por el sexo que antes.
- 3 He perdido totalmente mi inter3s por el sexo.

Model de calendari anual utilitzat:


En la coberta de cada mes els pacients anotaven el seu tractament profilàctic per la migranya o qualsevol altre tractament diari per altres malalties. En la graella inferior els pacients anotaven els dies de dolor segons el codi d'intensitat indicat i la presència d'aura.



chromG

**GENOTIPADO DEL RIESGO
A DESARROLLAR
MIGRAÑA CRÓNICA**

Migraña, del griego *hemigrania*.
Trastorno común de cefalea generalmente
caracterizado por dolor de localización unilateral,
pulsátil, de intensidad moderada a severa y
que se agrava con la actividad física rutinaria.



ENERO

Tratamiento/Dosis:

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....





Ilustración del aura visual.
National Migraine Art competition, 2005.





INICIALES: FECHA NACIMIENTO:

Nº CHROMIG: Nº HC:

Hospital Universitario Vall d'Hebron
Servicio de Neurología
93.274.61.41
Contacto: Dra. Pozo 672.204.546

REGISTRO MIGRAÑAS ENERO

días		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31		
horas	1																																	
	2																																	
	3																																	
	4																																	
	5																																	
	6																																	
	7																																	
	8																																	
	9																																	
	10																																	
	11																																	
	12																																	
	13																																	
	14																																	
	15																																	
	16																																	
	17																																	
	18																																	
	19																																	
	20																																	
	21																																	
	22																																	
	23																																	
	24																																	
M																																		
P																																		

Rellene el calendario con los siguientes símbolos cada vez que sufra un episodio de migraña.

Dolor leve

Dolor moderado

Dolor fuerte

Indique si sufre AURA:

AV Visual

AS Sensitiva

AL Lenguaje

Otros datos de interés:

Marque con una X los días del mes correspondientes a:

M: menstruación
P: píldora anticonceptiva

Abstracts i comunicacions a congressos derivats d'aquests treballs:

1. Fernandez-Morales J, Fernandez-Cadenas I, Alvarez-Sabin J, Montaner J, Vila-Pueyo M, Pozo-Rosich P. *Clinical characterization of migraine patients: the CHROMIG study*. **Pòster** (PO191). Cephalalgia 2009, 29(Suppl. 1):86. 14th Congress International Headache Society (IHC). Philadelphia, EE.UU. Setembre 2009.
2. Fernandez-Morales J, Fernandez-Cadenas I, Alvarez-Sabin J, Montaner J, Vila-Pueyo M, Pozo-Rosich P. *Caracterización clínica de pacientes migrañosos: el estudio CHROMIG*. **Comunicació oral**. LXI Reunión Anual de la Sociedad Española de Neurología. Barcelona, 18 novembre 2009. Neurología 2009;24(8):540.
3. Fernandez-Morales J, Pozo-Rosich P, Fernandez-Cadenas I, Penalba Morenilla A, Navarro Sobrino M, Vila-Pueyo M, Alvarez-Sabin J, Montaner J. *Análisis de la expresión de metaloproteasas en pacientes con migraña*. **Comunicació oral**. LXI Reunión Anual de la Sociedad Española de Neurología. Barcelona, 18 novembre 2009. Neurología 2009;24(8):558.
4. Fernández-Morales J, Fernández-Cadenas I, Álvarez-Sabín J, Montaner J, Durà J, Pozo-Rosich P. *Factores de riesgo clínicos de cronificación en la migraña: el estudio CHROMIG*. **Comunicació oral**. LXII Reunión Anual de la Soceidad Española de Neurología. Barcelona, 18 novembre 2010. Neurología 2010;25:6.
5. Fernandez-Morales J, Fernandez-Cadenas I, Cuenca-Leon E, Macaya A, Alvarez-Sabin J, Pozo-Rosich P. *Case-control candidate-gene association study in Spanish migraineurs*. **Pòster**. Cephalalgia 2011;31 (suppl 1):95. 15th Congress International Headache Society (IHC).Berlin. 23-26 juny 2011.
6. Pozo-Rosich P, Fernandez-Morales J, Fernandez-Cadenas I, Alvarez-Sabin J, Montaner J. *Clinical characteristics associated with the chronification of migraine: the CHROMIG study*. **Pòster**. Cephalalgia 2011;31 (suppl 1):95. 15th Congress International Headache Society (IHC).Berlin. 23-26 juny 2011.
7. Mas Sala N, Fernández Morales J, Álvarez Sabin J, Pozo Rosich P. *Seguimiento de las crisis de migraña mediante calendario como herramienta útil para su clasificación y tratamiento*. **Comunicació oral**. LXIII Reunión Anual de la Sociedad Española de Neurología. Barcelona, 16 novembre 2011. Neurología 2011;26:5.
8. Fernández Morales J, Fernández Cadenas I, Vila Pueyo M, Macaya Ruiz A, Álvarez Sabin J, Montaner J, Pozo-Rosich P. *Un polimorfismo en el gen SPTAN 1 asociado a migraña en población española*. **Comunicació oral**. LXIII Reunión Anual de la Sociedad Española de Neurología. Barcelona, 16 novembre 2011. Neurología 2011;26:11.
9. Fernández Morales J, Fernández Cadenas I, Cuenca Leon E, Macaya Ruiz A, Álvarez Sabin J, Montaner J, Pozo-Rosich P. *Implicación en migraña del gen del receptor B de la endotelina (EDNRB) en población española*. **Comunicació oral**. LXIII Reunión Anual de la Sociedad Española de Neurología. Barcelona, 16 novembre 2011. Neurología 2011;26:11.
10. Pozo-Rosich P, Fernández Morales J, Quintana Luque M, Álvarez-Sabin J. *Una comparación clínica de la migraña según los días de dolor mensuales sufridos plantea dudas sobre la clasificación de la IHS*. **Comunicació oral**. LXIII Reunión Anual de la Sociedad Española de Neurología. Barcelona, 16 novembre 2011. Neurología 2011;26:5.
11. J. Fernandez-Morales, I. Fernandez-Cadenas, M. Vila-Pueyo, B. Cormand, J. Alvarez-Sabin, J. Montaner, A. Macaya, P. Pozo-Rosich. *Polymorphisms in CGRP Receptor Genes Associated with*

