

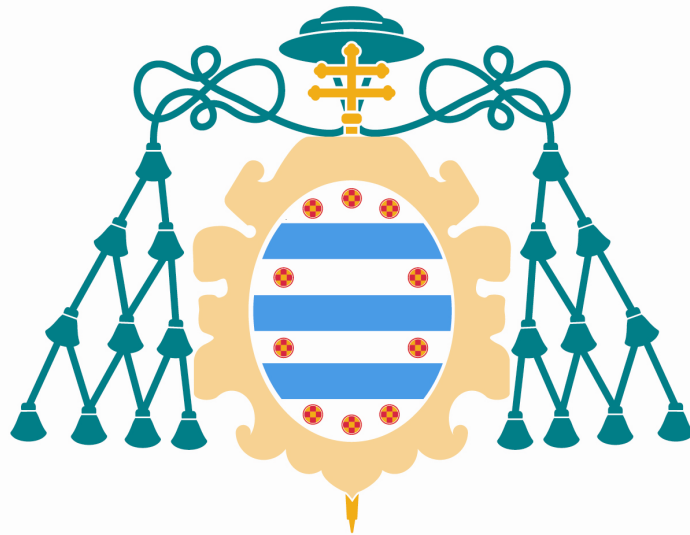


Universidad de Oviedo

PROGRAMA DE DOCTORADO: CIENCIAS DE LA SALUD

**Síntomas parasimpáticos craneales en
pacientes con migraña crónica y correlación
con biomarcadores**

Nuria Pilar Riesco Pérez



Universidad de Oviedo

PROGRAMA DE DOCTORADO: CIENCIAS DE LA SALUD

**Síntomas parasimpáticos craneales en
pacientes con migraña crónica y correlación
con biomarcadores**

Nuria Pilar Riesco Pérez



RESUMEN DEL CONTENIDO DE TESIS DOCTORAL

1.- Título de la Tesis	
Español/Otro Idioma: Síntomas parasimpáticos craneales en pacientes con migraña crónica y correlación con biomarcadores.	Inglés: Cranial parasympathetic symptoms in patients with chronic migraine and correlation with biomarkers

2.- Autor	
Nombre: NURIA PILAR RIESCO PÉREZ	
Programa de Doctorado: Ciencias de la Salud	
Órgano responsable: Centro internacional de postgrado	

RESUMEN (en español)

INTRODUCCIÓN

La migraña frecuentemente asocia síntomas autonómicos generales o craneales, lo que sugiere la participación del sistema nervioso autónomo en su fisiopatología. El dolor de la migraña resulta de la activación del sistema trigémino-vascular (STV) mediante la liberación de neuropéptidos vasoactivos, principalmente el péptido relacionado con el gen de calcitonina (CGRP), el péptido intestinal vasoactivo (VIP) y el polipéptido activador de adenilato ciclasa pituitaria (PACAP). Nuestro grupo de trabajo ha demostrado un aumento en los niveles plasmáticos del marcador parasimpático VIP en pacientes con MC, aunque esta elevación fue menos consistente que la observada para CGRP. Asimismo, evidencias recientes indican que la liberación de PACAP por el brazo eferente del TVS también podría estar implicada en la aparición de síntomas autonómicos craneales parasimpáticos (CAPS) y en el desarrollo del dolor en la migraña. Finalmente, los niveles séricos de la proteína glial S100B han sido estudiados en pacientes con migraña con resultados inconsistentes.

OBJETIVOS

- Analizar la prevalencia y el perfil de los síntomas autonómicos craneales, fundamentalmente los CAPS, en una serie de pacientes con MC mediante el uso de una nueva escala numérica. Para comprobar la validez de la escala diseñada, se aplicó en un grupo de pacientes con cefalea en racimos (CR).
- Correlacionar la presencia y grado de activación parasimpática craneal, con los niveles séricos de VIP y CGRP en una serie de pacientes con MC.
- Determinar los niveles séricos interictales del neuropéptido PACAP y de la proteína S100B en pacientes con MC, como posibles biomarcadores de la activación parasimpática y glial, respectivamente, del STV en la MC.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se preguntó a los pacientes con MC por la presencia, durante sus crisis de migraña, de 5 CAPS (lagrimeo, inyección conjuntival, edema palpebral, sensación de plenitud óptica y congestión nasal o rinorrea). Mediante la aplicación de una nueva escala cuantitativa, cada paciente obtuvo una puntuación entre 0-10 puntos. Los niveles séricos de VIP, CGRP, PACAP y S100B se determinaron mediante ELISA. Como grupos de control, los niveles de estos neuropéptidos también se midieron en pacientes con migraña episódica (ME), CR y en voluntarios sanos (VS) sin antecedentes de cefalea.



RESULTADOS

La mayoría de los pacientes con MC presentaron algunos de los CAPS evaluados (82%). La media y la mediana de CAPS fueron 2,1 y 2 respectivamente. Solo el 6% de los pacientes con MC obtuvo una puntuación superior a 5 puntos. El CAPS más prevalente fue el lagrimeo (49%). Ninguna de las variables clínico-demográficas estudiadas se asoció con la puntuación CAPS en los pacientes con MC. La media de la puntuación CAPS en pacientes con CR fue significativamente mayor que la observada en el grupo de MC (4,16 puntos vs. 2,11 puntos respectivamente; $p = 0,003$).

Los niveles de VIP fueron significativamente más elevados en los pacientes con MC con uno o más puntos en la escala que aquellos con cero puntos ($p = 0,002$). Solo el lagrimeo se asoció significativamente con el incremento de los niveles de VIP. Se observó una correlación positiva significativa entre las puntuaciones en la escala de CAPS y los niveles de VIP, pero no con el CGRP. Con respecto al PACAP, no hubo diferencias en los niveles de este neuropéptido parasimpático entre los distintos grupos. Finalmente, los niveles de S100B en pacientes con MC no fueron significativamente diferentes en comparación con los de pacientes con ME, pacientes con CR o VS.

CONCLUSIONES

Se presenta la primera escala diseñada para la evaluación de CAPS en las cefaleas primarias, y mediante su aplicación se observa una alta prevalencia de CAPS en los pacientes con MC, lo que apoyaría el papel del parasimpático craneal en la fisiopatología de la migraña. Se comprueba la validez de la escala de CAPS propuesta aplicándola sobre un grupo de sujetos con CR, obteniendo mayores puntuaciones. Los niveles séricos de VIP, a diferencia de los de CGRP, se correlacionan con la presencia de CAPS en los pacientes con MC, reflejando la activación del sistema parasimpático craneal. De nuestros datos se deduce que no hay evidencias científicas que apoyen la utilidad del PACAP y de la proteína S100B como biomarcadores periféricos de la activación de parasimpática y glial del STV en la MC.

RESUMEN (en Inglés)

INTRODUCTION

Migraine frequently associates general or cranial autonomic symptoms (CAS), suggesting the involvement of the autonomic nervous system. Migraine pain is the result of the activation of the trigemino-vascular system (TVS) which releases vasoactive neuropeptides, mainly calcitonin gene-related peptide (CGRP), vasoactive intestinal peptide (VIP) and pituitary adenylate cyclase activating polypeptide (PACAP). Our group has demonstrated an increase in plasma levels of the parasympathetic marker VIP in CM patients, though this elevation was less consistent than that seen for CGRP. Also, recent evidence indicates that the release of PACAP by the efferent arm of the TVS might also be implicated in the appearance of cranial autonomic parasympathetic symptoms (CAPS) and in the development of migraine headache. On the other hand, S100B protein is produced mostly by glial cells in the central nervous system and recently an increased expression of S100B has been shown after experimental stimulation of trigeminal nerves. However, S100B serum levels have been studied with inconsistent results in migraine patients.



OBJECTIVES

- To analyse the prevalence and profile of CAS, mainly CAPS, in a series of patients with CM by using a new numerical scale. To check the validity of the designed scale, it was applied in a group of patients with cluster headache (CH).
- To correlate the presence and grade of cranial parasympathetic activation, with blood levels of VIP and CGRP in a series of CM patients.
- To determine interictal serum levels of the PACAP neuropeptide and the S100B protein in patients with CM, as possible biomarkers of parasympathetic and glial activation, respectively, of TVS in CM.

MATERIAL AND METHODS

CM patients were asked on the presence -during their migraine attacks- of 5 CAPS (lacrimation, conjunctival injection, eyelid edema, sensation of fullness in the ear and nasal congestion or rhinorrhoea). By using a new quantitative scale each patient obtained a score between 0-10 points. Interictal serum VIP, CGRP, PACAP and S100B levels were determined by ELISA. As control groups, levels of these neuropeptides were also measured in patients with episodic migraine (EM), CH, and in healthy volunteers (HV) with no headache history.

RESULTS

Most CM patients presented some of the CAPS evaluated (82%). The mean and median of CAPS were 2,1 and 2, respectively. Only 6% of patients with CM scored higher than 5 points. The most prevalent CAPS was lacrimation (49%). None of the clinical-demographic variables studied were associated with the CAPS score in patients with CM. The mean of CAPS score in patients with CH was significantly higher than that observed in the CM group (4,6 points vs. 2,11 points respectively; $p = 0,003$).

VIP levels were significantly higher in CM patients by at least one point in the scale vs. those with zero points ($p = 0,002$). Only lacrimation was significantly associated with high VIP levels. There was a significant positive correlation between scores in the CAPS scale and VIP levels, but not CGRP levels. With respect to PACAP, there were no differences in this parasympathetic neuropeptide levels between the different groups. Finally, S100B levels in CM patients were not significantly different when compared to those of EM patients, CH patients or HV.

CONCLUSIONS

The first scale designed for the evaluation of CAPS in primary headaches is presented, and through its application a high prevalence of CAPS is observed in patients with CM, which would support a role of the cranial parasympathetic system in the pathophysiology of migraine. The usefulness of the CAPS scale designed is verified by applying it to a group of subjects with CH, obtaining higher scores. Serum VIP levels, but not CGRP, correlate with the presence of CAPS in patients with CM, reflecting the activation of the cranial parasympathetic system. These data show that there is no scientific evidence to support the usefulness of PACAP and S100B protein as biomarkers of the parasympathetic and glial activation of TVS in CM.

AGRADECIMIENTOS

AGRADECIMIENTOS

A Julio Pascual y a Eva Cernuda, por brindarme la posibilidad de llevar a cabo este proyecto. Por vuestra generosidad y comprensión, gracias.

A Esther Serrano y a Pablo Martínez, por su inestimable colaboración.

Al equipo de Neurología del HUCA, y en especial a aquellos que prestaron su ayuda para que este trabajo saliera adelante (gracias Davinia por todas las dudas resueltas).

A mis compañeros del Hospital Universitario Marqués de Valdecilla, por transmitirme su pasión por la neurología. Gracias por aquellos años inolvidables.

A todos los pacientes y voluntarios que participaron en la investigación.

A mis padres, por enseñarme el valor del esfuerzo.

A mi hermana, por creer siempre en mí.

A Kike, porque sin su ayuda esto hubiera sido imposible. GRACIAS.

A mis hijas, Carla e Iria, por todas las horas robadas... y por los mejores recibimientos.

ÍNDICE

Índice de abreviaturas	23
Índice de tablas	25
Índice de figuras	27
I. INTRODUCCIÓN	29
1. DEFINICIÓN Y CLASIFICACIÓN DE LA MIGRAÑA	31
2. EPIDEMIOLOGÍA E IMPACTO	36
3. FISIOPATOLOGÍA DE LA MIGRAÑA CRÓNICA	39
3.1. El sistema trigémino-vascular	39
3.2. Sensibilización	40
3.3. Mecanismos implicados en la cronificación del dolor	41
4. SISTEMA NERVIOSO AUTÓNOMO CRANEAL Y MIGRAÑA	42
4.1. Introducción	42
4.2. El reflejo trigémino-autonómico	43
4.3. La respuesta vasodilatadora	46
4.4. Síntomas autonómicos y migraña	48
4.4.1. Síntomas autonómicos sistémicos	48
4.4.2. Síntomas autonómicos craneales (CAS).....	52
A. Descripción y fisiopatología	52
B. Prevalencia de los CAS en la migraña	56
B.1. Diseño de los estudios	58
B.2. CAS en la migraña crónica	62
C. Factores asociados a la presencia de CAS en la migraña	62
D. Características de los CAS en la migraña	66
4.5. CAS en la cefalea en racimos	69

5. NEUROPEPTIDOS Y MIGRAÑA CRÓNICA	74
5.1. Introducción	74
5.2. Neuropeptidos parasimpáticos	76
5.2.1. VIP.....	77
5.2.2. PACAP	81
A. Farmacología	81
B. Estudios de inducción con PACAP38	84
C. PACAP como biomarcador en la migraña	88
5.2.3. Otros neuropeptidos parasimpáticos	91
5.3. Neuropeptidos gliales: S100B	92
II. PLANTEAMIENTO Y OBJETIVOS	97
1. ESTUDIO DE LOS SÍNTOMAS AUTONÓMICOS CRANEALES PARASIMPÁTICOS (CAPS) EN LA MIGRAÑA CRÓNICA: CREACIÓN DE UNA NUEVA ESCALA	99
2. ESTUDIO DE NEUROPEPTIDOS EN MIGRAÑA CRÓNICA Y CORRELACIÓN CON CAPS	101
2.1. Neuropeptidos parasimpáticos y migraña crónica	101
2.1.1. VIP y migraña crónica: relación entre los CAPS y los niveles séricos de VIP en comparación con los de CGRP.....	101
2.1.2. PACAP y migraña crónica: estudio de los niveles séricos interictales	102
2.2. Neuropeptidos gliales: S100B y migraña crónica	104
III. MATERIAL Y MÉTODOS	107
1. DESCRIPCIÓN DE LA MUESTRA	109
1.1. Pacientes y grupos controles	109
1.2. Criterios de inclusión	109
1.3. Criterios de exclusión	110

2. VARIABLES ANALIZADAS	110
3. ESTUDIO DE LOS CAPS	112
4. ESTUDIO DE BIOMARCADORES	113
5. COMITÉ DE ÉTICA	113
6. ANÁLISIS ESTADÍSTICO	114
IV. RESULTADOS	115
1. ESTUDIO DE LOS CAPS EN PACIENTES CON MIGRAÑA CRÓNICA	117
1.1. Descripción de la muestra	117
1.2. Análisis de los CAPS en la migraña crónica	118
1.3. Cuantificación de los CAPS en la migraña crónica según la escala	121
1.4. Comparación de CAPS entre migraña crónica con y sin aura	122
1.5. Estudio de los CAPS en función de otras variables	126
1.6. Aplicación de la escala en la cefalea en racimos y comparación con la migraña crónica	127
2. RELACIÓN ENTRE LOS CAPS Y LOS NIVELES SÉRICOS DE VIP Y CGRP EN PACIENTES CON MIGRAÑA CRÓNICA	133
2.1. Determinación de los niveles séricos de VIP y relación con la presencia de CAPS	134
2.2. Determinación de los niveles séricos de CGRP y relación con la presencia de CAPS	136
3. ESTUDIO DE LOS NIVELES SÉRICOS INTERICTALES DE PACAP EN PACIENTES CON MIGRAÑA CRÓNICA	137
3.1. Descripción de la muestra	137
3.2. Análisis de los niveles séricos de PACAP	139
3.3. Análisis de los niveles séricos de VIP	139
3.4. Relación entre los CAPs y los niveles séricos de PACAP en pacientes con migraña crónica	140

4. ESTUDIO DE LOS NIVELES SÉRICOS INTERICTALES DE LA PROTEINA GLIAL S100B EN PACIENTES CON MIGRAÑA CRÓNICA	142
4.1. Descripción de la muestra	142
4.2. Análisis de los niveles séricos de S100B	143
V. DISCUSIÓN	147
1. CAPS Y MIGRAÑA CRÓNICA	149
2. RELACIÓN ENTRE LOS CAPS Y LOS NIVELES SÉRICOS DE VIP Y CGRP EN PACIENTES CON MIGRAÑA CRÓNICA	160
3. ESTUDIO DE LOS NIVELES SÉRICOS INTERICTALES DE PACAP EN PACIENTES CON MIGRAÑA CRÓNICA	163
4. ESTUDIO DE LOS NIVELES SÉRICOS INTERICTALES DE LA PROTEINA GLIAL S100B EN PACIENTES CON MIGRAÑA CRÓNICA	168
VI. CONCLUSIONES	175
VII. BIBLIOGRAFÍA	179
VIII. ANEXOS	203
1. PUBLICACIONES	205
2. CONSENTIMIENTO INFORMADO	233

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

- **AINES:** anti-inflamatorios no esteroideos
- **AMPc:** adenosín monofosfato cíclico
- **ANOVA:** análisis de la varianza (analysis of variance)
- **ARA-II:** antagonistas de los receptores de angiotensina II
- **CAS:** síntomas autonómicos craneales (cranial autonomic symptoms)
- **CAPS:** síntomas autonómicos craneales parasimpáticos (cranial autonomic parasympathetic symptoms)
- **CGRP:** péptido relacionado con el gen de la calcitonina (calcitonin gene-related peptide)
- **CR:** cefalea en racimos
- **ECLIA:** electroquimioluminiscencia
- **ELISA:** enzimoimmunoanálisis de absorción (enzyme-linked immunosorbent assay)
- **EMA:** Agencia Europea del Medicamento (European Medicines Agency)
- **FDA:** Administración Estadounidense de Alimentos y Medicamentos (Food and Drug Administration)
- **GEP:** ganglio esfenopalatino
- **HTA:** hipertensión arterial
- **HUCA:** Hospital Universitario Central de Asturias
- **ICHD:** Clasificación Internacional de Cefaleas (International Classification of Headache Disorders)
- **IECA:** inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina
- **IHS:** Sociedad Internacional de Cefaleas (International Headache Society)
- **ISRS:** inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina
- **LCR:** líquido cefalorraquídeo
- **MA:** migraña con aura
- **MC:** migraña crónica
- **ME:** migraña episódica
- **MHF:** migraña hemipléjica familiar
- **MO:** migraña sin aura
- **NSE:** enolasa neuroespecífica (neuron-specific enolase)
- **OnabotA:** toxina botulínica tipo A (onabotulinumtoxinA)

- **PACAP:** péptido activador de la adenilato ciclasa pituitaria (pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide)
- **PET:** tomografía por emisión de positrones (Positron Emission Tomography)
- **PHM:** péptido histidina-metionina
- **RM:** resonancia magnética
- **RTA:** reflejo trigémino-autonómico
- **SNA:** sistema nervioso autónomo
- **SPECT:** tomografía computarizada por emisión de fotón único (Single Photon Emission Computed Tomography)
- **STV:** sistema trigémino-vascular
- **SUNCT:** cefalea neuralgiforme unilateral de breve duración con inyección conjuntival y lagrimeo (short-lasting unilateral neuralgiform headache with conjunctival injection and tearing)
- **TAC:** tomografía axial computarizada
- **VIP:** péptido intestinal vasoactivo (vasoactive intestinal peptide)

ÍNDICE DE TABLAS

- Tabla 1:** Clasificación de la migraña (ICHD-III beta).
- Tabla 2:** Factores de riesgo para la cronificación de la migraña.
- Tabla 3:** Principales CAS en migraña y probable mecanismo fisiopatológico.
- Tabla 4:** Relación de estudios de prevalencia de CAS en migraña.
- Tabla 5:** Relación de estudios con descripción de los CAS en migraña.
- Tabla 6:** Relación de estudios que analizan los niveles de VIP en la migraña.
- Tabla 7:** Relación de estudios de inducción con PACAP38.
- Tabla 8:** Relación de estudios que analizan los niveles de PACAP en la migraña.
- Tabla 9:** Relación de estudios que analizan los niveles plasmáticos de S100B en la migraña.
- Tabla 10:** Escala de valoración de CAPS.
- Tabla 11:** Descripción de los pacientes con MC.
- Tabla 12:** Descripción de los pacientes con MC en función de la presencia de CAPS.
- Tabla 13:** Prevalencia individual de CAS en los pacientes con MC.
- Tabla 14:** Descripción de los pacientes con MC en función de la presencia de aura.
- Tabla 15:** Prevalencia individual de CAS en los pacientes con MC en función de la presencia de aura.
- Tabla 16:** Resumen de prevalencias de CAPS en pacientes con MC en función del aura.
- Tabla 17:** CAPS en pacientes con MC con y sin depresión.
- Tabla 18:** CAPS en pacientes con MC con y sin abuso de analgésicos.
- Tabla 19:** CAPS en pacientes con MC con y sin politerapia.
- Tabla 20:** CAPS en pacientes con MC con y sin onabotA.
- Tabla 21:** Descripción de los pacientes con CR.
- Tabla 22:** Prevalencia de los síntomas CAS en la CR vs. MC.
- Tabla 23:** Resumen de CAPS en pacientes con CR y MC.
- Tabla 24:** Estudio de CAPS en pacientes con CR según su periodicidad.
- Tabla 25:** Estudio de CAPS en pacientes con CR según la existencia de tratamiento preventivo.
- Tabla 26:** Estudio de CAPS en pacientes con CR según la existencia de historia familiar de CR.
- Tabla 27:** Niveles séricos de VIP (pg/ml) en pacientes con MC con y sin CAPS.

Tabla 28: Niveles séricos de CGRP (pg/ml) en pacientes con MC con y sin CAPS.

Tabla 29: Descripción de la población para el análisis de PACAP.

Tabla 30: Niveles séricos de PACAP (pg/mL) en pacientes con MC con y sin CAPS.

Tabla 31: Descripción de los pacientes con MC.

Tabla 32: Relación de variables asociadas a los niveles de S100B (pg/ml) en el grupo de MC.

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Activación del STV y liberación de neuropéptidos en la migraña.

Figura 2: Bases anatómicas del RTA.

Figura 3: Receptores del PACAP: VPAC₁, VPAC₂ y PAC₁.

Figura 4: Anticuerpos monoclonales frente al PACAP en la migraña.

Figura 5: Activación del STV y liberación de neuropéptidos neurales y gliales en la migraña.

Figura 6: Número de CAPS presentes en pacientes con MC.

Figura 7: Puntuación de CAPS según la escala en pacientes con MC.

Figura 8: Número de CAPS en pacientes con MC en función de la presencia de aura.

Figura 9: Puntuación de CAPS según la escala en pacientes con MC en función de la presencia de aura.

Figura 10: Número de CAPS en pacientes con CR *vs.* MC.

Figura 11: Puntuación de CAPS según la escala en pacientes con CR *vs.* MC.

Figura 12: Número de CAPS en pacientes con MC.

Figura 13: Puntuación de CAPS según la escala en pacientes con MC.

Figura 14: Niveles séricos de VIP (pg/ml) en pacientes con MC sin CAPS *vs.* pacientes con 1 o más CAPS.

Figura 15: Relación entre los niveles séricos de VIP (pg/ml) y la puntuación en la escala.

Figura 16: Niveles séricos de PACAP (pg/ml) en pacientes con MC frente a pacientes con ME y controles.

Figura 17: Niveles séricos de VIP (pg/ml) en pacientes con MC frente a pacientes con ME y controles.

Figura 18: Niveles séricos de S100B (pg/ml) en pacientes con MC frente a pacientes con ME, CR y controles.

I. INTRODUCCIÓN

1. DEFINICIÓN Y CLASIFICACIÓN DE LA MIGRAÑA

La migraña se considera la cefalea primaria por antonomasia. Destaca dentro del ámbito de las cefaleas por dos aspectos fundamentales, su frecuencia —la segunda tras la cefalea tensional— y especialmente por la discapacidad que conlleva. Esto genera no solo un menoscabo en la calidad de vida del paciente, sino también un impacto económico en relación con la pérdida de productividad y el consumo de recursos sanitarios (Blumenfeld et al., 2011; Guerrero et al., 2011; Pascual et al., 1995; Vos et al., 2012).

La migraña se caracteriza por episodios recurrentes de cefalea, generalmente de intensidad moderada-grave, con una duración variable de 4 a 72 horas. A esta se asocian con frecuencia otros síntomas transitorios de naturaleza neurológica, gastrointestinal o vegetativa. La clasificación más aceptada de las cefaleas es la establecida por la International Headache Society (IHS), que en 2013 publicó la tercera edición de la Clasificación Internacional de Cefaleas versión beta (ICHD-III beta). En ella la migraña se sitúa en el primer apartado, dentro de las cefaleas primarias, y a su vez se diferencian varias entidades dentro de ella (tabla 1).

Tabla 1. Clasificación de la migraña (ICHD-III beta).

1. MIGRAÑA
1.1 Migraña sin aura
1.2 Migraña con aura <ul style="list-style-type: none"> 1.2.1 Migraña con aura típica <ul style="list-style-type: none"> 1.2.1.1 Aura típica con cefalea 1.2.1.2 Aura típica sin cefalea 1.2.2 Migraña con aura del tronco encefálico 1.2.3 Migraña hemipléjica <ul style="list-style-type: none"> 1.2.3.1 Migraña hemipléjica familiar: tipos 1-3 y otros. 1.2.3.2 Migraña hemipléjica esporádica 1.2.4 Migraña retiniana
1.3 Migraña crónica
1.4 Complicaciones de la migraña <ul style="list-style-type: none"> 1.4.1 Estado migrañoso 1.4.2 Aura persistente sin infarto 1.4.3 Infarto migrañoso 1.4.4 Crisis epiléptica desencadenada por aura migrañosa

1.5 Migraña probable
1.5.1 Migraña sin aura probable
1.5.2 Migraña con aura probable
1.6 Síndromes episódicos que pueden asociarse a la migraña
1.6.1 Trastorno gastrointestinal recurrente
1.6.1.1 Síndrome de vómitos cíclicos
1.6.1.2 Migraña abdominal
1.6.2 Vértigo paroxístico benigno
1.6.3 Tortícolis paroxística benigna

Como novedad a destacar en esta clasificación, para el diagnóstico de migraña con aura (MA) se exige la exclusión de un accidente isquémico transitorio. Otras modificaciones son la nueva designación de la migraña de tipo basilar, que pasa a denominarse migraña con aura del tronco encefálico (1.2.2), la inclusión de las formas más frecuente de migraña hemipléjica familiar (MHF) según las mutaciones genéticas identificadas (1.2.3.1), y por último, la incorporación de la migraña retiniana (1.2.4) como un subtipo de MA.

Atendiendo a la presencia o no de síntomas de disfunción neurológica focal, la migraña se divide en dos subtipos:

A. Migraña sin aura (MO):

También conocida como migraña común o hemicránea simple. Los criterios para el diagnóstico de MO son:

- A. Al menos cinco crisis que cumplen los criterios B-D.
- B. Episodios de cefalea de entre 4 y 72 horas de duración (no tratados o tratados sin éxito).
- C. La cefalea presenta al menos dos de las siguientes cuatro características:
 1. Localización unilateral.
 2. Carácter pulsátil.
 3. Dolor de intensidad moderada o severa.
 4. Empeora o condiciona el abandono de la actividad física habitual (p. ej., andar o subir escaleras).

- D. Al menos uno de los siguientes durante la cefalea:
 - 1. Náuseas y/o vómitos.
 - 2. Fotofobia y fonofobia.
- E. Sin mejor explicación por otro diagnóstico de la ICHD-III.

B. Migraña con aura (MA):

También conocida como migraña clásica, migraña acompañada o migraña complicada. Los criterios para el diagnóstico de MA son:

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

Un aspecto que puede llevar a la confusión es el concepto de “migraña crónica” (MC). Aunque la migraña es por definición una enfermedad crónica con manifestaciones episódicas

que denominamos crisis, en función de la frecuencia de aparición de estas podemos clasificar la migraña en MC o migraña episódica (ME) (Pozo-Rosich, 2012).

El término de MC deriva del concepto de migraña transformada, acuñado por Mathew en 1982 y desarrollado posteriormente por Silberstein en la clasificación de las cefaleas crónicas de 1996 (Mathew et al., 1982; Silberstein et al., 1996). Más tarde, en 2004, se incluye el término de MC por primera vez en la segunda edición de la clasificación de cefaleas de la IHS, aunque considerándola no como una entidad en sí misma, sino como una complicación de la migraña (Headache Classification Committee of the International Headache Society, 2004). Casi una década después, en 2013, aparece la MC en la actual clasificación (ICHD-III beta) como entidad clínica independiente (Headache Classification Committee of the International Headache Society, 2013). Desde entonces se introducen dos nuevos conceptos: que la MC puede proceder de la transformación de una MA, y que no es excluyente con el diagnóstico cefalea por abuso de analgésicos.

De acuerdo con la ICHD-III beta, la MC se describe como aquella cefalea que aparece durante 15 días o más al mes, durante más de tres meses, y que al menos durante 8 días al mes presenta características de migraña.

Los criterios diagnósticos vigentes para el diagnóstico de MC según la IHS son:

- A. Cefalea (tipo tensional o migrañoso) durante un período de 15 o más días al mes durante más de 3 meses que cumple los criterios B y C.
- B. Aparece en un paciente que ha sufrido al menos cinco crisis que cumplen los criterios B-D para la MO y/o los criterios B y C de la MA.
- C. Durante un período de 8 o más días al mes por espacio de más de 3 meses cumple cualquiera de los siguientes:
 1. Criterios C y D para la MO.
 2. Criterios B y C para la MA.

3. En el momento de la aparición el paciente cree que es migraña, y se alivia con un triptán o derivados ergóticos.
- D. Sin mejor explicación por otro diagnóstico de la ICHD-III.

2. EPIDEMIOLOGÍA E IMPACTO

Desde hace años la migraña se mantiene como el principal motivo neurológico de consulta (Guerrero et al., 2011; Pascual et al., 1995). En 2010 según el Global Burden of Disease Study, la migraña se posiciona como el tercer trastorno más prevalente —por detrás de la caries dental y de la cefalea tensional— (Vos et al., 2012).

Aunque las cifras de prevalencia varían entre los diferentes estudios en función de los criterios diagnósticos empleados y las características de la población estudiada, en los países occidentales casi todos las sitúan en torno a un 12% (17% en mujeres y 6% en varones), siendo más frecuente en la cuarta década de la vida. Como consecuencia, un porcentaje elevado de pacientes migrañosos lo constituyen el grupo de mujeres en edad fértil (Lipton et al., 2007). En España, el estudio PALM publicado en 2011 confirmó estos datos, obteniendo una prevalencia global de casi el 13% (17% en mujeres y 8% en varones) (Matias-Guiu et al., 2011).

Algunos pacientes migrañosos evolucionan hacia la cronificación. Esta transición sucede de forma gradual a lo largo de meses o años. Actualmente se acepta una tasa de transformación anual de la ME a la MC del 2-3% (Bigal et al., 2008). También, aunque de manera excepcional, la migraña puede aparecer de forma crónica desde el inicio (Schulman et al., 2008).

Se identifican distintos factores de riesgo implicados en la cronificación de la migraña. Estos se pueden clasificar en modificables y no modificables (tabla 2). Su conocimiento es interesante para comprender la fisiopatología de la perpetuación del dolor y así ser capaces de actuar modificando el curso clínico de la migraña (Bigal et al., 2008; Bigal y Lipton, 2006; Couch et al., 2007; De Simone y Ranieri, 2015; Juang et al., 2000; Kelman y Rains, 2005; Lipton et al., 2015; Louter et al., 2013; Minen et al., 2016; Peres et al., 2001; Peres et al., 2002; Rains y Poceta, 2012; Scher et al., 2003; Scher et al., 2004; Tietjen et al., 2007; Tietjen et al., 2010).

Tabla 2. Factores de riesgo para la cronificación de la migraña (adaptado de Scher et al., 2004).

No modificables	Modificables
Sexo femenino	Abuso de analgésicos
Edad avanzada	Elevada frecuencia de crisis de migraña
Predisposición genética	Baja eficacia del tratamiento sintomático de las crisis de migraña
Intensidad de la cefalea grave	Abuso de cafeína /consumo excesivo de cafeína
Alodinia cutánea	Eventos vitales estresantes
Etnia caucásica	Trastornos afectivos (ansiedad, depresión)
Bajo nivel educacional y/o socioeconómico	Trastornos del sueño (síndrome de apnea-hipopnea obstructiva del sueño, roncopatía)
Maltrato y/o abusos sexuales en la infancia	Trastornos de dolor crónico (fibromialgia)
Traumatismo craneoencefálico	Obesidad
	Hipertensión intracraneal idiopática sin papiledema

De estos factores, el abuso de analgésicos destaca por la controversia que ha generado durante años. Si bien es cierto que existen fármacos que facilitan la aparición de una cefalea de rebote, principalmente los ergóticos, triptanes y opiáceos, actualmente el uso excesivo de medicación sintomática se considera más el resultado final de la cronificación de la cefalea que su causa (Bigal, 2008; Bigal y Lipton, 2008; Colás et al., 2004). Distintas evidencias respaldan este argumento. El consumo habitual de analgésicos como tratamiento sintomático para otras patologías, no desencadena la aparición de una cefalea crónica, ni se asocia con la cronificación del dolor en pacientes migrañosos (Lipton y Bigal, 2003). Por otra parte, no todos los pacientes presentan una mejoría del dolor tras abandonar el abuso de analgésicos (solamente el 45% regresan a la forma episódica), sino que además puede existir un empeoramiento de la cefalea a largo plazo (Pini et al., 2001).

En cuanto a la MC, las cifras la sitúan como uno de los diagnósticos más frecuentes en las unidades especializadas en cefaleas, constituyendo el 35% del total de los pacientes atendidos

en ellas, y aproximadamente el 4% de los pacientes de la consulta de Neurología general (Dodick, 2006; Gracia-Naya et al., 2008; Guerrero et al., 2011; Pascual et al., 2001; Pascual et al., 2010; Rojo et al., 2015). La prevalencia global de MC es del 1,5-2%, si bien es cierto que estos datos provienen de los estudios realizados con los criterios diagnósticos previos (Natoli et al., 2010).

La MC además de considerarse relativamente frecuente, destaca también por ser incapacitante. Si la comparamos con la ME, la MC se asocia con un mayor deterioro en la calidad de vida y una disminución de la productividad laboral. Esto genera un alto impacto económico, ocasionando elevados costes tanto directos como indirectos (Adams et al., 2015; Buse et al., 2012; Guitera et al., 2002).

El International Burden of Migraine Study es probablemente el estudio internacional más relevante realizado para cuantificar la discapacidad y el impacto en la calidad de vida de los sujetos migrañosos. Este estudio concluyó que los pacientes con MC presentaban no solamente una mayor discapacidad y menor calidad de vida que los pacientes con ME, sino que también tenían mayores niveles de ansiedad y depresión, consumían más recursos sanitarios, y ocasionaban una mayor pérdida de productividad laboral (Blumenfeld et al., 2011).

En España la MC conlleva un elevado coste sanitario, casi triplicando al de la ME (2669 vs. 1092 euros por paciente y año). Además, este gasto sanitario es superior al de la mayoría de los países Europeos, y este encarecimiento está relacionado con la asistencia sanitaria y la realización de pruebas diagnósticas (Bloudek et al., 2012).

3. FISIOPATOLOGÍA DE LA MIGRAÑA CRÓNICA

3.1. EL SISTEMA TRIGÉMINO-VASCULAR

El sistema trigémino-vascular (STV) juega un papel clave en la fisiopatología de la migraña. Está constituido por las fibras sensitivas procedentes de la rama oftálmica del nervio trigémino, las estructuras vasculares cerebrales que inerva (arterias meníngeas y cerebrales) y el complejo trigémino-cervical (núcleo espinal del trigémino y la médula cervical en sus segmentos C1-C2)(Akerman et al., 2011). Las fibras nerviosas sensitivas se acompañan de fibras simpáticas —que se originan en el ganglio cervical superior ipsilateral—, y fibras parasimpáticas —que tienen su origen en los ganglios esfenopalatino y ótico— (Messlinger, 2009).

El dolor en la migraña se considera la manifestación directa de la activación del STV. Sobre un cerebro hiperexcitable predispuesto genéticamente, los fenómenos medibles de activación del hipotálamo y los núcleos troncoencefálicos y, dudosamente, la depresión cortical propagada, actúan como generadores de la migraña, activando el STV bidireccionalmente (figura 1) (Medrano-Martínez et al., 2015).

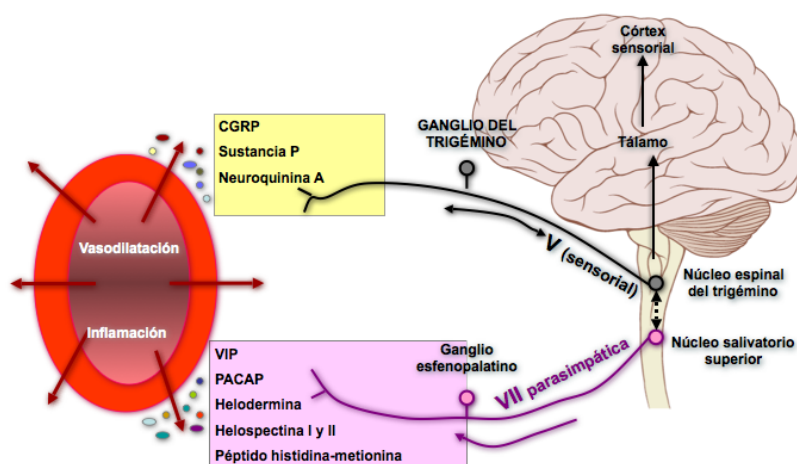


Figura 1. Activación del STV y liberación de neuropéptidos en la migraña. CGRP: péptido relacionado con el gen de la calcitonina, PACAP: péptido activador de la adenilato-ciclasa pituitaria, VIP: péptido intestinal vasoactivo. (Adaptado de Riesco et al., 2017).

De forma ortodrómica, la información nociceptiva se trasmite a neuronas de segundo orden del complejo trigémino-cervical. Desde aquí las fibras ascienden hacia las neuronas de tercer orden en el núcleo ventral posteromedial del tálamo contralateral y finalmente estas aferencias se proyectan a las neuronas de cuarto orden en la corteza sensorial (Medrano-Martínez et al., 2015).

Por otra parte, también se produce una conducción antidrómica liberándose neuropéptidos vasoactivos como el péptido relacionado con el gen de la calcitonina (CGRP), y otros como la sustancia P y la neuroquinina A. Estos actúan sobre la pared vascular produciendo vasodilatación y extravasación de proteínas plasmáticas, así como la liberación de mediadores proinflamatorios, activación de macrófagos, degranulación de mastocitos y agregación plaquetaria, induciendo un proceso inflamatorio mediado neurogénicamente. Esto es lo que se conoce como inflamación meníngea estéril (Foreman, 1987; Goadsby et al., 1988; Tajti et al., 2015).

3.2. SENSIBILIZACIÓN

La sensibilización se define como la hiperexcitabilidad de las neuronas nociceptivas frente a diferentes estímulos. En la migraña existen dos tipos de sensibilización:

A. Sensibilización periférica

Ocurre en las neuronas de primer orden tras episodios repetidos de activación trigeminal, como consecuencia de la exposición a la inflamación meníngea estéril. Los estímulos que de forma ordinaria son inocuos, como la pulsatilidad de los vasos epicraneales, son percibidos como dolorosos. Por ello, la cefalea pulsátil característica de la migraña se considera la expresión clínica de la sensibilización periférica (Medrano-Martínez et al., 2015; Moskowitz, 1991).

B. Sensibilización central

La continua activación de las neuronas de primer orden en el ganglio trigémino produce inicialmente una sobreestimulación de las neuronas de segundo orden en el complejo

trigémico-cervical. Estas se vuelven hiperexcitables y transmiten el estímulo doloroso hacia neuronas de tercer y cuarto orden. Posteriormente, las neuronas centrales son capaces incluso en ausencia de nuevos estímulos externos, de propagar la información nociceptiva (Burstein et al., 2004; Burstein y Jakubowski, 2005; Medrano-Martínez et al., 2015; Moskowitz, 1991; Strassman et al., 1996).

La manifestación clínica típica de esta sensibilización central es la alodinia cutánea, aunque también pueden aparecer otros fenómenos como la hiperalgesia o la hiperpatía. Si se produce la sensibilización de neuronas de tercer orden en el tálamo, la alodinia podría extenderse a regiones extracraneales. Actualmente se cree que la sensibilización central podría favorecer la persistencia del dolor y así contribuir a la transformación de la ME en MC (Strassman et al., 1996).

3.3. MECANISMOS IMPLICADOS EN LA CRONIFICACIÓN DEL DOLOR

El mecanismo fisiopatológico por el cuál la migraña se cronifica en algunos pacientes no se conoce con certeza. La teoría más aceptada se basa en la existencia de una disfunción de los centros antinociceptores. La sustancia gris periacueductal y el núcleo cuneiforme se sitúan a nivel del tronco del encéfalo y son dos de las estructuras anatómicas más importantes en la inhibición del dolor. Como consecuencia de esta disminución de la vía inhibitoria descendente del dolor, se facilita la entrada de aferencias nociceptivas. Así, se postula que en la MC existe una activación disminuida o ausente del sistema antinociceptivo (Aurora et al., 2011; Sánchez del Río-González, 2012; Welch et al., 2001).

En los últimos años, estudios de neuroimagen funcional y estructural han confirmado la existencia de anomalías en estructuras involucradas en el procesamiento del dolor, lo que corrobora la presencia de un sistema de dolor subyacente disfuncional en pacientes con MC (Aurora et al., 2007; Moulton et al., 2008). Lo que aún no se ha determinado es si estas alteraciones son una causa o la consecuencia de la cronificación del dolor.

4. SISTEMA NERVIOSO AUTÓNOMO CRANEAL Y MIGRAÑA

4.1. INTRODUCCIÓN

Existe una incuestionable relación entre el sistema nervioso autónomo (SNA) y determinadas cefaleas, tanto primarias como secundarias. Aunque el paradigma lo constituyen los síntomas autonómicos craneales (CAS) en las cefaleas trigémino-autonómicas, tales como la cefalea en racimos (CR) o la hemicránea paroxística, también se observan signos y síntomas de disfunción autonómica en pacientes con migraña así como con otras cefaleas (Rubin et al., 1985).

Los primeros documentos que recogen esta relación entre SNA y migraña datan de hace más de 2000 años. En el siglo V antes de Cristo, Hipócrates describe por primera vez las náuseas como síntoma acompañante al dolor migrañoso, y explica mediante la teoría humoral cómo la cefalea mejora tras el vómito. Posteriormente, surgen las teorías simpáticas que tienen su gran auge en el siglo XVII después de Cristo gracias a Thomas Willis (1621-1675), un médico inglés que defiende el origen visceral de la migraña. Según esta teoría, la migraña se iniciaría en uno o más órganos —lo que explicaría los síntomas acompañantes—, y desde ahí se propagaría mediante un sistema interno por todo el organismo hasta la región cefálica. Esta forma oculta de comunicación fue denominada “simpatía” por los griegos. En el siglo XVIII, el fisiólogo y físico escocés Robert Whytt describe una serie de síntomas autonómicos en un paciente durante un ataque de migraña —cambios en la temperatura corporal, alteraciones en el ritmo cardíaco, vómitos, poliuria, etc.— (Miglis, 2018). En 1930, Harold Wolff le otorga un papel más concreto al SNA y propone una alteración en el tono de las arterias extracraneales como mecanismo generador de la migraña, mediante un proceso de vasoconstricción seguida de vasodilatación (Akkermans, 2015). Desde entonces hasta el momento actual, se ha demostrado que ciertamente existe una disfunción autonómica en sujetos con migraña tanto durante el episodio de dolor como en el periodo intercrisis (Janig, 2003). Lo que aún no se conoce con certeza es el mecanismo subyacente, y si existe una relación de causalidad entre ambas entidades (disfunción autonómica y migraña), o si ambas se producen como consecuencia de una alteración inicial común en el sistema nervioso central.