Migraine in a Spanish Population. Pòster 210. Cephalalgia 2013;33 (suppl 8):152. 16th Congress International Headache Society (IHC). Boston (EE.UU.) 25-28 juny 2011.

12. J. Fernandez-Morales, B. de Vries, B. Winsvold, V. Anttila, I. Fernandez-Cadenas, M. Louter, M. Vila-Pueyo, B. Cormand, J. Alvarez-Sabin, J. Montaner, A. van den Maagdenberg, A. Palotie, J.-A. Zwart, A. Macaya, G.M. Terwindt, P. Pozo-Rosich. *Genotyping the Risk of Migraine Chronification: The CHROMIG Study*. Pòster 212. Cephalalgia 2013;33 (suppl 8):153. 16th Congress International Headache Society (IHC). Boston (EE.UU.) 25-28 juny 2011. *Seleccionat per a comunicació oral en el 1r IHC Headache Trainees Excellence Tournament.

Abstracts en els que s'ha utilitzat la nostra sèrie com a mostra de replicació:

13. Carreño O, Corominas R, Sobrido MJ, Pardo J, Fernandez-Morales J, Fernandez-Fernandez JM, Pozo-Rosich P, Cormand B, Macaya A. *TRP channels: a case-control association study with migraine*. Pòster. Eur J Hum Genet 2010;18 (suppl. 1):247. European Society of Human Genetics Conference 2010, Goteborg, Suecia, 12-15 Junio.

14. Corominas R, Carreño O, Sobrido MJ, Camiña M, Vila-Pueyo M, Narberhaus B, Pozo-Rosich P, Macaya A, Cormand B. *Synaptic exocytosis in migraine: association study of the SNARE complex and related genes in a Spanish population*. Pòster. Eur J Hum Genet 2010;18 (suppl. 1):245. European Human Genetics Conference 2010, Goteborg, Suecia, 12-15 junio.

Publicacions en les quals s'ha utilitzat la nostra mostra com a replicació:

15. Freilinger T, Anttila V, de Vries B, Malik R, Kallela M, Terwindt G, Pozo-Rosich P, et al. For the International Headache Genetics Consortium. *Genome-wide association analysis identifies several susceptibility loci for migraine without aura*. Nat Genet 2012 Jun 10;44(7):777-782. Factor d'impacte: 35,532.

16. Sintas C, Carreño O, Fernandez-Morales J, Cacheiro P, Sobrido MJ, Naberhaus B, Pozo-Rosich P, Macaya A, Cormand B. *A replication study of a GWAS finding in migraine does not identify association in a Spanish case-control sample*. Cephalalgia 2012 Oct;32(14):1076-1080. Factor d'impacte: 3,485.

17. Carreño O, Corominas R, Fernandez-Morales J, Camiña M, Sobrido MJ, Fernandez-Fernandez JM, Pozo-Rosich P, Cormand B, Macaya A. *SNP variants within the vanilloid TRPV1 and TRPV3 receptor genes are associated with migraine in the Spanish population*. Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet 2012 Jan;159B(1):94-103. Factor d'impacte: 4,156.