Existe una conexión a nivel del tronco del encéfalo entre el sistema trigeminal y el parasimpático que acompaña al nervio facial, constituyendo el denominado reflejo trigémino-autonómico (RTA) (Goadsby, 2013). Los CAS se producen como consecuencia de la activación de este reflejo, que genera un incremento del flujo parasimpático. Este proceso estaría modulado por centros superiores como el hipotálamo, según se ha observado en estudios de neuroimagen (Denuelle et al., 2007; Moulton et al., 2014). En los pacientes con MC parece existir una activación persistente del STV que además de sensibilizar las fibras nociceptivas —explicando así la cronificación del dolor—, daría lugar a la aparición de las manifestaciones autonómicas craneales (May y Goadsby, 1999; Strassman et al., 1996). Por todo ello, parece lógico pensar que el SNA craneal y más concretamente el parasimpático facial, es un elemento clave en la fisiopatología de la migraña.

4.2. EL REFLEJO TRIGÉMINO-AUTONÓMICO

El RTA conecta el sistema trigeminal (V nervio craneal) con el sistema parasimpático vehiculado a través del nervio facial (VII nervio craneal) (figura 2). El brazo aferente de este arco reflejo es la rama oftálmica del nervio trigémino, que tras proyectar aferencias al núcleo espinal trigeminal emite fibras hacia las neuronas parasimpáticas del núcleo salivatorio superior localizado en la protuberancia. El brazo eferente lo forman los axones parasimpáticos que, junto con las raíces sensitivas del nervio facial, forman el nervio intermedio o intermediario de Wrisberg que se dirige hacia el ganglio geniculado. Desde aquí continúan las aferencias parasimpáticas asociadas al nervio petroso superficial mayor, rama del nervio facial, que se unen al nervio petroso profundo mayor formando el nervio vidiano. Posteriormente, se dirigen hacia el ganglio esfenopalatino (GEP), también denominado ganglio pterigopalatino, ganglio de Meckel o ganglio esfenomaxilar. Finalmente, las fibras parasimpáticas postganglionares inervan las glándulas lagrimales y de la mucosa nasal, las arterias intracraneales y la microcirculación facial (Goadsby, 2013; Spencer et al., 1990). Desde el ganglio geniculado también se dirigen terminaciones parasimpáticas al ganglio ótico, a través del nervio petroso superficial menor (rama del nervio facial), y a microganglios de la pared de la arteria carótida interna (Gibbins et al., 1984). De este modo, se distribuyen las fibras parasimpáticas hacia los ganglios esfenopalatino y ótico generando una respuesta

secretora y vasodilatadora (facial y cerebral) mediante la liberación de diversos neuropéptidos.

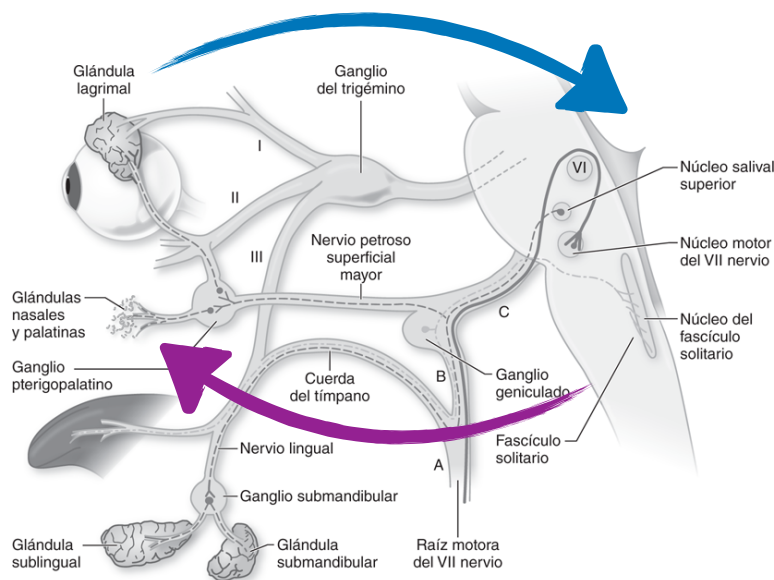


Figura 2. Bases anatómicas del RTA. En azul, el brazo aferente trigeminal; en morado, el brazo eferente parasimpático (adaptado de Ropper AH, et al. Adams y Victor - Principios de neurología. 10ª edición. McGraw-Hill Interamericana de España SL; 2017).

De entre estos péptidos parasimpáticos, el péptido intestinal vasoactivo (VIP) es probablemente el más relevante junto con el péptido activador de la adenilato ciclasa pituitaria (PACAP). La helodermina, la helospectina I y II, y el péptido histidina-metionina (PHM) son otros neuropéptidos parasimpáticos con funciones no completamente esclarecidas. Forman parte también de este sistema parasimpático neurotransmisores clásicos como la acetilcolina y el óxido nítrico. Todas estas moléculas neuromoduladoras tienen una función vasodilatadora, aunque su mecanismo no se conoce con certeza (Goadsby, 2013).

Adicionalmente, existen conexiones bidireccionales desde el núcleo salivatorio superior con estructuras del sistema límbico, esenciales en la regulación de funciones como el sueño, el estrés y el apetito. De este modo, se explicarían los síntomas prodrómicos que aparecen en algunos sujetos migrañosos, como la avidez por determinados alimentos o los síntomas

afectivos como la irritabilidad y la euforia (Akerman et al., 2011; Cortelli y Pierangeli, 2003; Hosoya et al., 1983; Hosoya et al., 1990).

El RTA está presente de forma fisiológica en la población general, pero en los pacientes con CAS se encuentra anormalmente activado. Así, la activación de este reflejo tras la aplicación de un estímulo doloroso en el territorio de la primera rama del nervio trigémino, provoca vasodilatación y la aparición de CAS (Medrano-Martínez et al., 2015).

Diferentes estudios experimentales con animales han demostrado la existencia del RTA (Avnon et al., 2003):

- González et al. en 1975 describieron el aumento de temperatura a nivel frontal en gatos tras la estimulación eléctrica de la rama oftálmica del nervio trigémino (González G et al., 1975).
- Lambert et al. años más tarde, en 1984, reprodujeron este experimento estimulando eléctricamente diferentes estructuras anatómicas (ganglio trigémino, nervio facial y nervio petroso superficial mayor) y observaron una disminución de la resistencia carotídea junto con un incremento de la temperatura facial. Justificaron que esta respuesta vasodilatadora estaba mediada principalmente por el RTA, ya que la sección del nervio facial abolía este fenómeno (Lambert et al., 1984).
- En 1994, Goadsby y Edvinsson encontraron que tras la estimulación del ganglio trigémino se producía un incremento en los niveles de VIP, mediado por el parasimpático del brazo eferente del RTA (Goadsby y Edvinsson, 1994).

En la década de los 90 se llevaron a cabo estudios de experimentación en humanos confirmándose estos hallazgos. En 1992, Drummond publicó que la irritación ocular en 15 sujetos sanos provocaba un aumento de flujo sanguíneo frontal, lo que confirmaba la existencia de este reflejo trigeminal-parasimpático vasodilatador (Drummond, 1992). Posteriormente, repitió el experimento en individuos con parálisis facial, como secuela tras la extirpación de un neurinoma del acústico, y no observó esta vasodilatación local. Argumentó que el incremento del flujo sanguíneo ipsilateral frontal se encontraba bloqueado en sujetos

con lesión del nervio facial. Estos hallazgos demostraron por primera vez la activación del RTA en humanos.

De nuevo Drummond en 1997, documenta la activación del RTA en pacientes migrañosos tras un estímulo doloroso facial, observando además un incremento de la vasodilatación respecto a los sujetos control. Propone así, la existencia de un mecanismo inhibitorio central de la respuesta vasodilatadora, que sería disfuncionante en los pacientes migrañosos (Drummond, 1997).

4.3. LA RESPUESTA VASODILATADORA

Actualmente el dolor en la migraña se relaciona con la activación STV y con los procesos de sensibilización central y periférica. Como hemos expuesto anteriormente, el nervio trigémino establece conexiones con el parasimpático facial. Así, la activación del RTA origina una respuesta vasodilatadora, tanto a nivel de las arterias intracraneales como en la microcirculación facial, causando rubefacción e incremento de la temperatura a nivel local. De este modo, en el fenómeno de la vasodilatación en la migraña intervienen fundamentalmente el nervio trigémino por medio del brazo aferente, y el sistema nervioso parasimpático por el brazo eferente (Goadsby, 2013).

La liberación de péptidos parasimpáticos vasoactivos, principalmente VIP, desencadenan una respuesta vasodilatadora, y participan en la aparición de CAS. Por otra parte, de forma antidrómica desde terminales nerviosas trigeminales, se liberan sustancias vasoactivas como el CGRP, contribuyendo así a incrementar la vasodilatación.

No se conoce con certeza la proporción en que cada uno de estos brazos del RTA intervienen en el aumento del diámetro arterial, pero se cree que el sistema parasimpático tiene un mayor protagonismo. Esto se ha sugerido al observar en animales de experimentación que tras la sección del nervio facial se mantenía un 20% de la dilatación de las arterias intracraneales (Avnon et al., 2003; Lambert et al., 1984).

También se ha propuesto que la hipofunción del sistema nervioso simpático podría colaborar en la vasodilatación arterial. El aumento del flujo sanguíneo de la arteria carótida interna comprimiría el plexo nervioso simpático situado a su alrededor, lesionándolo. Como consecuencia, se ocasionarían por una parte ptosis y miosis —presentes en ocasiones en un subgrupo de pacientes—, y por otra parte una disminución del tono basal vasoconstrictor (Leone y Bussone, 2009). No obstante, parece que la participación pasiva del sistema simpático es poco relevante, ya que tras bloquearlo farmacológicamente no se observó un claro efecto en la respuesta vascular tras la irritación ocular (Avnon et al., 2003; Drummond, 1993).

Por último, también se ha considerado la posible aportación de otros mecanismos al fenómeno de vasodilatación arterial:

- Se ha sugerido que podría existir una hipersensibilidad al VIP en un subgrupo de pacientes, amplificando así la respuesta vasodilatadora trigeminal-parasimpática (Benett et al., 2003; Leone y Bussone, 2009).
- También se ha propuesto que el sistema simpático podría intervenir activamente en la vasodilatación. De forma fisiológica, la exposición al calor genera una vasodilatación cutánea. Se propone que desde terminales nerviosas simpáticas que inervan las glándulas sudoríparas y probablemente también las arterias que irrigan estas glándulas, se liberarían neurotransmisores que aumentarían el flujo arterial, mecanismo analizado por Kellogg et al. (Kellogg et al., 2003).
 - En primer lugar, se estudió la respuesta al estrés térmico en un grupo de sujetos a los que se les había bloqueado los receptores muscarínicos de acetilcolina tras la aplicación de atropina. Se observó que aunque se anulaba la respuesta sudomotora, se mantenía la respuesta vasomotora. De esto se deduce que la vasodilatación cutánea activa no se realizaría a través de receptores muscarínicos.
 - Posteriormente, se indujo una vasodilatación con acetilcolina, y en los sujetos pretratados con atropina no se observó un incremento del flujo arterial. Se interpretó

que los receptores muscarínicos son los únicos receptores colinérgicos funcionales en las arteriolas cutáneas.

- Por último, se les inyectó toxina botulínica para bloquear la liberación de acetilcolina. Tras someterles de nuevo a estrés térmico, se observó que estos sujetos no presentaban respuesta sudomotora ni vasodilatadora.
- Se concluye finalmente que la vasodilatación cutánea activa está mediada por fibras colinérgicas pero mediante un cotransmisor desconocido, es decir, no se explicaría únicamente por la acción de la acetilcolina.

En cualquier caso, existe todavía poca evidencia que respalde tanto la hipótesis de la hipersensibilidad al VIP como la teoría de la vasodilatación simpática activa.

4.4. SÍNTOMAS AUTONÓMICOS Y MIGRAÑA

4.4.1. SÍNTOMAS AUTONÓMICOS SISTÉMICOS

Los pacientes migrañosos con frecuencia presentan síntomas autonómicos sistémicos, tanto durante sus crisis de migraña como en los períodos libres de dolor (Gazerani and Cairns, 2018; Miglis, 2018;). Algunas de las manifestaciones más frecuentes son:

- Náuseas y vómitos.
- Alteraciones del peristaltismo intestinal (diarrea, estreñimiento).
- Alteraciones de la frecuencia cardíaca (bradicardia, taquicardia).
- Hipotensión ortostática y síncope.
- Palidez o enrojecimiento cutáneo.
- Piloerección.
- Diaforesis.

- Poliuria.
- Polidipsia.

Estos síntomas constituyen una evidencia clínica de la participación tanto del sistema nervioso simpático como del parasimpático en la fisiopatología de la migraña.

La evaluación de la función autonómica sistémica se puede realizar mediante distintos tipos de pruebas clínicas, de neuroimagen o de laboratorio. La mayor parte de los estudios que valoran la disautonomía en pacientes migrañosos lo hacen desde un punto de vista clínico, principalmente mediante el uso de test autonómicos cardiovasculares (maniobra de Valsalva, arritmia sinusal respiratoria, respuesta cronotropa y vasopresora al ortostatismo o el test del ejercicio isométrico entre otros). Otras pruebas clínicas utilizadas con menor frecuencia son el test presor al frío o el test del reflejo axónico sudomotor.

En general, se llega a la conclusión de que existe cierto grado de disautonomía en los sujetos migrañosos (Miglis, 2018). Lo que no está claro es en qué consiste esta disautonomía, ya que se han observado resultados contradictorios entre los diferentes estudios, encontrándose tanto una hipo como una hiperactividad del sistema nervioso simpático y del parasimpático.

La causa de esta heterogeneidad en los resultados podría ser debida al propio diseño de los estudios. En primer lugar, la mayoría de ellos se han realizado con pacientes en fase interictal, es decir, durante períodos libres de dolor, pero otros se han llevado a cabo en la fase ictal de cefalea. Presuponiendo que el comportamiento del SNA es distinto según las diferentes fases de la migraña, las conclusiones extraídas no son comparables. En segundo lugar, también se observan diferencias en lo que respecta a las características del grupo de estudio, incluyendo pacientes con y sin aura, o incluso pacientes con otras cefaleas distintas a la migraña, como la cefalea tensional o la CR. En tercer lugar, los métodos empleados son distintos, y en algunos casos con dudosa utilidad como acontece con el test presor al frío —baja especificidad y sensibilidad— (Gupta y Bhatia, 2007). Por último, destacar que los tamaños muestrales en ocasiones son muy reducidos, por lo que los resultados deberían de interpretarse con cautela.

Teniendo presente lo anteriormente expuesto, se pueden extraer las siguientes conclusiones acerca del comportamiento del SNA a nivel sistémico en los pacientes migrañosos (Gazerani y Cairns, 2018; Miglis, 2018):

- La respuesta simpática, más que la parasimpática, es la que principalmente resulta alterada. Existe una disminución de la actividad simpática en el periodo interictal, junto con un incremento de esta en el periodo ictal, sugestiva de una hipersensibilidad de los adrenoreceptores (Bocconi et al., 1989; Gotoh et al., 1984; Mamontov et al., 2016; Mosek et al., 1999; Pogacnik et al., 1993; Vollono et al., 2013). Esto justificaría la mayor tendencia a sufrir hipotensión ortostática en los individuos migrañosos (Jansen-Olesen et al., 2014; Tome-Pires y Miro, 2014).
- La actividad parasimpática posiblemente también se encuentre alterada. Así, algunos estudios hallan una hipofunción del sistema nervioso parasimpático de forma intercrítica (Koenig et al., 2016; Thomsen et al., 1995), aunque en otros no se objetivan diferencias respecto a los sujetos control (Havanka-Kanniainen, 1986; Mosek et al., 1999; Pogacnik et al., 1993).
- Es posible que la disfunción del SNA sea más evidente en la MA que en la MO (Gotoh et al., 1984; Matei et al., 2015; Mosek et al., 1999).

A pesar de que estas son las teorías más aceptadas, para el caso de la MC solamente existe un estudio recientemente publicado con resultados discordantes (Mamontov et al., 2016). En él se observa un incremento de la reactividad vascular de forma interictal —sugestivo de una hiperfunción simpática— tanto para el grupo de MC como ME respecto al grupo control. Por otra parte, no encuentran diferencias en las respuestas parasimpáticas entre sujetos migrañosos y los controles, ni tampoco entre MC y ME.

También se han llevado a cabo estudios de neuroimagen funcional que han permitido una aproximación más dinámica hacia la fisiopatología de la migraña. Mediante tomografía por emisión de positrones (PET) se observó en un pequeño grupo de pacientes con MO un incremento de la actividad hipotalámica durante la crisis de dolor. En otro estudio mediante resonancia magnética (RM) funcional, realizado en pacientes migrañosos durante el periodo

interictal, se demostró un incremento en la conectividad funcional entre el hipotálamo y varias regiones cerebrales que participan en la regulación del SNA, como son el locus coeruleus, el núcleo caudado y los núcleos pontinos (Denuelle et al., 2007; Moulton et al., 2014).

Las alteraciones del SNA más frecuentes en los sujetos con migraña son las relacionadas con el sistema cardiovascular y el aparato digestivo. Los síntomas gastrointestinales, especialmente las náuseas y los vómitos, son los más habituales, experimentándolos más de la mitad de los pacientes migrañosos fundamentalmente durante la fase de cefalea. Estos síntomas pueden llegar a ser muy molestos e incapacitantes ya que, entre otros, interfieren con la ingesta de medicación oral (Gazerani y Cairns, 2018).

Respecto a la fisiopatología de las náuseas-vómitos en la migraña, se propone que estas pueden aparecer como consecuencia de la cefalea. Esta teoría se sustenta en la existencia de conexiones entre el STV, mediante el núcleo trigeminal, y otras áreas troncoencefálicas como son el núcleo del tracto solitario —estructura clave en el inicio del reflejo del vómito— y núcleos parabraquiales. Esta compleja red neural está regulada además por centros superiores como el hipotálamo y el sistema límbico (Burstein et al., 2015).

Sin embargo, otros autores especulan acerca del papel de las náuseas como mecanismo generador del dolor en la migraña. Estos se basan en la existencia de gastroparesia observada en pacientes con migraña, tanto de forma ictal como interictalmente. Esta disminución de la motilidad gástrica, debida a un decremento de la actividad parasimpática mediada por fibras vagales, se relaciona con las náuseas y los vómitos. Se exponen los siguientes argumentos a favor de esta hipótesis: 1) alivio de cefalea tras el vómito en un subgrupo de pacientes, 2) existen evidencias de que la estimulación del nervio vago reduce la frecuencia e intensidad del dolor en la migraña, y 3) algunos antieméticos como la metoclopramida y la proclorperazina, que actúan como antagonistas de los receptores D2 de la dopamina, disminuyen la cefalea, probablemente a través de un mecanismo de inhibición central (Aurora et al., 2013; Chai et al., 2013; Parkman, 2013).

Estos hallazgos suscitan dudas a la hora de establecer cuál es la causa y cuál la consecuencia en la relación entre las náuseas-vómitos y la cefalea en la migraña.

4.4.2. SÍNTOMAS AUTONÓMICOS CRANEALES (CAS)

A. DESCRIPCIÓN Y FISIOPATOLOGÍA

Los CAS son característicos de las cefaleas trigémino-autonómicas, aunque también se observan en la migraña así como en otras cefaleas (Gazerani y Cairns, 2018). Este concepto ya sugiere una posible superposición de la fisiopatología entre la migraña y las cefaleas trigémino-autonómicas, al menos en lo que respecta a la existencia de los síntomas craneales autonómicos (Waschek et al., 2018). Dentro de ellos, principalmente se consideran la congestión nasal y/o rinorrea, la inyección conjuntival, el lagrimeo, el edema palpebral, la sensación de ocupación o taponamiento de oído, la miosis, la ptosis, la sudoración y el enrojecimiento facial.

Los CAS se producen como consecuencia de la activación del RTA. La mayoría son debidos a un incremento del flujo parasimpático mediante la liberación de neuropéptidos vasoactivos —principalmente VIP— alrededor de las arterias extracraneales y leptomeníngicas, así como en las glándulas secretoras. Sin embargo, no todos los CAS se justifican por esta hiperactividad del sistema nervioso parasimpático ya que, como se detalla a continuación, algunos de ellos resultan de una disfunción simpática.

- Rinorrea y/o congestión nasal

La mucosa nasal recibe inervación vegetativa tanto del sistema nervioso simpático como del parasimpático. Las fibras simpáticas procedentes del ganglio cervical superior, regulan la vascularización de la mucosa, produciendo vasoconstricción mediante la liberación de noradrenalina. Por otro lado, las fibras parasimpáticas procedentes del GEP alcanzan los vasos sanguíneos y las glándulas de la mucosa nasal. En los primeros promueven la vasodilatación mediante la liberación de acetilcolina, y en las glándulas nasales —las cuales presentan una inervación puramente colinérgica—, la estimulación parasimpática provoca hipersecreción mucosa. Por tanto, el incremento del tono parasimpático ocasionaría un aumento en la secreción nasal y una vasodilatación de la mucosa, produciendo la sensación de la congestión

nasal referida por algunos pacientes con migraña (Arslan et al., 2014). Cuando aparece este síntoma generalmente se presenta en grado leve y limitado al periodo ictal.

- Lagrimeo

La glándula lagrimal también recibe una doble inervación autónoma si bien las fibras predominantes son las parasimpáticas, las cuales en su trayecto hasta la glándula secretora sinaptan en el GEP. La inervación simpática es minoritaria y su función se traduce en una vasoconstricción —lo que reduce el flujo sanguíneo hacia las glándulas lagrimales—, y en un incremento del contenido proteico de la película lagrimal.

- Inyección conjuntival

La inyección conjuntival se produce como consecuencia de un incremento del flujo a nivel de la conjuntiva, debido a la vasodilatación mediada nuevamente por el sistema nervioso parasimpático. Algún autor también sugiere que la inflamación neurogénica pueda participar en este fenómeno.

- Edema palpebral

Se explica por la vasodilatación de las arterias palpebrales, mediada por el sistema nervioso parasimpático (Toribio-Díaz et al., 2014).

- Plenitud ótica

La plenitud ótica también es referida como sensación de ocupación o taponamiento de oído y se podría justificar por la vasodilatación de arterias timpánicas, mediada por el sistema parasimpático (Moshtaghi O et al., 2018).

- Miosis

El tamaño pupilar se encuentra regulado por dos músculos, el músculo esfínter de la pupila con efecto constrictor, y el músculo dilatador de la pupila con efecto antagonico. Ambos se

hallan bajo control autónomo: el músculo esfínter de la pupila recibe fibras parasimpáticas desde el ganglio ciliar u oftálmico situado en la parte posterior de la órbita, y el músculo dilatador de la pupila está inervado por el sistema nervioso simpático, recibiendo fibras desde el ganglio cervical superior.

Algunos pacientes migrañosos presentan, durante la fase de dolor, alteraciones transitorias del tamaño pupilar, siendo la más frecuente la miosis (Drummond, 1990). Esta se debe no a una hiperactividad del sistema nervioso parasimpático, sino a un déficit oculosimpático — secundario a la compresión del plexo simpático que rodea la arteria carótida interna, tras su vasodilatación por estimulación parasimpática— (Leone, 2009).

Esta manifestación ya había sido descrita previamente en sujetos con CR (Drummond, 2006; Peroutka, 2004). También se ha observado algún caso de midriasis transitoria unilateral en la individuos migrañosos, relacionada con una pupila de Addie latente desencadenada por el ataque de migraña (Barriga et al., 2011).

- Ptosis

El músculo de Müller, también denominado músculo tarsal superior u orbitario, participa involuntariamente en la apertura ocular, realizando una acción sinérgica con el músculo elevador del párpado, que se encuentra inervado por el III par craneal. Se compone de fibras lisas inervadas por el sistema simpático que ascienden desde el ganglio cervical superior. Se ha observado que un subgrupo de pacientes con migraña presentan de forma ictal ptosis parcial, y esta se debe a una hipofunción simpática, como se ha expuesto previamente (Peroutka, 2004).

- Sudoración facial

Existen dos tipos de glándulas sudoríparas, las apocrinas y las ecrinas, y son estas últimas las que poseen funciones termoreguladoras. Las glándulas sudoríparas ecrinas están inervadas exclusivamente por fibras simpáticas colinérgicas que estimulan la producción de sudor.

Sería lógico pensar que los pacientes migrañosos que muestran signos de déficit oculosimpático, como son la miosis y la ptosis, también presentarían anhidrosis en el lado sintomático (síndrome de Claude-Bernard-Horner). Sin embargo, lo que paradójicamente se observa con frecuencia es un incremento en la sudoración facial. Poco se conoce sobre el mecanismo fisiopatológico subyacente, pero se sospecha que pueda deberse a un proceso de reinervación aberrante (Drummond, 2006). Así, en sujetos con déficit oculosimpático las fibras parasimpáticas suplirían de forma defectuosa la inervación de las glándulas sudoríparas de la hemicara afectada con fibras secretomotoras, y con el tiempo se acabarían desarrollando conexiones funcionales. De este modo, en la fase de dolor la descarga neuronal parasimpática provocaría una sudoración facial aberrante en aquellos pacientes con un déficit simpático cervical.

Algo similar es lo que ocurre en los pacientes con síndrome de Frey (De Benedittis, 1990). En él, tras una lesión del nervio auriculotemporal, habitualmente traumática, se interrumpe el flujo de fibras parasimpáticas colinérgicas a la glándula parótida. A continuación, se produciría un proceso de regeneración defectuoso de tal modo que las fibras parasimpáticas salivales alcanzarían de forma anómala los vasos de la piel y las glándulas sudoríparas. Para que esta reinervación aberrante tenga lugar es imprescindible que exista previamente un daño en las fibras simpáticas, que en condiciones normales inervarían los vasos cutáneos y las glándulas sudoríparas de la región preauricular. Consecuentemente, durante la masticación o deglución los pacientes presentan sudoración y enrojecimiento de la dermis preauricular, debido a la liberación de acetilcolina por las fibras parasimpáticas aberrantes.

Los conocimientos acerca de la fisiopatología de la sudoración facial en sujetos con cefalea, derivan de los estudios en pacientes con CR (Drummond, 2006). En ellos se ha observado que las glándulas sudoríparas de la región frontal son especialmente sensibles a las sustancias colinérgicas (Saunte, 1983). Esto mismo también sucede en un subgrupo de pacientes con déficit simpático cervical postganglionar (Salvesen, 2001). Se cree que este incremento de la sudoración durante los ataques de CR puede ser debido a este fenómeno de hipersensibilidad. Estos hallazgos apoyarían la hipótesis de que neurotransmisores parasimpáticos como el VIP, actuando sobre receptores sensibilizados, contribuirían al fenómeno de sudoración facial (Drummond, 2006).

- Rubefacción facial

El enrojecimiento facial se debe principalmente a la vasodilatación de arterias extracraneales tras la activación del RTA, incrementando así el flujo sanguíneo facial. Como se ha expuesto previamente, también se han propuesto otros mecanismos coadyuvantes a esta respuesta vasodilatadora, como son la inhibición del tono vasoconstrictor simpático y la hipersensibilidad al VIP, de forma análoga a lo que acontece en la sudoración facial .

Tabla 3. Principales CAS en migraña y probable mecanismo fisiopatológico (adaptado de Gazerani y Cairns, 2018).

Síntoma	Mecanismo
Rinorrea y/o congestión nasal	Incremento del parasimpático → secreción nasal y vasodilatación de la mucosa
Lagrimo	Incremento del parasimpático → secreción lagrimal
Inyección conjuntival	Incremento del parasimpático → vasodilatación conjuntival
Edema palpebral	Incremento del parasimpático → vasodilatación de arterias palpebrales
Plenitud ótica	Incremento del parasimpático → vasodilatación de arterias timpánicas
Sudoración facial	Incremento del parasimpático aberrante en sujetos con déficit simpático cervical Sensibilización a VIP
Rubefacción facial	Incremento del parasimpático → vasodilatación de arterias extracraneales Disminución del tono vasoconstrictor simpático Sensibilización a VIP
Miosis	Disminución del simpático en el músculo dilatador de la pupila
Ptosis	Disminución del simpático en el músculo de Müller

B. PREVALENCIA DE LOS CAS EN LA MIGRAÑA

Aunque desde 1970 se habían ido describiendo casos aislados de CAS en sujetos migrañosos durante la fase de cefalea, no es hasta el año 2002 cuando Barbanti et al. publican un estudio en el que analizan la prevalencia de CAS en la población migrañosa. Incluyen a 177 pacientes con migraña con y sin aura que fueron atendidos de forma consecutiva durante dos meses en la consulta de cefaleas. La presencia de CAS se valora en una entrevista personal mediante un

cuestionario en el que de forma específica se pregunta sobre la existencia de 4 CAS en en sus crisis de cefalea: ojo rojo, lagrimeo, edema palpebral y congestión nasal. Describen que el 45,8% de los pacientes migrañosos evaluados, presentan al menos un síntoma autonómico en sus ataques de migraña. Este porcentaje resulta probablemente mayor de lo esperado, y por primera vez existen sospechas fundadas de una elevada prevalencia de CAS en la población migrañosa (Barbanti et al., 2002).

Desde entonces, distintos estudios han analizado la presencia de CAS en los pacientes con migraña encontrando valores que oscilan entre el 26,9%-74% (tabla 4).

Tabla 4. Relación de estudios de prevalencia de CAS en migraña.

	Año	N	Migraña	MC	ME	Grupos control
Barbanti et al.	2002	177	45,8 %			
Gupta y Bhatia	2006	78	73,1 %			
Obermann et al.	2007	841	26,9 %			
Lai et al.	2009	786	56% MO: 57% MA: 48%	57 %		96,9%** (CR)
Rozen	2011	117	52 %			
Gelfand et al.	2013	125	62*-70%	74 %	66 %	
Guven et al.	2013	186			41,4% MO: 36,9%** MA: 48%**	
Raieli et al.	2015	202	55% MO: 52,6%** MA: 70,4%**			17,8% (Cefalea tensional y punzante primaria)
Barbanti et al.	2016	757	37,4 %	41,9%**	35,6%**	

N: número individuos.

*Sin incluir la sensación de plenitud óptica, que aparecía ya como nuevo criterio en la última clasificación de IHS-III beta. **Cálculos realizados según los datos del artículo original.

Recientemente, se ha publicado un artículo (Uluduz et al., 2018) valorando de forma retrospectiva la frecuencia de CAS en sujetos migrañosos, comparándolos con pacientes con CR. En él se obtuvo un porcentaje sorprendentemente bajo (3,1%) de CAS en el grupo de pacientes con migraña que dista mucho de lo observado en estudios previos. Incluso los

propio autores cuestionan este resultado, considerando la posibilidad de que la muestra no sea representativa. Por ello, este trabajo no se incluye en el análisis de CAS ni en la relación de estudios de la tabla 4.

B.1. DISEÑO DE LOS ESTUDIOS

Estas discrepancias en las cifras de prevalencia de CAS observadas en pacientes con migraña pueden ser debidas, quizás, a las diferencias metodológicas en el diseño de los estudios que a continuación se exponen:

SELECCIÓN DE LA MUESTRA

- Edad poblacional: niños versus adultos

De los siete estudios de prevalencia de CAS en migraña, dos de ellos (Gelfand et al., 2013; Raieli et al., 2015) se han realizado en población infantil (edad < 18 años). Comparar directamente estos resultados con los obtenidos en estudios llevados a cabo en adultos implicaría aceptar que la activación del sistema trigémino-autonómico es similar en ambos grupos poblacionales. Esta asunción es cuestionable teniendo en cuenta que la prevalencia estimada de cefaleas trigémino-autonómicas en niños y adolescentes es muy baja (Arruda, 2011).

Adicionalmente, es posible que la edad suponga un sesgo en sí mismo, aunque no está claro en qué sentido. Por una parte, se podría suponer una sobreestimación de los CAS en los niños, considerando que con frecuencia asienten cuando se les pregunta acerca de la presencia de algún síntoma. Por otra parte, también es necesario considerar la posible infraestimación de los CAS en este grupo de edad, debido tanto a la dificultad para el reconocimiento como para el recuerdo de los mismos.

- Diagnóstico de migraña

La mayoría de los pacientes incluidos en los distintos estudios habían sido previamente diagnosticados de migraña y realizaban seguimiento en consultas especializadas en cefalea, o en el caso de la población infantil en neuropediatría. Sin embargo, en el estudio de Oberman et al. (2007) —que obtuvo las cifras más bajas de prevalencia de CAS en migraña (26,9%)—, tanto el diagnóstico de migraña como la valoración de los CAS se realizaron de forma telefónica o mediante un cuestionario remitido por correo postal. El 25% de los encuestados fueron diagnosticados de migraña, muy por encima de la prevalencia aceptada —considerando ambos géneros de forma conjunta— que se sitúa en torno al 12-13% (Lipton, 2007; Matias-Guiu, 2011). Así, se podría considerar la existencia de un sesgo de selección, ya que la sobreestimación inicial de población migrañosa infraestimaría la prevalencia de CAS, lo que podría justificar los resultados obtenidos.

- Análisis por categorías

A excepción de Guven et al. (2013), que incluyen únicamente pacientes con ME, en el resto de estudios se desconocen los porcentajes de pacientes con MC y ME incluidos, si bien es cierto que en el estudio de Gupta y Bhatia (2006) el porcentaje de sujetos con MC (14,1%) puede estimarse a partir de los datos aportados. Del mismo modo, aunque muchos autores ofrecen resultados globales de prevalencia de CAS en migraña, otros incluyen un análisis de los mismos en función de la presencia de aura. Así, Lai et al. (2009) evalúan los CAS en migrañosos con y sin aura y no encuentran diferencias significativas (CAS en MA 48% vs. CAS en MO 57%; $p > 0,05$). Además, tanto del estudio de Guven et al. (2013) como del de Raieli et al. (2015) se pueden extraer los porcentajes de CAS en ambas subpoblaciones de migraña (MO y MA). En ambos se observan, a diferencia de Lai et al., unos valores más elevados de CAS para el grupo de MA (48% Guven et al., y 70,4% Raieli et al.), aunque desconocemos la significación estadística (tabla 4).

- Grupo control

Otro aspecto a tener en cuenta en el análisis comparativo de los resultados entre los distintos trabajos es la existencia o no de un grupo control. Esto incrementa la calidad del estudio

aunque únicamente es realizado por dos autores. Raieli et al. (2015) en su trabajo en población infantil reclutan como controles tanto a niños con cefalea tensional como con cefalea punzante primaria, y encuentran diferencias estadísticamente significativas en la prevalencia de CAS entre estos y el grupo de pacientes con migraña (55% de CAS en migraña vs. 17,8% en controles; $p < 0,001$). Asimismo, Lai et al. (2009) analizan los CAS en pacientes con migraña comparándolos con un grupo de sujetos con CR, y también observan diferencias en las cifras de prevalencia (56% migraña vs. 96,9% CR). Debido a que el porcentaje de CAS en los pacientes con CR se ha calculado a partir de los datos aportados por el autor se desconoce el grado de significación estadística.

ANÁLISIS DE LOS CAS

- Identificación de los CAS

El reconocimiento de los CAS puede llegar a ser una tarea compleja, especialmente algunos de ellos como la miosis, pudiendo derivar de ello una infraestimación de su prevalencia. Este aspecto debe considerarse en el estudio poblacional de Oberman et al. (2007), en el cual la identificación de los síntomas autonómicos se realizó mediante un cuestionario, y no de forma presencial en la entrevista médica con el especialista.

- Número de CAS

El número de CAS difiere considerablemente entre los distintos estudios (4-10). Es lógico pensar que a mayor número de síntomas analizados, mayor es la posibilidad de encontrar alguno de ellos presente. Así resulta que Guven et al. (2013), que examinan solamente 4 CAS, hallan unas cifras de prevalencia de 41,4%, mientras que Gelfand et al. (2013) y Raieli et al. (2015) que valoran 9 y 10 CAS respectivamente, objetivan una prevalencia de hasta el 70%. Además cabe reseñar que algunos CAS son valorados sistemáticamente en todos los estudios —como el lagrimeo o la congestión nasal—, mientras que otros sin embargo solo son considerados por algunos autores. Así, Raieli et al. (2015) son los únicos que incluyen el eritema del pabellón auditivo, y Gelfand et al. (2013) la sensación de arenilla en el ojo y la plenitud ótica. Este último síntoma en 2013 fue incluido como CAS en la ICHD-III beta.

- Naturaleza de los CAS

Aunque todos los estudios coinciden en analizar CAS parasimpáticos, síntomas de origen simpático como son la ptosis o la miosis también son incluidos por algunos autores, así como otros de mecanismo fisiopatológico no bien esclarecido como la sudoración facial.

- Frecuencia de los CAS

Al igual que sucede a la hora de valorar otros aspectos, cuanto más estrictos son los criterios de inclusión de los CAS en los diferentes estudios, menor es su prevalencia. El trabajo de Lai et al. (2009) constituye un claro ejemplo, ya que la prevalencia de CAS en el grupo de migraña es del 56%, pero solo el 14-27% de los pacientes los presentan de forma constante en relación con la cefalea. De hecho, tanto Obermann et al. (2007) como Rozen (2011) establecen como requisito para considerar los CAS presentes que estos se exhiban regularmente junto con el dolor migrañoso. De esta forma publican unas cifras de prevalencia de CAS no muy elevadas (26,9% y 52% respectivamente). Sin embargo, la mayoría de autores no establecen la regularidad precisa de aparición de los CAS para que estos puedan ser considerados a efectos del análisis estadístico, por lo que se clasifica un paciente migrañoso con CAS positivos aunque solo los refiera ocasionalmente.

- Intensidad de los CAS

En ninguno de los estudios se especifica si la intensidad de los CAS debe de ser moderada o grave para que estos sean considerados como presentes. Por tanto, este aspecto no justificaría las diferencias en las cifras de prevalencia observadas entre los distintos estudios.

- Lateralidad de los CAS

La lateralidad de los CAS es una cuestión controvertida, que divide los autores en dos grupos: aquellos que únicamente consideran los CAS si se presentan de forma unilateral, y aquellos que los incluyen aunque se manifiesten bilateralmente o con una lateralidad variable. Así, resulta que los 4 estudios que solamente analizan los CAS unilaterales obtienen las cifras de prevalencia más bajas: Obermann et al. (2007) 26,9%; Barbanti et al. (2016) 37,4%; Guven et

al. (2013) 41,4%, y Barbanti et al. (2002) 45,8%. Adicionalmente, dos autores evalúan la lateralidad de los CAS y ambos objetivan que lo habitual es que se manifiesten de forma bilateral. Gelfand et al. (2013) observan que en el 23% de los pacientes los CAS son unilaterales, en el 73% bilaterales y en un 4% cambiantes (uno o ambos lados). Lai et al. (2009) publican que entre el 67% y el 95% de los migrañosos reconocen CAS bilateralmente, y que, cuando estos aparecen de forma unilateral, en la mayoría de los casos (66-84%) no son ipsilaterales a la cefalea.

B.2. CAS EN LA MIGRAÑA CRÓNICA

Únicamente dos estudios analizan la prevalencia de CAS en la MC arrojando cifras discretamente mayores que las observadas en la ME, aunque sin alcanzar la significación estadística. Lai et al. (2009) publican que tanto los pacientes con MC como con ME sin aura presentan CAS en el 57% de los casos, mientras que solo el 48% los pacientes con ME con aura lo hacen ($p = 0,311$). Gelfand et al. (2013) hallan una prevalencia de CAS en MC del 74% vs. 66% en ME ($p = 0,31$). Por último, en el trabajo de Barbanti et al. (2016), aunque no se aportan cifras de prevalencia de CAS en los grupos de MC y ME, a partir de los datos presentados se obtiene que el 41,9% de los pacientes con MC reconocen CAS, frente al 35,6% con ME.

Por tanto, los pocos estudios que analizan los CAS en MC no encuentran diferencias significativas con respecto a la forma episódica de migraña. Si bien es cierto, que quizás con un tamaño muestral mayor estas diferencias podrían llegar a ser relevantes desde el punto de vista estadístico.

C. FACTORES ASOCIADOS A LA PRESENCIA DE CAS EN LA MIGRAÑA

En todos los trabajos además de determinar la prevalencia de CAS, se analiza adicionalmente si la presencia de estos en sujetos migrañosos se asocia a algún factor demográfico, comorbilidad o característica del dolor.

Las variables que con mayor frecuencia se relacionan con la presencia de CAS en pacientes con migraña son:

- Intensidad de la cefalea: en 4 de los estudios referidos con anterioridad (Barbanti et al., 2002; Barbanti et al., 2016; Lai et al., 2009; Obermann et al., 2007) se encuentra una asociación estadísticamente significativa entre la intensidad del dolor y los CAS, con una mayor severidad de la cefalea en sujetos con CAS. Por contra, Gelfand et al. (2013) y Raieli et al. (2015) analizan esta variable sin hallar diferencias.
- Lateralidad de la cefalea: de nuevo cuatro estudios (Barbanti et al., 2002; Barbanti et al., 2016; Guven et al., 2013; Obermann et al., 2007) asocian la aparición de CAS con la lateralidad del dolor, describiendo mayor frecuencia de episodios de dolor unilaterales en sujetos con CAS. En contraposición, este aspecto es evaluado por otros cuatro autores sin mostrar diferencias (Gelfand et al., 2013; Gupta, 2006; Lai et al., 2009; Raieli et al., 2015).
- Duración de la cefalea y tiempo de evolución de la migraña: estos dos factores también se han relacionado con la existencia de CAS, pero solo en dos de los nueve estudios que se han publicado al respecto. Barbanti et al. (2016) y Gupta et al. (2006) observan que pacientes con CAS refieren una mayor duración de la crisis de migraña, aunque esta asociación no se evidencia en otros trabajos (Barbanti et al., 2002; Guven et al., 2013; Raieli et al., 2015). En lo relativo al tiempo en años de enfermedad, tanto Gupta et al. (2006) como Guven et al. (2013) describen una mayor cronificación de la migraña en sujetos que presentan CAS. Esta variable también es analizada por otros autores con resultados controvertidos. Por un lado, Lai et al. (2009) encuentran una tendencia en el mismo sentido pero sin llegar a la significación estadística ($p = 0,085$). Por otro lado, Barbanti et al. (2016) describen una asociación estadísticamente significativa entre CAS y años de migraña, pero esta no resulta finalmente relevante en el análisis de regresión logística. Por último, Raieli et al., (2015) analizan de igual forma esta variable sin hallar asociación alguna con la existencia de CAS.

Aunque no de forma tan consistente, otros factores también se han asociado con la presencia de CAS en pacientes migrañosos:

- Dentro de las variables relacionadas con las características del dolor en la migraña la fotofobia se ha vinculado con la presencia de CAS en dos estudios (Barbanti et al., 2016; Lai et al., 2009). De forma aislada, en el trabajo de Lai et al. (2009), también se observó una asociación entre los CAS y la aparición de náuseas y sonofobia, y en el estudio de Barbanti et al. (2016) con la existencia de alodinia. Ninguno de los dos autores ofrece una justificación fisiopatológica convincente para estos resultados. También se debe de considerar que estos factores fueron examinados por otros investigadores sin encontrar relación alguna con la existencia de CAS.

- En lo referente a los hábitos tóxicos, dos estudios valoran la posible influencia del tabaco en la aparición de CAS en sujetos con migraña. Barbanti et al. (2016) no evidencian ningún tipo de asociación estadística entre el consumo de tabaco y existencia de CAS, en contraposición con lo que objetiva Rozen (2011). Este autor diseña un estudio con el propósito específico de analizar la historia de tabaquismo en pacientes con migraña y determinar su posible asociación con la presencia de síntomas autonómicos. Se fundamenta en la premisa de que la CR —paradigma de las cefaleas trigémino-autonómicas—, se observa con mayor frecuencia en pacientes con historia previa de tabaquismo, sugiriendo así una relación entre esta y la exposición al tabaco. El estudio concluye afirmando que la asociación tabaquismo-CAS en sujetos migrañosos es posible, ya que encuentra en su análisis una prevalencia de CAS mayor en fumadores (70%) vs. no fumadores (42%) ($p < 0,005$). El autor plantea si la exposición al tabaco podría incrementar el flujo parasimpático a través de la activación del RTA. Proponen cuatro posibles hipótesis:
 - a) El hábito tabáquico podría causar un daño directo en alguna estructura implicada en el RTA —núcleo salivatorio superior o GEP—, ocasionando un cambio en el umbral de activación del flujo parasimpático craneal tras el estímulo trigeminal.

 - b) Los cambios en las concentraciones sanguíneas de oxígeno podrían actuar a nivel del tronco del encéfalo activando el flujo parasimpático y por tanto, incrementando los CAS en fumadores. Dos hechos apoyan esta teoría: 1) un grupo migrañosos con CAS mejoraron tanto del dolor como de las manifestaciones vegetativas tras oxigenoterapia a alto flujo, y 2) los pacientes con cefalea neuralgiforme unilateral de breve duración con inyección conjuntival y lagrimeo (SUNCT) y con hemicránea

paroxística —dos tipos de cefaleas trigémico-autonómicas que no se asocian con el consumo de tabaco—, no mejoran con oxígeno inhalado.

- c) Puesto que los niveles de VIP se encuentran elevados en la vena yugular en pacientes con CR, y considerando que los receptores de VIP están incrementados en las vías aéreas en los fumadores, se propone que pudiese existir también una mayor expresión de los mismos a nivel del sistema nervioso central en los sujetos fumadores.
 - d) Las toxinas del tabaco podrían producir alteraciones en el hipotálamo, y así favorecer el incremento de CAS en pacientes fumadores con CR.
- Por último, en lo relativo al ciclo menstrual Guven et al. (2013) encuentran una asociación estadísticamente significativa entre la migraña catamenial y la existencia de CAS, sugiriendo que factores hormonales relacionados con la menstruación podrían tener un papel en la activación del RTA. Nuevamente, en este aspecto, nos encontramos con resultados discordantes ya que Barbanti et al. (2016) analizan también este factor sin hallar relación alguna.

Por tanto, se identifican principalmente tres factores clínicos que podrían caracterizar al paciente migrañoso con CAS: el dolor unilateral, la intensidad grave y la larga duración del episodio. Con la excepción de Rozen (2011) y Guven et al. (2013), quienes justifican la asociación de CAS con el hábito tabáquico y con factores hormonales respectivamente, el resto de autores salvo Barbanti et al. (2016), no proponen una explicación fisiopatológica concluyente para tratar de justificar sus hallazgos. Barbanti et al. (2016) sugieren que las características del dolor observadas en migrañosos con CAS traducen una activación trigeminal muy acusada, que facilitaría la aparición del fenómeno de sensibilización periférica. Este aporte tan intenso de neuronas trigeminales altamente sensibilizadas afectaría indirectamente a las neuronas de segundo orden del tronco del encéfalo —en el núcleo trigeminal—. Como consecuencia, se produciría una sensibilización central expresada clínicamente por alodinia cutánea (Bernstein y Burstein, 2012; Burstein et al., 2000) y fotofobia (Yarnitsky et al., 2003), manifestaciones que también se han asociado, aunque con menor evidencia científica, a la presencia de CAS en la migraña.

En definitiva, se propone que los CAS en la población migrañosa podrían reflejar la existencia de un mecanismo de sensibilización tanto central como periférica.

D. CARACTERÍSTICAS DE LOS CAS EN LA MIGRAÑA.

Los estudios de prevalencia de CAS en migraña también ofrecen un análisis individual de los síntomas autonómicos y, adicionalmente, algunos de ellos cuantifican el número de CAS referidos por los pacientes (tabla 5).

Tabla 5. Relación de estudios con descripción de los CAS en migraña.

	Año	Número de CAS evaluados	CAS más prevalentes	Número de CAS presentes
Barbanti et al.	2002	4	<ul style="list-style-type: none"> • Congestión nasal/rinorrea (13,6%) * • Edema palpebral (6,2%) * 	1 CAS: 27,2% 2 CAS: 28,4% 3 o más CAS: 44,4%
Gupta y Bhatia	2006	4	<ul style="list-style-type: none"> • Lagrimeo (43,6%) • Inyección conjuntival (37,2%) 	
Obermann et al.	2007	6	<ul style="list-style-type: none"> • Lagrimeo (40,3%) • Inyección conjuntival (25,2%) 	1 CAS: 44% 2 CAS: 34% 3 CAS: 15% 4 CAS: 5% 5 CAS: 2%
Lai et al.	2009	6	<ul style="list-style-type: none"> • Sudoración frontal/facial (51,7%) • Lagrimeo (44,2%) 	Media de CAS: 1,8
Rozen	2011	5	<u>Fumadores:</u> <ul style="list-style-type: none"> • Lagrimeo (41%) • Ptosis (35%) • Síntomas nasales (35%) <u>No fumadores:</u> <ul style="list-style-type: none"> • Lagrimeo (22%) • Ptosis (15%) 	
Gelfand et al.	2013	9	<ul style="list-style-type: none"> • Plenitud ótica (28%) • Lagrimeo (24%) • Sudoración/rubefacción facial (24%) 	La mayoría de sujetos presenta más de un CAS
Guven et al.	2013	4	<ul style="list-style-type: none"> • Edema palpebral (16,9%) • Lagrimeo (10,4%) 	1 CAS: 35,1% 2 CAS: 35,1% 3 CAS: 24,7% 4 CAS: 5,2%

Tabla 5. Relación de estudios con descripción de los CAS en migraña.

	Año	Número de CAS evaluados	CAS más prevalentes	Número de CAS presentes
Raieli et al.	2015	10	<ul style="list-style-type: none"> Eritema pabellón auditivo (21,3%) Rubefacción facial (20,8%) 	1 CAS: 30,6% 2 CAS: 25,2% 3 o más CAS: 40,5%
Barbanti et al.	2016	6	<ul style="list-style-type: none"> Lagrimeo (27,5%) Rinorrea (12,4%) 	1 CAS: 53% 2 CAS: 38,2% 3 o más CAS: 8,8%
*Porcentaje calculado a partir de los datos de frecuencias absolutas de CAS.				

En el análisis de la prevalencia individual de cada uno de los CAS en pacientes con migraña, el lagrimeo es sin duda el síntoma más comúnmente referido, situándose primero de entre todos los CAS evaluados en cuatro estudios (Barbanti et al., 2016; Gupta et al., 2006; Obermann et al., 2007; Rozen, 2011), y segundo en tres de los trabajos restantes (Gelfand et al., 2013; Guven et al., 2013; Lai et al., 2009). Como segundo CAS más prevalente podríamos considerar la rinorrea, la cual se presenta como síntoma más frecuente en un estudio (Barbanti et al., 2002) y segundo en frecuencia en otros dos (Barbanti et al., 2016; Rozen, 2011).

Tanto la sudoración facial como el edema palpebral son CAS relativamente frecuentes. El primero se observa como síntoma más habitual en el trabajo de Lai et al. (2009) y como segundo en frecuencia en el de Gelfand et al. (2013). Lo mismo sucede con el edema palpebral, el cual se sitúa como CAS más prevalente en el estudio de Guven et al. (2013), y en segunda posición en el de Barbanti et al. (2002).

La plenitud óptica únicamente es considerada en el análisis de los CAS en pacientes migrañosos en el estudio de Gelfand et al. (2013), y resultó ser la manifestación autonómica más común de entre todas las evaluadas. Lo mismo sucedió con el enrojecimiento del pabellón auditivo, que solo fue incluido en el trabajo de Raieli et al. (2015) siendo igualmente el CAS que con mayor frecuencia reconocieron los pacientes migrañosos. A diferencia de los anteriores, este último síntoma no se contempla entre los CAS que definen, entre otros, los actuales criterios diagnósticos de las cefaleas trigémino-autonómicas según la IHS. A la vista

de los resultados alcanzados en los estudios que incluyeron estos dos últimos CAS —plenitud óptica y enrojecimiento del pabellón auditivo—, sería interesante la evaluación de estos síntomas por parte de otros autores, con el objeto de confirmar su verdadera prevalencia.

Como se ha expuesto previamente, algunos autores también consideran en su análisis CAS de origen simpático como la ptosis palpebral (Barbanti et al., 2016; Obermann et al., 2007; Raieli et al., 2015; Rozen, 2011). Este síntoma suele observarse en menos del 20% de los pacientes, aunque en el estudio de Rozen (2011) se posiciona como el segundo en frecuencia tanto en la cohorte de fumadores como en la de no fumadores.

1. Cuantificación del número de CAS

En los distintos estudios se advierte que la mayor parte de los pacientes con migraña reconocen 1 o 2 CAS, siendo claramente menor el grupo de migrañosos que experimenta 3 o más. Cabe destacar que dos autores publican unos porcentajes algo mayores de pacientes que exhiben 3 o más CAS (40-44%), aunque estos siguen siendo inferiores si los comparamos con la suma de migrañosos que refieren 1 o 2 CAS (Barbanti et al., 2002; Raieli et al., 2015).

2. Intensidad de los CAS

Únicamente, Lai et al. (2009) realizaron un estudio semicuantitativo de los CAS. En este trabajo establecieron tres grados de afectación para cada CAS: leve (grado 1), moderado (grado 2) y grave (grado 3); y detallaron los criterios que definían cada uno de estos grupos. Así, de los seis CAS evaluados, tres se presentaron habitualmente en grado leve (inyección conjuntival, edema palpebral y sudoración facial), y otros tres en grado moderado (lagrimeo, congestión nasal y rinorrea). De forma global, solamente el 8-22% de los pacientes con migraña consideraron sus CAS graves.

No se conoce hasta la fecha la existencia de ninguna escala dirigida a determinar la magnitud global de los CAS en la migraña. Como se ha expuesto anteriormente, los estudios se limitan, en el mejor de los casos, a cuantificar el número de CAS referidos por los pacientes y el único intento de evaluar la severidad de los mismos se recoge en el trabajo de Lai et al. (2009).

4.5. CAS EN LA CEFALEA EN RACIMOS

Los CAS son característicos, pero no exclusivos, de las cefaleas trigémino-autonómicas. Estas constituyen el tercer grupo en la clasificación actual de cefaleas de la IHS (ICHD-III beta). Dentro de las CTA, se consideran cinco entidades clínicas: la CR, la hemicránea paroxística, la cefalea neuralgiforme unilateral de breve duración, la hemicránea continua y la cefalea trigémino-autonómica probable.

Todas comparten algunas características como son la localización del dolor —habitualmente unilateral en el territorio de la primera rama del trigémino— y los síntomas autonómicos faciales ipsilaterales debidos a hiperactividad parasimpática (Goadsby, 1997). La duración del episodio de dolor y la frecuencia de presentación de las mismas, así como la respuesta al tratamiento, constituyen los principales elementos diferenciadores. De entre todas las CTA, la CR destaca por ser la más frecuente con una prevalencia cercana al 0,1% (Fischer, 2008).

El mecanismo fisiopatológico que subyace en la CR es complejo y aún no se encuentra plenamente esclarecido. Por un lado, se sitúan dos estructuras clave: el sistema trigeminal y el parasimpático facial. Ambos sistemas constituyen el RTA, el cual tras su activación originaría los CAS y participaría en la aparición del fenómeno algésico. Recientemente, se ha publicado que la estimulación a baja frecuencia del GEP en pacientes con CR induce la aparición de CAS, pero no así de ataques de cefalea, lo que sugiere que el incremento del flujo parasimpático no es suficiente para provocar una crisis de dolor en estos sujetos (Guo, 2018). Por otro lado, se sabe que el hipotálamo (Busch, 2007) desempeña un papel fundamental comportándose como un reloj biológico, justificando el carácter temporal y cíclico de los episodios de dolor. Por último, también otras estructuras cerebrales como son el tálamo, la corteza somatosensorial, el precuneus, el tegmento mesencefálico y la corteza cingulada anterior se han involucrado en la fisiopatología de la CR, pero sin poder precisar su función exacta (Gabai, 1989).

Desde el punto de vista clínico, la CR predomina en varones con edades comprendidas entre los 20 y 50 años. Los ataques de dolor se caracterizan típicamente por una elevada intensidad, localización unilateral de predominio en región periorbitaria, presentación nocturna y duración de entre 15-180 minutos. Estos aparecen en salvas durante semanas o meses con una

frecuencia variable entre una crisis cada dos días hasta ocho diarias, y se intercalan con periodos de remisión de al menos un mes de duración —salvo en el caso de la forma crónica de CR, la cual no presenta remisiones o estas son inferiores al mes de duración—. Estos episodios de intenso dolor habitualmente se acompañan de uno o más CAS ipsilaterales, así como de inquietud y/o agitación motora.

Los criterios actuales para el diagnóstico de CR según la ICHD-III beta son:

- A. Al menos cinco ataques que cumplan los criterios B-D.
- B. Dolor unilateral de intensidad severa o muy severa en región orbitaria, supraorbitaria o temporal, con una duración de 15 a 180 minutos sin tratamiento.
- C. Cualquiera de los dos siguientes:
 - 1. Al menos uno de los siguientes síntomas o signos, homolaterales a la cefalea:
 - a) Inyección conjuntival y/o lagrimeo.
 - b) Congestión nasal y/o rinorrea.
 - c) Edema palpebral.
 - d) Sudoración frontal y facial.
 - e) Rubefacción frontal y facial.
 - f) Sensación de taponamiento de oídos.
 - g) Miosis y/o ptosis.
 - 2. Sensación de inquietud o agitación.
- D. La frecuencia de los ataques varía entre una vez cada dos días y ocho al día durante más de la mitad del tiempo que el trastorno está activo.
- E. Sin mejor explicación por otro diagnóstico de la ICHD-III.

Los CAS en estos pacientes habitualmente son referidos como muy patentes, aunque como se expone anteriormente, la presencia de los mismos no es necesaria para establecer el diagnóstico de CR. Esto se pone de manifiesto en estudios previos que han demostrado que

entre un 3 y un 7% de los pacientes con CR no presentan CAS (Ekbom, 1990; Nappi et al., 1992; Torelli et al., 2001; Uluduz et al., 2018). Martins et al. (2005) realizaron un estudio prospectivo con una serie de 157 pacientes con CR, de entre los cuales 9 no presentaban signos autonómicos faciales, con el objetivo de identificar los factores asociados a la ausencia de CAS. Observaron que únicamente la intensidad leve dolor se relacionaba con la ausencia de CAS ($p = 0,003$). Este es un aspecto a tener en consideración, ya que asumir que la existencia de CAS es una condición *sine qua non* en la CR podría llevarnos a un diagnóstico erróneo, y por tanto a un tratamiento inadecuado.

A pesar de lo expuesto previamente, y considerando que lo característico es que los pacientes con CR presenten CAS y lo hagan de forma manifiesta, pocos investigadores se han centrado en tratar de cuantificar estos síntomas autonómicos. Los dos trabajos más relevantes al respecto son el de Lai et al. (2009), que tiene por objeto comparar las características de los CAS pacientes con migraña respecto a la CR, y el de Gaul et al. (2012) en el que se valoran los CAS en 209 pacientes con CR tanto en la forma crónica como episódica.

Lai et al. (2009) evalúan 6 CAS (inyección conjuntival, lagrimeo, congestión nasal, rinorrea, edema palpebral y sudoración facial), realizando un análisis tanto cuantitativo como cualitativo de los mismos. Este estudio arroja los siguientes resultados:

- El 56% de los pacientes con migraña exhibieron al menos un CAS durante sus crisis de dolor frente al 97% del grupo de CR (cálculo realizado a partir de los datos aportados en el artículo).
- Los pacientes con migraña presentaron de media 1,8 CAS frente a 3,5 para el grupo de CR ($p < 0,001$).
- El 48,1% de los migrañosos refirieron más de un CAS frente al 90,5% de los sujetos con CR ($p < 0,001$). El trabajo de Gaul et al. (2012) confirmó estos resultados y añadió que el 80% de los pacientes con CR reconocieron 3 o más CAS.

- Los pacientes con migraña presentaron menor incidencia de todos los CAS examinados respecto al grupo control, salvo para el edema palpebral y la sudoración facial, síntomas en los que no se encontraron diferencias ($p = 0,192$ y $p = 0,364$ respectivamente).
- En el análisis individual de los CAS, los más frecuentes en el grupo de migraña fueron la sudoración facial (51,7%) y el lagrimeo (44,2%). Este último síntoma también fue con diferencia el más prevalente en los pacientes con CR, refiriéndolo casi la totalidad de los mismos (94%). Se siguió de la rinorrea, la cual se observó en el 65,3% de los casos. Apoyando estos resultados, Gaul et al. (2012) determinaron que el lagrimeo y la congestión nasal fueron dos de los CAS que más frecuentemente reconocían los sujetos —tanto en el subgrupo de CR episódica como crónica—. Estos dos síntomas (lagrimeo y congestión nasal), fueron nuevamente los que se objetivaron con mayor frecuencia en el estudio de Guo et al. (2018), en el que la estimulación a baja frecuencia el GEP en pacientes con CR logró inducir la aparición de CAS, aunque no así de cefalea.
- Los CAS se produjeron durante la fase de dolor en el 65-88% de los migrañosos, y en el 80-96% de los pacientes con CR.
- La mayor parte de los migrañosos exhibieron CAS de forma bilateral (67-95%), frente al 20-28% de los pacientes con CR. La sudoración facial constituye una excepción, ya que cuando se presenta lo suele hacer bilateralmente, tanto en el grupo de migraña como de CR. De nuevo, Gaul et al. (2012) reproducen estos resultados, encontrando que la sudoración facial fue el único síntoma en los sujetos con CR que se observó más habitualmente de forma bilateral en vez de unilateralmente.
- A diferencia de la migraña, la mayor parte de pacientes con CR (72-85%) identificaron los CAS ipsilaterales a la cefalea, salvo para el caso de la sudoración facial.
- Solamente el 8-22% de los migrañosos consideraron sus CAS severos en comparación con el 22-55% de los pacientes con CR. La principal discrepancia se advirtió con la inyección conjuntival (más frecuente en grado leve en la migraña y en grado severo en la CR), y con el lagrimeo (más frecuente en grado moderado-leve en la migraña y en grado moderado-severo en la CR).

- Respecto a la regularidad de aparición de los CAS, menos de una tercera parte de los pacientes con migraña los experimentó siempre en sus crisis de cefalea (14-27%), frente a lo observado en los sujetos con CR, los cuales presentaron algún CAS en casi la mitad de los episodios de dolor (44-52%).

Por tanto, estos estudios ponen de manifiesto no solo que los CAS aparecen en un porcentaje no desdeñable de sujetos migrañosos, sino que las características de los mismos pueden orientarnos en el diagnóstico diferencial con la CR. Esto puede resultar especialmente útil en aquellos casos equívocos de pacientes con cefalea estrictamente unilateral. Así, haciendo uso de las consideraciones anteriormente enunciadas, la baja intensidad, la presentación bilateral y la ausencia de regularidad de los CAS serían aspectos a favor del diagnóstico de migraña.

5. NEUROPEPTIDOS Y MIGRAÑA CRÓNICA

5.1. INTRODUCCIÓN

El mecanismo fisiopatológico más aceptado en la migraña se sustenta en la teoría neurovascular, como se ha expuesto previamente. Aunque aún queda mucho por esclarecer, existe una fuerte evidencia que sitúa al STV como elemento clave tanto en la génesis de la cefalea y de las manifestaciones autonómicas craneales que con frecuencia la acompañan, como en la cronificación del dolor en una proporción de los pacientes migrañosos. Cuando se activa, el STV genera un reflejo autonómico constituido en su porción aferente por el nervio trigémino, con el CGRP como principal neuropéptido, y en su porción eferente por el parasimpático facial, con el VIP o el PACAP como péptidos más relevantes. Así, tras la activación del STV se liberarían neuropéptidos vasoactivos alrededor de las leptomeninges y vasos extracraneales, provocando vasodilatación e inflamación meníngea estéril. Debido a este fenómeno de inflamación neurógena se sensibilizarían las neuronas de primer orden en el ganglio trigeminal (sensibilización periférica) y posteriormente se podría proyectar a las neuronas del núcleo espinal del trigémino (sensibilización central). Aunque no se conoce con certeza el mecanismo exacto que conduce a la transformación de la ME en MC, parece que este fenómeno de sensibilización central es clave en el proceso.

Actualmente no disponemos de marcadores biológicos consolidados para el diagnóstico y seguimiento tanto de la migraña como de otras cefaleas primarias. En los últimos años se han llevado a cabo varios estudios con el objeto de determinar el papel de ciertos neuropéptidos en las cefaleas primarias. De entre todos ellos, el que ha obtenido resultados más prometedores como potencial biomarcador tanto en la migraña en general como en la MC en particular ha sido el CGRP. Existe una fuerte evidencia científica que sitúa a este neuropéptido como elemento clave en la fisiopatología de la migraña.

En el 2002, Lassen y colaboradores demostraron que la administración de CGRP endovenoso causaba cefalea en pacientes con migraña (Lassen et al., 2002). Varios estudios han mostrado un incremento de la concentración periférica de GGRP durante los ataques de migraña, incluso se ha observado que tras la administración de triptanes esta se normalizaba

paralelamente a la desaparición del dolor (Gallai et al., 1995; Goadsby et al., 1990; Rodríguez-Osorio et al., 2012; Sarchielli et al., 2006). Adicionalmente, se ha observado una elevación en las concentraciones de CGRP interictales en pacientes con MC en sangre periférica (Ashina et al., 2000; Cernuda-Morollón et al., 2013; Fusayasu et al., 2007), y también en otros líquidos biológicos como líquido cefalorraquídeo (LCR) o saliva (Bellami et al., 2006; Fekrazad et al., 2018; Jang et al., 2011; Van Dongen et al., 2017). Este hallazgo ha sido interpretado como un indicador de la activación permanente del STV en la MC. Recientemente, se ha demostrado que los niveles sanguíneos elevados de CGRP se comportan como buenos predictores de respuesta al tratamiento con toxina botulínica tipo A (onabotA) en pacientes con MC (Cernuda-Morollón et al., 2014 y 2015; Domínguez-Vivero et al., 2018). Aunque algún grupo de estudio ha cuestionado estos resultados al no ser capaz de replicarlos, es posible que estas diferencias sean debidas a aspectos relacionados con las técnicas de medida en el laboratorio (Lee et al., 2018).

El descubrimiento del CGRP ha supuesto una revolución en lo que respecta al abordaje de la enfermedad, ya que parece ser una buena diana terapéutica. En los últimos años se han llevado a cabo ensayos clínicos con antagonistas del CGRP como tratamiento sintomático de la migraña, que se asociaron a toxicidad hepática por lo que no llegaron a comercializarse (Ho et al., 2014; Olesen et al., 2004; Pascual, 2016). También se han probado anticuerpos monoclonales contra el CGRP (erenumab, galcanezumab, eptinezumab y fremanezumab) que han demostrado su eficacia en el tratamiento preventivo de la migraña (Camporeale et al., 2018; Mitsikostas y Reuter, 2017; Silberstein et al., 2017; Tepper et al., 2017). De hecho erenumab, galcanezumab y fremanezumab han sido recientemente aprobados por la Administración Estadounidense de Alimentos y Medicamentos (FDA) y la Agencia Europea del Medicamento (EMA) para el tratamiento preventivo de la MC, por lo que se espera que pronto estén disponibles en nuestro país.

A pesar del incuestionable papel del sistema trigeminal en la migraña, se ha observado que entre un 20-30% de los pacientes con MC no muestran un incremento en las concentraciones séricas de CGRP, lo que sugiere que este no es el único neuropéptido involucrado en la génesis y el mantenimiento del dolor en la migraña. Por tanto, resulta interesante explorar el papel que puedan jugar otros neuropéptidos sensitivos (neuroquinina A, sustancia P, amilina o colecistoquinina) en la fisiopatología de la migraña, aunque los datos disponibles actualmente

son limitados e inconsistentes (Fusayasu et al., 2007; Goadsby et al., 1990; Jang et al., 2011; Tajti et al., 2015).

Se plantea así la hipótesis de que el sistema parasimpático (brazo eferente del RTA), con el VIP y el PACAP como principales moléculas, pueda desempeñar una función relevante en la fisiopatología de la migraña.

5.2. NEUROPEPTIDOS PARASIMPÁTICOS

Existen sólidos argumentos que sustentan la teoría de que el SNA, y en particular el parasimpático craneal, está implicado en la fisiopatología de la migraña (Burstein y Jakubowski, 2005; Edvinsson y Uddman, 2005). Como se ha expuesto previamente, un alto porcentaje de pacientes migrañosos —hasta el 70% según algunas series—, exhiben síntomas vegetativos tanto sistémicos como craneales durante sus ataques de migraña (Gelfand et al., 2013; Gupta y Bhatia, 2006). Las arterias meníngeas poseen una densa inervación parasimpática, que constituye el principal mecanismo neural con influencia vasodilatadora, el cual es capaz de alterar el flujo sanguíneo cerebral de forma independiente a la demanda metabólica existente o a la presión de perfusión (Goadsby, 2013).

Yarnitsky et al. (2003) llevaron a cabo un estudio con 30 pacientes migrañosos con el propósito de conocer la posible contribución del sistema nervioso parasimpático sobre los fenómenos de sensibilización central y periférica en la migraña. Para ello determinaron los cambios en los umbrales del dolor para distintos estímulos y en la sensibilidad cutánea en los periodos libres de cefalea y, posteriormente, de forma ictal y tras la aplicación de lidocaína intranasal —que teóricamente reduce el flujo parasimpático craneal mediante el bloqueo del GEP—. Se observó que la mayoría de los pacientes desarrollaban alodinia cutánea durante el dolor migrañoso y presentaban cambios en sus umbrales del dolor para los tres tipos de estímulos. Asimismo, se determinó que tras la administración de lidocaína el dolor se aliviaba en más del 50% de los pacientes, sin reducir por contra la alodinia cutánea. Estos hallazgos podrían indicar, en primer lugar, que el incremento del tono parasimpático puede ser considerado un coadyuvante en el fenómeno algésico de la migraña a través de la activación y

sensibilización de nociceptores perivasculares intracraneales, y en segundo lugar, que el mantenimiento de esta sensibilización central probablemente sea independiente de los estímulos procedentes de los receptores activados. En base a estos hallazgos, es razonable pensar en la posible relación entre SNA y MC.

Sin embargo, se debe de ser cauto a la hora de plantear estas hipótesis, ya que no todos los trabajos de investigación en el ámbito de las cefaleas le conceden al parasimpático craneal esta cualidad nociceptiva. Recientemente, se ha publicado un estudio en pacientes con CR que sugiere que el incremento del flujo parasimpático mediante estimulación a baja frecuencia del GEP no es suficiente para ocasionar crisis de dolor (Guo et al., 2018). Ciertamente se observaron diferencias en la aparición de CAS entre los pacientes con CR con neuroestimulación y los del grupo placebo (80% y 40% respectivamente; $p = 0,046$), pero no en la inducción de los ataques de racimo (35% en el grupo de neuroestimulación y 25% en el grupo placebo; $p = 0,724$). Estos resultados pueden ofrecer dos interpretaciones, bien que el parasimpático necesita de la participación de otras aferentes nociceptivas para desencadenar las crisis de dolor, o bien que el porcentaje de pacientes del brazo no tratado que presentó crisis de dolor era muy elevado considerando que en su mayoría se trataban de pacientes con CR crónica con una alta frecuencia de ataques espontáneos. Estos resultados nos llevan a preguntarnos cuál es el papel exacto del parasimpático craneal en la esfera de la nocicepción, y si este es diferente entre las distintas cefaleas primarias.

Además de la acetilcolina, clásico neurotransmisor parasimpático, se conocen diferentes péptidos parasimpáticos como el VIP, PACAP, PHM, helodermina y helospectina I y II. Aunque de forma genérica se les atribuye una capacidad vasodilatadora, se desconoce la función exacta de algunos de ellos (Goadsby, 2013). De entre todos, consideramos al VIP y al PACAP como los dos neuropéptidos más relevantes, el primero con una gran capacidad vasodilatadora, y el segundo con una implicación cada vez más patente en los mecanismos de generación y transmisión del dolor.

5.2.1 VIP

El VIP es un polipéptido lineal que contiene 28 residuos de aminoácidos y pertenece a la superfamilia de la secretina-glucagón (Said, 1984; Said y Mutt, 1970). Ejerce su acción

actuando sobre dos tipos de receptores transmembrana acoplados a proteínas G: VPAC1 y VPAC2 (Couvineau y Laburthe, 2012; Dickson y Finlayson, 2009). Existe una densa inervación vipérgica tanto a nivel de las principales arterias cerebrales como en los vasos piales corticales, con capacidad de inducir una intensa vasodilatación en diferentes especies animales, incluida la humana (Edvinsson y Ekman, 1984; Edvinsson y Uddman, 2005; Goadsby, 2013).

Un hallazgo a destacar en los estudios de inducción con VIP, es que la vasodilatación de las arterias extracraneales observada sin embargo no se asocia a crisis de migraña. Esta afirmación es válida tanto para los pacientes con migraña como para los individuos sanos. Hansen et al. (2006) publicaron que la infusión de VIP en sujetos sanos causaba una intensa dilatación de la arteria temporal superficial, pero no desencadenaba crisis de migraña y únicamente algunos de ellos refirieron una cefalea muy leve. En 2008, Rahmann et al. llevaron a cabo un estudio similar, en este caso con pacientes migrañosos, y llegaron a las mismas conclusiones: se ratificaba una vez más el poder vasodilatador del VIP sobre la vasculatura extracraneal, pero también su incapacidad para provocar ataques de migraña (Rahmann et al., 2008).

Los primeros estudios que sugieren un posible papel del VIP en la fisiopatología de las cefaleas se realizaron en pacientes con CR. En 1994, Goadsby y Edvinsson observaron un incremento en los niveles plasmáticos de VIP en la fase de dolor en un grupo de pacientes con CR, lo que se interpretó como una intensa activación del sistema nervioso parasimpático (Goadsby y Edvinsson, 1994). Apenas 4 años antes, se había publicado un estudio realizado en pacientes con ME en el periodo ictal en el que al contrario de lo que sucedía con el CGRP, los niveles plasmáticos de VIP en la vena yugular externa no se incrementaban con respecto a los controles, salvo en un subgrupo de sujetos con síntomas autonómicos intensos (Goadsby et al., 1990).

Pocos estudios han analizado los niveles de VIP en la migraña posteriormente (tabla 6). En 2006 se publicaron dos trabajos interesantes que mostraban niveles elevados de VIP en una cohorte de pacientes migrañosos, tanto a nivel plasmático como salival. El primero, realizado por el grupo italiano de Sarchielli et al. (2006), evaluaba las características del dolor así como los niveles plasmáticos en la vena yugular externa de varios neuropéptidos durante la crisis de

migraña, antes y después de la administración de rizatriptán. Se incluyeron 20 pacientes con MO, de los cuales 10 mejoraron del dolor tras la administración del triptán. Solamente 5 de los sujetos respondedores presentaron niveles detectables de VIP asociados a la exhibición de al menos un signo de activación craneal parasimpática, los cuales además se redujeron significativamente con el alivio del dolor tras el rizatriptán. El segundo, llevado a cabo por investigadores americanos (Bellamy et al., 2006), analizaba los niveles salivares de VIP y CGRP en tres grupos: controles, sujetos con rinosinusitis y sujetos con migraña. Las muestras se obtenían de forma basal y posteriormente, en el grupo de rinosinusitis y migraña, ictalmente, tras la administración del tratamiento correspondiente (pseudoefedrina y sumatriptán respectivamente) y tras la resolución de la clínica. Se hallaron niveles significativamente elevados de VIP y CGRP a nivel salival en los sujetos migrañosos y también en menor medida en el grupo de rinosinusitis.

No es hasta el 2014 cuando se realizan los primeros estudios de VIP en MC (Cernuda-Morollón et al., 2015). Nuestro grupo de investigación llevó a cabo un análisis comparativo de los niveles de plasmáticos VIP en sangre periférica durante la fase libre de dolor, en cuatro grupos de sujetos: pacientes con MC, ME, CR episódica y un grupo control de individuos sanos sin historia de cefalea. Entre otros, se consideraron criterios de exclusión los antecedentes de sinusitis, así como de otras patologías que se han relacionado con concentraciones de VIP elevadas. Se encontraron niveles plasmáticos de VIP interictales significativamente incrementados en el grupo de MC (165,1 pg/ml) frente al grupo control (88,5 pg/ml) y frente a los pacientes con CR episódica (101,1 pg/ml). Los pacientes con ME presentaron cifras de VIP también significativamente más elevadas que los controles (134,9 pg/ml) y numéricamente más bajas que las del grupo de MC, pero sin llegar a la significación estadística. Asimismo, variables como la edad, duración de la enfermedad, presencia de aura, abuso de analgésicos, depresión, fibromialgia, factores de riesgo cardiovascular y la historia previa de consumo de triptanes o de terapia preventiva, no se asociaron significativamente a las concentraciones de VIP. Este fue el primer trabajo que demostró que los niveles plasmáticos de VIP se encontraban aumentados interictalmente en pacientes con MC, si bien es cierto que este incremento parecía menos acusado y consistente que el observado con el CGRP. Estos hallazgos se justificaron por una posible activación permanente del parasimpático facial en el subgrupo de pacientes con MC, y especialmente en aquellos que muestran signos y síntomas de activación autonómica craneal durante los episodios de dolor.

Se hipotetizó sobre si el VIP podría jugar un papel en la sensibilización de los circuitos de dolor que conducen a la cronificación de la migraña, como ya se había apuntado en publicaciones previas (Burstein y Jakubowski, 2005; Seybold, 2009; Strassman et al., 1996; Yarnitsky et al., 2003).

Estos datos fueron confirmados a posteriori en otro estudio diseñado para evaluar el posible efecto predictor de las concentraciones plasmáticas de VIP y de CGRP en la eficacia a la terapia con onabotA en la MC (Cernuda-Morollón et al., 2014). Se observaron que tanto los niveles de CGRP como de VIP estaban significativamente incrementados en los pacientes con MC frente a los controles. Además, se encontró un incremento en las concentraciones de CGRP y en menor medida de VIP en un alto porcentaje de sujetos respondedores a onabotA, en comparación con los no respondedores. Inclusive, en aquellos pacientes con niveles bajos de CGRP, se observó que respondían mejor a la terapia con onabotA los que mostraban concentraciones de VIP elevadas. De este estudio se dedujo que el CGRP y probablemente también el VIP, podrían ser en el futuro herramientas útiles predictoras de buena respuesta al tratamiento con onabotA, lo que ayudaría a la selección de los pacientes con MC que se podrían beneficiar de esta terapia. Por tanto, este artículo además de reafirmar los hallazgos previos, pone de manifiesto el prometedor papel de ambos péptidos (VIP y CGRP) como biomarcadores de migraña. Sorprendentemente, en este trabajo también se identificaron cuatro sujetos que presentaban concentraciones plasmáticas disminuidas de ambos neuropéptidos, a pesar de mostrar una buena respuesta a la onabotA. Así, parece razonable pensar que otros péptidos no analizados en este estudio como el PACAP o la PMH, puedan desempeñar un papel importante que permita proporcionar una mejor explicación para estos resultados.

Tabla 6. Relación de estudios que analizan los niveles de VIP en la migraña.

	Año	Muestra	Ictal	Interictal
Goadsby et al.	1990	Sangre venosa (vena yugular externa)	↑ ME (↑↑ en dos pacientes con CAS intensos)	
Sarchielli et al.	2006	Sangre venosa (vena yugular externa)	↑ ME con CAS	
Bellamy et al.	2006	Saliva		↑ ME

Tabla 6. Relación de estudios que analizan los niveles de VIP en la migraña.

	Año	Muestra	Ictal	Interictal
Cernuda-Morollón et al.	2014	Sangre venosa (vena antecubital)		↑↑ MC ↑ ME
Cernuda-Morollón et al.	2015	Sangre venosa (vena antecubital)		↑ MC

Todas estas investigaciones en conjunto, ofrecen un fuerte sustento al argumento de que los péptidos parasimpáticos, con el VIP a la cabeza, parecen presentar una función relevante en la fisiopatología de la MC, y más concretamente en aquellos sujetos que exhiben CAS acompañando a la cefalea.

5.2.2 PACAP

A. FARMACOLOGÍA

El PACAP se aisló por primera vez hace más de 25 años en el hipotálamo ovino (Miyata et al., 1989). Está codificado por el gen ADCYAP, localizado en el cromosoma 18 (Kimura et al., 1990). Al igual que el VIP pertenece a la superfamilia glucagón-secretina, y ambos comparten gran homología estructural —hasta el 68% en su porción aminoterminal— y funcional (Miyata et al., 1989). Existen dos formas biológicamente activas del PACAP: una más larga de 38 aminoácidos (PACAP38), y otra truncada de 27 aminoácidos (PACAP27) (Arimura, 1992; Vaudry et al., 2009). En mamíferos, la más prevalente (90%) es PACAP38 (Harmar et al., 2012). Aunque ambas isoformas del PACAP atraviesan la BHE —PACAP38 de forma activa y PACAP27 mediante difusión pasiva—, su efecto sobre el sistema nervioso central es cuestionable ya que se degradan rápidamente o son devueltas a la circulación sanguínea. Por tanto, se puede argumentar que la capacidad del PACAP para inducir migraña probablemente estará relacionada con mecanismos periféricos actuando a través de las meninges o sobre los

nociceptores de las arterias extracraneales, las cuales carecen de esta barrera selectiva (Amin y Schytz, 2018; Banks et al., 1993; Vollesen et al., 2018).

PACAP-38 se distribuye por todo el organismo, estando presente en múltiples tejidos como el sistema respiratorio e intestinal, así como en el sistema nervioso central y periférico. Se sabe que participa como neurotransmisor en múltiples procesos como el control del ritmo circadiano, el aprendizaje o la memoria, e igualmente se ha visto implicado en diferentes formas de estrés, tanto metabólico, hemodinámico o emocional (Dejda et al., 2008; Delgado et al., 2004; Falluel-Morel et al., 2007; Hammack et al., 2010; Hashimoto et al., 2011; Mustafa, 2013; Reglodi et al., 2011; Seaborn et al., 2011; Stroth et al., 2011; Tan y Waschek, 2011; Vaudri et al., 2009; Waschek, 2013).

La inmunohistoquímica ha confirmado la existencia de PACAP en algunas estructuras relevantes en el desarrollo de la migraña tales como las fibras nerviosas perivasculares sensitivas y parasimpáticas, el ganglio trigeminal y GEP, el núcleo caudal del trigémino, así como en la corteza cerebral y en el hipotálamo (Edvinsson y Uddman, 2005; Ghatei et al., 1993; Gulbenkian et al., 2001; Tajti et al., 1999; Uddman et al., 1999, Uddman et al., 2002). También se ha demostrado la presencia de VIP en algunas de estas localizaciones, pero a diferencia del PACAP, en humanos no se ha aislado VIP a nivel del ganglio trigeminal (Tajti et al., 1999).

Estas diferencias en la distribución de ambos péptidos tienen implicaciones fisiopatológicas. Se acepta que el PACAP es un neuropéptido dual, con funciones vasomotoras y sensoriales (Christiansen et al., 2003; Edvinsson et al., 2001). Así, se podría explicar como se expondrá más adelante, que la infusión de PACAP en migrañosos desencadena tanto fenómenos de vasodilatación como ataques de migraña, e incluso ocasionalmente cefalea en sujetos no migrañosos, a diferencia del VIP, un potente vasodilatador pero sin capacidad demostrada para inducir cefalea (Amin et al., 2012; Hansen et al., 2006; Rahmann et al., 2008).

Se han descrito tres tipos de receptores para el PACAP, todos ellos acoplados a proteínas G: VPAC₁, VPAC₂, y PAC₁ (figura 3). Los dos primeros (VPAC₁₋₂) presentan la misma afinidad por el PACAP y por el VIP, sin embargo el receptor PAC₁ es hasta 100 veces más selectivo para el PACAP (Harmar et al., 2012). Recientemente, Jansen-Olesen et al. (2014) tras los

resultados observados en estudios experimentales con ratas, contemplan la existencia de algún receptor adicional, aún no identificado, para el PACAP38. La activación de cualquiera de estos receptores genera un incremento de los niveles intracelulares de adenosín monofosfato cíclico (AMPC) a través de la estimulación de la adenilato ciclasa (Ashina et al., 2017; Vaudry et al., 2000).

Diferentes estudios han probado que los receptores VPAC₁₋₂ participan en la vasodilatación y degranulación de mastocitos (Boni et al., 2009; Fahrenkrug et al., 2000; Kulka et al., 2008; Ottesen et al., 1987; Tajti et al., 2015), mientras que los receptores PAC₁ se relacionan con la transmisión nociceptiva (Akerman y Goadsby, 2015).

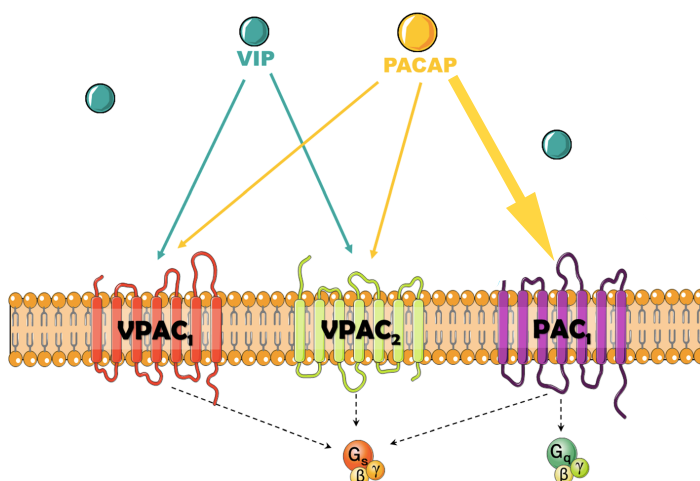


Figura 3. Receptores del PACAP: VPAC₁, VPAC₂ y PAC₁. VIP y PACAP muestran similar afinidad para los receptores VPAC₁₋₂, mientras que el PACAP es hasta 100 veces más selectivo para el receptor PAC₁ (adaptado de Rubio-Beltrán et al., 2018).

En los últimos años, gracias al desarrollo de estudios en modelos animales de dolor, se ha sugerido la posible participación del PACAP en los procesos de sensibilización central y periférica (Akerman y Goadsby, 2015; Sandor et al., 2009). En un trabajo llevado a cabo por Akerman y Goadsby (2015), se observó que la administración intraventricular de inhibidores de los receptores PAC₁ disminuía la activación y sensibilización de neuronas de segundo orden en modelos experimentales de migraña. Por lo tanto, parece lógico pensar que tanto el

PACAP como sus receptores, y especialmente el PAC₁, desempeñan un papel determinante en la fisiopatología de la migraña en general, y posiblemente también de la MC en particular.

B. ESTUDIOS DE INDUCCIÓN CON PACAP38

En las últimas décadas el continuo desarrollo de modelos experimentales de migraña en humanos y animales ha proporcionado una información trascendental para comprender los mecanismos fisiopatológicos que subyacen a la migraña. En lo que respecta al PACAP38, el grueso de los estudios en humanos tienen por objeto evaluar la aparición de cefalea o de crisis de migraña tras la infusión de este péptido, así como los cambios hemodinámicos en las arterias intra y extracraneales evaluados por técnicas de imagen: doppler transcraneal, RM o tomografía computarizada por emisión de fotón único (SPECT).

En estos estudios de provocación de cefalea mediante la administración de diferentes moléculas, y concretamente con el PACAP38, dos consideraciones deben tenerse en cuenta antes de la revisión de la literatura publicada al respecto:

- La dosis óptima de PACAP38 establecida para los estudios experimentales de provocación es de 10 pmol kg⁻¹ min⁻¹ (Birk et al., 2007; Vollesen et al., 2017).
- Los criterios para las crisis de migraña provocadas experimentalmente son distintos de los establecidos para los episodios espontáneos. Se considera que los ataques de migraña inducidos deben de cumplir los criterios C y D de la IHS para MO o imitar tanto la crisis de migraña que presenta asiduamente el paciente como la posterior respuesta al tratamiento de rescate (Ashina et al., 2017; Guo et al., 2014; Shayestagul et al., 2017).

El primer trabajo que analizó los efectos de la infusión de PACAP38 fue realizado por Birk et al. (2007). En él se valoró la capacidad de este neuropéptido para inducir cefalea y vasodilatación en 12 voluntarios sanos. Diez de los 12 participantes (83%) refirieron cefalea de intensidad leve-moderada tras la administración intravenosa de PACAP38, pero en ningún caso se objetivaron alteraciones en el flujo sanguíneo cerebral por SPECT o doppler transcraneal.

En 2009 se publica el primer estudio de provocación con PACAP38 en población migrañosa. Se trataba de un ensayo aleatorizado, doble ciego, controlado con placebo, en 12 pacientes migrañosos (MO) y 12 voluntarios sanos (Schytz et al., 2009). La infusión de PACAP38 causó cefalea en casi la totalidad de los participantes (en todos los sujetos sanos y en 11 de los 12 pacientes con migraña). Además, el 58% de los pacientes migrañosos experimentaron ataques de características migrañosas tras el PACAP38, y ninguno después del placebo. Como en investigaciones previas el VIP no había mostrado tal efecto, se sugirió que la capacidad de inducción de cefalea del PACAP38 podía ser secundaria a la activación de los receptores PAC1₁ (Hansen et al., 2006; Rahmann et al., 2008). También se observó mediante doppler transcraneal una vasodilatación discreta de la arteria cerebral media (9,5%), pero intensa y prolongada en la arteria temporal superficial (37,5%) en los pacientes migrañosos. Se sugirió que la vasodilatación sostenida era el reflejo de un hipotético mecanismo vascular implicado en esta cefalea provocada (Ashina et al., 2017). Posteriormente se investigó esta respuesta vascular desencadenada por el PACAP38 mediante angiografía por RM en un estudio doble ciego, controlado con placebo, realizado en 14 voluntarios sanos (Amin et al., 2012). Además de referir cefalea el 100% de los sujetos, se observó que PACAP38 inducía una dilatación sostenida durante las 5 horas del periodo de observación, a nivel extracraneal (arteria meníngea media), pero no desencadenaba cambios en la vasculatura intracraneal (arteria cerebral media). Una segunda parte de este trabajo mostró que el tratamiento con sumatriptán subcutáneo era capaz de revertir la vasodilatación en la arteria meníngea media al mismo tiempo que aliviaba la cefalea, y sin embargo no se evidenció ningún efecto sobre el calibre de la arteria cerebral media.

En el 2014 se publicó un interesante estudio que comparaba la capacidad de inducción de cefalea y/o crisis de migraña en 22 mujeres migrañosas (MO), así como los cambios en la vasculatura intra y extracraneal, tras la administración de VIP y PACAP 38 (Amin et al., 2014). Se observó que el 73% y el 18% de los pacientes comunicaron cefalea de características migrañosas tras la infusión de PACAP38 y VIP, respectivamente. Ambos péptidos indujeron una intensa vasodilatación exclusivamente de las arterias extracraneales, pero resultando más prolongada con el PACAP38 (> 2 horas). Estos resultados son consistentes con los observados previamente por Rahmann et al. (2008), quienes habían demostrado experimentalmente que, tras su infusión, el VIP actuaba como un potente

vasodilatador a nivel de la circulación extracraneal (arteria temporal superficial) aunque no posea la capacidad de provocar cefalea.

Recientemente, Amin et al. (2016) desarrollaron un estudio mediante RM funcional en estado de reposo en un grupo de pacientes con MO. Demostraron alteraciones en la conectividad cerebral, en áreas implicadas en el procesamiento de señales nociceptivas, al inicio de las crisis de migraña desencadenadas por el PACAP38, hallazgo que no se observó con la infusión de VIP.

Guo et al. (2016) realizaron un estudio de provocación con PACAP38 en comparación con CGRP en pacientes con MO para examinar la incidencia de síntomas premonitorios. Con el PACAP38, el 72% de los sujetos experimentaron cefalea de características migrañosas y el 48% síntomas premonitorios. Sin embargo, con el CGRP la incidencia de cefalea migrañosa fue del 63%, pero solamente un 9% de los pacientes refirieron estos síntomas acompañantes. De nuevo se puso el foco sobre los receptores PAC₁ como elementos clave.

Considerando que no todos los pacientes con MO experimentan cefalea en estudios de inducción con PACAP38, se diseñó un ensayo que evaluaba la posible predisposición genética para desarrollar ataques de cefalea en sujetos migrañosos tras la administración de este péptido, sin objetivar una susceptibilidad genética aparente (Guo et al., 2017).

Tabla 7. Relación de estudios de inducción con PACAP38.

	Año	Cefalea	Vasodilatación media
Birk et al.	2007	Vs.: 83% cefalea	
Schytz et al.	2009	Vs.: 100% cefalea M: 58% migraña (91,6% cefalea)	AIC: 9,5% AEC: 37,5%
Amin et al.	2012	Vs.: 100% cefalea	AIC: No AEC: Sí (revierte con Sumatriptán)
Amin et al.	2014	M: 73% migraña (vs. 18% con VIP)	AEC: Sí (más prolongada con PACAP38 que con VIP)
Amin et al.	2016	M: 75% migraña	
Guo et al.	2016	M: 72% migraña	

Tabla 7. Relación de estudios de inducción con PACAP38.

	Año	Cefalea	Vasodilatación media
Guo et al.	2017	M: 71% migraña	

Vs.: voluntarios sanos; M: migrañosos; AEC: arterias extracraneales; AIC: arterias intracraneales; .

Aunque se desconoce el mecanismo exacto por el cual PACAP38 es capaz de inducir migraña, se han propuesto distintas hipótesis entre las que se incluyen la vasodilatación vía AMPc, la degranulación de mastocitos, la participación del sistema parasimpático, la activación de aferentes sensitivas por la vía de señalización del AMPc o por el receptor de PAC₁ y los efectos sobre el sistema nervioso central (Ashina et al., 2017). En el futuro serán necesarios más estudios que contribuyan a resolver esta cuestión.

Por último, destacar que aunque no disponemos de estudios de provocación con PACAP27, la forma activa menos biodisponible, podría ser interesante investigar la respuesta a la inducción con esta molécula en pacientes con migraña u otras cefaleas primarias por varias razones: 1) muestra una afinidad por el receptor PAC₁ similar a la observada por el PACAP38 (Cauvin et al., 1990), 2) se sospecha que la región final de la cadena de aminoácidos (28-38) podría desempeñar un papel fundamental en el reconocimiento y transporte a través de la barrera hematoencefálica de este péptido (Banks et al., 1993), y 3) en humanos la vida media del PACAP27 en plasma es mayor que la observada para el PACAP38 (< 5 minutos) debido a que presenta una menor degradación (Bourgault et al., 2008).

En resumen, los estudios experimentales en humanos sitúan al PACAP38 en una posición relevante en la fisiopatología de la migraña. Si bien es cierto que la respuesta a la infusión de PACAP38 en sujetos migrañosos no es completamente homogénea, en muchos de ellos desencadena crisis de migraña o cefalea, a diferencia de lo que sucedía con el VIP. Recientemente las técnicas avanzadas de RM cerebral funcional han permitido probar cambios neuronales y vasculares en los pacientes migrañosos que desarrollaban cefalea en los estudios de provocación con PACAP38. En el futuro, será útil el desarrollo de otros estudios de inducción en diferentes subtipos de migraña como en la MA o en la MHF, así como en

otras cefaleas primarias como la CR o la cefalea tensional, para comprender mejor las funciones y propiedades de este neuropéptido. Sería interesante poder identificar a los pacientes con capacidad de desarrollar crisis de migraña tras la administración de PACAP38 y así poder predecir la eficacia de los fármacos dirigidos frente a esta diana terapéutica o a su receptor específico PAC₁ (Ashina et al., 2017; Edvinsson et al., 2018; Rubio-Beltrán et al., 2018; Vollesen et al., 2018).

C. PACAP COMO BIOMARCADOR EN LA MIGRAÑA

Los estudios de activación del STV en modelos animales han confirmado la participación del PACAP en la fisiopatología de la migraña. Tras la estimulación química o eléctrica del trigémino, se han determinado concentraciones elevadas en sangre periférica y en LCR tanto de PACAP como de otros neuropéptidos (GGRP o VIP) (Tuka et al., 2012; Zagami et al., 1990; Zagami et al., 2014; Zhang et al., 1997).

Los estudios en humanos dirigidos a determinar las concentraciones de este neuropéptido en la población migrañosa son escasos y contradictorios (tabla 8):

- Zagami et al. (2014) demostraron niveles ictales de PACAP38 incrementados en la vena yugular externa en 15 pacientes migrañosos determinados por radioinmunoensayo. Las concentraciones de este péptido se redujeron tras el tratamiento con sumatriptán, así como en el período interictal.
- Tuka et al. (2013) observaron que los niveles interictales plasmáticos de PACAP38 en sujetos con ME, cuantificados mediante radioinmunoensayo, estaban disminuidos en comparación con los controles sanos. Adicionalmente, las concentraciones de PACAP38 se incrementaban en el grupo de estudio en la fase de dolor, pero no eran estadísticamente distintos que los obtenidos en los controles. En un subanálisis posterior, se hallaron diferencias significativas entre los niveles ictales e interictales de PACAP38 en el grupo de los pacientes con crisis de migraña independientes del ciclo menstrual (no así para los migrañosos con crisis catameniales), y en el grupo de migrañosos sin patologías asociadas con el dolor crónico o persistente. Adicionalmente, se observó una correlación negativa entre los niveles interictales de PACAP38 y la duración de la enfermedad. Este mismo

grupo de trabajo obtuvo resultados superponibles cuando analizó este péptido en pacientes con CR (Tuka et al., 2016).

- Han et al., (2015) observaron una disminución de los niveles de PACAP interictales en sangre periférica, cuantificados en este caso mediante enzimoimmunoanálisis de absorción (ELISA), en los pacientes con migraña en comparación con los pacientes con cefalea tensional y los sujetos control.

Tabla 8. Relación de estudios que analizan los niveles de PACAP en la migraña.

	Año	Muestra	Ictal	Interictal
Tuka et al.	2013	Sangre venosa (vena yugular externa)	ME ↔ Controles	↓ ME
Zagami et al.	2014	Sangre venosa (vena yugular externa)	↑ ME	
Han et al.	2015	Sangre venosa (vena antecubital)		↓ ME y MC

Como se observa, los estudios realizados hasta la fecha no muestran resultados completamente homogéneos. Esto podría explicarse atendiendo a diferencias metodológicas: distintos métodos de cuantificación (ELISA o radioinmunoensayo), diferentes tiempos de extracción de las muestras respecto, e incluso distintos puntos de extracción de las mismas. Otro aspecto a considerar es que dos de los trabajos (Tuka et al., 2013; Zagami et al., 2014) incluyeron pacientes con MA, y se desconoce si la presencia de aura podría influir en las concentraciones de PACAP38 (Ashina et al., 2017).

Lo que sí parece observarse es una tendencia a presentar niveles interictales disminuidos de PACAP en pacientes migrañosos. Aunque la interpretación de estos resultados es compleja, se han propuesto distintas explicaciones para tratar de explicar este decremento en las concentraciones interictales de PACAP. Así, se contempla desde un déficit energético cerebral, anomalías mitocondriales, desequilibrio en las concentraciones neuronales de Mg^{2+} a cambios degenerativos en los circuitos liberadores de PACAP (Han et al., 2015).

En lo que respecta a la forma crónica de la migraña, solamente se conoce un estudio que haya analizado el PACAP en este subgrupo de pacientes. En el trabajo de Han et al., (2015) incluyeron un subanálisis en el grupo de migraña (95 sujetos con ME y 38 con MC). Encontraron niveles de PACAP38 interictales significativamente más bajos en los pacientes con ME y MC respecto a los controles sanos. Aunque las concentraciones de este péptido eran menores en el subgrupo de MC en comparación con el de ME, no se alcanzó la significación estadística. Al igual que Tuka et al. (2013), hallaron una correlación negativa entre los niveles interictales de PACAP38 y el tiempo de evolución en años de la migraña, pero exclusivamente significativa en el grupo de la MC. Por contra, analizaron otros parámetros clínicos sin encontrar relación alguna con las concentraciones de PACAP38.

Este mismo grupo de trabajo (Han et al., 2017) desarrolló poco después un modelo experimental de MC en ratas mediante estimulaciones químicas durales de repetición y analizaron posteriormente los niveles de PACAP38 en distintas estructuras anatómicas implicadas en la patogénesis de la migraña, así como sus receptores (PAC_1 y $VPAC_{1-2}$). Se observaron bajas concentraciones de PACAP38, tanto en plasma como a nivel trigeminal, así como un aumento en la expresión del ARNm de los receptores específicos PAC_1 en el ganglio trigémino. Por contra, no se incrementó significativamente la expresión del ARNm de los receptores $VPAC_{1-2}$, los cuales son compartidos por PACAP38 y VIP con una afinidad semejante.

Estos hallazgos, en primer lugar, sitúan al PACAP38 nuevamente como elemento potencialmente crucial en la fisiopatología de la migraña. La disminución observada en los niveles de PACAP38 podría indicar una depleción crónica de PACAP38 en el STV debido a los repetidos ataques de dolor. Por otro lado, el incremento selectivo de los receptores específicos del PAC_1 respalda su condición como potenciales dianas terapéuticas en la migraña (Vollesen et al., 2018).

Ante la evidencia expuesta de la participación del PACAP en la fisiopatología de la migraña, varios estudios de investigación tienen por objeto bloquear la vía de señalización del PACAP38 en algún punto. Así, se identifican dos posibles dianas farmacológicas, la isoforma PACAP38 y su receptor específico PAC_1 (figura 4). Esto tiene especial interés en aquellos pacientes con escasas opciones terapéuticas, como los no respondedores a los fármacos anti-

CGRP (Rubio-Beltrán et al., 2018; Vollesen et al., 2018). Inicialmente se desarrollaron estudios con antagonistas del receptor PAC₁, pero se observó que también podían actuar como agonistas en las neuronas sensoriales primarias, por lo que los anticuerpos monoclonales dirigidos frente al PACAP38 o a su receptor PAC₁ parecen una opción terapéutica mejor (Sághy et al., 2015).

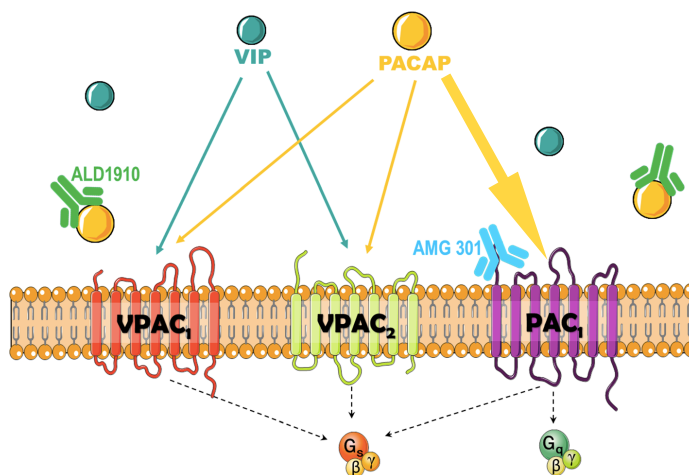


Figura 4. Anticuerpos monoclonales frente al PACAP en la migraña. En verde anticuerpos frente a la molécula PACAP38 (ALD1910), y en azul anticuerpos frente al receptor PAC₁ (AMG 301) (adaptado de Rubio-Beltrán et al., 2018).

Actualmente está en marcha un estudio en fase IIa aleatorizado, doble ciego, controlado con placebo, para evaluar la eficacia y seguridad de un anticuerpo frente al receptor PAC₁ (AMG 301) en pacientes con MC y ME. Asimismo, también se está llevando a cabo un estudio preclínico con otro anticuerpo monoclonal (ALD 1910), dirigido en este caso frente al PACAP38 (figura 4). Será necesario esperar a que se publiquen estos resultados para conocer su posible eficacia, así como su perfil de efectos secundarios.

5.2.3 OTROS NEUROPEPTIDOS PARASIMPÁTICOS

A día de hoy, no disponemos de trabajos de investigación relevantes sobre otros neuropéptidos parasimpáticos como son la helodermina, la helospectina I y II y la PHM, en la migraña u otras cefaleas primarias.

5.3. NEUROPEPTIDOS GLIALES: S100B

El ganglio del trigémino comprende dos categorías celulares diferentes, las neuronas y las células de estirpe glial, en una proporción de 1:10 (Hanani, 2005; Thalakoti et al., 2007). Dentro de estas últimas diferenciamos las células gliales satélites o capsulares, que envuelven los cuerpos celulares neuronales proporcionándoles un microambiente adecuado, y las células de Schwann, responsables del aislamiento de las neuronas del sistema nervioso parasimpático mediante la producción de mielina (Dublin y Hanani, 2007; Pannese, 2002; Thalakoti et al., 2007). Por tanto, estas células gliales no solo proporcionan un soporte estructural a las neuronas, sino que también regulan directamente la actividad neural (Dublin y Hanani, 2007).

Se ha demostrado que las células gliales satélite participan en los procesos de sensibilización nociceptiva periférica, modulando así la excitabilidad de las neuronas ganglionares (Dublin y Hanani, 2007; Goadsby et al., 2002; Ho et al., 2008; Thalakoti et al., 2007). En estudios de experimentación también se ha probado que la liberación trigeminal de CGRP activa las células gliales, promoviendo la salida tanto de óxido nítrico como de otras citocinas proinflamatorias que contribuyen al fenómeno de sensibilización periférica en la migraña (Dublin y Hanani, 2007). Incluso, recientemente se ha logrado bloquear *in vitro* esta vía de señalización glial a nivel trigeminal con tetrandina —un alcaloide usado en la medicina tradicional china con propiedades analgésicas y antiinflamatorias—, mejorando su sensibilización periférica (Qin et al., 2018).

Una de las moléculas clave en este proceso de señalización glial es la proteína ligadora de calcio S100 beta (S100B) (Donato, 1999). Esta molécula se localiza en el citoplasma de las células gliales tanto del sistema nervioso central como periférico (figura 5). Presenta una vida media corta en plasma (20-25 minutos) (Jonsson et al., 2000), y sus concentraciones séricas y en LCR se incrementan bruscamente en respuesta a estímulos inflamatorios (Thalakoti et al., 2007) y a daños cerebrales como el traumatismo craneoencefálico, la isquemia cerebral e incluso en algunas enfermedades neurodegenerativas como la esclerosis múltiple, la enfermedad de Parkinson o la enfermedad de Alzheimer (Bartosik-Psujek et al., 2011; Camby et al., 1999; Foerch et al., 2005; Ingebrigtsen et al., 2000; Jauch et al., 2006; Schaf et al., 2005). Además, se ha observado que su elevación y posterior normalización se correlacionan con la severidad del daño cerebral (Bloomfield et al., 2007).

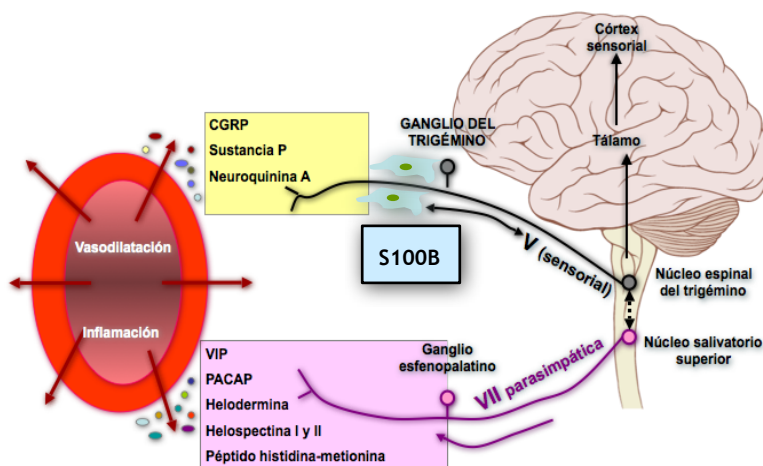


Figura 5. Activación del STV y liberación de neuropéptidos neurales y gliales en la migraña (adaptado de Riesco et al., 2017).

Por otra parte, también se ha debatido si el incremento de las concentraciones plasmáticas de la proteína S100B pudiera reflejar una alteración de la permeabilidad de la barrera hematoencefálica en ausencia de daño neuronal, como se cree que sucede transitoriamente en los pacientes migrañosos (Kapural et al., 2002).

En modelos de experimentación con animales se ha demostrado que la estimulación del ganglio del trigémino conduce a un incremento en la expresión de S100B, lo cual podría contribuir a la sensibilización de neuronas trigeminales en la migraña (Donato et al., 2008; Thalakoti et al., 2007). Los estudios realizados hasta la fecha que evalúan el comportamiento del péptido S100B en las cefaleas primarias, y concretamente en la migraña, son escasos y muestran resultados discordantes.

El primero de ellos (Papandreou et al., 2005) se lleva a cabo en población infantil (edad < 16 años). Este será, como veremos, el único que estudie el comportamiento de la proteína S100B en la población pediátrica. El propósito del mismo es evaluar las concentraciones séricas de la proteína glial S100B en niños con cefaleas recurrentes, con el objeto de valorar su posible uso como herramienta diagnóstica coadyuvante en la migraña infantil. Se comparan los valores séricos de S100B en la fase ictal (<3 horas desde el inicio del dolor) en 25 niños con cefaleas recurrentes (15 con migraña y 10 con cefalea tensional) y en un grupo control de 23 niños sanos. Se encontraron niveles de S100B significativamente elevados en el grupo de migraña

con respecto a los otros dos grupos (cefalea tensional y controles). Se destaca que este incremento de S100B en los niños migrañosos no alcanzó niveles neurotóxicos. Los autores interpretaron este hallazgo no como un marcador de daño celular, sino como un reactante de fase aguda en la migraña, similar a la proteína c-Fos (Fulle et al., 2000). A la luz de sus resultados, los autores concluyeron que la proteína glial S100B podría ser un potencial biomarcador para el diagnóstico de migraña en fase aguda en niños con cefaleas recurrentes.

En los años siguientes se completaron dos estudios similares en los que se evaluó el comportamiento de esta molécula, así como de la enzima enolasa neuroespecífica (NSE), la cual es un buen marcador de daño neuronal.

En el primero de ellos (Teepker et al., 2009) se compararon las concentraciones plasmáticas de ambas moléculas en la fase ictal e interictal entre 21 migrañosos y 21 individuos sanos sin historia de cefalea. Se objetivó un incremento significativo en los niveles séricos de S100B en el grupo de los migrañosos con respecto al grupo control, tanto ictal como interictalmente. Es más, las mayores concentraciones de esta proteína en los pacientes migrañosos se observaron en el período libre de dolor, siendo también estadísticamente más elevadas que las determinadas en la fase de crisis. Contrariamente, la NSE se encontró disminuida en el grupo de migraña respecto al control, con valores similares en la fase de crisis y en el periodo intercrítico. La lectura global que se hizo de estos resultados fue que el incremento sérico de S100B en la migraña —especialmente en la fase de intercrisis— junto con el decremento de la NSE apoyarían la hipótesis de la disrupción prolongada de la BHE que se produciría en estos pacientes sin un daño neural evidente.

El segundo trabajo fue el llevado a cabo por Yilmaz et al. (2011) y, al igual que Teepker et al., compararon las concentraciones séricas tanto de S100B como de NSE en un grupo de pacientes migrañosos (en periodo ictal e interictal), con las observadas en un grupo de voluntarios sanos. A diferencia de Teepker et al., se excluyeron del estudio los pacientes con MA y el tamaño muestral fue discretamente mayor (41 pacientes con migraña vs. 21, y 35 controles vs. 21). Se encontró una elevación de los niveles de S100B en el grupo de migraña frente a los controles, tanto en la fase ictal como en la intercrisis (diferencias no significativas entre ambas determinaciones a diferencia de Teepker et al.). Por el contrario, se halló un incremento en las concentraciones séricas de NSE en los pacientes migrañosos con respecto a

los controles sanos, pero que solo alcanzó la significación estadística en el periodo ictal. Los autores no se aventuraron a ofrecer una justificación para estos hallazgos. Únicamente, especularon que quizás en los pacientes con MA exista cierto daño neuronal y, consecuentemente, se produzca un aumento de la enzima NSE. De ser así, se tendrían que haber observado diferencias entre ambos trabajos en sentido inverso, es decir, niveles más bajos de NSE para el grupo de migraña en el estudio de Yilmaz et al. y elevados en el de Teepker et al., que fueron quienes incluyeron pacientes con MA. Concluyeron planteando que en la fase aguda de cefalea podría existir un daño neuronal y/o glial así como una alteración de la BHE que, de forma crónica, podría ejercer un efecto neurotóxico y proinflamatorio en estos pacientes.

Por último, Celikbilek et al. (2014) publicaron un estudio en que analizaban los niveles séricos de S100B en la población migrañosa, pero en este caso solamente en la intercrisis. Se incluyeron 49 pacientes con migraña y 35 controles sanos. Las concentraciones de S100B fueron determinadas mediante ELISA. Por primera vez se evaluó de forma específica el comportamiento de esta proteína en pacientes con MA (29 pacientes del grupo de migraña). Sorprendentemente, se encontraron niveles séricos de S100B disminuidos en los pacientes migrañosos con respecto a los controles ($p < 0,001$). Además, no se observaron diferencias significativas en las concentraciones de S100B entre los migrañosos en función de la presencia de aura. Por último, tampoco se halló correlación alguna entre las concentraciones de esta proteína glial y las características analizadas de la cefalea (severidad, frecuencia, duración del ataque y tiempo de evolución de la migraña).

Tabla 9. Relación de estudios que analizan los niveles plasmáticos de S100B en la migraña.

	Año	Ictal	Interictal
Papandreou et al.	2005	↑ Migraña en niños	
Teepker et al.	2009	↑ Migraña (↓ NSE)	↑↑ Migraña (↓ NSE)
Yilmaz et al.	2011	↑ ME (↑ NSE)	↑ ME
Celikbilek et al.	2014		↓ Migraña (MA ↔ MO)

Estos resultados contrastaron con lo publicado hasta entonces, que orientaba a niveles plasmáticos de S100B elevados en pacientes migrañosos, tanto ictal como interictalmente. Las justificaciones fisiopatológicas que se expusieron para los resultados de este último trabajo fueron las siguientes: 1) el hecho de contar con muestras sanguíneas exclusivamente en el periodo intercrisis plantea la duda de si los niveles de S100B hubiesen estado incrementados en caso de haber realizado determinaciones también en la fase ictal, 2) las extracciones sanguíneas fueron realizadas entre las 8.30 y las 10:00 horas, pero se propone que quizás las concentraciones de S100B habrían sido mayores si las muestras se hubiera obtenido al final del día, considerando la hipótesis de la sobreproducción de moléculas inflamatorias (como el S100B) a última hora del día en relación con la posible activación crónica de la glía debida al estrés, y 3) por último se hace referencia a la corta vida media plasmática tanto de S100B (30 minutos), como sucede con otras proteínas del sistema nervioso, por lo que no es de extrañar que las concentraciones de la misma fuesen bajas.

En resumen, el análisis comparativo de los resultados obtenidos en los distintos trabajos refleja la complejidad de la interpretación de los hallazgos, no existiendo por el momento un acuerdo sobre la función exacta de la proteína S100B en la migraña. De ello deriva que actualmente existan muchas dudas acerca de la utilidad de la determinación plasmática de esta proteína glial como biomarcador para el diagnóstico y monitorización de la migraña, siendo necesarios más estudios que contribuyan a resolver esta cuestión, como sucede con otras biomoléculas.

II. PLANTEAMIENTO Y OBJETIVOS

1. ESTUDIO DE LOS SÍNTOMAS AUTONÓMICOS CRANEALES PARASIMPÁTICOS (CAPS) EN LA MIGRAÑA CRÓNICA: CREACIÓN DE UNA NUEVA ESCALA

Los CAS resultan de la activación del RTA (Goadsby, 2013; May y Goadsby, 1999; Strassman et al., 1996) y se presentan en un porcentaje considerable de pacientes con migraña (26,9%-74%), tanto en adultos como en población infantil (Barbanti et al., 2002; Barbanti et al., 2016; Gelfand et al., 2013; Gupta y Bhatia, 2006; Guven et al., 2013; Lai et al., 2009; Obermann et al., 2007; Raieli et al., 2015; Rozen, 2011). Probablemente, esta amplia variabilidad de prevalencias en parte pueda ser debido al diseño de los estudios: edad infantil vs. adultos, criterios de inclusión-exclusión distintos, número variable de CAS a examen (4-10), y naturaleza de estos (parasimpática, simpática o de mecanismo incierto).

Hasta el momento no se ha desarrollado ninguna escala dirigida a la evaluación de CAS en las cefaleas primarias. Consideramos que puede ser de gran utilidad disponer de algún sistema de cuantificación de CAS, no solo para poder determinar su magnitud global, sino también para establecer una uniformidad en su evaluación y así facilitar la comparación de los resultados de CAS entre los distintos estudios.

Por otro lado, estudios recientes han demostrado un incremento de los niveles interictales de algunos neuropéptidos en pacientes con MC, tanto trigeminales como el CGRP (Ashina et al., 2000; Cernuda-Morollón et al., 2013; Fusayasu et al., 2007), como parasimpáticos como el VIP (Cernuda-Morollón et al., 2015). Esto se ha relacionado con una posible activación persistente del STV en estos pacientes y, como consecuencia, también del RTA.

Hasta la fecha no se ha realizado ningún estudio en MC con el objetivo específico de valorar la presencia de CAS, si bien es cierto que los pocos datos de los que disponemos apuntan a un posible incremento en la prevalencia de los mismos en este subgrupo de pacientes. De ser así, esto apoyaría la hipótesis anteriormente expuesta.

Objetivos:

- Evaluar la prevalencia de CAS —fundamentalmente aquellos de naturaleza parasimpática (CAPS)— en pacientes con MC, mediante la creación de una nueva escala.
- Caracterizar los CAPS en la MC: determinación de frecuencias individuales así como intensidad de los mismos.
- Estudiar los posibles factores asociados a la presencia de CAPS en la MC.
- Aplicación de la escala sobre un grupo de pacientes con CR y comparación de resultados con los observados en la muestra de MC.

2. ESTUDIO DE NEUROPEPTIDOS EN MIGRAÑA CRÓNICA Y CORRELACIÓN CON CAPS.

2.1 NEUROPEPTIDOS PARASIMPÁTICOS Y MIGRAÑA CRÓNICA

Existen varios estudios que ponen el foco en el sistema autónomo craneal, y más concretamente en el parasimpático facial como estructura clave en la fisiopatología de la migraña, al menos en un subgrupo de pacientes que presentan síntomas parasimpáticos craneales durante sus crisis de migraña (Burstein y Jakubowski, 2005; Edvinsson y Uddman, 2005; Gelfand et al., 2013; Gupta y Bhatia, 2006;).

Actualmente hay evidencias científicas suficientes que respaldan esta hipótesis, muchas de ellas relacionadas las concentraciones de neuropéptidos parasimpáticos como el VIP o el PACAP en los pacientes migrañosos, y otras en relación con las terapias que actúan sobre uno de los ganglios parasimpáticos por excelencia, el GEP.

2.1.1 VIP Y MIGRAÑA CRÓNICA: RELACIÓN ENTRE LOS CAPS Y LOS NIVELES SÉRICOS DE VIP EN COMPARACIÓN CON LOS DE CGRP.

Ya en la década de los 90 se demostró un incremento de los niveles plasmáticos de VIP en sujetos con CR durante las crisis de dolor, y se justificaron por la intensa activación parasimpática observada (Goadsby y Edvinsson, 1994). En la ME también se han observado una elevación en las concentraciones de VIP en un número limitado de pacientes que exhibían CAPS, demostrándose cómo estos se normalizaban tras el alivio del dolor con triptanes (Goadsby et al., 1990; Sarchielli et al., 2006).

En lo que respecta a la MC, trabajos recientes muestran niveles plasmáticos elevados de VIP en pacientes con MC en los periodos libres de dolor (Cernuda-Morollón et al., 2015), así como en una alta proporción de pacientes con MC con buena respuesta a la onabotA — incluso en aquellos sujetos con niveles de CGRP normales— (Cernuda-Morollón et al., 2014). A la vista de estos resultados, parecen plausibles las teorías que otorgan un papel activo al

sistema parasimpático craneal participando en la sensibilización de nociceptores periféricos, y por consiguiente contribuyendo al proceso de cronificación del dolor en la migraña (Yarnitsky et al., 2003).

Por tanto, parece razonable pensar que pueda existir una relación entre los niveles de VIP y la intensidad de los CAPS en esta población de MC.

Objetivos:

- Correlacionar la presencia y el grado de activación parasimpática craneal —valorados mediante la escala numérica de CAPS propuesta—, con los niveles plasmáticos en sangre periférica de VIP y CGRP en una serie de pacientes con MC.

2.1.2 PACAP Y MIGRAÑA CRÓNICA: ESTUDIO DE LOS NIVELES SÉRICOS INTERICTALES

Existen evidencias recientes que indican que la liberación del péptido parasimpático PACAP está implicado en la fisiopatología de la migraña desempeñando no solo funciones vasomotoras, como se ha observado con el VIP, sino también sensoriales, actuando a través de receptores nociceptivos (Akkerman y Goadsby, 2015; Christiansen et al., 2003; Edvinsson et al., 2001; Sandor et al., 2009).

Los estudios de provocación con PACAP38 han probado su capacidad de inducir migraña en pacientes migrañosos (Amin et al., 2014; Guo et al., 2016; Schytz et al., 2009), y gracias al desarrollo de nuevas técnicas de RM cerebral se ha demostrado que, paralelamente a la aparición de la cefalea, se producen alteraciones en estructuras relevantes en la patogénesis de la migraña, tanto a nivel vascular como neuronal (Amin et al., 2012; Amin et al., 2016).

Diferentes trabajos de investigación han situado a su receptor específico PAC₁ en el punto de mira otorgándole un papel clave en este proceso de transmisión nociceptiva, y actualmente están en desarrollo algunos ensayos clínicos en fase IIa con anticuerpos dirigidos frente al

PACAP38 o frente a su receptor PAC₁ (Han et al., 2017; Harmar et al., 2012; Vollesen et al., 2018).

También se ha analizado el comportamiento del PACAP38 como posible biomarcador en la migraña y aunque los resultados no han sido plenamente concluyentes, se observa cierta tendencia a presentar niveles interictales disminuidos de este neuropéptido en pacientes migrañosos, siendo normales o elevados en la fase ictal de dolor (Han et al., 2015; Tuka et al., 2013; Zagami et al., 2014).

En lo relativo a la MC, únicamente un grupo de investigación ha analizado las concentraciones de este neuropéptido mediante ELISA, mostrando niveles de PACAP plasmáticos interictales disminuidos en pacientes con MC respecto a los controles, pero no respecto al subgrupo de ME (Han et al., 2015). Recientemente este mismo grupo publicó otro estudio en un modelo experimental de MC en ratones observando una disminución de las concentraciones de PACAP38 a nivel plasmático y trigeminal, junto con un incremento en la expresión de los receptores PAC₁ en el ganglio trigémino (Han et al., 2017). En base a estos hallazgos y considerando las recientes evidencias que vinculan el PACAP con los fenómenos de sensibilización central y periférica, parece que este péptido podría ser un marcador útil de la activación del parasimpático craneal en la MC.

Objetivos:

- Determinar los niveles séricos de PACAP en sangre periférica en pacientes con MC, ME y controles, en comparación con los de otro neuropéptido parasimpático (VIP).
- Analizar si alguna de las variables evaluadas se relacionan con los niveles de PACAP o de VIP.
- Estudiar la posible asociación en pacientes con MC entre los niveles plasmáticos de PACAP y el grado de activación parasimpática craneal, cuantificada mediante la escala numérica de CAPS propuesta.

2.2. NEUROPEPTIDOS GLIALES: S100B Y MIGRAÑA CRÓNICA

Las células gliales proporcionan un soporte estructural y metabólico a las neuronas, siendo capaces de regular directamente la actividad neural (Dublin y Hanani, 2007). Estudios de experimentación con animales han demostrado que la proteína glial S100B se sobreexpresa tras la estimulación del ganglio trigémino (Donato et al., 2008; Thalakoti et al., 2007).

En los últimos años se han publicado algunos trabajos que analizaban el comportamiento de esta proteína en pacientes migrañosos con resultados contradictorios. Aunque las primeras observaciones sugerían una elevación de S100B ictalmente en los pacientes migrañosos (Papandreou et al., 2005), pronto llegaron otros estudios que analizaban conjuntamente la enzima NSE, introduciendo nuevos términos como neuroinflamación y neurodegeneración para tratar de justificar sus hallazgos (Teepker et al., 2009; Yilmaz et al., 2011). Para mayor complejidad, el último de los trabajos publicados al respecto muestra resultados en sentido opuesto, encontrando niveles de S100B interictales disminuidos en el grupo de migraña respecto a los controles, sin poder justificar satisfactoriamente los hallazgos (Celikbilek et al., 2014).

Por otro lado, recientemente se ha demostrado que las células gliales satélite participan en los procesos de sensibilización nociceptiva periférica, modulando así la excitabilidad de las neuronas ganglionares (Dublin y Hanani, 2007; Goadsby et al., 2002; Ho et al., 2008; Thalakoti et al., 2007).

Considerando todas estas evidencias, se plantea que S100B pueda participar de alguna manera en la fisiopatología de la MC, por lo que sería interesante conocer si sus concentraciones séricas pueden reflejar su comportamiento a nivel central en este subgrupo de migraña.

Objetivos:

- Analizar los niveles séricos interictales de la proteína S100B como un posible biomarcador de la activación del STV glial en la MC.

- Determinar si existe alguna relación en los pacientes con MC entre las concentraciones de S100B y las variables analizadas (edad, sexo, tabaquismo, comorbilidades, presencia de aura, tratamientos sintomáticos y terapias preventivas).

III. MATERIAL Y MÉTODOS

1. DESCRIPCIÓN DE LA MUESTRA

1.1. PACIENTES Y GRUPOS CONTROLES

El grupo de estudio estaba formado por pacientes con MC, y según para qué análisis se conformaron hasta tres grupos controles: pacientes con ME, CR y voluntarios sanos. En todos los casos, los diagnósticos fueron realizados según los actuales criterios de la ICHD-III beta.

El reclutamiento de los pacientes pertenecientes a los grupos de MC, ME y CR, y la toma de sus muestras, se hizo de forma prospectiva desde la Consulta de Cefaleas del Servicio de Neurología del Hospital Universitario Central de Asturias (HUCA) durante los años 2014 y 2015.

El grupo control fue constituido en general por personal sanitario de nuestro hospital (médicos, enfermeras, residentes y estudiantes de medicina). Eran individuos sin historia previa de cefalea que no seguían ningún tratamiento crónico, considerando también los anticonceptivos orales.

1.2. CRITERIOS DE INCLUSIÓN

a) Generales:

Los criterios de inclusión comunes para todos los sujetos fueron los siguientes:

- Edad igual o mayor a 16 años.
- Exploración física sistémica y neurológica normal.
- Aceptación del consentimiento informado (por el paciente o tutor en caso de pacientes menores de edad) tras proporcionar información del estudio.

b) Específicos:

- Para los grupos de MC, ME y CR, disponer al menos de un estudio de neuroimagen cerebral normal mediante tomografía axial computarizada (TAC) o RM.
- Para los pacientes con antecedentes de abuso de analgésicos, haber sido desintoxicados un mínimo de dos meses, los 6 meses previos al inicio del estudio.

1.3. CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

- Antecedente de patología del sistema nervioso central exceptuando la cefalea primaria. Para los controles sanos, ausencia de historia previa de migraña.
- Antecedente de enfermedad grave somática o psiquiátrica.
- Presentar sinusitis crónica o aguda en el momento de la recogida de muestras.
- Consumo > 30 gramos de alcohol/día.
- Mujeres embarazadas o en periodo de lactancia.
- Para el grupo control, recibir tratamiento crónico (incluidos los anticonceptivos orales).

2. VARIABLES ANALIZADAS

Las variables objeto de estudio fueron:

- Edad y sexo.

- Tabaquismo.

- Comorbilidades: hipertensión arterial (HTA), dislipemia, depresión, fibromialgia, obesidad, hipo o hipertiroidismo.

- Para los pacientes con migraña, presencia de aura.

- Para los pacientes con CR, historia familiar de la misma y forma de presentación (CR crónica o episódica).

- Tratamiento médico de la cefalea en el momento de la inclusión:
 - Abuso de analgésicos

 - Tratamientos sintomáticos: anti-inflamatorios no esteroideos (AINES), triptanes, opiáceos o ergóticos.

 - Fármacos preventivos: topiramato, beta-bloqueantes, flunarizina, amitriptilina, inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina (ISRS), inhibidores de la enzima convertidora de la angiotensina (IECA), antagonistas de los receptores de angiotensina II (ARA-II), zonisamida o valproato.

 - Presencia de politerapia (≥ 2 fármacos preventivos).

 - Terapia con onabotA.

- Síntomas autonómicos craneales parasimpáticos (lagrimeo, inyección conjuntival, congestión nasal y/o rinorrea, edema palpebral y plenitud ótica) y simpáticos (ptosis palpebral).

- Niveles séricos de neuropéptidos trigeminales (CGRP), parasimpáticos (VIP, PACAP) y gliales (S100B).

3. ESTUDIO DE LOS CAPS

Se valoró la presencia de CAPS en pacientes con MC y CR atendiendo a los criterios de la última Clasificación Internacional de Cefaleas (ICHD-III beta), mediante la creación de una escala cuantitativa.

A todos los pacientes con MC y CR incluidos en la primera parte del estudio se les interrogó de forma explícita sobre la presencia o ausencia de cinco CAPS durante sus cefaleas: lagrimeo, inyección conjuntival, edema palpebral, plenitud ótica y congestión nasal y/o rinorrea. Todas las entrevistas fueron realizadas por un neurólogo. Se cuantificó la intensidad de los CAPS otorgándoles una puntuación de 0-2 puntos en función de su intensidad (0 ausente, 1 presente en grado leve, 2 presente de forma intensa o muy evidente) (tabla 10). Sumando la puntuación correspondiente a cada uno de los cinco CAPS evaluados, se obtuvo una puntuación total que osciló entre 0-10 puntos.

También se interrogó sobre la presencia de ptosis palpebral, como síntoma craneal autónomo de disfunción del sistema nervioso simpático.

Tabla 10. Escala de valoración de CAPS.

Síntomas autonómicos parasimpáticos craneales	Leve	Intenso
Lagrimeo	1	2
Inyección conjuntival	1	2
Edema palpebral	1	2
Plenitud ótica	1	2
Congestión nasal y/o rinorrea	1	2
PUNTUACIÓN TOTAL (0-10 PUNTOS)		

4. ESTUDIO DE BIOMARCADORES

Las extracciones sanguíneas se realizaron en la Consulta de Cefaleas del HUCA. Las muestras de sangre para el estudio de biomarcadores periféricos fueron extraídas de la vena antecubital en posición de decúbito supino, entre las 9:30 horas y las 12:00 horas, en situación de ayuno.

Todas ellas fueron obtenidas durante el periodo interictal y no habiendo tomado medicación sintomática en las 24 horas previas a la extracción. Por motivos éticos no se retiraron los fármacos preventivos.

El procesamiento de las muestras se realizó en el laboratorio del Departamento de Medicina de la Facultad de Medicina de la Universidad de Oviedo, mediante centrifugación durante 10 minutos a 2000 g y almacenamiento posterior en alícuotas congeladas a -80°C hasta la realización del análisis molecular, el cual se llevó a cabo por biólogos ciegos para los parámetros clínicos.

Las determinaciones de los niveles séricos de CGRP, VIP, PACAP y S100B para los distintos análisis se realizaron mediante kits comerciales de análisis cuantitativo mediante técnica de ELISA, siguiendo estrictamente las instrucciones del fabricante (USCN Life Science Inc., Hubei, China y Cloud-Clone Corp). Los niveles de absorbancia fueron medidos con un espectrofotómetro BioRAD (Hercules, CA, USA).

Los límites de detección fueron < 4,3 pg/mL para el CGRP, < 2,34 pg/mL para el VIP, < 1 pg/mL para el PACAP y < 2,7 pg/mL para la S100B.

5. COMITÉ DE ÉTICA

Los estudios fueron evaluados y aprobados por el Comité de Ética de la Investigación del Principado de Asturias.

6. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Todos los datos fueron analizados usando el software estadístico Stata 9.0 (Stata Corp 2011). Los valores de $p < 0,05$ se consideraron estadísticamente significativos.

Para describir las variables categóricas se usaron frecuencias absolutas y relativas (porcentajes). Para las variables cuantitativas se empleó la media \pm desviación estándar, y en los casos de distribuciones no normales la mediana y los límites.

Las proporciones se compararon con el Test de ji-cuadrado o el Test exacto de Fisher (si alguno de los valores esperados era <5). La relación de 2 medias se hizo con la prueba t de Student-Fisher (supuesto de normalidad verificado mediante el Test de Shapiro-Wilk para tamaños muestrales < 30 ; homocedasticidad comprobada con prueba de Levene), o con la prueba no paramétrica Test de Mann-Whitney-Wilcoxon (en caso de no se cumplirse las condiciones de aplicación anteriormente expuestas para la prueba t de Student-Fisher). El estudio de la relación entre las medias de 3 o más grupos se realizó con el análisis de la varianza (ANOVA), o con la Prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis (si se incumplía el criterio de normalidad y homocedasticidad).

La relación entre variables continuas se calculó mediante el coeficiente de correlación de Pearson como prueba paramétrica, o con el coeficiente de correlación de Spearman como prueba no paramétrica.

IV. RESULTADOS

1. ESTUDIO DE LOS CAPS EN PACIENTES CON MIGRAÑA CRÓNICA

1.1. DESCRIPCIÓN DE LA MUESTRA.

Se incluyeron 100 pacientes con MC (48% MA), en su mayoría de género femenino (93 mujeres vs. 7 varones). La edad media fue de 45 años (límites 18-63 años). El 48% de los pacientes tenían historia de MA.

Las características clínicas de los pacientes incluidos en el estudio se exponen a continuación (tabla 11). Los datos más destacables serían:

- Casi la mitad de los sujetos sufrían depresión (41%), siendo esta la patología más frecuente de entre todas las evaluadas.
- El 39% cumplían criterios IHS de abuso de analgésicos.
- Todos estaban recibiendo tratamientos preventivos para la migraña. De ellos, el más frecuente fue el topiramato (39%), seguido de los beta-bloqueantes y la amitriptilina (21% para ambos).
- El 42% de los pacientes estaban recibiendo varias terapias preventivas para la migraña.
- El 78% de los sujetos estaba o había estado en tratamiento con onabotA.

Tabla 11. Descripción de los pacientes con MC.

Tabaquismo	15 %
Comorbilidades	
HTA	13 %
Dislipemia	22 %
Depresión	41 %

RESULTADOS

Fibromialgia	11 %
Obesidad	9 %
Hipo/hipertiroidismo	6 %
Tratamientos	
Abuso de analgésicos	39 %
Tratamiento sintomático	
AINES	68 %
Triptanes	74 %
Opiáceos	9 %
Ergóticos	1 %
Tratamiento profiláctico	
Topiramato	39 %
Beta-bloqueantes	21 %
Flunarizina	3 %
Amitriptilina	21 %
ISRS	12 %
IECA	18 %
Zonisamida	16 %
Valproato	7 %
Politerapia (≥ 2 fármacos)	42 %
OnabotA	78 %

1.2. ANÁLISIS DE LOS CAPS EN LA MIGRAÑA CRÓNICA

En primer lugar se evaluó la prevalencia de CAPS en la muestra de pacientes con MC y se realizó un análisis cuantitativo (número de CAPS referidos) así como cualitativo (severidad de los mismos). Se estudiaron las posibles diferencias entre los pacientes que presentaron CAPS frente a aquellos que no lo hicieron, para conocer si la distribución de las variables entre ambos grupos era homogénea o si podría estar influyendo de algún modo en los resultados.

RESULTADOS

Como se observa en la figura 6, el 82% de los pacientes con MC presentaron alguno de los CAPS evaluados, frente al 18% que no refirió ninguno de ellos. La media de síntomas fue de 1,8. Solo una tercera parte de los pacientes (28%) refirió 3 o más CAPS (figura 6).

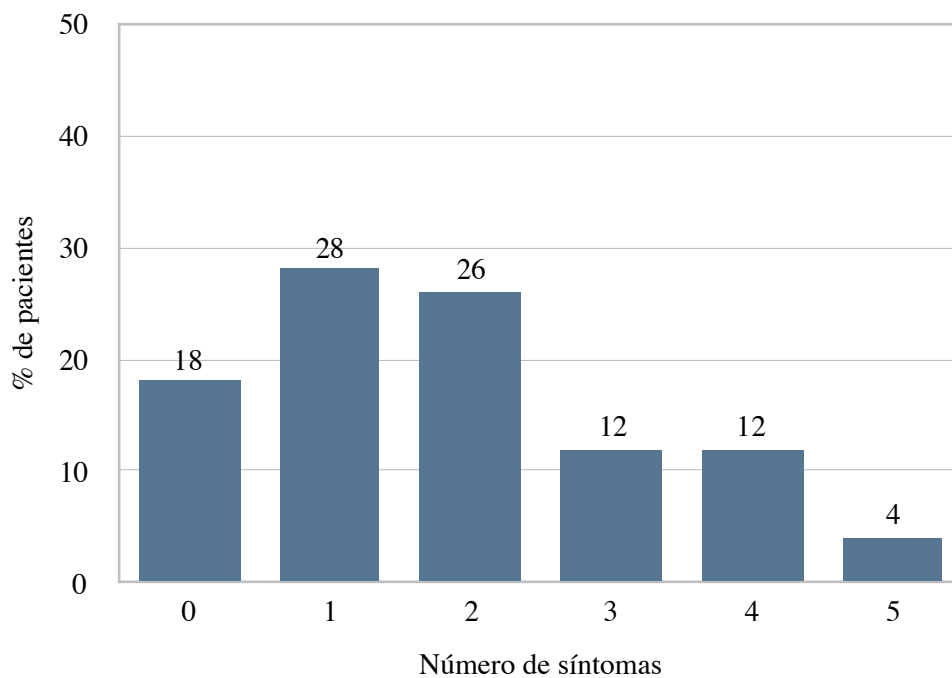


Figura 6. Número de CAPS presentes en pacientes con MC.

Las principales diferencias entre los pacientes con y sin CAPS se muestran a continuación (tabla 12). La media de edad fue de 42,9 años para los pacientes sin CAPS y 46,2 años para los pacientes con CAPS ($p = 0,240$). Se encontraron diferencias significativas en la distribución por sexos (MC sin CAPS 77,8% mujeres y 22,2 % varones *vs.* MC con CAPS 96,3% mujeres y 3,7% varones; $p = 0,019$). No existen diferencias entre ambos grupos en la prevalencia de aura (MC sin CAPS 44,4% *vs.* MC con CAPS 48,8%; $p = 0,799$), ni en el resto de variables estudiadas, excepto en la proporción de pacientes con abuso de analgésicos (MC sin CAPS 66,7% *vs.* MC con CAPS 32,9%; $p = 0,015$).

RESULTADOS

Tabla 12. Descripción de los pacientes con MC en función de la presencia de CAPS.

	MC sin CAPS (n = 18)	MC con CAPS (n = 82)	<i>p</i>
Edad	42,89 ± 11,11	46,23 ± 10,74	0,240
Sexo			0,019
Femenino	14 (77,8%)	79 (96,3%)	
Masculino	4 (22,2%)	3 (3,7%)	
Tabaquismo	2 (11,1%)	13 (15,9%)	1,000
Aura	8 (44,4%)	40 (48,8%)	0,799
Comorbilidades			
HTA	1 (5,6%)	12 (14,6%)	0,453
Dislipemia	2 (11,1%)	20 (24,4%)	0,347
Depresión	8 (44,4%)	33 (40,2%)	0,795
Fibromialgia	0	11 (13,41%)	0,206
Obesidad	2 (11,1%)	7 (8,5%)	0,663
Hipo/hipertiroidismo	1 (5,6%)	5 (6,1%)	1,000
Tratamientos			
Abuso de analgésicos	12 (66,7%)	27 (32,9%)	0,015
Tratamiento sintomático			
AINES	12 (66,7%)	56 (68,3%)	1,000
Triptanes	10 (55,6%)	64 (78,1%)	0,073
Opiáceos	1 (5,6%)	8 (9,8%)	1,000
Ergóticos	0	1 (1,2%)	1,000
Tratamiento profiláctico			
Topiramato	4 (22,2%)	35 (42,7%)	0,120
Beta-bloqueantes	4 (22,2%)	17 (20,7%)	1,000
Flunarizina	0	3 (3,7%)	1,000
Amitriptilina	4 (22,2%)	17 (20,7%)	1,000
ISRS	0	12 (14,6%)	0,117
IECA	4 (22,2%)	14 (17,1%)	0,735
Zonisamida	4 (22,2%)	12 (14,6%)	0,480
Valproato	3 (16,7%)	4 (4,9%)	0,108
Politerapia (≥ 2 fármacos)	7 (38,9%)	35 (42,7%)	0,799
OnabotA	16 (88,9%)	62 (75,6%)	0,347

En el estudio individual de los CAS (tabla 13), el más frecuente de los de naturaleza parasimpática fue el lagrimeo, presente en la mitad de los pacientes (49%). Las prevalencias de los otros CAPS fueron: 44% inyección conjuntival, 39% edema palpebral, 30% sensación de ocupación de oído o plenitud ótica y 20% congestión nasal o rinorrea. Adicionalmente, la ptosis palpebral se manifestó en el 42% de los sujetos.

Tabla 13. Prevalencia individual de CAS en los pacientes con MC.

	Ausente	Presente	Leve	Intenso
Síntomas parasimpáticos				
Lagrimeo	51 (51%)	49 (49%)	41 (83,7%)	8 (16,3%)
Inyección conjuntival	56 (56%)	44 (44%)	36 (81,8%)	8 (18,2%)
Edema palpebral	61 (61%)	39 (39%)	37 (94,9%)	2 (5,1%)
Plenitud ótica	70 (70%)	30 (30%)	22 (73,3%)	8 (26,7%)
Congestión nasal y/o rinorrea	80 (80%)	20 (20%)	17 (85,0 %)	3 (15,0 %)
Síntomas simpáticos				
Ptosis palpebral	58 (58%)	42 (42%)	38 (90,5%)	4 (9,5 %)

1.3. CUANTIFICACIÓN DE LOS CAPS EN LA MIGRAÑA CRÓNICA SEGÚN LA ESCALA.

Con objeto de valorar clínicamente el grado de activación del parasimpático craneal en los pacientes con MC durante sus crisis de migraña, se calculó la puntuación mediante la aplicación de la escala de CAPS propuesta en base al número de síntomas referidos y su intensidad.

La puntuación media según la escala (sobre un máximo de 10 puntos) fue de 2,1 y la mediana de 2 (límites 0-7 puntos). Puntuaciones iguales o superiores a 3 solo se alcanzaron en el 30% de los pacientes, y únicamente el 6% de los migrañosos obtuvo más de 5 puntos (figura 7).

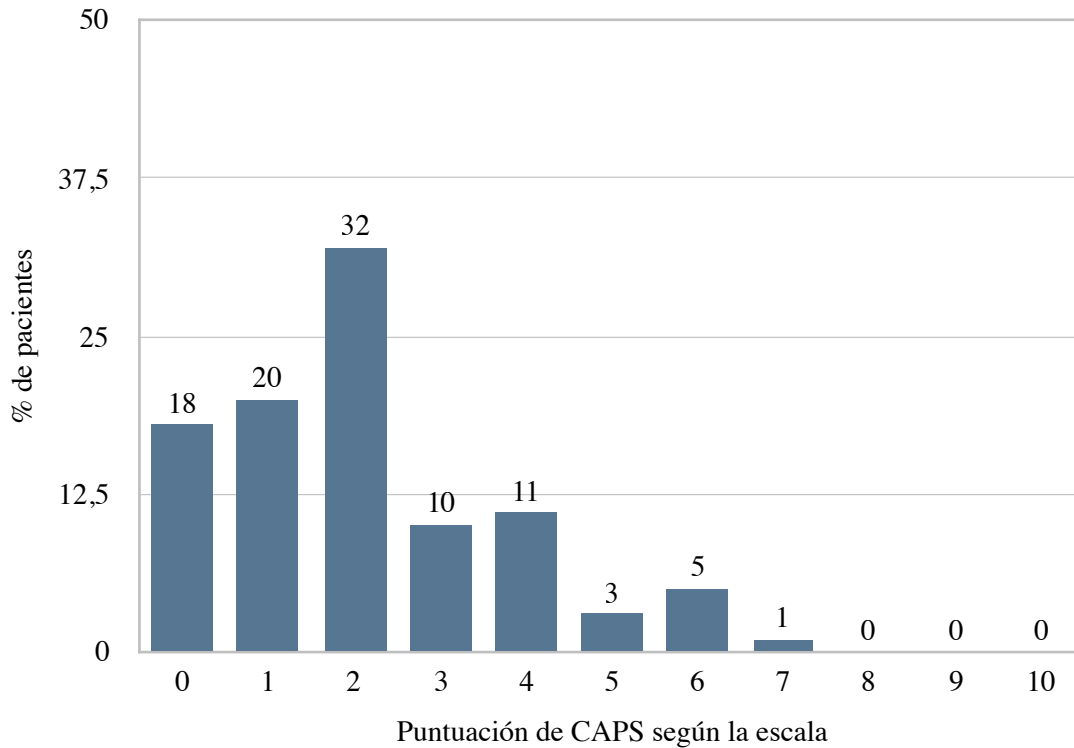


Figura 7. Puntuación de CAPS según la escala en pacientes con MC.

1.4. COMPARACIÓN DE CAPS ENTRE MIGRAÑA CRÓNICA CON Y SIN AURA.

Se realizó un análisis comparativo del número de CAPS y la puntuación según la escala, en función de la presencia de aura. No se encontraron diferencias significativas al comparar las características clínicas y demográficas de los pacientes con MC en función de la presencia de aura, excepto para la proporción de pacientes con depresión (MC sin aura 51,9% vs. MC con aura 29,2%; $p = 0,026$), y el abuso de analgésicos (MC sin aura 28,9% vs. MC con aura 50,0%; $p = 0,040$) (tabla 14).

RESULTADOS

Tabla 14. Descripción de los pacientes con MC en función de la presencia de aura.

	MC sin aura (n = 52)	MC con aura (n = 48)	<i>p</i>
Edad	45,37 ± 11,11	45,92 ± 10,74	0,802
Sexo			0,286
Femenino	47 (90,4%)	46 (95,8%)	
Masculino	5 (9,6%)	2 (4,2%)	
Tabaquismo	7 (13,5%)	8 (16,7%)	0,781
Comorbilidades			
HTA	10 (19,2%)	3 (6,3%)	0,075
Dislipemia	11 (21,2%)	11 (22,9%)	1,000
Depresión	27 (51,9%)	14 (29,2%)	0,026
Fibromialgia	3 (5,8%)	8 (16,7%)	0,112
Obesidad	4 (7,7%)	5 (10,4%)	0,734
Hipo o hipertiroidismo	2 (3,8%)	4 (8,3%)	0,345
Tratamientos			
Abuso de analgésicos	15 (28,9%)	24 (50,0%)	0,040
Tratamiento sintomático			
AINES	37 (71,2%)	31 (64,6%)	0,525
Triptanes	39 (75,0%)	35 (72,9%)	0,824
Opiáceos	3 (5,8%)	6 (12,5%)	0,305
Ergóticos	1 (1,9%)	0	1,000
Tratamiento profiláctico			
Topiramato	19 (36,5%)	20 (41,7%)	0,683
Beta-bloqueantes	13 (25,0%)	8 (16,7%)	0,336
Flunarizina	1 (1,9%)	2 (4,2%)	0,606
Amitriptilina	11 (21,2%)	10 (20,8%)	1,000
ISRS	7 (13,5%)	5 (10,4%)	0,762
IECA	8 (15,4%)	10 (20,8%)	0,604
Zonisamida	11 (21,2%)	5 (10,4%)	0,178
Valproato	4 (7,7%)	3 (6,3%)	1,000
Politerapia (≥ 2 fármacos)	25 (48,1%)	17 (35,4%)	0,228
OnabotA	44 (84,6%)	34 (70,8%)	0,146

RESULTADOS

El 81% de los pacientes con MC sin aura y el 83% de los pacientes con MC con aura presentaron algún CAPS. La media de síntomas fue de 1,77 para el grupo de MC sin aura y de 1,88 para el grupo de MC con aura ($p = 0,706$) (figura 8).

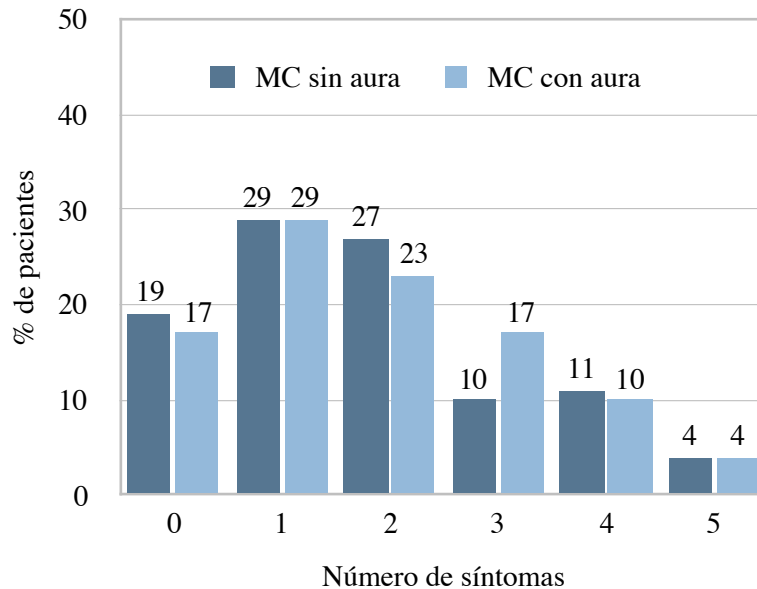


Figura 8. Número de CAPS en pacientes con MC en función de la presencia de aura.

El síntoma más frecuente en ambos grupos fue el lagrimeo (MC sin aura 48,1% vs. MC con aura 50,0%; $p = 1,000$). Tampoco se encontraron diferencias significativas entre ambos grupos para el resto de síntomas autonómicos evaluados (tabla 15).

	MC sin aura (n= 52)	MC con aura (n= 48)	<i>p</i>
Síntomas parasimpáticos			
Lagrimeo	25 (48,1%)	24 (50,0%)	1,000
Inyección conjuntival	24 (46,2%)	20 (41,7%)	0,690
Edema palpebral	21 (40,4%)	18 (37,5%)	0,839
Plenitud ótica	13 (25,0%)	17 (35,4%)	0,282
Congestión nasal y/o rinorrea	9 (17,3%)	11 (22,9%)	0,618
Síntomas simpáticos			
Ptosis palpebral	20 (38,5%)	22 (45,8%)	0,544

RESULTADOS

La puntuación media según la escala fue de 2,04 para el grupo de MC sin aura y de 2,19 para el grupo de MC con aura ($p = 0,661$). La distribución de la puntuación por grupos según la presencia de aura se muestra a continuación (figura 9).

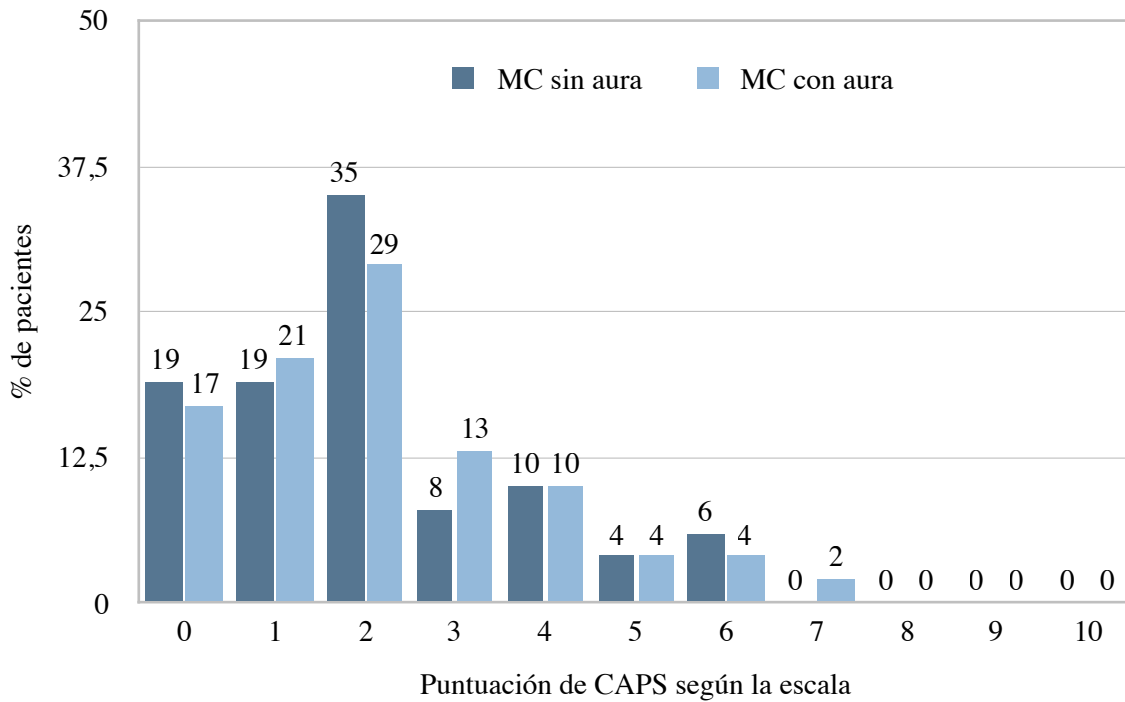


Figura 9. Puntuación de CAPS según la escala en pacientes con MC en función de la presencia de aura.

Tabla 16. Resumen de prevalencias de CAPS en pacientes con MC en función del aura.

	MC sin aura (n = 52)	MC con aura (n = 48)	<i>p</i>
Número de CAPS	1,77 ± 1,39	1,88 ± 1,39	0,706
Puntuación de CAPS según la escala	2,04 ± 1,66	2,19 ± 1,73	0,661

1.5. ESTUDIO DE LOS CAPS EN FUNCIÓN DE OTRAS VARIABLES

Se compararon el número de CAPS y las puntuaciones obtenidas según la escala propuesta en función de otras variables estudiadas como la depresión, el abuso de analgésicos, la politerapia y el tratamiento con onabotA, sin obtener diferencias estadísticamente significativas para ninguna de ellas (tablas 17 - 20).

Tabla 17. CAPS en pacientes con MC con y sin depresión.

	MC sin depresión (n= 59)	MC con depresión (n= 41)	<i>p</i>
Número de CAPS	1,83 ± 1,38	1,80 ± 1,42	0,928
Puntuación de CAPS según la escala	2,14 ± 1,67	2,07 ± 1,74	0,857

Tabla 18. CAPS en pacientes con MC con y sin abuso de analgésicos.

	MC sin abuso de analgésicos (n = 61)	MC con abuso de analgésicos (n = 39)	<i>p</i>
Número de CAPS	1,97 ± 1,33	1,59 ± 1,46	0,186
Puntuación de CAPS según la escala	2,30 ± 1,65	1,82 ± 1,73	0,171

Tabla 19. CAPS en pacientes con MC con y sin politerapia.

	MC sin politerapia (n = 58)	MC con politerapia (n = 42)	<i>p</i>
Número de CAPS	1,81 ± 1,44	1,83 ± 1,32	0,935
Puntuación de CAPS según la escala	2,09 ± 1,73	2,14 ± 1,65	0,869

Tabla 20. CAPS en pacientes con MC con y sin onabotA.

	MC sin onabotA (n = 22)	MC con onabotA (n = 78)	<i>p</i>
Número de CAPS	1,91 ± 1,27	1,79 ± 1,43	0,624
Puntuación de CAPS según la escala	2,36 ± 1,87	2,03 ± 1,64	0,542

1.6. APLICACIÓN DE LA ESCALA EN LA CEFALEA EN RACIMOS Y COMPARACIÓN CON LA MIGRAÑA CRÓNICA.

Con el propósito de comprobar la validez de la escala de CAPS diseñada, se aplicó en un grupo de pacientes con CR, paradigma de las cefaleas trigémino-autonómicas, esperando obtener puntuaciones más elevadas que las observadas en el grupo de MC.

Se incluyeron 25 pacientes con CR, con una media de edad de 48 años (límites 37-67 años). En cuanto a la distribución por género, 22 de ellos eran varones (88%) frente a 3 mujeres (12%). La media de duración de la enfermedad fue de 9,5 años (límites 18-63 años).

Atendiendo a la periodicidad, 21 pacientes (84%) presentaban CR episódica y 4 (16%) CR crónica. En el momento de su inclusión en el estudio 11 de ellos (44%) seguían algún tipo de tratamiento preventivo. Solamente se identificó historia familiar positiva de CR en 6 pacientes (24%).

Las características clínicas de los sujetos con CR incluidos se resumen a continuación (tabla 21).

Tabla 21. Descripción de los pacientes con CR.

Tabaquismo	12 (48%)
Comorbilidades	
HTA	3 (12%)
Dislipemia	3 (12%)
Depresión	6 (24%)
Fibromialgia	1 (4%)
Obesidad	0
Hipo/hipertiroidismo	0

De los 25 pacientes con CR, 23 (92%) presentaron alguno de los CAPS evaluados, y solo 2 no reconoció ninguno (8%). Más de la mitad de los pacientes (60%) refirieron 3 o más síntomas autonómicos. El siguiente gráfico refleja la distribución de los CAPS en los sujetos con CR, comparándolos con el grupo de pacientes con MC (figura 10). La media de CAPS referidos por los pacientes con CR fue de 2,6 vs. 1,8 en la MC, siendo estas diferencias estadísticamente significativas ($p = 0,025$).

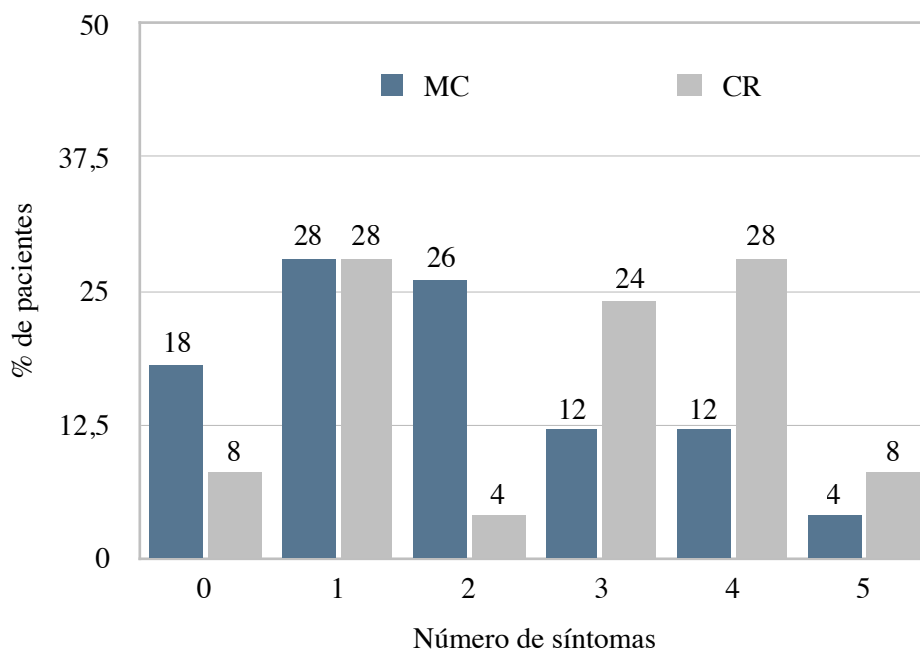


Figura 10. Número de CAPS en pacientes con CR vs. MC.

El síntoma autonómico craneal más frecuente en los pacientes con CR al igual que en la MC fue el lagrimeo. Sin embargo, la proporción de pacientes que lo presentó fue mucho mayor para el grupo de CR (76% vs. 29%; $p = 0,024$). A diferencia de la MC, donde la congestión nasal solo se observó en el 20% de los casos, en los pacientes con CR este fue el segundo síntoma más frecuente (72%, $p < 0,001$). No se encontraron diferencias significativas entre ambos grupos para el resto de CAS.

Todos los CAPS en los pacientes con CR, salvo la plenitud ótica, se manifestaron mayoritariamente de forma intensa. Esto difiere de lo que sucedía en la MC, donde todos los CAPS se presentaron en la mayoría de los pacientes en grado leve (tabla 22).

Tabla 22. Prevalencia de los síntomas CAS en la CR vs. MC.

Síntomas parasimpáticos	CR (N = 25)			MC (N = 100)	p
	Presente	Leve	Intenso		
Lagrimeo	19 (76%)	9 (47,4%)	10 (52,6%)	49 (49%)	0,024
Inyección conjuntival	14 (56%)	5 (35,7%)	9 (64,3%)	44 (44%)	0,370
Edema palpebral	7 (28%)	2 (28,6%)	5 (71,4%)	39 (39%)	0,360
Plenitud ótica	7 (28%)	6 (85,7%)	1 (14,3%)	30 (30%)	1,000
Congestión nasal y/o rinorrea	18 (72%)	4 (22,2%)	14 (77,8%)	20 (20%)	<0,001
Síntomas simpáticos	Presente	Leve	Intenso		
Ptosis palpebral	12 (48%)	3 (15,0%)	9 (75,0%)	42 (42%)	0,655

La puntuación media de CAPS según la escala fue 4,16 puntos y la mediana 4 puntos (límites 0-9 puntos). Se encontraron diferencias significativas ($p = 0,003$) entre estos valores y los observados en pacientes con MC (2,11 puntos). El siguiente gráfico muestra la distribución de la puntuación según la escala en pacientes con CR en comparación con los valores presentados previamente para el grupo de MC (figura 11). A diferencia de lo observado en la MC, donde la mayoría de individuos obtuvieron puntuaciones bajas, la distribución de valores en la CR resultó más homogénea:

RESULTADOS

- El 40% de los pacientes con CR obtuvieron puntuaciones ≤ 2 , frente al 70% que lo hacían en la MC.
- Más de una tercera parte de los pacientes con CR (36%) superó los 5 puntos, en contraste con la MC en la que únicamente el 6% obtuvo una puntuación mayor de 5.
- En la MC ningún sujeto alcanzó puntuaciones de 8 o mayores, a diferencia de la CR donde el 16% sí lo hizo.

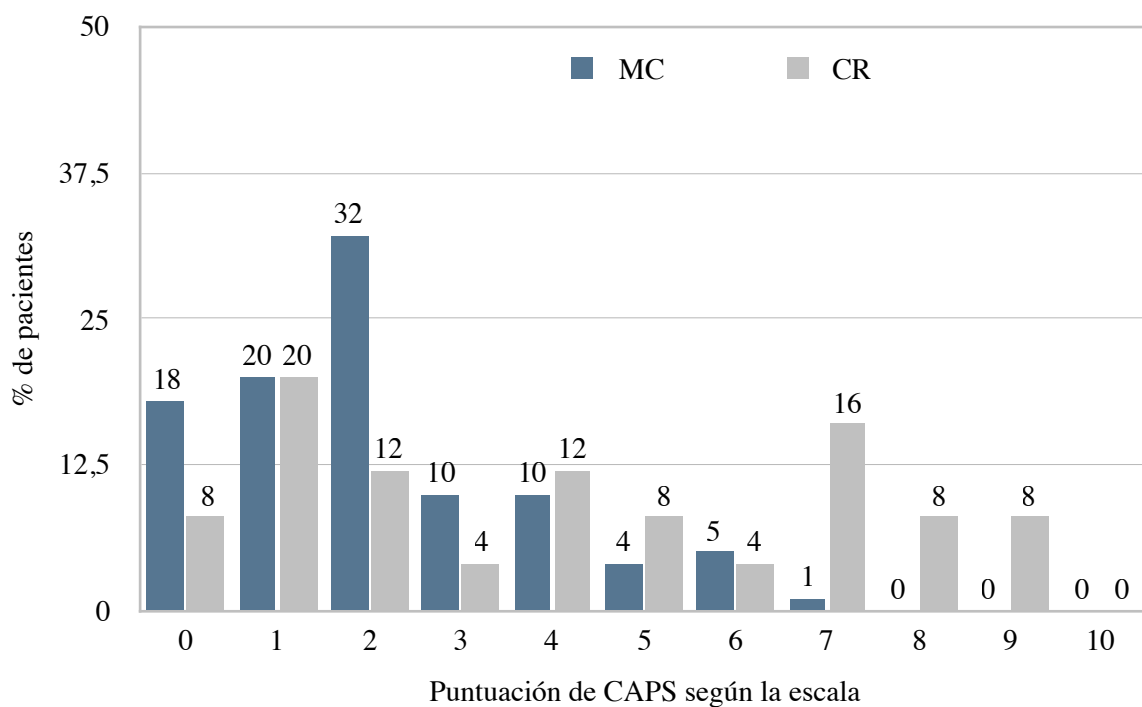


Figura 11. Puntuación de CAPS según la escala en pacientes con CR vs. MC.

Tabla 23. Resumen de CAPS en pacientes con CR y MC.

	CR (n = 25)	MC (n = 100)	<i>p</i>
Número de CAPS	2,6 ± 1,55	1,82 ± 1,39	0,025
Puntuación de CAPS según la escala	4,16 ± 2,98	2,11 ± 1,69	0,003

RESULTADOS

Por otra parte, también se analizó la presencia de estos CAPS en el grupo de pacientes con CR en función de algunas de sus características.

Atendiendo a la periodicidad (tabla 24), se observó que los pacientes con CR crónica presentaron de media más CAPS que aquellos con CR episódica (4,25 vs. 2,29; $p = 0,021$). De igual manera la puntuación media de síntomas autonómicos según la escala también resultó mayor para la CR crónica en comparación con la CR episódica (7,75 puntos vs. 3,48 puntos; $p = 0,009$).

Tabla 24. Estudio de CAPS en pacientes con CR según su periodicidad.

	CR episódica (n = 21)	CR crónica (n = 4)	<i>p</i>
Número de CAPS	2,29 ± 1,49	4,25 ± 0,50	0,021
Puntuación de CAPS según la escala	3,48 ± 2,73	7,75 ± 0,96	0,009

Lo mismo sucedió en el estudio de CAPS en función de la existencia de fármacos preventivos para la CR (tabla 25). Así, se encontró tanto un mayor número de síntomas como una puntuación más elevada en la escala en los pacientes con CR que en el momento del estudio mantenían algún tipo de profilaxis, frente a aquellos sin ella (3,45 vs. 1,93 CAPS respectivamente, $p = 0,012$; y 5,82 vs. 2,86 puntos respectivamente, $p = 0,011$).

Tabla 25. Estudio de CAPS en pacientes con CR según la existencia de tratamiento preventivo.

	CR sin preventivos (n = 14)	CR con preventivos (n = 11)	<i>p</i>
Número de CAPS	1,93 ± 1,54	3,45 ± 1,13	0,012
Puntuación de CAPS según la escala	2,86 ± 2,77	5,82 ± 2,44	0,011

Por último, también se observó que los pacientes con historia familiar positiva para CR (tabla 26) presentaron nuevamente más síntomas autonómicos y mayor puntuación en la escala que

RESULTADOS

aquellos que no la tenían (4,17 vs. 2,11 CAPS respectivamente, $p = 0,003$; y 7,00 vs. 3,26 puntos respectivamente, $p = 0,008$).

Tabla 26. Estudio de CAPS en pacientes con CR según la existencia de historia familiar de CR.

	CR sin historia familiar (n = 19)	CR con historia familiar (n = 6)	<i>p</i>
Número de CAPS	2,11 ± 1,41	4,17 ± 0,75	0,003
Puntuación de CAPS según la escala	3,26 ± 2,70	7,00 ± 1,90	0,008

En resumen, estos resultados evidenciaron la alta frecuencia e intensidad de los CAPS en pacientes con CR en comparación con la MC. Esto se traduce, como se ha expuesto anteriormente, en una mayor puntuación en la escala de CAPS propuesta (4,16 puntos en pacientes con CR vs. 2,11 puntos en pacientes con MC; $p = 0,003$).

2. RELACIÓN ENTRE LOS CAPS Y LOS NIVELES SÉRICOS DE VIP Y CGRP EN PACIENTES CON MIGRAÑA CRÓNICA

Se incluyeron un total de 87 pacientes con MC en el estudio (5 varones y 82 mujeres). La media de edad fue de 45 años (19-65 años). La mayoría de los pacientes (80%) presentaron algún síntoma craneal parasimpático de los determinados según la escala. La media de síntomas fue 1,8. Tanto la media como la mediana de CAPS según la escala fue 2 (figuras 12 y 13).

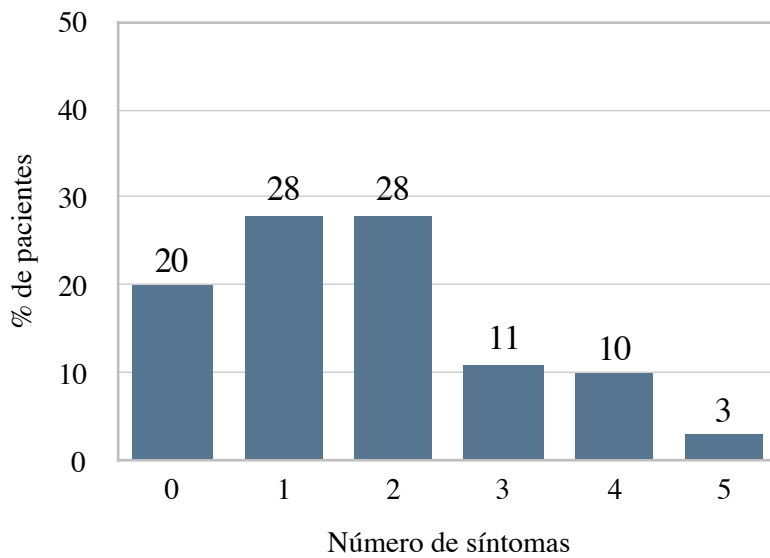


Figura 12. Número de CAPS en pacientes con MC.

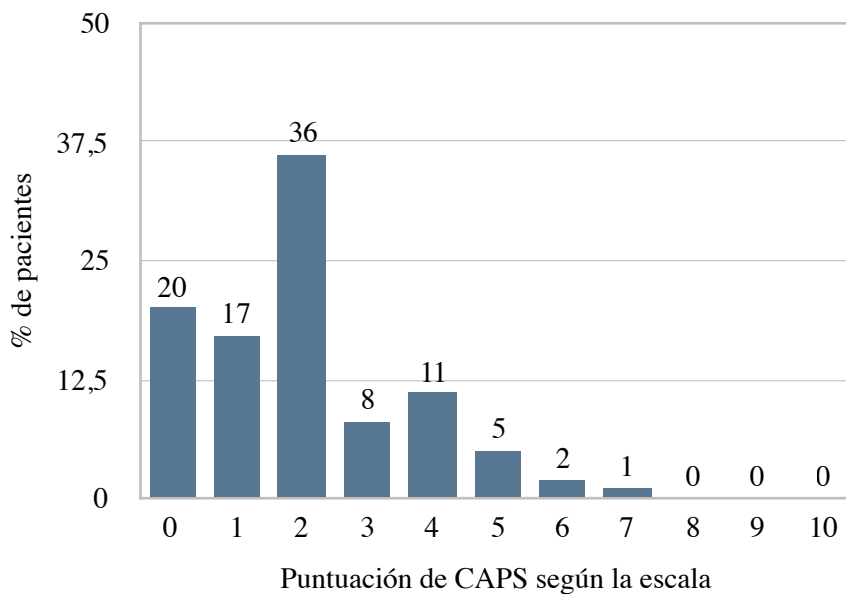


Figura 13. Puntuación de CAPS según la escala en pacientes con MC.

2.1. DETERMINACIÓN DE LOS NIVELES SÉRICOS DE VIP Y RELACIÓN CON LA PRESENCIA DE CAPS.

Se determinaron los niveles séricos de VIP en los pacientes con MC y se estudió la posible relación entre estos y la existencia de CAPS, con el objetivo de comprobar si existía una asociación clínico-serológica.

Los niveles de VIP en sangre periférica oscilaron entre los 20,8 pg/ml y 668,2 pg/ml (media $154 \pm 123,2$ pg/ml ; mediana 109,8 pg/ml), y fueron más elevados en pacientes con uno o más puntos en la escala que en aquellos con cero puntos (170,7 pg/ml vs. 87,7 pg/ml respectivamente; $p = 0,002$) (figura 14 y tabla 27).

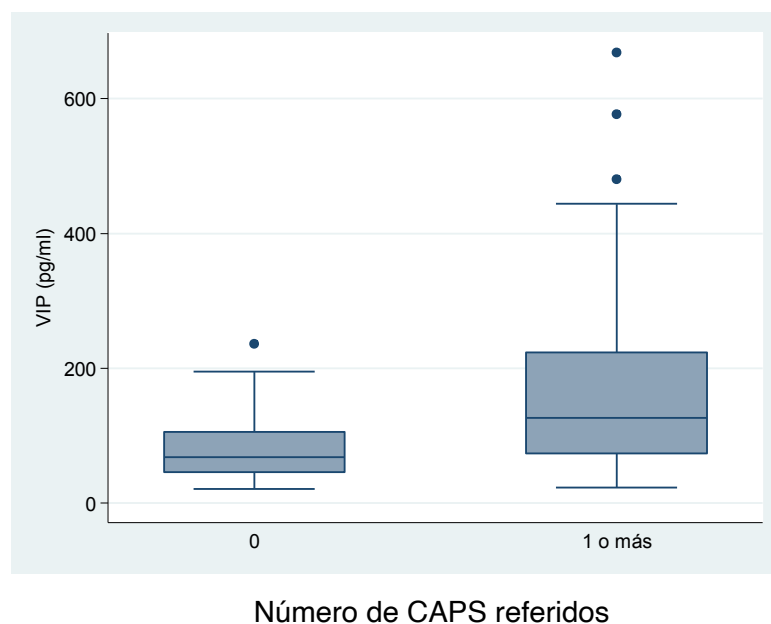


Figura 14. Niveles séricos de VIP (pg/ml) en pacientes con MC sin CAPS vs. pacientes con 1 o más CAPS.

Analizando los síntomas individualmente, solo el lagrimeo se asoció significativamente con el incremento de los niveles séricos de VIP (tabla 27).

RESULTADOS

Tabla 27. Niveles séricos de VIP en pacientes con MC con y sin CAPS.

Síntomas parasimpáticos	Ausente	Presente	<i>p</i>
Lagrimeo	125,7 ± 108,3	185,4 ± 131,8	0,024
Inyección conjuntival	137,1 ± 112,8	176,8 ± 133,7	0,146
Edema palpebral	135,2 ± 94,9	187,6 ± 146,9	0,093
Plenitud ótica	150,0 ± 130,6	164,9 ± 105,5	0,579
Congestión nasal y/o rinorrea	158,4 ± 126,8	138,5 ± 108,9	0,521
CAPS	87,7 ± 66,8	170,7 ± 129,1	0,002

También se observó una correlación positiva significativa de pequeña magnitud entre la puntuación en la escala de CAPS y los niveles de VIP (coeficiente de correlación de Spearman = 0,227; $p=0,034$) (figura 15).

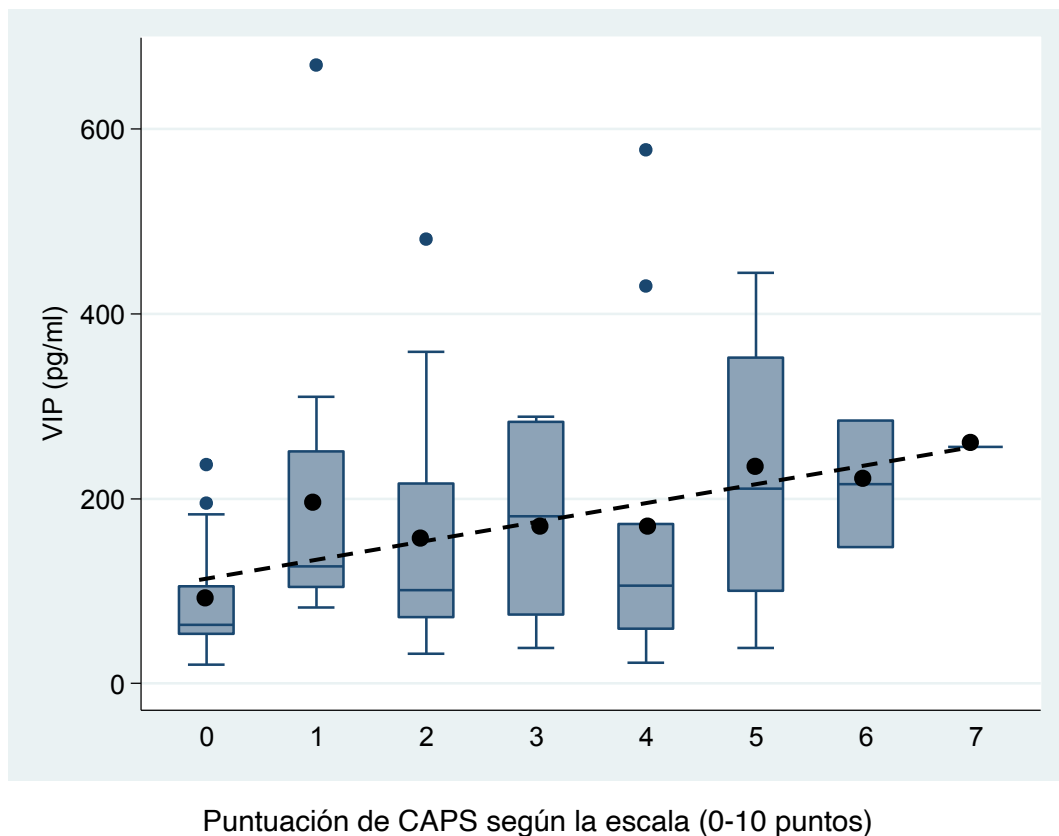


Figura 15. Relación entre los niveles séricos de VIP (pg/ml) y la puntuación en la escala.

2.2. DETERMINACIÓN DE LOS NIVELES SÉRICOS DE CGRP Y RELACIÓN CON LA PRESENCIA DE CAPS.

A la vista de los resultados anteriores, se estudió si podría existir también alguna relación entre los niveles de CGRP, en este caso un neuropéptido trigeminal en vez de parasimpático, y los CAPS en los pacientes con MC.

Los niveles séricos de CGRP oscilaron entre 11,4 pg/ml y 157,7 pg/ml (media $66,1 \pm 30,8$ pg/ml; mediana 61,4 pg/ml). No se objetivaron diferencias entre los niveles de CGRP en pacientes sin y con CAPS. Tampoco se encontró una correlación significativa entre los niveles de CGRP y la puntuación obtenida en la escala de CAPS (coeficiente de correlación de Spearman = 0,097; $p=0,370$).

De igual modo, no se observó una asociación estadística entre los niveles séricos de CGRP y los síntomas autonómicos individualmente (tabla 28).

Tabla 28. Niveles séricos de CGRP (pg/ml) en pacientes con MC con y sin CAPS.

	Ausente	Presente	<i>p</i>
Lagrimeo	62,5 ± 30,7	70,1 ± 30,8	0,252
Inyección conjuntival	62,9 ± 31,6	70,3 ± 29,6	0,270
Edema palpebral	63,2 ± 31,6	71,3 ± 29,2	0,230
Plenitud ótica	65,7 ± 31,1	67,1 ± 30,8	0,855
Congestión nasal y/o rinorrea	65,2 ± 32,9	69,9 ± 20,5	0,455
CAPS	60,8 ± 34,9	67,4 ± 29,9	0,352

En resumen, los niveles séricos de VIP se encontraron elevados en aquellos pacientes con MC que presentaron 1 o más CAPS frente a aquellos que no presentaron ninguno. Se observó además una correlación estadísticamente significativa entre las concentraciones séricas de VIP y el número de CAPS referidos, a diferencia de lo que sucedió con el CGRP.

3. ESTUDIO DE LOS NIVELES SÉRICOS INTERICTALES DE PACAP EN PACIENTES CON MIGRAÑA CRÓNICA.

3.1. DESCRIPCIÓN DE LA MUESTRA.

Se incluyeron 86 mujeres con MC, 35 mujeres con ME y 32 mujeres sanas sin historia de cefalea. La media de edad fue de 42,8 años (límites 17-63 años) para el grupo de MC, 43,9 años (límites 17-66 años) para el grupo de ME, y 39,6 años (límites 21-61 años) para el grupo de mujeres sanas ($p > 0,005$). El perfil clínico de los pacientes incluidos en este análisis se describen a continuación (tabla 29).

Existen diferencias significativas entre los grupos en las siguientes variables:

- Depresión (MC 45,3% vs. ME 22,9% vs. controles 0%; $p < 0,001$).
- Abuso de analgésicos (MC 27,9% vs. ME 0%; $p < 0,001$).
- Tratamiento preventivo con topiramato (MC 54,7% vs. ME 22,9%; $p = 0,002$), zonisamida (MC 10,5% vs. ME 2,9%; $p < 0,001$) y valproato (MC 4,7% vs. ME 17,1%; $p = 0,033$).
- Politerapia (MC 59,3% vs. ME 28,6%; $p = 0,003$).

No existen diferencias estadísticamente significativas en el resto de variables estudiadas (tabla 29).

RESULTADOS

Tabla 29. Descripción de la población para el análisis de PACAP

	MC	ME	CONTROLES	<i>p</i>
Aura	42 (48,8%)	16 (45,7%)	0	0,842
Comorbilidades				
HTA	12 (14%)	3 (8,6%)	0	0,066
Dislipemia	16 (18,6%)	4 (11,4%)	3 (9,4%)	0,415
Depresión	39 (45,3%)	8 (22,9%)	0	<0,001
Fibromialgia	8 (9,3%)	3 (8,6%)	0	0,218
Obesidad	4 (4,7%)	2 (5,7%)	2 (6,3%)	0,893
Tratamientos				
Abuso de analgésicos	24 (27,9%)	0	0	<0,001
Tratamiento sintomático				
AINES	62 (72,1%)	21 (60,0%)	0	0,203
Triptanes	62 (72,1%)	22 (62,9%)	0	0,385
Opiáceos	6 (7,0%)	1 (2,9%)	0	0,672
Ergóticos	1 (1,2%)	0	0	1,000
Tratamiento profiláctico				
Topiramato	47 (54,7%)	8 (22,9%)	0	0,002
Beta-bloqueantes	26 (30,2%)	7 (20,0%)	0	0,368
Amitriptilina	32 (37,2%)	7 (20,0%)	0	0,086
ISRS	7 (8,1%)	2 (5,7%)	0	1,000
IECA/ARA-II	17 (19,8%)	6 (17,1%)	0	0,804
Zonisamida	9 (10,5%)	1 (2,9%)	0	<0,001
Valproato	4 (4,7%)	6 (17,1%)	0	0,033
Politerapia (≥ 2 fármacos profilácticos)	51 (59,3%)	10 (28,6%)	0	0,003

3.2. ANÁLISIS DE LOS NIVELES SÉRICOS DE PACAP

Para estudiar si el comportamiento del PACAP en los pacientes con MC era similar al observado con otros neuropéptidos, se compararon las concentraciones séricas de PACAP entre los distintos grupos (MC, ME y controles).

No se encontraron diferencias significativas en los niveles séricos interictales de PACAP entre los distintos grupos (pacientes con MC [$109,8 \pm 43,8$ pg/mL], pacientes con ME [$98,8 \pm 34,3$ pg/mL] y controles [$108,7 \pm 43,0$ pg/mL], $p = 0,884$) (figura 16).

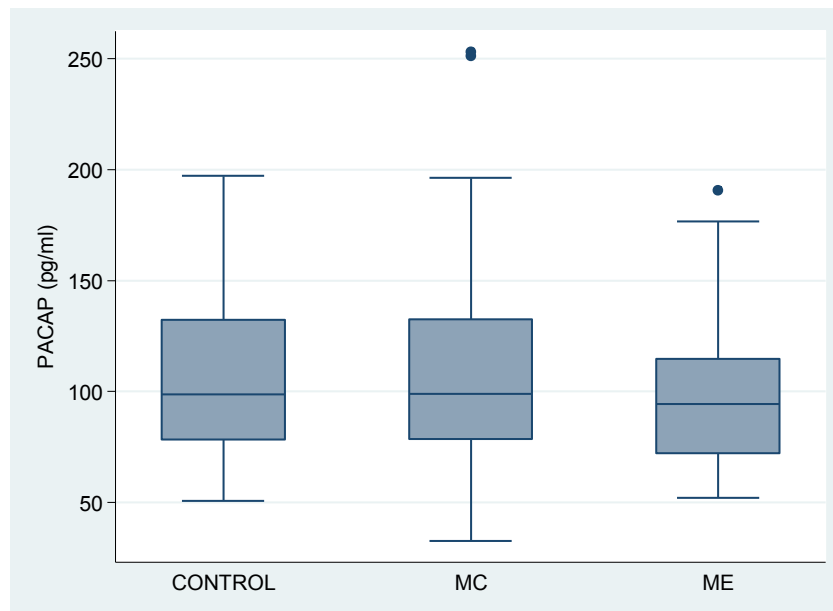


Figura 16. Niveles séricos de PACAP (pg/ml) en pacientes con MC frente a pacientes con ME y controles.

Ni la edad, ni el resto de variables estudiadas (comorbilidades, aura o tratamientos sintomáticos o profilácticos), se asociaron significativamente con los niveles de PACAP.

3.3. ANÁLISIS DE LOS NIVELES SÉRICOS DE VIP

Se analizaron los niveles de VIP en este mismo grupo de pacientes con MC. El objetivo era reproducir los resultados de los estudios previos, en los que se observaba una elevación de este neuropéptido parasimpático en la MC, en comparación con lo hallado con el PACAP.

Al contrario de lo que sucede con el PACAP, se observó que los niveles séricos de VIP fueron distintos entre los tres grupos ($p = 0,027$), siendo mayores de forma significativa en los pacientes con MC ($136,0 \pm 111,5$ pg/mL) frente a los pacientes con ME ($103,0 \pm 56,7$ pg/mL) y a los controles ($88,6 \pm 61,0$ pg/mL) (figura 17).

Al igual que con el PACAP, no se encontró ningún factor asociado significativamente con los niveles VIP.

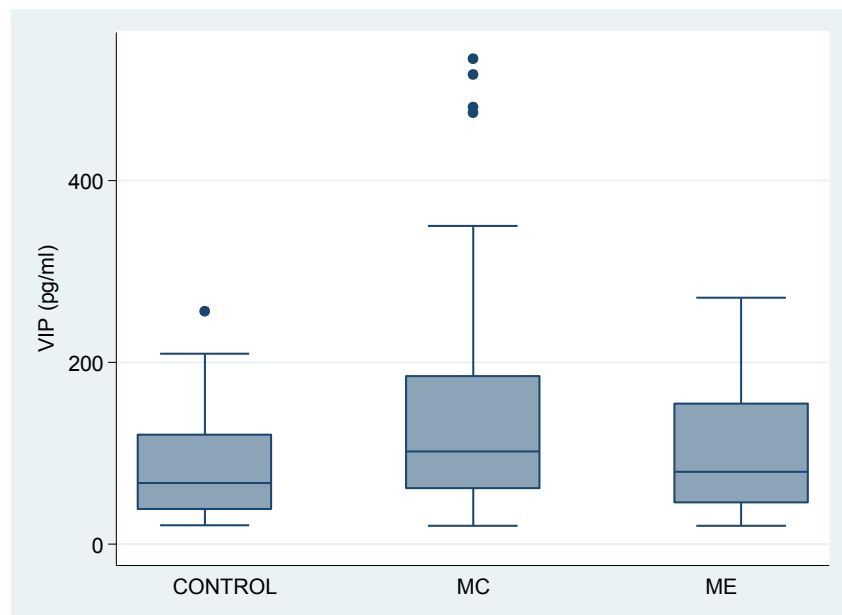


Figura 17. Niveles séricos de VIP (pg/ml) en pacientes con MC frente a pacientes con ME y controles.

3.4. RELACIÓN ENTRE LOS CAPS Y LOS NIVELES SÉRICOS DE PACAP EN PACIENTES CON MIGRAÑA CRÓNICA

Se incluyeron 39 sujetos con MC, de los cuales 33 presentaron alguno de los 5 CAPS evaluados (85%) vs. 6 que no refirió ninguno (15%). La media de CAPS fue de 1,74 y la media de puntuación según la escala propuesta anteriormente de 1,92 (sobre un máximo de 10 puntos).

RESULTADOS

Se compararon los niveles plasmáticos de PACAP entre los pacientes con MC que referían CAPS y aquellos que no lo hacían. Se estudió también la posible relación entre las concentraciones de este neuropéptido y la puntuación de los CAPS según la escala propuesta.

Los niveles de PACAP no fueron distintos independientemente de la existencia de CAPS ($p > 0,005$) (tabla 30). Tampoco se halló una correlación estadísticamente significativa entre los niveles de PACAP y la puntuación en la escala de CAPS (coeficiente de correlación de Spearman = -0,025; $p = 0,881$).

Tabla 30. Niveles séricos de PACAP (pg/mL) en pacientes con MC con y sin CAPS.

	CAPS presentes (n = 33)	CAPS ausentes (n = 6)	<i>p</i>
Niveles séricos de PACAP (pg/mL)	107,7 ± 40,7	122,8 ± 49,8	0,371

4. ESTUDIO DE LOS NIVELES SÉRICOS INTERICTALES DE LA PROTEÍNA GLIAL S100B EN PACIENTES CON MIGRAÑA CRÓNICA

4.1. DESCRIPCIÓN DE LA MUESTRA.

Se incluyeron 48 pacientes con MC (media de edad $45,0 \pm 13,3$ años; límites 17-73 años), 20 pacientes con ME (media de edad $40,3 \pm 12,2$ años; límites 16-60 años), 22 pacientes con CR (media de edad $49,8 \pm 8,5$ años; límites 37-67 años) y 29 controles sanos sin historia de cefalea (media de edad $39,5 \pm 13,0$ años; límites 21-61 años).

La mayor parte de los sujetos del estudio eran mujeres (89,6% en el grupo de MC, 85,0% en el grupo de ME y 100% en el grupo de controles), salvo en el grupo de CR (mujeres 18,2% vs. varones 81,8%).

Las características del grupo de pacientes con MC se ilustran a continuación (tabla 31).

Tabla 31. Descripción de los pacientes con MC.

Aura	22 (45,8%)
Tabaquismo	1 (2,1%)
Comorbilidades	
HTA	5 (10,4%)
Dislipemia	6 (12,5%)
Depresión	14 (29,2%)
Fibromialgia	4 (8,3%)
Obesidad	6 (12,5%)
Hipo/hipertiroidismo	4 (8,3%)
Tratamientos	
Abuso de analgésicos	23 (47,9%)
Tratamiento sintomático	
AINES	28 (58,3%)

RESULTADOS

Triptanes	33 (68,8%)
Opiáceos	0 (0%)
Ergóticos	0 (0%)
Tratamiento profiláctico	
Topiramato	14 (29,2%)
Beta-bloqueantes	10 (20,8%)
Flunarizina	2 (4,2%)
Amitriptilina	9 (18,8%)
ISRS	2 (4,2%)
IECA	8 (16,7%)
Zonisamida	6 (12,5%)
Valproato	1 (2,1%)
Politerapia (≥ 2 fármacos profilácticos)	11 (22,9%)
OnabotA	17 (35,4%)

En todos los casos las determinaciones de la proteína S100B se encontraba dentro de los límites de detección del laboratorio.

4.2. ANÁLISIS DE LOS NIVELES SÉRICOS DE S100B

Se compararon los niveles séricos interictales de S100B entre los pacientes con MC respecto a los grupos de ME, controles y CR, para investigar el posible papel de esta proteína como biomarcador de la activación del STV en la MC.

No se observaron diferencias en los niveles séricos intercríticos de la proteína S100B entre los pacientes con MC ($21,9 \pm 9,9$ pg/mL; $20,5$ [1,9-69,4] pg/mL), el grupo de ME ($26,7 \pm 26,4$ pg/mL; $19,2$ [8,7-132,1] pg/mL), los pacientes con CR ($22,4 \pm 7,8$ pg/mL; $20,4$ [13,6-48,9] pg/mL) y el grupo control ($20,6 \pm 8,3$ pg/mL; $18,2$ [7,6-40,2] pg/mL) ($p = 0,773$) (figura 18).

RESULTADOS

Tras realizar un análisis estadístico de comparaciones por pares de los valores de S100B tampoco se encontraron diferencias estadísticamente significativas en ningún caso (MC vs. ME $p = 0,986$; MC vs. CR $p = 0,658$; MC vs. controles $p = 0,511$; ME vs. CR $p = 0,669$; ME vs. controles $p = 0,549$; CR vs. controles $p = 0,278$).

Se obtuvo una asociación estadísticamente significativa entre los niveles de S100B y las variables depresión, abuso de analgésicos, tratamiento con triptanes y con onabotA (tabla 32). Tanto para la edad como para el resto de variables evaluadas en el estudio no se encontraron asociaciones estadísticamente significativas ($p > 0,005$).

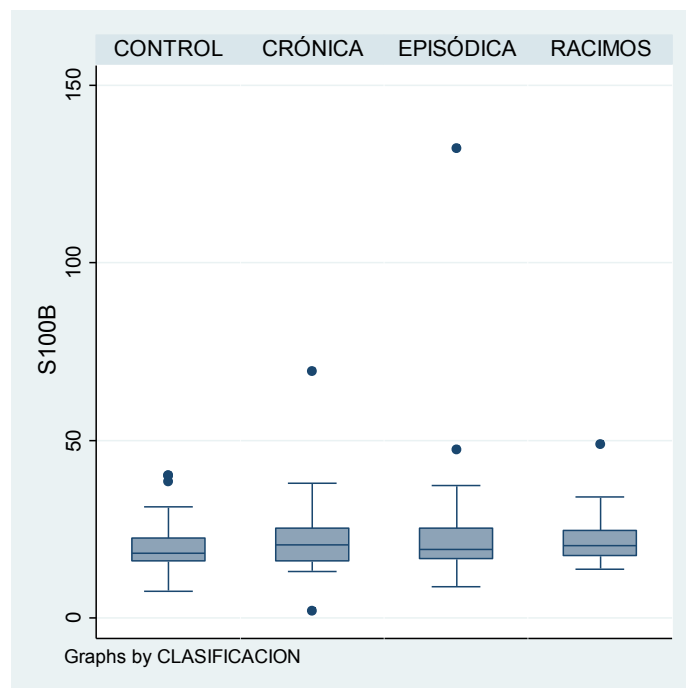


Figura 18. Niveles séricos de S100B (pg/ml) en pacientes con MC frente a pacientes con ME, CR y controles.

Tabla 32. Relación de variables asociadas a los niveles de S100B (pg/ml) en el grupo de MC

	Ausente	Presente	<i>p</i>
Depresión	20,20 ± 11,16	24,54 ± 6,52	0,009
Abuso de analgésicos	20,27 ± 12,23	23,51 ± 6,90	0,023
Tratamiento con triptanes	27,25 ± 14,28	19,27 ± 6,44	0,023
Tratamiento con onabotA	24,32 ± 10,90	17,56 ± 5,88	0,019

RESULTADOS

Por tanto, las concentraciones séricas interictales de la proteína S100B no parecen un biomarcador útil en la MC, a diferencia de lo que sucede con otros neuropéptidos.

V. DISCUSIÓN

1. CAPS Y MIGRAÑA CRÓNICA

En este trabajo se ha estudiado la prevalencia de CAPS en pacientes con MC, mediante la aplicación de una nueva escala que considera tanto el número de CAPS como su intensidad. Asimismo, se han analizado los posibles factores asociados a la presencia de CAPS en este grupo de pacientes.

El 82% de los pacientes con MC de nuestra serie refirieron al menos un CAPS durante sus crisis de migraña. Esta cifra no solo confirma la alta prevalencia de CAPS en los pacientes con migraña, sino que además es la más elevada de todos los estudios realizados hasta la fecha (26,9%-74%). Esta alta proporción de CAPS observada en nuestro trabajo podría estar relacionada con varios factores.

En primer lugar, no se especificaron si las manifestaciones autonómicas craneales debían de presentarse regularmente en las crisis de migraña para considerar un paciente con CAS positivos, del mismo modo que tampoco se estableció su lateralidad, es decir, estos se tuvieron en cuenta independientemente de si se exhibían ipsilaterales al dolor o no, o incluso si lo hacían de forma bilateral. Esta cuestión puede llegar a ser relevante, ya que los estudios más estrictos, que definieron una regularidad precisa de aparición de los CAS, encontraron unas cifras de prevalencia más bajas (Obermann et al., 2007; Rozen, 2011), al igual que sucedió con aquellos que solo consideraron los CAS presentes si se presentaban exclusivamente de forma unilateral y/o ipsilateral a la cefalea (Barbanti et al., 2002; Barbanti et al., 2016; Guven et al., 2013; Obermann et al., 2007).

En segundo lugar, en nuestro estudio solo se evaluaron CAS de naturaleza parasimpática (CAPS), concretamente cinco (lagrimeo, inyección conjuntival, edema palpebral, plenitud óptica, y congestión nasal y/o rinorrea.) Adicionalmente también se preguntó por la existencia de miosis —CAS simpático—, pero sin ser incluida en la cuantificación de síntomas ni posteriormente en la puntuación según la escala diseñada. Sin embargo, la mayoría de trabajos previos valoraron la presencia de CAS considerando conjuntamente los de origen parasimpático y simpático. Así, de los nueve estudios expuestos anteriormente, solo en tres se evaluaron 5 o más CAS de origen exclusivamente parasimpático (Lai et al., 2009; Gelfand et al., 2013; Raieli et al., 2015). Como se ha comentado previamente, se observó una relación

directa en los trabajos previos entre el número de CAS analizados y la prevalencia hallada, por tanto, es lógico que nuestro estudio se sitúe entre aquellos que muestran un mayor porcentaje de CAPS, ya que también es uno de los que más incluye en su análisis. En relación con este argumento, un aspecto a tener en cuenta es que en nuestro estudio se seleccionaron los CAS de naturaleza parasimpática de entre todos los que constan en los criterios diagnósticos vigentes de las cefaleas trigémino-autonómicas de la IHS. Estos, en su última versión, incorporaron algún CAS que no se contemplaba previamente, como la plenitud ótica. De los tres estudios que se publicaron con posterioridad a esta última actualización, solo uno de ellos incluyó este síntoma en su análisis resultando ser el más frecuente de entre todos los CAS evaluados (Gelfand et al., 2013).

En tercer lugar, en lo relativo al subgrupo de migraña estudiado, se evaluó la existencia de CAPS en pacientes con MC, probablemente la forma de presentación más severa de migraña. Solo dos estudios habían analizado previamente la prevalencia de CAS en esta forma de migraña, arrojando cifras discretamente mayores a las observadas en la ME aunque sin alcanzar la significación estadística (Gelfand et al., 2013; Lai et al., 2009). En el trabajo de Lai et al. (2009) se encontró que el 57% de los pacientes con MC presentaban CAS vs. el 57% de los pacientes con ME sin aura, y el 48% de los pacientes con ME con aura ($p = 0,311$); y en el de Gelfand et al. (2013) se halló una prevalencia de CAS en MC del 74% vs. 66% en ME ($p = 0,31$). En el estudio de Barbanti et al. (2016) no se expone el porcentaje de pacientes con MC que reconocen CAS, pero a partir de los datos aportados se calculan las cifras de prevalencia de CAS tanto en el grupo de MC como de ME, resultando algo más elevados para el primero (41,9% MC vs. 35,6% ME), aunque se desconoce el grado de significación estadística.

Un último factor que puede explicar, al menos en parte, la elevada prevalencia de CAS en nuestra serie, es sin duda que nuestros pacientes proceden de una consulta especializada en cefaleas refractarias a la que, como es de esperar, acuden los pacientes con cuadros más graves.

Por tanto, estos trabajos, aunque no prueban diferencias significativas en lo que respecta a la existencia de CAS entre ambos subtipos de migraña (MC y ME), sí que apuntan a un posible incremento de los mismos en la MC. Los resultados de nuestro estudio apoyarían esta

hipótesis, así como el hecho de que algunos de los principales factores asociados a la presencia de CAS en la migraña (intensidad del dolor, unilateralidad de la cefalea, duración del episodio y años de evolución de enfermedad), con frecuencia también se observan en la MC. Ninguna de estas cuatro variables fueron evaluadas en nuestro trabajo, pero sí el tabaquismo, factor analizado previamente por otros autores con resultados discordantes. Rozen (2011) observó una asociación entre el hábito tabáquico y la existencia de CAS en los pacientes migrañosos; sin embargo, Barbanti et al. (2016), en un análisis con un número mucho mayor de sujetos, no hallaron relación alguna. Los resultados de nuestro estudio coinciden con los de Barbanti et al. (2016), ya que tampoco se detectó una asociación entre tabaquismo y CAPS en los pacientes con MC.

En nuestro análisis se identificaron dos posibles factores asociados de forma estadísticamente significativa a la presencia de CAPS: el sexo femenino y la ausencia de abuso de analgésicos.

El género femenino nunca antes se había vinculado con la existencia de CAS en pacientes migrañosos, y considerando la pequeña proporción de sujetos varones incluidos en nuestro estudio, la interpretación de este resultado debería realizarse con cautela. Es cierto que en el estudio de Guven et al. (2013) —aunque no hallan diferencias según el género—, encuentran una asociación estadística significativa entre la migraña catamenial y los CAS, sugiriendo un posible papel hormonal como mecanismo activador del RTA. Por contra, Barbanti et al. (2016) evaluaron este mismo ítem en un tamaño muestral mucho mayor y no objetivaron tales diferencias.

En lo relativo al abuso de analgésicos, hemos de resaltar que la literatura científica publicada hasta el momento no ha abordado la repercusión de este factor sobre la aparición de CAS en la población migrañosa. Al contrario de lo que a priori se podría esperar, en nuestro estudio se observó una relación estadística entre la existencia de CAPS y la ausencia de abuso de analgésicos. Sin embargo, dos argumentos rebaten este hallazgo. Por un lado, si consideramos la posible mayor prevalencia de CAPS en la subpoblación de MC, y que el abuso de analgésicos se ha asociado directamente con la MC, sería lógico pensar que de encontrar alguna relación estadística entre ambos elementos (CAPS y abuso de analgésicos), esta fuese en sentido contrario, es decir, vinculando la existencia de CAPS en la MC con el abuso de analgésicos. Por otro lado, en el estudio de Barbanti et al. (2016) se encontró una asociación

entre la alodinia —manifestación clínica relacionada con fenómenos de sensibilización central—, y la aparición de CAS en migrañosos. Asimismo, se acepta que en la MC con abuso de medicación existe una sensibilización central más acusada. Considerando ambas premisas, se podría sospechar que existiera una asociación entre el abuso de medicación y la aparición de CAPS en la MC, y no al revés como se ha observado en nuestro estudio, aunque también podría ser que el abuso continuado de analgésicos “ocultase” de alguna manera los CAPS (Bigal y Lipton, 2008; Carod-Artal et al., 2012; Guerrero-Peral, 2012).

Por tanto, se puede concluir afirmando que no hay evidencia científica hasta el momento que respalde esta asociación entre CAPS en MC y género femenino así como ausencia de abuso de medicación, ni tampoco se encuentra una justificación fisiopatológica plausible. Por ello, se debe ser cauto en la interpretación de estos hallazgos siendo necesarios más estudios y con población más numerosa para esclarecer estos resultados.

En el abordaje individual de las manifestaciones autonómicas, en nuestro estudio el lagrimeo resultó el CAPS más frecuente, observándolo en prácticamente la mitad de los sujetos (49%), de acuerdo a lo publicado previamente (Barbanti et al., 2016; Gupta y Bhatia, 2006; Obermann et al., 2007; Rozen, 2011). El segundo CAPS en frecuencia fue la inyección conjuntival (44%), síntoma que sin embargo no se observó tan asiduamente en otras publicaciones. En la literatura científica previa la rinorrea podría ser considerada el segundo CAS más usual en los pacientes con migraña (Barbanti et al., 2002; Barbanti et al., 2016; Rozen, 2011), aunque en nuestro análisis apareció como un síntoma infrecuente (20%). Por otro lado, se observó una alta prevalencia de ptosis palpebral (CAS de naturaleza simpática) en nuestra serie de pacientes con MC (42%). Esta cifra es más elevada que las obtenidas en estudios previos (Barbanti et al., 2016; Obermann et al., 2007; Raieli et al., 2015; Rozen, 2011), en los que este síntoma era identificado en menos del 20% de los sujetos encuestados, con excepción del trabajo de Rozen (2011), en el que el 35% de los pacientes fumadores lo refirieron.

Es importante matizar que todos los CAS, cuando se manifestaron, lo hicieron en la mayoría de los sujetos en grado leve. El que más habitualmente se reconoció como intenso o muy evidente fue la plenitud óptica, y aún así solo el 26,7% de los pacientes con MC la presentó con tal severidad. Estos resultados coinciden con los hallados en el estudio de Lai et al. (2009).

Este es el único autor que hasta la fecha ha evaluado la intensidad de los CAS en la migraña. Incluyó en su análisis 6 síntomas —tanto de origen simpático como parasimpático—, y estableció tres grados de afectación para cada uno de ellos (leve, moderado y severo). Determinó que tres de los CAS se exhibían más habitualmente en grado leve (inyección conjuntival, edema palpebral y sudoración facial), y otros tres en grado moderado (lagrimeo, congestión nasal y rinorrea). Destacó que los CAS solamente se presentaron de forma severa en el 8-22% de los pacientes con migraña. El comportamiento de la ptosis palpebral en cuanto a magnitud se refiere, siguió el mismo patrón que el resto de CAS examinados, observándose en más del 90% de los casos en grado leve.

En lo que respecta a la evaluación de los CAS en las cefaleas primarias, aunque algunos autores han tratado de cuantificarlos, se han limitado a mostrar, en el mejor de los casos, los porcentajes de pacientes con un determinado número de CAS (Barbanti et al., 2002; Barbanti et al., 2016, Guven et al., 2013; Obermann et al., 2007; Raieli et al., 2015). Incluso en algunos estudios se aborda esta cuestión de forma menos precisa. Así, Lai et al. (2009) únicamente presentan la media de CAS en su serie de pacientes (1,8), y Gelfand et al. (2013) solo llegan a afirmar que la mayor parte de los individuos refirieron más de un CAS, sin aportar más datos.

Si realizamos un estudio comparativo sobre el número de CAS en los pacientes con migraña, se observa que en varios de los trabajos expuestos el porcentaje de migrañosos que refieren 1 o 2 CAS supera el 60-70% (Barbanti et al., 2016; Guven et al., 2013; Obermann et al., 2007). Sin embargo, en nuestro análisis solo el 54% de los migrañosos reconocieron ≤ 2 CAPS (28% 1 CAPS, 26% 2 CAPS). Esta diferencia es debida a que en estudios previos se excluyeron del análisis porcentual a los sujetos sin CAS (que en nuestro caso fue del 18%). Si hubiésemos procedido del mismo modo, es decir, calculando los porcentajes de pacientes con un determinado número de síntomas situando en el denominador solo los pacientes con CAPS positivos, las cifras se aproximarían a las publicadas previamente. Consideramos que ambas formas de análisis son correctas y que proporcionan información complementaria.

Uno de nuestros objetivos era diseñar una escala para valorar los CAS tanto cuantitativa como cualitativamente. Nos interesaban concretamente aquellos de naturaleza parasimpática (CAPS), para que así el resultado pudiera reflejar lo más fehacientemente posible el grado de activación del RTA. Por tanto, una cuestión clave fue la elección de los signos y síntomas

autonómicos que se incluirían en la escala, dentro de los aceptados como criterios diagnósticos para las cefaleas trigémino-autonómicas según la última clasificación de cefaleas de la IHS (ICHD-III beta): inyección conjuntival, lagrimeo, congestión nasal o rinorrea, edema palpebral, sudoración frontal/facial, rubefacción frontal/facial, sensación de taponamiento de oídos o plenitud ótica, miosis y ptosis. De entre estos 9 CAS, se excluyeron aquellos que implicaban una participación del sistema nervioso simpático, generalmente por hipofunción, tanto en su totalidad como parcialmente. De este modo, se descartaron la ptosis palpebral y la miosis (ambos síntomas debidos a hipoactividad simpática), así como la rubefacción y sudoración facial (explicados probablemente por un trastorno mixto, con participación tanto del sistema nervioso simpático como del parasimpático, como se ha expuesto previamente en la tabla 3). Además, en el caso de la miosis su detección requeriría un alto grado de observación por parte del paciente para detectarla. En nuestra serie de pacientes se documentó la presencia de ptosis palpebral, aunque este no fue un síntoma considerado en la cuantificación de CAS.

En un intento de desarrollar una escala lo más práctica posible, se estableció un límite de puntuación entre 0 y 10 puntos. Con el objetivo añadido de evaluar la magnitud de cada CAS, se determinaron 2 grados de afectación: leve (1 punto) o intenso (2 puntos). La puntuación media de CAPS —mediante la aplicación de la escala propuesta— en los pacientes con MC de nuestra serie fue de 2,1 puntos. Este valor es pequeño respecto a la puntuación máxima en este test (10 puntos), lo cual pone de manifiesto que aunque la presencia de CAPS es habitual en la MC, estos síntomas se manifiestan de forma poco intensa (un número limitado de síntomas y en grado leve en la mayor parte de los sujetos evaluados). De hecho, aunque la máxima puntuación obtenida fue 7 puntos, únicamente el 6% de los pacientes con MC obtuvieron más de 5 puntos, y solo una tercera parte de la muestra (30%) alcanzó la calificación de 3 o más puntos.

En nuestra opinión, esta escala constituye una herramienta de gran utilidad por varios motivos: 1) es sencilla y requiere poco tiempo para su aplicación, 2) ayuda al diagnóstico estableciendo que puntuaciones bajas son frecuentes en pacientes con migraña y especialmente en la MC, 3) es útil para la comunicación entre profesionales, y 4) permite establecer un referente poblacional y cuantificar la efectividad de una determinada intervención.

Nos pareció interesante analizar el comportamiento de los CAPS atendiendo a la presencia de aura, teniendo en cuenta los datos de investigaciones previas. Está ampliamente aceptado que la depresión cortical propagada constituye el sustrato fisiopatológico del aura en la migraña. Del mismo modo, existen en la actualidad evidencias suficientes que respaldan la posible activación del STV por parte de la depresión cortical propagada (Medrano-Martínez et al., 2015). Por último, también en pacientes con MC con aura se han encontrado niveles de CGRP séricos (neuropéptido trigeminal) más elevados que en aquellos que no sufrían aura (Cernuda-Morollón et al., 2013). Por tanto, considerando todas estas premisas, se podría sugerir que los pacientes con MC con aura podrían presentar una mayor activación del STV, y quizás consecuentemente experimentar más CAPS. Sin embargo, nuestros resultados no apoyan esta hipótesis. Se analizó tanto el número de CAPS como la puntuación según la escala en función de la presencia de aura, y no se observaron diferencias significativas, obteniendo una distribución de valores superponible con la del grupo general de MC. Tampoco se hallaron diferencias entre pacientes con MC con y sin aura en el estudio individual de síntomas, siguiendo de nuevo una distribución similar. Estos datos apoyan el concepto de migraña con y sin aura como manifestaciones fenotípicas diferentes de la misma entidad.

Del mismo modo, se realizó un estudio comparativo de CAPS según de la existencia de otros factores que consideramos que podrían ser relevantes por su relación con la terapéutica (politerapia, tratamiento con onabotA y abuso de analgésicos), o por su elevada presencia en nuestro estudio como sucedió con la depresión (41% de prevalencia en nuestra muestra de pacientes con MC). En ninguno de estos subanálisis se encontraron diferencias significativas tanto para el número de CAPS global como para la puntuación en la escala.

Por último, la segunda parte dentro de este análisis tenía por objeto comprobar la validez de la escala desarrollada aplicándola en un grupo de pacientes con CAS frecuentes y manifiestos. Se incluyeron 25 sujetos con CR, en su mayoría en la forma episódica, con las características clínicas anteriormente detalladas. Se observó que la casi totalidad de los pacientes (92%) presentaron al menos uno de los cinco CAPS incluidos en la escala durante sus episodios de dolor. Estos resultados son consistentes con los publicados en la literatura científica, que muestran una ausencia de CAS solo en el 3-7% de los sujetos con CR (Ekbohm, 1990; Gaul et al., 2012; Lai et al., 2009; Nappi et al., 1992; Torelli et al., 2001). Al igual que en el estudio de Lai et al. (2009), la media de CAPS fue significativamente mayor en el grupo de CR con

respecto al de MC (2,6 vs. 1,8; $p = 0,025$). Más de la mitad de los sujetos con CR (60%) presentaron 3 o más síntomas frente al 28% de los pacientes con MC que lo hicieron. Esta multiplicidad de CAPS en la CR se encuentra en consonancia con lo hallado por Gaul et al. (2012), quienes observaron que el 80% de los sujetos de su serie mostraban al menos 3 CAS. Esta distribución diferente en el número de CAPS en los pacientes con MC y CR hace que el diagrama de barras se desplace hacia la izquierda o hacia derecha respectivamente.

Respecto al estudio individualizado de los CAPS, aunque el lagrimeo fue la manifestación más frecuente en ambos grupos, sí se encontraron diferencias significativas en su prevalencia (76% en la CR vs. 49% en la MC; $p = 0,024$). También se hallaron diferencias entre ambos grupos en la proporción de pacientes con congestión nasal y/o rinorrea, que como se expuso previamente, fue el segundo CAPS más frecuente en la CR, y por contra el último en la MC (72% vs. 20% respectivamente; $p < 0,001$). Estos resultados son congruentes con los publicados por Lai et al. (2009). En nuestro trabajo no se encontraron diferencias entre ambos grupos (CR y MC) en el análisis individual del resto de CAPS estudiados (inyección conjuntival, edema palpebral y plenitud ótica), a diferencia de Lai et al. (2009) quienes objetivaron una mayor proporción de inyección conjuntival en pacientes con CR en comparación con el grupo de migraña (62,1% vs. 23,8% respectivamente; $p < 0,001$). Otro aspecto en el que nuestros resultados sí coinciden con los de estos autores, es que en ninguno de los dos estudios se encontraron diferencias en la proporción de sujetos con edema palpebral. Es más, aunque en nuestra serie no se alcanza la significación estadística, el porcentaje de pacientes con edema palpebral fue mayor en el grupo de MC respecto al de CR (39% vs. 28% respectivamente). Lo mismo sucede con la sensación taponamiento de oído o plenitud ótica, presente en el 30% de los pacientes con MC y en el 28 % de los pacientes con CR ($p > 0,005$). No hay trabajos que muestren la prevalencia de este último síntoma en la población migrañosa, y los pocos datos encontrados en pacientes CR estiman una prevalencia de la plenitud ótica en torno al 8,8-20% en la fase premonitoria (Snoer et al., 2018), cifra inferior a la hallada en nuestro estudio. Tampoco se observaron diferencias significativas en la proporción de sujetos con ptosis palpebral —CAS de naturaleza simpática no incluido en la escala—, entre el grupo de MC y CR (42% vs. 48% respectivamente; $p = 0,655$).

En lo que respecta a la intensidad de los CAPS, tanto nuestro estudio como el de Lai et al. (2009) coinciden en que generalmente se exhiben en grado leve en la MC, y de forma muy

acusada en la CR. Esto sucede con todos los CAPS evaluados —al igual que con la ptosis palpebral—, salvo con la plenitud ótica, reconocida como leve por el 85% de los sujetos con CR y por el 73% de los sujetos con MC. Este síntoma, como ya hemos comentado, no fue analizado en el trabajo de Lai et al. (2009), por lo que no pueden establecerse comparaciones.

Teniendo en cuenta que la escala propuesta se desarrolló para reflejar la magnitud de los CAPS (cuantitativa y cualitativamente), la mayor frecuencia e intensidad de estos en los sujetos con CR se traduce, como era de esperar, en una mayor puntuación media en este grupo respecto al grupo de MC (4,16 puntos *vs.* 2,11 puntos respectivamente; $p = 0,003$). De acuerdo a esto, la distribución de las puntuaciones en la escala se desplaza hacia la derecha en el grupo de CR, donde más de una tercera parte de los sujetos (36%) obtienen una puntuación superior a 5 puntos, a diferencia de lo que se observaba en la MC donde solamente el 6% de los pacientes obtenían tal calificación. Incluso en 4 individuos con CR (16%) se alcanzaron puntuaciones iguales o superiores a 8 puntos, mientras que ningún sujeto con MC obtuvo tal valor. Por tanto, se comprueba que la escala puede ser una herramienta útil para cuantificar la magnitud de los CAPS en las cefaleas primarias.

Por último, se analizó la presencia de CAPS en la CR en función de otras variables como fueron la periodicidad (CR crónica o episódica), la existencia o no de tratamiento profiláctico en el momento de la entrevista y la historia familiar de CR. Se observaron diferencias significativas tanto en el número de CAPS como en la puntuación global en la escala para todas las variables estudiadas. Así, del mismo modo que podría pensarse que en la forma crónica de la migraña la activación del RTA es mayor, es posible que en la CR suceda algo similar. Esto explicaría que el número medio de CAPS sea mayor en la CR crónica que en la episódica (4,25 *vs.* 2,29 respectivamente; $p = 0,021$), al igual que la media de puntuación total en la escala (7,75 puntos *vs.* 3,48 puntos respectivamente; $p = 0,009$). Esto concuerda con lo observado por Gaul et al. (2012), quienes demostraron que el porcentaje de pacientes con 3 o más CAS fue significativamente mayor en el grupo de CR crónica en comparación con el de CR episódica (88% *vs.* 73% respectivamente; $p = 0,020$). Basándonos en la misma idea, los pacientes que reciben tratamiento preventivo suelen sufrir una forma crónica de CR, y no sorprende que presentaran una media de CAPS y de puntuación en la escala mayor en comparación con aquellos que no tomaban medicación profiláctica. Los sujetos con CR que reconocieron antecedentes familiares de la misma, mostraron también más CAPS y una mayor

puntuación en la escala que aquellos sin historia familiar de CR. No hay referentes en la literatura científica relacionados con esta cuestión, por lo que no pueden establecerse análisis comparativos. Por otro lado, se podría sugerir la existencia de una mayor activación del RTA en esta subpoblación, pero en cualquier caso se trataría de hipótesis sin una evidencia fisiopatológica actual. Hay que tener presente en todo momento que estos subanálisis en la CR se deben interpretar con cautela, ya que se trata de una serie de pacientes muy pequeña (en ocasiones alguno de los grupos analizados apenas cuenta con 4-6 sujetos), y reclutada fundamentalmente como grupo control para validar la escala.

En resumen, la elevada prevalencia de CAPS observada en pacientes con MC reafirma el papel del sistema parasimpático craneal en la fisiopatología de la migraña, probablemente no como un fenómeno secundario sino primario, es decir, con una participación activa. De hecho, el GEP constituye un elemento clave dentro del parasimpático craneal y en los últimos años se ha convertido en una diana terapéutica relevante en el tratamiento de diferentes cefaleas y algias faciales crónicas, fundamentándose en la interrupción de las señales parasimpáticas postganglionares. En 1999, Maizels y colaboradores demostraron que el bloqueo del GEP mediante la aplicación intranasal de lidocaína abortaba rápidamente las crisis de migraña en el 36% de los pacientes (Maizels y Geiger, 1999). Yarnitsky et al. (2003) adicionalmente observaron que el dolor mejoraba de forma más notoria en los migrañosos que presentaban CAS. En los años siguientes surgieron las terapias de neuromodulación basadas en la estimulación a alta frecuencia del GEP, con la finalidad de reducir el flujo parasimpático en pacientes con cefalea persistente (Khan et al., 2014). Estas han demostrado ser eficaces en pacientes con CR crónica, pero en la migraña aún no hay suficiente evidencia clínica que sustente su aplicación sistemática. Tepper et al. (2009) evaluaron 11 pacientes con migraña refractaria en fase aguda, de los cuales solo 5 mostraron una mejoría parcial o total del dolor tras la estimulación del GEP, si bien es cierto que la modesta respuesta se atribuyó en parte a una posible incorrecta ubicación del dispositivo en la fosa pterigopalatina. Actualmente se está a la espera de conocer los resultados de un ensayo clínico en MC que evalúa la eficacia de la implantación quirúrgica de un dispositivo de neuroestimulación del GEP (NCT01540799).

Por tanto, a la vista de los resultados y aunque son necesarios más estudios al respecto, parece que el papel del sistema parasimpático craneal podría ser especialmente relevante en la MC.

Hay evidencias científicas que soportan esta hipótesis, como el incremento de algunos biomarcadores parasimpáticos interictalmente en pacientes con MC (principalmente el VIP), o la posible asociación en pacientes migrañosos entre la existencia de CAS y la alodinia (síntoma frecuente en la MC debido a fenómenos de sensibilización central) (Barbanti et al., 2016; Cernuda-Morollón et al., 2014; Cernuda-Morollón et al., 2015).

Para finalizar, se exponen las principales limitaciones encontradas en esta primera parte del trabajo. Por un lado, el grado (leve-intenso) de cada uno de los CAS evaluados, como sucede con otras escalas utilizadas con frecuencia en la migraña, es subjetivo. Por otro lado, el estudio se realiza sobre una muestra (seleccionada en una consulta de cefaleas) de pacientes con MC, por lo tanto, las conclusiones deberían de ser inferidas a la población de tales características y no al total de los migrañosos. Por último, por razones éticas no se interrumpieron los tratamientos preventivos orales o con infiltraciones con toxina botulínica que seguían la mayoría de los pacientes con MC. Aunque se desconoce su influencia sobre la aparición de CAS, se podría sospechar que estas terapias podrían debilitar el RTA, y consecuentemente la aparición de CAS.

2. RELACIÓN ENTRE LOS CAPS Y LOS NIVELES SÉRICOS DE VIP Y CGRP EN PACIENTES CON MIGRAÑA CRÓNICA

En este apartado se ha tratado de correlacionar la presencia y el grado de activación del sistema parasimpático craneal, mediante la escala de CAPS propuesta, con los niveles plasmáticos de VIP y CGRP en nuestra serie de pacientes con MC.

Se incluyeron en este análisis 87 pacientes con MC, con un número medio de CAPS (límites 0-5) de 1,8 y con una puntuación media en la escala (límites 0-10 puntos) de 2 puntos, siendo estas cifras similares a las obtenidas en la muestra previa de 100 pacientes con MC. Los hallazgos fundamentales en este trabajo fueron, por un lado, una elevación de los niveles de VIP en la MC, y por otro lado, su correlación significativa con la presencia de CAPS (en contraste con los niveles de CGRP, los cuales también estaban elevados, pero no se correlacionaron con la presencia de CAPS).

Aunque los niveles de VIP estaban elevados en pacientes con MC, se observó que los niveles plasmáticos interictales de este neuropéptido oscilaron en unos límites muy amplios (20,8-668,2 pg/ml), incluso mayor que el hallado para el CGRP (11,4 - 157,7 pg/ml). Es poco probable que estos resultados se deban a la coexistencia de otra patología asociada a niveles de VIP elevados, como sucede en algunas enfermedades crónicas reagudizadas (sinusitis o EPOC), o en procesos tumorales (adenocarcinoma gastrointestinal o tumor neuroendocrino pancreático secretor de VIP), ya que los pacientes que presentaban alguna de estas enfermedades fueron excluidos previamente (Hejna et al., 2001; Mandal et al., 2015; Peng et al., 2004; Umemoto et al., 2003).

Los resultados de este estudio muestran que los niveles séricos de VIP, a diferencia de lo que sucede con el CGRP, se correlacionan con la presencia de CAPS. No solo se encuentran diferencias significativas entre las concentraciones de VIP de los sujetos con MC que referían uno o más CAPS frente a aquellos sin CAPS, sino que se observa una correlación positiva de pequeña magnitud, pero con significación estadística, entre la puntuación en la escala de CAPS y los niveles plasmáticos de VIP.

Estos resultados confirmarían los hallazgos evidenciados por algunos autores en estudios anteriores, en los que encontraron niveles de VIP elevados en un número limitado de pacientes con CR o con ME que exhibían CAS acusados, comprobando cómo estos disminuían con la finalización de la crisis de dolor tras la administración de triptanes (Goadsby et al., 1990; Goadsby y Edvinsson, 1994; Sarchielli et al., 2006).

Por otro lado, el hecho de no encontrar un incremento en las concentraciones del neuropéptido trigeminal CGRP en pacientes con CAPS, a diferencia de lo que sucede con el VIP, sugiere que la hiperfunción del sistema parasimpático craneal en la MC no es un fenómeno pasivo, secundario a la liberación de CGRP, sino un proceso independiente.

En lo que respecta al análisis individual de CAPS, solo el lagrimeo se asoció de forma significativa con los niveles plasmáticos de VIP, si bien no se encontramos argumentos sólidos que lo justifiquen. Este resultado nos hace replantearnos si la puntuación de este síntoma en la escala debiera de ser mayor, en comparación con los otros CAPS evaluados, debido a su buena asociación con las concentraciones de VIP.

Estos resultados posicionan al VIP como un posible biomarcador junto al CGRP en la migraña en general, y en la MC en particular, teniendo especial interés en el subgrupo de pacientes que presentan CAPS. Así, podría ser útil entre otras cosas, para monitorizar objetivamente el estatus migrañoso y la respuesta a tratamientos preventivos especialmente en terapias que actúan sobre estructuras parasimpáticas craneales, como el GEP (Khan et al., 2014). De hecho, se ha demostrado que tanto los niveles plasmáticos de CGRP como los de VIP estaban significativamente más elevados en pacientes con MC que respondían a la terapia con onabotA respecto a los no respondedores. Incluso, un subgrupo de pacientes respondedores pero con concentraciones de CGRP normales presentó un incremento en sus niveles de VIP (Cernuda-Morollón et al., 2014). Estos hallazgos apoyan la hipótesis que contempla la existencia de otros neuropéptidos (los de naturaleza parasimpática de forma destacada) involucrados en la fisiopatología de la MC, además del CGRP (Edvinsson y Uddman, 2005; Goadsby, 2013). Esto explicaría por qué algunos pacientes con migraña no responden a fármacos dirigidos específicamente frente al CGRP tales como los antagonistas del CGRP (Ho et al., 2014) o los anticuerpos monoclonales del CGRP (Camporeale et al., 2018; Mitsikostas y Reuter, 2017; Silberstein et al., 2017; Tepper et al., 2017).

Varios argumentos sustentan esta participación del sistema parasimpático craneal en la MC: 1) un alto porcentaje de pacientes con MC presenta CAPS durante sus crisis de dolor, 2) los niveles interictales de VIP están elevados en pacientes con MC, y 3) algunas terapias efectivas en el control de la migraña actúan sobre el GEP.

De acuerdo con los resultados de este estudio, puede afirmarse que existe cierto grado de activación permanente del sistema parasimpático craneal en pacientes con MC, probablemente no solo debida a la liberación de CGRP tras la activación del STV. De esta forma se podría hipotetizar sobre la posible contribución del parasimpático craneal en el proceso de cronificación del dolor en pacientes migrañosos, a través de la sensibilización de aferentes sensoriales perivasculares y leptomeníngeas.

3. ESTUDIO DE LOS NIVELES SÉRICOS INTERICTALES DE PACAP EN PACIENTES CON MIGRAÑA CRÓNICA

En este punto se ha evaluado el comportamiento del PACAP, en comparación con el VIP, en los pacientes con MC con respecto a los otros grupos (MC, ME y controles), mediante la determinación de sus niveles séricos. También se ha analizado si existe alguna relación estadística entre las concentraciones séricas de PACAP en la serie de pacientes con MC, con las variables estudiadas. Por último, se ha estudiado si pudiera existir alguna asociación en los pacientes con MC, entre las concentraciones de este neuropéptido y el grado de activación parasimpática craneal, cuantificada mediante la escala de CAPS.

No encontramos diferencias entre los niveles plasmáticos interictales de PACAP entre los distintos grupos estudiados (pacientes con MC, ME y controles sanos sin historia de cefalea), en contraposición con lo que sucede con el VIP.

Este resultado van en contra de las hipótesis que sugerían un papel relevante del PACAP, concretamente del PACAP38, en la fisiopatología de la migraña. En estudios previos se observó que la infusión de PACAP38 en sujetos migrañosos desencadenaba, en muchos casos, crisis de cefalea a diferencia de lo que sucedía con el VIP (Amin et al., 2014; Schytz et al., 2009). Incluso, recientemente se había demostrado mediante técnicas de RM cerebral funcional, alteraciones neuronales y vasculares en los pacientes con MC que desarrollaban crisis de migraña tras la administración del PACAP38 (Amin et al., 2016). Todos estos hallazgos apuntaban a una posible elevación del PACAP sérico en nuestro grupo de pacientes con MC.

Asimismo, estos resultados son discordantes con respecto a los obtenidos por el único estudio de cuantificación de PACAP en pacientes con MC realizado hasta la fecha (Han et al., 2015). En él se observaron concentraciones interictales de PACAP —determinadas también mediante ELISA— disminuidas tanto en el grupo de MC como en el de ME con respecto a los controles sanos, si bien es cierto que estos resultados no fueron estadísticamente diferentes entre ambas formas de migraña.

Estos hallazgos también difieren de los publicados en otros trabajos de PACAP y ME. Zagami et al. (2014) demostraron cómo las concentraciones plasmáticas de PACAP38 —determinadas en este caso por radioinmunoensayo—, disminuían paralelamente a la mejoría de la cefalea tras el tratamiento con sumatriptán, y más aún en el período intercrisis en comparación con las obtenidas ictalmente. En este estudio no se incluyó un grupo control de individuos sanos, por lo que se desconoce si las concentraciones interictales de PACAP38 en los pacientes con ME hubieran mostrado diferencias respecto a este. Por el contrario, Tuka et al. (2013) sí diseñaron su estudio incorporando un grupo control de individuos sanos sin historia de cefalea, y observaron cómo los niveles interictales plasmáticos de PACAP38 en los sujetos con ME se encontraban disminuidos en comparación con los controles.

La primera interpretación que se desprende de nuestros hallazgos es que el PACAP no parece ser un biomarcador útil de la posible activación permanente del parasimpático craneal en la MC. Prueba de ello es que no solamente los niveles de PACAP interictales no son distintos en los pacientes con MC con respecto a los demás grupos —en contraste con lo que sucede con otros neuropéptidos como el CGRP o en menor medida con el VIP—, sino que tampoco se objetiva una correlación entre las concentraciones de PACAP interictales con los CAPS referidos por estos pacientes —a diferencia de lo que se ha hallado con el VIP, otro péptido de naturaleza parasimpática—.

Sin embargo, también se podría plantear otra lectura de los resultados obtenidos. Por un lado, tanto Tuka et al. (2013) como Zagami et al. (2014) demostraron en un número limitado de pacientes con migraña que los niveles ictales de PACAP38 eran significativamente mayores que los observados a nivel interictal, si bien es cierto que, en el trabajo de Tuka et al. (2013) los niveles de PACAP38 en la fase ictal no fueron distintos a los hallados en los controles sanos. Este incremento de concentraciones en el período ictal de la migraña, respecto a la fase interictal, también se ha documentado para otros neuropéptidos tanto sensoriales (CGRP) como parasimpáticos (VIP) (Goadsby et al., 1990; Goadsby y Edvinsson, 1994; Rodríguez-Osorio et al., 2012; Sarchielli et al., 2006). Por otro lado, en la MC se ha probado que el CGRP se eleva interictalmente con respecto a la ME (Cernuda-Morollón et al., 2013). Este incremento sin embargo, no resultó significativo para el VIP (Cernuda-Morollón et al., 2015). Es decir, las concentraciones en el período ictal de algunos neuropéptidos como el CGRP, son similares a las observadas interictalmente en pacientes con MC.

Por tanto, se podría argumentar que nuestros resultados están en la misma línea. Así, con el PACAP podría suceder lo que se observa con otros péptidos en los que los niveles interictales en la MC se podrían incrementar con respecto a la ME (en nuestra serie sí son numéricamente mayores aunque no se logra la significación estadística), y aproximarse a los hallados en la fase ictal. Además, al igual que Tuka et al. (2013) que en la fase ictal no encuentra diferencias entre las concentraciones de PACAP38 entre los pacientes migrañosos y los controles, no es extraño que en nuestro análisis los niveles de PACAP en la MC tampoco sean difieran de los de los controles.

Adicionalmente, se deben tener en cuenta una serie de cuestiones que podrían estar influyendo en los resultados, algunas de ellas relacionadas con aspectos metodológicos como las que se exponen a continuación:

1. Se observa que los métodos de cuantificación de PACAP son diferentes entre los distintos estudios (ELISA vs. RIA). Se desconoce si los resultados pueden verse condicionados por el tipo de técnica empleada, por tanto los hallazgos podrían no ser completamente comparables. Además, se debe tener en cuenta que tanto nuestro grupo de trabajo como el de Han et al. (2015), al determinar mediante técnica de ELISA las concentraciones de PACAP, lo que realmente se cuantifica es el PACAP total, es decir, la suma de PACAP27 y PACAP38. Esto es debido a que los anticuerpos utilizados para dicho análisis reconocen secuencias de aminoácidos comunes en ambas isoformas de PACAP. Sabiendo que el PACAP38 es el más prevalente en humanos (90%), se asume que la determinación de PACAP mediante ELISA es representativa del comportamiento del PACAP38.
2. La vida media plasmática de los neuropéptidos en general es muy corta, y especialmente para el PACAP, sobre todo la isoforma PACAP38. Se desconoce si esto puede afectar a los resultados, a sabiendas que las muestras en nuestro estudio se procesaban rápidamente tras su extracción. Lo cierto es que las mismas muestras fueron utilizadas para el análisis comparativo con el VIP y el CGRP, ambos con vidas medias similares al PACAP, y con estos péptidos sí logramos replicar los resultados previos, lo que demuestra el correcto procesado de las mismas.

3. Aunque la tendencia actual es estudiar los neuropéptidos en la circulación periférica (vena antecubital) o a nivel salival, más que en muestras sanguíneas procedentes de la vena yugular o del LCR —priorizando la seguridad del paciente—, lo que se cuestiona es si realmente los marcadores séricos periféricos o salivares son un buen reflejo de lo que sucede a nivel del sistema nervioso central. En 2013, Hansen et al. publicaron un trabajo donde analizaban los niveles plasmáticos de VIP y PACAP en voluntarios sanos sin historia de cefalea, en muestras sanguíneas extraídas simultáneamente en 4 localizaciones diferentes (vena yugular interna, vena yugular externa, vena cubital y arteria radial), tanto antes como tras la administración de sumatriptán subcutáneo. No encontraron diferencias significativas en las concentraciones séricas de ambos neuropéptidos entre las 4 localizaciones, ni de forma basal ni tras el sumatriptán. Si bien es cierto que el estudio se realizó en sujetos sanos, parece extrapolable a la población migrañosa.

Otro aspecto a considerar es el posible papel modificador de los fármacos preventivos. Por motivos éticos, las pacientes con MC que tomaban tratamiento profiláctico en nuestro estudio lo mantuvieron durante el mismo, al igual que sucedió en el de Han et al. (2015). Aceptando que con otros neuropéptidos como el VIP o el CGRP se ha procedido de la misma forma y se han alcanzado resultados concordantes con otros investigadores, parece improbable que este pueda ser un factor decisivo en los resultados del análisis del PACAP en la MC.

En lo que respecta al análisis de las variables estudiadas (edad, sexo, aura, comorbilidades y tratamientos), en nuestro trabajo no se identificó ninguna asociación significativa entre estas y los niveles de PACAP o de VIP. De entre todas ellas, además del sexo y de la edad, solo la presencia de aura fue también evaluada por otros autores. Tanto Tuka et al. (2013) como Han et al. (2015) analizaron la posible influencia de factores relacionados con las características de la cefalea, y ambos grupos observaron una correlación negativa entre el tiempo de evolución en años de la migraña y los niveles séricos interictales tanto de PACAP38 como de PACAP, respectivamente. Es interesante señalar que en el trabajo de Han et al. (2015) esta asociación solo se objetivó en el subgrupo de MC. Esto se justificó indicando que en el trabajo de Han et al. (2015) el grupo de ME presentaba una duración media de la migraña inferior (8,72 años) comparándola con la media de todos los migrañosos (12,99 años) del estudio de Tuka et al. (2013), los cuales probablemente fueran en su mayoría pacientes con ME. Considerando que en el estudio de Han et al. (2015) la proporción de pacientes con ME era mucho mayor que

los pacientes con MC (95 vs. 38), probablemente por este motivo tampoco se demuestra la correlación negativa entre el PACAP y el tiempo de evolución de la migraña en el grupo global de pacientes con migraña.

Otra reflexión que emerge de estos datos es la relacionada con el rol de la depresión sobre los niveles de PACAP. Hay evidencias científicas que relacionan este neuropéptido con trastornos del ánimo, especialmente con la depresión, así como con otras patologías psiquiátricas como la esquizofrenia (Almlí et al., 2013; Hashimoto et al., 2010; Hattori et al., 2007; Kormos y Gaszner, 2013; Ressler et al., 2011; Seiglie et al., 2015). Probablemente por este motivo en los estudios de determinación de PACAP en migraña se excluyeron pacientes con depresión (Han et al., 2015; Tuka et al., 2013; Zagami et al., 2014). Si bien es cierto que en nuestro trabajo el porcentaje de pacientes con MC y depresión es elevado (45,3%), e incluso se observan diferencias significativas entre los porcentajes de individuos deprimidos entre los distintos grupos ($p < 0,001$), en el análisis posterior ni este ni otros factores se asociaron estadísticamente con los niveles de PACAP. A pesar de todo, quizás sería aconsejable en futuros estudios excluir pacientes con antecedentes de depresión u otros trastornos neuropsiquiátricos para evitar posibles sesgos.

En resumen, aunque varios estudios sitúan al PACAP como un péptido relevante en la fisiopatología de la migraña, aún no hay acuerdo acerca de su comportamiento a nivel periférico, por lo que a día de hoy no parece un biomarcador válido para la migraña, y concretamente para la forma crónica. En el futuro sería conveniente establecer una uniformidad en los métodos de cuantificación, y verificar si las concentraciones plasmáticas reflejan fehacientemente su comportamiento a nivel central.

4. ESTUDIO DE LOS NIVELES SÉRICOS INTERICTALES DE LA PROTEÍNA GLIAL S100B EN PACIENTES CON MIGRAÑA CRÓNICA

Se compararon los niveles séricos interictales de S100B entre los pacientes con MC respecto a los grupos de ME, controles y CR, para investigar el posible papel de esta proteína como biomarcador de la activación glial del STV en la MC.

Los resultados de este estudio no muestran diferencias significativas en los niveles séricos interictales de S100B entre los pacientes con MC y los otros grupos (ME, CR y voluntarios sanos). Los estudios que hay al respecto son limitados y ofrecen resultados un tanto contradictorios, encontrando en ocasiones concentraciones séricas de S100B elevadas en los pacientes con migraña, a veces en el límite de los controles o incluso en algún caso menores (Celikbilek et al., 2014; Papandreou et al., 2005; Teepker et al., 2009; Yilmaz et al., 2011).

Los cuatro trabajos que analizan las concentraciones de la proteína glial S100B en la migraña lo hacen sobre muestras de sangre periférica, y en ningún caso se determinan en LCR como sí ocurre con otros neuropéptidos. En tres de ellos la determinación de S100B se llevó a cabo durante el periodo intercrisis (Celikbilek et al., 2014; Teepker et al., 2009; Yilmaz et al., 2011).

Tanto Teepker et al. como Yilmaz et al. observaron un incremento en los niveles de S100B interictales en el grupo de migraña respecto a los controles. En el estudio de Teepker et al. estos valores intercrisis fueron incluso mayores que los hallados en la fase ictal. En ambos trabajos los resultados se intentaron relacionar con una disrupción prolongada de la barrera hematoencefálica, que en estos pacientes se iniciaría en la fase de dolor. La hipótesis del posible daño neural parece inverosímil, al menos para tratar de explicar los hallazgos en la fase interictal, ya que en ambos estudios se determinó simultáneamente la NSE plasmática y en ninguno de los dos casos se encontró elevada interictalmente.

El trabajo más recientemente publicado sobre la S100B no solo no muestra este incremento de la misma en el grupo de migraña, sino que evidencia un descenso de esta proteína glial en la intercrisis en los pacientes migrañosos con respecto a los controles sanos (Celikbilek et al.,

2014). Los autores no justifican de forma satisfactoria estos resultados y centran la discusión en dos aspectos. Por un lado, resaltan la dificultad de detectar cambios en las concentraciones séricas de estas moléculas debido a su corta vida media plasmática. Por otro lado, argumentan la posible influencia del ritmo circadiano sobre la secreción de la proteína S100B. Plantean que si la extracción de las muestras se hubiera realizado de forma vespertina, es posible que las concentraciones se encontraran más elevadas en respuesta a la activación crónica de la glía debido al estrés diario, que conduciría a la sobreproducción de algunas moléculas inflamatorias como la S100B.

Los resultados discordantes obtenidos en el análisis interictal de la proteína S100B contrastan con la uniformidad de los observados en la fase ictal, como muestran los tres trabajos publicados a este respecto (Papandreou et al., 2005; Teepker et al., 2009; Yilmaz et al., 2011). En ellos se encuentran niveles de S100B elevados en el grupo de migraña durante la fase de dolor con respecto a los controles.

Asimismo, en el estudio de Papandreou et al. (2005) llevado a cabo en población pediátrica, también se evidencia una elevación significativa de esta proteína sérica en los niños migrañosos con respecto a los que presentan cefalea tensional, por lo que se propone como un biomarcador útil de especial interés en la población infantil en la que el diagnóstico diferencial de las cefaleas crónicas puede llegar a ser complejo.

En nuestro análisis también se incluyen pacientes con otras cefaleas distintas a las del grupo objeto de estudio (MC), como son la ME y la CR. En contraste con Papandreou et al. (2005), no observamos diferencias en los niveles de S100B entre los distintos grupos, con la apreciación de que en nuestro caso, las muestras fueron obtenidas en el periodo libre de dolor y no en la fase de cefalea.

Un aspecto a considerar en el análisis comparativo que podría resultar relevante, es que las técnicas de cuantificación de S100B fueron distintas entre los diferentes estudios: método inmunoluminométrico para Papandreou et al. y Teepker et al., electroquimioluminiscencia (ECLIA) para Yilmaz et al., y ELISA para Celikbilek et al. y nuestro análisis. Resulta llamativo el rango de variaciones observadas en las concentraciones de S100B. Así, en la intercrisis en los pacientes migrañosos, Yilmaz et al. encontraron de media niveles de S100B

de 0,122 $\mu\text{g/L}$, frente a los 0,0023 $\mu\text{g/L}$ observados por Celikbilek et al. —las concentraciones de S100B en el estudio de Teepker et al. y las de nuestro análisis se situaron entre ambos valores: 0,07 $\mu\text{g/L}$ y 0,022 $\mu\text{g/L}$ respectivamente—. Lo mismo sucedió en los controles, siendo el grupo de Yilmaz et al. de nuevo quienes documentaron los mayores niveles de S100B (0,045 $\mu\text{g/L}$) y el grupo de Celikbilek et al. los menores (0,017 $\mu\text{g/L}$).

Otra cuestión probablemente determinante en nuestros resultados es el hecho de que el grupo de estudio principal está formado por pacientes con MC, una de las formas más graves de migraña. Se trata, como se ha expuesto previamente, del primer análisis de S100B en este subgrupo concreto de migraña —de los tres estudios previos que analizan esta proteína glial en la intercrisis, en uno de ellos se incluyeron exclusivamente pacientes con ME (Yilmaz et al., 2011), y en los otros dos, aunque no se especifica, probablemente también lo fueran considerando la frecuencia de episodios de dolor descritos (Celikbilek et al., 2014; Teepker et al., 2009)—.

Al igual que se ha observado con otros neuropéptidos, sería lógico pensar que la teórica activación crónica del STV que ocurren en los pacientes con MC, se vería reflejada en un incremento de estos marcadores biológicos como ocurre con el CGRP —el cual se eleva en sangre periférica de forma interictal en la MC—, y en menor medida con el VIP (Cernuda-Morollón et al., 2013; Cernuda-Morollón et al., 2015).

Aplicando la misma hipótesis planteada con otros péptidos, y considerando dos premisas: 1) evidencias recientes sugieren que las células gliales satélite podrían participar en los procesos de sensibilización nociceptiva periférica mediante la liberación de óxido nítrico y otras citocinas proinflamatorias (Dublin y Hanani, 2007; Goadsby et al., 2002; Ho et al., 2008), y 2) la estimulación del ganglio trigémino conlleva una sobreexpresión de S100B (Donato et al., 2008; Thalakoti et al., 2007); se podría pensar que la proteína glial S100B podría verse incrementada en los pacientes con MC en la intercrisis. Sin embargo, esta teoría no se sostiene con los resultados observados en nuestro estudio, si bien es cierto que existen ciertos factores que podrían estar influyendo de algún modo en los resultados.

Por un lado, en nuestro estudio no se interrumpió, por razones éticas, la terapia farmacológica preventiva que mantenían un alto porcentaje de los pacientes. Esto difiere con lo observado en

otros trabajos, en los que en ningún caso los sujetos participantes tomaban medicación alguna. No obstante, en nuestro trabajo todas las muestras fueron obtenidas tras un periodo libre de dolor y de toma de analgésicos de al menos 24 horas.

Por otro lado, en las últimas décadas la migraña se ha asociado a distintas patologías, y concretamente se ha demostrado una mayor comorbilidad en el subgrupo de pacientes con MC, tanto en lo que respecta a enfermedades neuropsiquiátricas, como cardiovasculares o de otra índole (D'Amico et al., 2018; Minen et al., 2016; Scher et al., 2017). Si bien es cierto que en el proceso de selección de la muestra se excluyeron aquellos pacientes con enfermedades graves somáticas o psiquiátricas, así como aquellos con otras patologías neurológicas intercurrentes, sí se incluyeron sujetos con otros procesos concomitantes de menor relevancia. Por tanto, también se podría argumentar que los resultados de este análisis podrían verse influenciados por la mayor comorbilidad de este subgrupo de pacientes. Prueba de ello es que más de una cuarta parte de los pacientes con MC de nuestra muestra (29,2%) presentaban depresión.

En una segunda parte del estudio, se analizaron los posibles factores relacionados con los niveles de S100B considerando comorbilidades, presencia de aura y tratamientos (tanto en la fase aguda, como fármacos orales preventivos o la terapia con onabotA). De los trabajos previos, solamente en el de Celikbilek et al. (2014) se evalúa la posible asociación entre las variables clínicas relacionadas con las características de la crisis de migraña (incluyendo la existencia de aura) y las concentraciones de S100B, sin hallar vínculo alguno. Por contra, en nuestro estudio se observó una asociación estadísticamente significativa entre los niveles plasmáticos de S100B y cuatro de las variables analizadas. Los pacientes con MC y depresión o abuso de analgésicos presentaron mayores concentraciones de S100B, y los que reconocían tratamiento con triptanes o recibían onabotA concentraciones menores. Dos de estas asociaciones resultan especialmente interesantes.

En línea con lo anterior, se observó que los pacientes con depresión presentaron niveles séricos de S100B mayores que aquellos sin ella. Esta asociación entre neuropéptidos y depresión ya se había demostrado con otros neuropéptidos como el PACAP (Almli et al., 2013; Hashimoto et al., 2010; Hattori et al., 2007; Kormos y Gaszner, 2013; Ressler et al., 2011; Seigle et al., 2015). Del mismo modo, también se había advertido en algunos trabajos

de investigación una relación entre la proteína S100B y ciertos trastornos del humor como la depresión mayor y el trastorno bipolar (Arora et al., 2019; Kroksmark y Vinberg, 2018; Rajewska-Rager y Pawlaczyk, 2016), así como con procesos psicóticos como la esquizofrenia (Deng et al., 2018; Yelmo-Cruz et al., 2013). Es probablemente por este motivo por el que los pacientes con antecedentes de trastornos psiquiátricos (de cualquier naturaleza y gravedad) fueron excluidos en los cuatro estudios previos de migraña y S100B. Por tanto, se podría especular que al disponer de un porcentaje elevado de pacientes con depresión en nuestra muestra (29,2%) —los cuales según otros estudios presentan de media niveles de S100B mayores—, nuestros resultados podrían verse falsamente incrementados. Esta hipótesis apoyaría lo observado por Celikbilek et al. (2014), quienes observaron concentraciones séricas interictales de S100B en pacientes con migraña disminuidas frente al grupo de controles sanos. Lo idóneo quizás sería excluir a los pacientes con depresión en futuros estudios para evitar así posibles sesgos.

Otro hallazgo interesante es el hecho de observar un descenso significativo en las concentraciones plasmáticas de S100B en aquellos pacientes que seguían tratamiento con onabotA, en los cuales la obtención de las muestras se realizó al menos tres meses tras la última infiltración. Aunque no se conoce con certeza el mecanismo de acción exacto de la onabotA en la migraña, en modelos de experimentación animal se ha comprobado que bloquea la liberación de neuropéptidos implicados en la inflamación neurogénica como el CGRP (Durham et al., 2004; Lucioni et al., 2008), así como otros neurotransmisores excitadores como el glutamato (Aoki, 2005; Cui et al., 2004). Se cree que podría disminuir la sensibilización de terminaciones nerviosas periféricas e indirectamente la sensibilización central (Aurora y Brin, 2017). Esta hipótesis es consistente con nuestros resultados. No se conocen otros estudios de S100B y toxina botulínica, pero a la vista de nuestros datos parece interesante explorar este campo en un futuro, contemplando la opción de que la proteína S100B podría ser un biomarcador útil de respuesta a la terapia con onabotA, como se ha visto con otros neuropéptidos como el CGRP (Cernuda-Morollón et al., 2014).

No se encuentra una justificación fisiopatológica para la relación hallada entre el abuso de analgésicos y la ausencia de tratamiento con triptanes con los niveles elevados de S100B. Tampoco se conocen precedentes en la literatura científica, por lo que serán necesarios más estudios con tamaños muestrales mayores para contrastar estos hallazgos.

Una posible limitación tanto de nuestro trabajo como de los cuatro estudios previos, la constituye el hecho de que los análisis se efectuaron sobre muestras plasmáticas, siendo más fidedignas las de LCR para evitar la interferencia que pueda ejercer la barrera hematoencefálica, así como los problemas derivados de la escasa vida media de la S100B.

Por tanto, en base a nuestros resultados, las concentraciones plasmáticas interictales de S100B no parecen ser un buen biomarcador de la activación glial del STV en la MC, a diferencia de lo observado con otros neuropéptidos tanto trigeminales como parasimpáticos.

VI. CONCLUSIONES

1. Se presenta la primera escala diseñada para la evaluación de los CAPS en las cefaleas primarias, validada, fácil de aplicar y cuantificable.
2. Los CAPS se presentan en la MC de forma frecuente, aunque en grado leve, lo que apoya la activación del sistema nervioso parasimpático en estos pacientes.
3. La puntuación en la escala de CAPS aplicada en pacientes con MC no se relaciona con ninguna de las variables clínico-demográficas exploradas.
4. Los pacientes con CR, a diferencia de lo que sucede en la MC, presentan un número significativamente más elevado de CAPS y consecuentemente mayores puntuaciones en la escala, lo que refleja la mayor activación del sistema nervioso parasimpático en estos pacientes.
5. Los niveles plasmáticos de VIP se correlacionan con la presencia de CAPS en los pacientes con MC, reflejando la activación del sistema parasimpático craneal.
6. La ausencia de correlación entre los niveles plasmáticos de CGRP y los CAPS indica que la activación del sistema parasimpático craneal en la MC no es exclusivamente un fenómeno pasivo secundario a la liberación de CGRP tras la activación del STV.
7. El neuropéptido PACAP, a diferencia del VIP, no resulta útil como biomarcador de la activación parasimpática craneal en la MC.
8. Los resultados obtenidos en el análisis de la proteína S100B no apoyan su uso como biomarcador de la activación glial del STV en la MC. Futuros estudios son necesarios para establecer de manera concluyente el papel de esta molécula como posible biomarcador en la MC.

VII. BIBLIOGRAFÍA

- Adams AM, Serrano D, Buse DC, Reed ML, Marske V, Fanning KM, et al. The impact of chronic migraine: The Chronic Migraine Epidemiology and Outcomes (CaMEO) Study methods and baseline results. *Cephalalgia* 2015; 35: 563–578.
- Akkermans R, Harold G, Wolff. *Lancet Neurol* 2015; 14: 982–983.
- Akerman S, Goadsby PJ. Neuronal PAC1 receptors mediate delayed activation and sensitization of trigeminocervical neurons: Relevance to migraine. *Sci Transl Med* 2015; 7:308ra157.
- Akerman S, Holland PR, Goadsby P. Diencephalic and brainstem mechanisms in migraine. *Nature* 2011; 12: 570–583.
- Almli LM, Mercer KB, Kerley K, Feng H, Bradley B, Conneely KN, et al. ADCYAP1R1 genotype associates with post-traumatic stress symptoms in highly traumatized African–American females. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet* 2013; 162B: 262–272.
- Amin FM, Asghar MS, Guo S, Hougaard A, Hansen AE, Schytz HW, et al. Headache and prolonged dilatation of the middle meningeal artery by PACAP38 in healthy volunteers. *Cephalalgia* 2012; 32: 140–149.
- Amin FM, Hougaard A, Magon S, Asghar MS, Ahmad NN, Rostrup E, et al. Change in brain network connectivity during PACAP38-induced migraine attacks: a resting-state functional MRI study. *Neurology* 2016; 86: 180–187.
- Amin FM, Hougaard A, Schytz HW, Asghar MS, Lundholm E, Parvaiz AI, et al. Investigation of the pathophysiological mechanisms of migraine attacks induced by pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide-38. *Brain* 2014; 137: 779–794.
- Amin FM, Schytz HW. Transport of the pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide across the blood-brain barrier: implications for migraine. *J Headache Pain* 2018; 19: 35.
- Aoki KR. Review of a proposed mechanism for the antinociceptive action of botulinum toxin type A. *Neurotoxicology* 2005; 26: 785–793.
- Arimura A. Pituitary adenylate cyclase activating polypeptide (PACAP): discovery and current status of research. *Regul Pept* 1992; 37: 287–303.
- Arora P, Sagar R, Mehta M, Pallavi P, Sharma S, Mukhopadhyay AK. Serum S100B levels in patients with depression. *Indian J Psychiatry* 2019; 61: 70-76.
- Arslan HH, Tokgoz E, Yildizoglu U, et al. Evaluation of the changes in the nasal cavity during the migraine attack. *J Craniofac Surg* 2014; 25: E446–E449.
- Arruda MA, Albuquerque RC, Bigal ME, et al. Uncommon headache syndromes in the pediatric population. *Curr Pain Headache Rep* 2011; 15: 280–288.

- Ashina M, Bendtsen L, Jensen R, Schifter S, Olesen J. Evidence for increased plasma levels of calcitonin gene-related peptide in migraine outside of attacks. *Pain* 2000; 86: 133–8.
- Ashina H, Guo S, Vollesen ALH, Ashina M. PACAP38 in human models of primary headaches. *J Headache Pain* 2017; 18: 110.
- Aurora SK, Barrodale PM, Tipton RL, Khodavirdi A. Brainstem dysfunction in chronic migraine as evidenced by neurophysiological and positron emission tomography studies. *Headache* 2007; 47: 996–1003.
- Aurora SK, Brin MF. Chronic migraine: An update on physiology, imaging, and the mechanism of action of two available pharmacologic therapies. *Headache* 2017; 57: 109–125.
- Aurora SK, Kulthia A, Barrodale PM. Mechanism of chronic migraine. *Curr Pain Headache Rep* 2011; 15: 57–63.
- Aurora SK, Papapetropoulos S, Kori SH, et al. Gastric stasis in migraineurs: etiology, characteristics, and clinical and therapeutic implications. *Cephalalgia* 2013; 33: 408–415.
- Avnon Y, Nitzan M, Sprecher E, Rogowski Z, Yarnitsky D. Different patterns of parasympathetic activation in uni- and bilateral migraineurs. *Brain* 2003; 126: 1660–1670.
- Banks WA, Kastin AJ, Komaki G, Arimura A. Passage of pituitary adenylate cyclase activating polypeptide 1-27 and pituitary adenylate cyclase activating polypeptide 1-38 across the blood-brain barrier. *J Pharmacol Exp Ther* 1993; 267: 690–696.
- Banks WA, Kastin AJ, Komaki G, Arimura A. Pituitary adenylate cyclase activating polypeptide (PACAP) can cross the vascular component of the blood-testis barrier in the mouse. *J Androl* 1993; 14: 170–173.
- Barbanti P, Aurilia C, Dall'Armi V, et al. The phenotype of migraine with unilateral cranial autonomic symptoms documents increased peripheral and central trigeminal sensitization. A case series of 757 patients. *Cephalalgia* 2016; 36: 1334–1340.
- Barbanti P, Fabbrini G, Pesare M, et al. Unilateral cranial autonomic symptoms in migraine. *Cephalalgia* 2002; 22: 256–259.
- Barriga FJ, Lopez de Silanes C, Gili P, et al. Ciliary ganglioplegic migraine: migraine-related prolonged mydriasis. *Cephalalgia* 2011; 31: 291–295.

- Bartosik-Psujek H, Psujek M, Jaworski J, Stelmasiak Z. Total tau and S100b proteins in different types of multiple sclerosis and during immunosuppressive treatment with mitoxantrone. *Acta Neurol Scand* 2011; 123: 252–256.
- Bellamy JL, Cady RK, Durham PL. Salivary levels of CGRP and VIP in rhinosinusitis and migraine patients. *Headache* 2006; 46: 24–33.
- Bennett LA, Johnson JM, Stephens DP, Saad AR, Kellogg DL Jr. Evidence for a role for vasoactive intestinal peptide in active vasodilatation in the cutaneous vasculature of humans. *J Physiol* 2003; 552: 223–232.
- Bernstein C, Burstein R. Sensitization of the trigeminovascular pathway: Perspective and implications to migraine pathophysiology. *J Clin Neurol* 2012; 8: 89–99.
- Bigal ME, Lipton RB. Modifiable risk factors for migraine progression. *Headache* 2006; 46: 1334.
- Bigal ME, Lipton RB. Obesity is a risk factor for transformed migraine but not chronic tension-type headache. *Neurology* 2006; 67: 252–257.
- Bigal ME, Lipton RB. Excessive acute migraine medication use and migraine progression. *Neurology* 2008; 71: 1821–1828.
- Bigal ME, Serrano D, Buse D, Scher A, Stewart WF, Lipton RB. Acute migraine medications and evolution from episodic to chronic migraine: a longitudinal population-based study. *Headache* 2008; 48: 1157–1168.
- Birk S, Sitarz JT, Petersen KA, Oturai PS, Kruusse C, Fahrenkrug J, et al. The effect of intravenous PACAP38 on cerebral hemodynamics in healthy volunteers. *Regul Pept* 2007; 140: 185–191.
- Bloomfield SM, McKinney J, Smith L, Brisman J. Reliability of S100B in predicting severity of central nervous system injury. *Neurocrit Care* 2007; 6: 121–138.
- Bloudek LM, Stokes M, Buse DC, Wilcox TK, Lipton RB, Goadsby PJ, et al. Cost of healthcare for patients with migraine in five European countries: results from the International Burden of Migraine (IBMS). *J Headache Pain* 2012; 13: 361–378.
- Blumenfeld AM, Varon SF, Wilcox TK, et al. Disability, HRQoL and resource use among chronic and episodic migraineurs: results from the International Burden of Migraine Study (IBMS). *Cephalalgia* 2011; 31: 301–315.
- Boccuni M, Alessandri M, Fusco BM, et al. The pressor hyperresponsiveness to phenylephrine unmasks sympathetic hypofunction in migraine. *Cephalalgia* 1989; 9: 239–245.

- Boni L, Ploug K, Olesen J, Jansen-Olesen I, Gupta S. The in vivo effect of VIP, PACAP-38 and PACAP-27 and mRNA expression of their receptors in rat middle meningeal artery. *Cephalalgia* 2009; 29: 837–847.
- Bourgault S, Vaudry D, Botia B, Couvineau A, Laburthe M, Vaudry H, et al. Novel stable PACAP analogs with potent activity towards the PAC1 receptor. *Peptides* 2008; 29: 919–932.
- Burstein R, Collins B, Jakubowski M. Defeating migraine pain with triptans: a race against the development of cutaneous allodynia. *Ann Neurol* 2004; 55: 19-26.
- Burstein R, Jakubowski M. Implications of multimechanism therapy: when to treat? *Neurology* 2005; 64: 16-20.
- Burstein R, Jakubowski M. Unitary hypothesis for multiple triggers of the pain and strain of migraine. *J Comp Neurol* 2005; 493: 9–14.
- Burstein R, Yarnitsky D, Goor-Aryeh I, Ransil BJ, Bajwa XH. An association between migraine and cutaneous allodynia. *Ann Neurol* 2000; 47: 614–624.
- Burstein R, Nosedá R, Borsook D. Migraine: multiple processes, complex pathophysiology. *J Neurosci* 2015; 35: 6619–6629.
- Busch V, Jakob W, Juergens T, Schulte-Mattler W, Kaube H, May A. Occipital nerve blockade in chronic cluster headache patients and functional connectivity between trigeminal and occipital nerves. *Cephalalgia* 2007; 27: 1206–1214.
- Buse D, Manack A, Serrano D, Reed M, Varon S, Turkel C, et al. Headache Impact of Chronic and Episodic Migraine: Results From the American Migraine Prevalence and Prevention Study. *Headache* 2012; 52: 3–17.
- Camby I, Nagy N, Lopes MB, Schäfer BW, Maurage CA, Ruchoux MM, et al. Supratentorial pilocytic astrocytomas, astrocytomas, anaplastic astrocytomas and glioblastomas are characterized by a differential expression of S100 proteins. *Brain Pathol* 1999; 9: 1–19.
- Camporeale A, Kudrow D, Sides R, Wang S, Van Dycke A, Selzler KJ, et al. A phase 3, long-term, open-label safety study of Galcanezumab in patients with migraine. *BMC Neurol* 2018; 18: 188.
- Carod-Artal FJ, Irimia P, Ezpeleta D. Migraña crónica: definición, epidemiología, factores de riesgo y tratamiento. *Rev Neurol* 2012; 54: 629–637.
- Cauvin A, Buscail L, Gourlet P, De Neef P, Gossen D, Arimura A, et al. The novel VIP-like hypothalamic polypeptide PACAP interacts with high affinity receptors in the human neuroblastoma cell line NB-OK. *Peptides* 1990; 11: 773–777.

- Celikbilek A, Sabah S, Tanik N, Ak H, Atalay T, Yilmaz N. Is serum S100B protein an useful biomarker in migraine? *Neurol Sci* 2014; 35: 1197–1201.
- Cernuda-Morollón E, Larrosa D, Ramón C, Vega J, Martínez- Camblor P, Pascual J. Interictal increase of CGRP levels in peripheral blood as a biomarker for chronic migraine. *Neurology* 2013; 81: 1191–1196.
- Cernuda-Morollón E, Martínez-Camblor P, Alvarez R, Larrosa D, Ramón C, Pascual J. Increased VIP levels in peripheral blood outside migraine attacks as a potential biomarker of cranial parasympathetic activation in chronic migraine. *Cephalalgia* 2015; 215: 310–316.
- Cernuda-Morollón E, Martínez-Camblor P, Ramón P, Larrosa D, Serrano-Pertierra E, Pascual J. CGRP and VIP levels as predictors of efficacy of onabotulinumtoxin type A in chronic migraine. *Headache* 2014; 54: 987–995.
- Cernuda-Morollón E, Ramón C, Martínez-Camblor P, Serrano- Pertierra E, Larrosa D, Pascual J. OnabotulinumtoxinA decreases interictal CGRP plasma levels in patients with chronic migraine. *Pain* 2015; 156: 820–824.
- Chai NC, Shapiro RE, Rapoport AM. Why does vomiting stop a migraine attack? *Curr Pain Headache R* 2013; 17: 362.
- Christiansen T, Bruun A, Knight YE, Goadsby PJ, Edvinsson L. Immunoreactivity of NOS, CGRP, PACAP, SP and VIP in the trigeminal nucleus caudalis and in the cervical spinal cord C1 and C2 of the cat. *J Headache Pain* 2003; 4: 156–163.
- Colás R, Muñoz P, Temprano R, Gomez C, Pascual J. Chronic daily headache with analgesic overuse: epidemiology and impact on quality of life. *Neurology* 2004; 62: 1338–1342.
- Cortelli P, Pierangeli G. Chronic pain-autonomic interactions. *Neurol Sci* 2003; 24: S68–70.
- Couch JR, Lipton RB, Stewart WF, Scher AI. Head or neck injury increases the risk of chronic daily headache: a population-based study. *Neurology* 2007; 69: 1169.
- Couvineau A, Laburthe M. VPAC receptors: structure, molecular pharmacology and interaction with accessory proteins. *Br J Pharmacol* 2012; 166: 42–50.
- Cui M, Khanijou S, Rubino J, Aoki KR. Subcutaneous administration of botulinum toxin A reduces formalin-induced pain. *Pain* 2004; 107: 125–133.
- D'Amico D, Sansone E, Grazzi L, Giovannetti AM, Leonardi M, Schiavolin S, et al. Multimorbidity in patients with chronic migraine and medication overuse headache. *Acta Neurol Scand* 2018; 138: 515–522.

- De Benedittis G. Auriculotemporal syndrome (Frey's syndrome) presenting as tic douloureux. Report of two cases. *J Neurosurg* 1990; 72: 955–958.
- De Simone R, Ranieri A. The role of intracranial hypertension in the chronification of migraine. *Neurol Sci* 2015; 36 (Suppl 1): 23–28.
- Dejda A, Jolivel V, Bourgault S, Seaborn T, Fournier A, Vaudry H, et al. Inhibitory effect of PACAP on caspase activity in neuronal apoptosis: a better understanding towards therapeutic applications in neurodegenerative diseases. *J Mol Neurosci* 2008; 36: 26–37.
- Delgado M, Pozo D, Ganea D. The significance of vasoactive intestinal peptide in immunomodulation. *Pharmacol Rev* 2004; 56: 249–290.
- Deng H, Kahlon RS, Mohite S, Amin PA, Zunta-Soares G, Colpo GD, et al. Elevated Plasma S100B, Psychotic Symptoms, and Cognition in Schizophrenia. *Psychiatr Q* 2018; 89: 53–60.
- Denuelle M, Fabre N, Payoux P, Chollet F, Geraud G. Hypothalamic activation in spontaneous migraine attacks. *Headache* 2007; 47: 1418–1426.
- Dickson L, Finlayson K. VPAC and PAC receptors: from ligands to function. *Pharmacol Ther* 2009; 121: 294–316.
- Dodick DW. Chronic daily headache. *N Engl J Med* 2006; 354: 158–165.
- Domínguez-Vivero C, Vieites-Prado BC, Pérez-Mato M, Sobrino T, Rodríguez-Osorio X, López A, et al. CGRP and PTX3 as predictors of efficacy of onabotulinumtoxin type A in chronic migraine. *Headache* 2018; 58: 78–87.
- Donato R. Functional roles of S100 proteins, calcium binding proteins of the EF-hand type. *Biochim Biophys Acta* 1999; 1450: 191–231.
- Donato R, Sorci G, Riuzzi F, Arcuri C, Bianchi R, Brozzi F, et al. S100B's double life: intracellular regulator and extracellular signal. *Biochim Biophys Acta* 2008; 1793:1008–1022.
- Drummond PD. Disturbances in ocular sympathetic function and facial blood flow in unilateral migraine headache. *J Neurol Neurosurg Psychiatr* 1990; 53: 121–125.
- Drummond PD. The mechanism of facial sweating and cutaneous vascular responses to painful stimulation of the eye. *Brain* 1992; 115: 1417–1428.
- Drummond PD. The effect of sympathetic blockade on facial sweating and cutaneous vascular responses to painful stimulation of the eye. *Brain* 1993; 116: 233–241.

- Drummond PD. Photophobia and autonomic responses to facial pain in migraine. *Brain* 1997; 120: 1857–1865.
- Drummond PD. Mechanisms of autonomic disturbance in the face during and between attacks of cluster headache. *Cephalalgia* 2006; 26: 633-641.
- Dublin P, Hanani M. Satellite glial cells in sensory ganglia: their possible contribution to inflammatory pain. *Brain Behav Immun* 2007; 21: 592–598.
- Durham PL, Cady R, Cady R. Regulation of calcitonin gene-related peptide secretion from trigeminal nerve cells by botulinum toxin type A: Implications for migraine therapy. *Headache* 2004; 44: 35-42.
- Edvinsson L, Ekman R. Distribution and dilatory effect of vasoactive intestinal polypeptide (VIP) in human cerebral arteries. *Peptides* 1984; 5 :329–331.
- Edvinsson L, Elsas T, Suzuki N, Shimizu T, Lee TJ. Origin and Co-localization of nitric oxide synthase, CGRP, PACAP, and VIP in the cerebral circulation of the rat. *Microsc Res Tech* 2001; 53: 221–228.
- Edvinsson L, Tajti J, Szalárdy L, Vécsei L. PACAP and its role in primary headaches. *J Headache Pain* 2018; 19: 21.
- Edvinsson L y Uddman R. Neurobiology in primary headaches. *Brain Res Rev* 2005; 48: 438–456.
- Ekbom K. Evaluation of clinical criteria for cluster headache with special reference to the classification of the International Headache Society. *Cephalalgia* 1990; 10: 195-197.
- Fahrenkrug J, Hannibal J, Tams J, Georg B. Immunohistochemical localization of the VIP1 receptor (VPAC1R) in rat cerebral blood vessels: relation to PACAP and VIP containing nerves. *J Cereb Blood Flow Metab* 2000; 20: 1205–1214.
- Falluel-Morel A, Chafai M, Vaudry D, Basille M, Cazillis M, Aubert N, et al. The neuropeptide pituitary adenylate cyclase- activating polypeptide exerts anti-apoptotic and differentiating effects during neurogenesis: focus on cerebellar granule neurones and embryonic stem cells. *J Neuroendocrinol* 2007; 19: 321–327.
- Fekrazad R, Sardarian A, Azma K, Karami M, Borhani-Haghighi A, Gharesi-Fard B, et al. Interictal levels of calcitonin gene related peptide in gingival crevicular fluid of chronic migraine patients. *Neurol Sci* 2018; 39: 1217-1223.
- Fischera M, Marziniak M, Gralow I, Evers S. The incidence and prevalence of cluster headache: a meta-analysis of population-based studies. *Cephalalgia* 2008; 28: 614-618.

- Foerch C, Singer OC, Neumann-Haefelin T, du Mesnil de Rochemont R, Steinmetz H, Sitzer M. Evaluation of serum S100B as a surrogate marker for long-term outcome and infarct volume in acute middle cerebral artery infarction. *Arch Neurol* 2005; 62: 1130-1134.
- Foreman JC. Peptides and neurogenic inflammation. *Br Med Bull* 1987; 43: 386-400.
- Fulle S, Pietrangelo T, Marigliò MA, Lorenzon P, Racanicchi L, Mozrzymas J, et al. Calcium and fos involvement in brain-derived Ca(2+)-binding protein (S100)-dependent apoptosis in rat pheochromocytoma cells. *Exp Physiol* 2000; 85: 243-253.
- Fusayasu E, Kowa H, Takeshima T, Nakaso K, Nakashima K. Increased plasma substance P and CGRP levels, and high ACE activity in migraineurs during headache-free periods. *Pain* 2007; 128: 209–214.
- Gabai IJ, Spierings EL. Prophylactic treatment of cluster headache with verapamil. *Headache* 1989; 29: 167-168.
- Gallai V, Sarchielli P, Floridi A, Franceschini M, Codini M, Glioti G, et al. Vasoactive peptide levels in the plasma of young migraine patients with and without aura assessed both interictally and ictally. *Cephalalgia* 1995; 15: 384–390.
- Gaul G, Christmann N, Schröder D, Weber R, Shanib H, Diener HC, et al. Differences in clinical characteristics and frequency of accompanying migraine features in episodic and chronic cluster headache. *Cephalalgia* 2012; 32: 571–577.
- Gazerani P, Cairns BE. Dysautonomia in the pathogenesis of migraine. *Expert Rev Neurother* 2018; 18: 153-165.
- Gelfand AA, Reider AC, Goadsby PJ. Cranial autonomic symptoms in pediatric migraine are the rule, not the exception. *Neurology* 2013; 81: 431–436.
- Ghatei MA, Takahashi K, Suzuki Y, Gardiner J, Jones PM, Bloom SR. Distribution, molecular characterization of pituitary adenylate cyclase activating polypeptide and its precursor encoding messenger RNA in human and rat tissues. *J Endocrinol* 1993; 136: 159–166.
- Gibbins IL, Brayden JE, Bevan JA. Perivascular nerves with immunoreactivity to vasoactive intestinal polypeptide in cephalic arteries of the cat: distribution, possible origins and functional implications. *Neuroscience* 1984; 13: 1327–1346.
- Goadsby PJ. Autonomic nervous system control of the cerebral circulation. *Handbook of Clinical Neurology* 2013; 117: 193–201.
- Goadsby PJ, Edvinsson L. Peripheral and central trigeminovascular activation in cat is blocked by the serotonin (5HT)-1 D receptor agonist 311C90. *Headache* 1994; 34: 394-399.

- Goadsby PJ, Edvinsson L, Ekman R. Release of vasoactive peptides in the extracerebral circulation of humans and the cat during activation of the trigeminovascular system. *Ann Neurol* 1988; 23: 193.
- Goadsby PJ, Edvinsson L, Ekman R. Vasoactive peptide release in the extracerebral circulation of humans during migraine headache. *Ann Neurol* 1990; 28: 183–187.
- Goadsby PJ, Lipton RB. A review of paroxysmal hemicranias, SUNCT syndrome and other short-lasting headaches with autonomic feature, including new cases. *Brain* 1997; 120: 193-209.
- Goadsby PJ, Lipton RB, Ferrari MD. Migraine—current understanding and treatment. *N Engl J Med* 2002; 346: 257–270.
- Gonzalez G, Onofrio BM, Kerr FWL. Vasodilator system for the face. *J Neurosurg* 1975; 42: 696-703.
- Gotoh F, Komatsumoto S, Araki N, et al. Noradrenergic nervous activity in migraine. *Arch Neurol* 1984; 41: 951–955.
- Grocott HP, Laskowitz DT, Newman MF. *Markers of Cerebral Injury*. Amsterdam, NL: Harwood Academic Publishers; 2001.
- Guerrero AL, Rojo E, Herrero S, et al. Characteristics of the first 1000 headaches in an outpatient headache clinic registry. *Headache* 2011; 51: 226-231.
- Guerrero-Peral AL. Chronic migraine: clinical manifestations and differential diagnosis. *Rev Neurol* 2012; 54 Suppl 2: S21-29.
- Gracia-Naya M, Alarcia-Alejos R, Modrego-Pardo PJ. The importance of chronic migraine in a general neurology service. *Rev Neurol* 2008; 46: 577-581.
- Guitera V, Muñoz P, Castillo J, Pascual J. Quality of life in chronic daily headache: a study in a general population. *Neurology* 2002; 58:1062.
- Gulbenkian S, Uddman R, Edvinsson L. Neuronal messengers in the human cerebral circulation. *Peptides* 2001; 22: 995–1007.
- Guo S, Haulund Vollesen AL, Olesen J, Ashina M. Premonitory and non-headache symptoms induced by CGRP and PACAP38 in migraine patients. *Pain* 2016; 157: 2773–2781.
- Guo S, Olesen J, Ashina M. Phosphodiesterase 3 inhibitor cilostazol induces migraine-like attacks via cyclic AMP increase. *Brain* 2014; 137: 2951–2959
- Guo S, Petersen AS, Schytz HW, Barløse M, Caparso A, Fahrenkrug J, et al. Cranial parasympathetic activation induces autonomic symptoms but no cluster headache attacks. *Cephalalgia* 2018; 38: 1418-1428.

- Guo S, Vollesen ALH, Hansen RD, Esserlind AL, Amin FM, Christensen AF, et al. Part I: pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide-38 induced migraine-like attacks in patients with and without familial aggregation of migraine. *Cephalalgia* 2017; 37: 125–135.
- Gupta R, Bhatia MS. A report of cranial autonomic symptoms in migraineurs. *Cephalalgia* 2007; 27: 22-28.
- Guven H, Çilliler AE, Comoğlu SS. Unilateral cranial autonomic symptoms in patients with migraine. *Acta Neurol Belg* 2013; 113: 237-242.
- Hammack SE, Roman CW, Lezak KR, Kocho-Shellenberg M, Grimmig B, Falls WA, et al. Roles for pituitary adenylate cyclase-activating peptide (PACAP) expression and signaling in the bed nucleus of the stria terminalis (BNST) in mediating the behavioral consequences of chronic stress. *J Mol Neurosci* 2010; 42: 327-340.
- Han X, Dong Z, Hou L, Wan D, Chen M, Tang W, et al. Interictal plasma pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide levels are decreased in migraineurs but remain unchanged in patients with tension-type headache. *Clin Chem Acta* 2015; 450: 151–154.
- Han X, Ran Y, Su M, Liu Y, Tang W, Dong Z, et al. Chronic changes in pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide and related receptors in response to repeated chemical dural stimulation in rats. *Mol Pain* 2017; 13: 1– 10.
- Hanani M. Satellite glial cells in sensory ganglia: From form to function. *Brain Res Brain Res Rev* 2005; 48: 457–476.
- Hansen JM, Fahrenkrug J, Petersen J, Wienecke T, Olsen KS, Ashina M. Vasoactive intestinal peptide (VIP) and pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide (PACAP) in the circulation after sumatriptan. *Scand J Pain* 2013; 4: 211-216.
- Hansen JM, Sitarz J, Birk S, Rahmann AM, Oturai PS, Fahrenkrug J, et al. Vasoactive intestinal polypeptide evokes only a minimal headache in healthy volunteers. *Cephalalgia* 2006; 26: 992–1003.
- Harmar AJ, Fahrenkrug J, Gozes I, Laburthe M, May V, Pisegna JR, et al. Pharmacology and functions of receptors for vasoactive intestinal peptide and pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide: IUPHAR review 1. *Br J Pharmacol* 2012; 166: 4–17.
- Hashimoto R, Hashimoto H, Shintani N, Ohi K, Hori H, Saitoh O, et al. Possible association between the pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide (PACAP) gene and major depressive disorder. *Neurosci Lett* 2010; 468: 300–302.

- Hashimoto H, Shintani N, Tanida M, Hayata A, Hashimoto R, Baba A. PACAP is implicated in the stress axes. *Curr Pharm Des* 2011; 7: 985–989.
- Hattori T, Baba K, Matsuzaki S, Honda A, Miyoshi K, Inoue K, et al. A novel DISC1-interacting partner DISC1-Binding zinc-finger protein: implication in the modulation of DISC1-dependent neurite outgrowth. *Mol Psychiatry* 2007; 12: 398–407.
- Havanka-Kanniainen H. Cardiovascular reflex responses during migraine attack. *Headache* 1986; 26: 442–446.
- Headache Classification Committee of the International Headache Society (IHS). The International Classification of Headache Disorders, 3rd edition (beta version). *Cephalalgia* 2013; 33: 629-808.
- Headache Classification Subcommittee of the International Headache Society. The International Classification of Headache Disorders: 2 ed. *Cephalalgia* 2004; 24 (Suppl 1): 1-160.
- Hejna M, Hamilton G, Brodowicz T, Haberl I, Fiebigler WC, Scheithauer W, et al. Serum levels of vasoactive intestinal peptide (VIP) in patients with adenocarcinomas of the gastrointestinal tract. *Anticancer Res* 2001; 21: 1183-1187.
- Ho TW, Connor KM, Zhang Y, Pearlman E, Koppenhaver J, Fan X, et al. Randomized controlled trial of the CGRP receptor antagonist telcagepant for migraine prevention. *Neurology* 2014; 83: 958-966.
- Ho TW, Mannix LK, Fan X, Asssid C, Furtek C, Jones CJ, et al. Randomized controlled trial of an oral CGRP receptor antagonist, MK-0974, in acute treatment of migraine. *Neurology* 2008; 70: 1304–1312.
- Hosoya Y, Matsushita M, Sugiura Y. A direct hypothalamic projection to the superior salivatory nucleus neurons in the rat. A study using anterograde autoradiographic and retrograde HRP methods. *Brain Res* 1983; 266: 329–333.
- Hosoya Y, Sugiura Y, Ito R, Kohno K. Descending projections from the hypothalamic paraventricular nucleus to the A5 area, including the superior salivatory nucleus, in the rat. *Exp Brain Res* 1990; 82: 513–518.
- Ingebrigtsen T, Romner B, Marup-Jensen S, Dons M, Lundqvist C, Bellner J, et al. The clinical value of serum S-100 protein measurements in minor head injury: A Scandinavian multicentre study. *Brain Inj* 2000; 14: 1047-1055.
- Jang MU, Park JW, Kho HS, Chung SC, Chung JW. Plasma and saliva levels of nerve growth factor and neuropeptides in chronic migraine patients. *Oral Dis* 2011; 17: 187–193.

- Janig W. Relationship between pain and autonomic phenomena in headache and other pain conditions. *Cephalalgia* 2003; 23 (Suppl 1): 43-48.
- Jansen-Olesen I, Baun M, Amrutkar DV, Ramachandran R, Christophersen DV, Olesen J. PACAP-38 but not VIP induces release of CGRP from trigeminal nucleus caudalis via a receptor distinct from the PAC1 receptor. *Neuropeptides* 2014; 48: 53–64.
- Jauch EC, Lindsell C, Broderick J, Fagan SC, Tilley BC, Levine SR, et al. Association of serial biochemical markers with acute ischemic stroke: The National Institute of Neurological Disorders and Stroke recombinant tissue plasminogen activator Stroke Study. *Stroke* 2006; 37: 2508-2513.
- Jonsson H, Johnsson P, Hoglund P, Alling C, Blomquist S. Elimination of S100B and renal function after cardiac surgery. *J Cardiothorac Vasc Anesth* 2000; 14: 698-701.
- Juang KD, Wang SJ, Fuh JL, et al. Comorbidity of depressive and anxiety disorders in chronic daily headache and its subtypes. *Headache* 2000; 40: 818.
- Kapural M, Krizanac-Bengez L, Barnett G, Perl J, Masaryk T, Apollo D, et al. Serum S-100beta as a possible marker of blood-brain barrier disruption. *Brain Res* 2002; 940: 102-104.
- Kellogg DL Jr, Zhao JL, Friel C, Roman LJ. Nitric oxide concentration increases in the cutaneous interstitial space during heat stress in humans. *J Appl Physiol* 2003; 94:1971–1977.
- Kelman L, Rains JC. Headache and sleep: examination of sleep patterns and complaints in a large clinical sample of migraineurs. *Headache* 2005; 45: 904.
- Khan S, Schoenen J, Ashina M. Sphenopalatine ganglion neuromodulation in migraine: What is the rationale? *Cephalalgia* 2014; 34: 382–391.
- Kimura C, Ohkubo S, Ogi K, Hosoya M, Itoh Y, Onda H, et al. A novel peptide which stimulates adenylate cyclase: molecular cloning and characterization of the ovine and human cDNAs. *Biochem Biophys Res Commun* 1990; 166: 81–89.
- Koenig J, Williams DP, Kemp AH, et al. Vagally mediated heart rate variability in headache patients—a systematic review and meta-analysis. *Cephalalgia* 2016; 36: 265–278.
- Kormos V y Gaszner B. Role of neuropeptides in anxiety, stress, and depression: from animals to humans. *Neuropeptides* 2013; 47: 401-419.
- Kroksmark H, Vinberg M. Does S100B have a potential role in affective disorders? A literature review. *Nord J Psychiatry* 2018; 72: 462-470.

- Kulka M, Sheen CH, Tancowny BP, Grammer LC, Schleimer RP. Neuropeptides activate human mast cell degranulation and chemokine production. *Immunology* 2008; 123: 398–410.
- Lai TH, Fuh JL, Wang SJ. Cranial autonomic symptoms in migraine: characteristics and comparison with cluster head-ache. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2009; 80: 1116–1119.
- Lambert GA, Bogduk N, Goadsby PJ, Duckworth JW, Lance JW. Decreased carotid arterial resistance in cats in response to trigeminal stimulation. *J Neurosurg* 1984; 61: 307-315.
- Lassen LH, Haderslev PA, Jacobsen VB, Iversen HK, Sperling B, Olesen J. CGRP may play a causative role in migraine. *Cephalalgia* 2002; 22 :54–61.
- Lee MJ, Lee SY, Cho S, Kang ES, Chung CS. Feasibility of serum CGRP measurement as a biomarker of chronic migraine: a critical reappraisal. *J Headache Pain* 2018;19: 53.
- Leone M, Bussone G. Pathophysiology of trigeminal autonomic cephalalgias. *Lancet Neurol* 2009; 8: 755–764.
- Lipton RB, Bigal ME. Chronic daily headache: is analgesic overuse a cause or a consequence? *Neurology* 2003; 61: 154-155.
- 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; 68: 343-349.
- Lipton RB, Fanning KM, Serrano D, et al. Ineffective acute treatment of episodic migraine is associated with new-onset chronic migraine. *Neurology* 2015; 84: 688.
- Louter MA, Bosker JE, van Oosterhout WP, et al. Cutaneous allodynia as a predictor of migraine chronification. *Brain* 2013; 136: 3489.
- Lucioni A, Bales GT, Lotan TL, McGehee DS, Cook SP, Rapp DE. Botulinum toxin type A inhibits sensory neuropeptide release in rat bladder models of acute injury and chronic inflammation. *BJU Int* 2008; 101: 366-370.
- Maizels M y Geiger AM. Intranasal lidocaine for migraine: A randomized trial and open-label follow-up. *Headache* 1999; 39: 543–551.
- Mamontov OV, Babayan L, Amelin AV, et al. Autonomous control of cardiovascular reactivity in patients with episodic and chronic forms of migraine. *J Headache Pain* 2016; 17: 52.
- Mandal J, Roth M, Costa L, Boeck L, Rakic J, Scherr A, et al. Vasoactive Intestinal Peptide for Diagnosing Exacerbation in Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *Respiration* 2015; 90: 357-368.

- Matei D, Constantinescu V, Corciova C, et al. Autonomic impairment in patients with migraine. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2015; 19: 3922–3927.
- Mathew NT, Stubits E, Nigam MP. Transformation of episodic migraine into daily headache: analysis of factors. *Headache* 1982; 22: 66-68.
- Matias-Guiu J, Porta-Etesam J, Mateos V, et al. One-year prevalence of migraine in Spain: A nationwide population-based survey. *Cephalalgia* 2011; 31: 463-470.
- May A, Goadsby PJ. The trigeminovascular system in humans: pathophysiologic implications for primary headache syndromes of the neural influences on the cerebral circulation. *J Cereb Blood Flow Metab* 1999; 19: 115–127.
- Medrano-Martínez V, Pozo-Rosich P, Ruiz-Álvarez L, Torres-Ferrús M, Sánchez del Río M. Fisiopatología. Métodos diagnósticos, criterios de derivación y criterios de hospitalización. En: Ezpeleta D, Pozo-Rosich P, editores. *Guía oficial de práctica clínica en cefaleas de la Sociedad Española de Neurología*. 1a ed. Madrid: Luzán 5; 2015. p. 35-59.
- Messlinger K. Migraine: Where and how does the pain originate? *Exp Brain Res* 2009; 196: 179-193.
- Miglis MG. Migraine and Autonomic Dysfunction: Which Is the Horse and Which Is the Jockey?. *Curr Pain Headache Rep* 2018; 22: 19.
- Minen MT, Begasse De Dhaem O, Kroon Van Diest A, et al. Migraine and its psychiatric comorbidities. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2016; 87: 741.
- Mitsikostas DD, Reuter U. Calcitonin gene-related peptide monoclonal antibodies for migraine prevention: comparisons across randomized controlled studies. *Curr Opin Neurol* 2017; 30: 272-280.
- Miyata A, Arimura A, Dahl RR, Minamino N, Uehara A, Jiang L, et al. 1989. Isolation of a novel 38 residue-hypothalamic polypeptide which stimulates adenylate cyclase in pituitary cells. *Biochem Biophys Res Commun* 1989; 164: 567–574.
- Mosek A, Novak V, Opfer-Gehrking TL, et al. Autonomic dysfunction in migraineurs. *Headache* 1999; 39: 108–117.
- Moshtaghi O, Ghavami Y, Mahboubi H, et al. Migraine-Related Aural Fullness: A Potential Clinical Entity. *Otolaryngol Head Neck Surg* 2018; 158: 100-102.
- Moskowitz MA. The visceral organ brain: implications for the pathophysiology of vascular head pain. *Neurology* 1991; 41: 182-186.

- Moulton EA, Becerra L, Johnson A, Burstein R, Borsook D. Altered hypothalamic functional connectivity with autonomic circuits and the locus coeruleus in migraine. *PLoS One* 2014; 9:e95508.
- Moulton EA, Burstein R, Tully S, Hargreaves R, Becerra L, Borsook D. Interictal dysfunction of a brainstem descending modulatory center in migraine patients. *PLoS One* 2008; 3: e3799.
- Mustafa T. Pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide (PACAP): a master regulator in central and peripheral stress responses. *Adv Pharmacol* 2013; 68: 445–457.
- Nappi G, Micieli G, Gavallini A, Zanferrari C, Sandrini G, Manzoni GC. Accompanying symptoms of cluster attacks: their relevance to the diagnostic criteria. *Cephalalgia* 1992; 12: 165-168.
- Natoli JL, Manack A, Dean B, Butler Q, Turkel CC, Stovner L, et al. Global prevalence of chronic migraine: a systematic review. *Cephalalgia* 2010; 30: 599-609.
- Obermann M, Yoon MS, Dommes P, et al. Prevalence of trigeminal autonomic symptoms in migraine: A population-based study. *Cephalalgia* 2007; 27: 504–509.
- Olesen J, Diener HC, Husstedt IW, Goadsby PJ, Hall D, Meier U, et al. Calcitonin gene-related peptide receptor antagonist BIBN 4096 BS for the acute treatment of migraine. *N Engl J Med* 2004; 350: 1104–1110.
- Ottesen B, Pedersen B, Nielsen J, Dalgaard D, Wagner G, Fahrenkrug J. Vasoactive intestinal polypeptide (VIP) provokes vaginal lubrication in normal women. *Peptides* 1987; 8: 797–800.
- Pannese E. Perikaryal surface specializations of neurons in sensory ganglia. *Int Rev Cytol* 2002; 220: 1–34.
- Papandreou O, Soldatou A, Tsitisika A, Kariyannis C, Papandreou T, Zachariadi A, et al. Serum S100 beta protein in children with acute recurrent headache: a potentially useful marker for migraine. *Headache* 2005; 45: 1313–1316.
- Parkman HP. Migraine and gastroparesis from a gastroenterologist's perspective. *Headache* 2013; 53 (Suppl 1): 4–10.
- Pascual J. AMG 334 CGRP antibody for migraine: time to celebrate? *Lancet Neurol* 2016; 15: 347–349.
- Pascual J, Colás R, Castillo J. Epidemiology of chronic daily headache. *Curr Pain Headache Rep* 2001; 5: 529-536.

- Pascual J, Combarros O, Leno C, et al. Distribution of headache by diagnosis as the reason for neurologic consultation. *Med Clin (Barc)* 1995; 104: 161-164.
- Pascual J, Sánchez del Río M, Jiménez MD, Láinez-Andrés JM, Mateos V, Leira R, et al. La migraña crónica vista por el neurólogo y el paciente: resultados del proyecto CIEN-mig (III). *Rev Neurol* 2010; 50: 705-710.
- Peng SY, Li JT, Liu YB, Fang HQ, Wu YL, Peng CH, et al. Diagnosis and treatment of VIPoma in China: (case report and 31 cases review) diagnosis and treatment of VIPoma. *Pancreas* 2004; 28: 93-97.
- Peres MF, Young WB, Kaup AO, et al. Fibromyalgia is common in patients with transformed migraine. *Neurology* 2001; 57: 1326.
- Peres MF, Zukerman E, Young WB, Silberstein SD. Fatigue in chronic migraine patients. *Cephalalgia* 2002; 22: 720.
- Peroutka SJ. Migraine: a chronic sympathetic nervous system disorder. *Headache* 2004; 44: 53-64.
- Pini LA, Cicero AF, Sandrini M. Long-term follow-up of patients treated for chronic headache with analgesic overuse. *Cephalalgia* 2001; 21: 878-883.
- Pogacnik T, Sega S, Pecnik B, et al. Autonomic function testing in patients with migraine. *Headache* 1993; 33: 545-550.
- Pozo-Rosich P. Migraña crónica: epidemiología e impacto. *Rev Neurol* 2012; 54:S3-11.
- Qin G, Gui B, Xie J, Chen L, Chen L, Cui Z, et al. Tetrandrine Alleviates Nociception in a Rat Model of Migraine via Suppressing S100B and p-ERK Activation in Satellite Glial Cells of the Trigeminal Ganglia. *Mol Neurosci* 2018; 64: 29-38.
- Rahmann A, Wienecke T, Hansen JM, Fahrenkrug J, Olesen J, Ashina M. Vasoactive intestinal peptide causes marked cephalic vasodilation, but does not induce migraine. *Cephalalgia* 2008; 28: 226-236.
- Raieli V, Giordano G, Spitaleri C, et al. Migraine and Cranial Autonomic Symptoms in Children and Adolescents: A Clinical Study. *J Child Neurol* 2015; 30: 182-186.
- Rains JC, Poceta JS. Sleep-related headaches. *Neurol Clin* 2012; 30: 1285-1298.
- Rajewska-Rager A, Pawlaczyk M. The role of S100B protein as a potential marker in affective disorders. *Psychiatr Pol* 2016; 50: 849-857.
- Reglodi D, Kiss P, Lubics A, Tamas A. Review on the protective effects of PACAP in models of neurodegenerative diseases in vitro and in vivo. *Curr Pharm Des* 2011; 17: 962-972.

- Ressler KJ, Mercer KB, Bradley B, Jovanovic T, Mahan A, Kerley K, et al. Post-traumatic stress disorder is associated with PACAP and the PAC1 receptor. *Nature* 2011; 470: 492–497.
- Rodríguez-Osorio X, Sobrino T, Brea D, Martínez F, Castillo J, Leira R. Endothelial progenitor cells: a new key for endothelial dysfunction in migraine. *Neurology* 2012; 79: 474–479.
- Rojo E, Pedraza MI, Muñoz I, Mulero P, Ruiz M, de la Cruz C, et al. Diferencias entre migraña crónica con y sin uso excesivo de medicación: experiencia en una serie hospitalaria de 434 pacientes. *Neurología* 2015; 30: 153-157.
- Ropper AH, Samuels MA, Klein JP. Capítulo 47: Enfermedades de los pares craneales. En: McGraw-Hill Interamericana de España SL. Adams y Victor - Principios de neurología. 10ª edición; 2017.
- Rozen TD. A history of cigarette smoking is associated with the development of cranial autonomic symptoms with migraine headaches. *Headache* 2011; 51: 85-91.
- Rubin LS, Graham D, Pasker R, et al. Autonomic nervous system dysfunction in common migraine. *Headache* 1985; 25: 40-48.
- Rubio-Beltrán E, Correnti E, Deen M, Kamm K, Kelderman T, Papetti L, et al. PACAP38 and PAC1 receptor blockade: a new target for headache?. *J Headache Pain* 2018; 19: 64.
- Sághy E, Payrits M, Helyes ZS, Reglódi D, Bánki E, Tóth G, et al. Stimulatory effect of pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide 6-38, M65 and vasoactive intestinal polypeptide 6-28 on trigeminal sensory neurons. *Neuroscience* 2015; 308: 144–156.
- Said SI. Vasoactive intestinal polypeptide (VIP): current status. *Peptides* 1984; 5: 143–150.
- Said SI, Mutt V. Potent peripheral and splanchnic vasodilator peptide from normal gut. *Nature* 1970; 225: 863–864.
- Salvesen R. Innervation of sweat glands in the forehead. A study in patients with Horner's syndrome. *J Neurol Sci* 2001; 183: 39–42.
- Sánchez del Río-González M. Migraña crónica: fisiopatología. *Rev Neurol* 2012; 54: S13-9.
- Sandor K, Bolcskei K, McDougall JJ, Schuelert N, Reglodi D, Elekes K, et al. Divergent peripheral effects of pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide-38 on nociception in rats and mice. *Pain* 2009; 141: 143–150.
- Sarchielli P, Pini LA, Zanchin G, Franceschini M, Codini M, Glioti G, et al. Clinical-biochemical correlates of migraine attacks with rizatriptan responders and non-responders. *Cephalalgia* 2006; 26: 257–265.

- Saunte C, Russell D, Sjaastad O. Cluster headache: on the mechanism behind attack-related sweating. *Cephalalgia* 1983; 3: 175-185.
- Schaf DV, Tort AB, Fricke D, Schestatsky P, Portela LV, Souza DO, et al. S100B and NSE serum levels in patients with Parkinson's disease. *Parkinsonism Relat Disord* 2005; 11: 39-43.
- Scher AI, Buse DC, Fanning KM, Kelly AM, Franznick DA, Adams AM, et al. Comorbid pain and migraine chronicity: The Chronic Migraine Epidemiology and Outcomes Study. *Neurology* 2017; 89: 461-468.
- Scher AI, Stewart WF, Ricci JA, Lipton RB. Factors associated with the onset and remission of chronic daily headache in a population-based study. *Pain* 2003; 106:81.
- Scher AI, Stewart WF, Lipton RB. Caffeine as a risk factor for chronic daily headache: a population- based study. *Neurology* 2004; 63: 2022.
- Schulman EA, Lake AE 3rd, Lipton RB. Refractory migraine: introductory editorial. *Headache* 2008; 48: 768-769.
- Schwedt TJ, Larson-Prior L, Coalson RS, Nolan T, Mar S, Ances BM, et al. Allodynia and descending pain modulation in migraine: a resting state functional connectivity analysis. *Pain Med* 2014; 15: 154-165.
- Schytz HW, Birk S, Wienecke T, Kruuse C, Olesen J, Ashina M. PACAP38 induces migraine-like attacks in patients with migraine without aura. *Brain* 2009; 132: 16-25.
- Seaborn T, Masmoudi-Kouli O, Fournier A, Vaudry H, Vaudry D. Protective effects of pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide (PACAP) against apoptosis. *Curr Pharm Des* 2011; 17: 204-214.
- Seiglie MP, Smith KL, Blasio A, Cottone P, Sabino V. Pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide induces a depressive-like phenotype in rats. *Psychopharmacology* 2015; 232: 3821-3831.
- Seybold Vs. The role of peptides in central sensitization. *Handb Exp Pharmacol* 2009; 194: 451-491.
- Shayestagul NA, Christensen CE, Amin FM, Ashina S, Ashina M. Measurement of blood flow velocity in the middle cerebral artery during spontaneous migraine attacks: a systematic review. *Headache* 2017; 57: 852-861.
- Silberstein SD, Dodick DW, Bigal ME, Yeung PP, Goadsby PJ, Blankenbiller T, et al. Fremanezumab for the Preventive Treatment of Chronic Migraine. *N Engl J Med* 2017; 377: 2113-2122.

- Silberstein SD, Lipton RB, Sliwinski M. Classification of daily and near-daily headaches: field trial of revised IHS criteria. *Neurology* 1996; 47: 871-875.
- Snoer A, Lund N, Beske R, Jensen R, Barloese M. Pre-attack signs and symptoms in cluster headache: Characteristics and time profile. *Cephalalgia* 2018; 38:1128-1137.
- Spencer SE, Sawyer WB, Wada H, Platt KB, Loewy AD. CNS projections to the pterygopalatine parasympathetic preganglionic neurons in the rat: a retrograde transneuronal viral cell body labeling study. *Brain Res* 1990; 534: 149-169.
- Strassman AM, Raymond SA, Burstein R. Sensitization of meningeal sensory neurons and the origin of headaches. *Nature* 1996; 384: 560-564.
- Stroth N, Holighaus Y, Ait-Ali D, Eiden LE. PACAP: a master regulator of neuroendocrine stress circuits and the cellular stress response. *Ann N Y Acad Sci* 2011; 1220: 49–59.
- Tajti J, Szok D, Majláth Z, Tuka B, Csáti A, Vecsei L. Migraine and neuropeptides. *Neuropeptides* 2015; 52: 19–30.
- Tajti J, Tuka B, Botz B, Helyes Z, Vecsei L. Role of pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide in nociception and migraine. *CNS Neurol Disord Drug Targets* 2015; 14: 540–553.
- Tajti J, Uddman R, Moller S, Sundler F, Edvinsson L. Messenger molecules and receptor mRNA in the human trigeminal ganglion. *J Auton Nerv Syst* 1999; 76: 176–183.
- Tan YV, Waschek JA. Targeting VIP and PACAP receptor signalling: new therapeutic strategies in multiple sclerosis. *ASN Neuro* 2011; 3: 195–212.
- Teepker M, Munk K, Mylius V, Haag A, Möller JC, Oertel WH, et al. Serum concentration of s100b and NSE in migraine. *Headache* 2009; 49: 245–252.
- Tepper S, Ashina M, Reuter U, Brandes JL, Doležil D, Silberstein S, et al. Safety and efficacy of erenumab for preventive treatment of chronic migraine: a randomised, double-blind, placebo-controlled phase 2 trial. *Lancet Neurol* 2017 16: 425-434.
- Tepper SJ, Rezai A, Narouze A, Steiner C, Mohajer P, Ansarinia M. Acute treatment of intractable migraine with sphenopalatine ganglion electrical stimulation. *Headache* 2009; 49: 983–989.
- Thalakoti S, Patil VV, Damodaram S, Vause CV, Langford LE, Freeman SE, et al. Neuron-glia signaling in trigeminal ganglion: implications for migraine pathology. *Headache* 2007; 47: 1008–1023.

- Thomsen LL, Iversen HK, Boesen F, et al. Transcranial Doppler and cardiovascular responses during cardiovascular autonomic tests in migraineurs during and outside attacks. *Brain* 1995; 118 (Pt 5):1319–1327.
- Tietjen GE, Brandes JL, Digre KB, et al. High prevalence of somatic symptoms and depression in women with disabling chronic headache. *Neurology* 2007; 68: 134.
- Tietjen GE, Brandes JL, Peterlin BL, et al. Childhood maltreatment and migraine (part I-III). *Headache* 2010; 50: 20-51.
- Tome-Pires C, Miro J. Electrodermal responses and memory recall in migraineurs and headache-free controls. *Eur J Pain* 2014; 18: 1298-1306.
- Torelli P, Cologno D, Cademartiri C, Manzoni GC. Application of the International Headache Society classification criteria in 652 cluster headache patients. *Cephalalgia* 2001; 21: 145-150.
- Toribio-Díaz ME, Cuadrado-Pérez ML, Peláez A, et al. Migraine with prolonged eyelid edema: a series of 10 cases. *Rev Neurol* 2014; 58: 385-388.
- Tuka B, Helyes Z, Markovics A, Bagoly T, Nemeth J, Mark L, et al. Peripheral and central alterations of pituitary adenylate cyclase activating polypeptide-like immunoreactivity in the rat in response to activation of the trigeminovascular system. *Peptides* 2012; 33: 307–316.
- Tuka B, Helyes Z, Markovics A, Bagoly T, Szolcsányi J, Szabo N, et al. Alterations in PACAP-38-like immunoreactivity in the plasma during ictal and interictal periods of migraine patients. *Cephalalgia* 2013; 33: 1085–1095.
- Tuka B, Szabó N, Tóth E, Kincses ZT, Párdutz A, Szok D, et al. Release of PACAP-38 in episodic cluster headache patients—an exploratory study. *J Headache Pain* 2016; 17: 69.
- Uddman R, Tajti J, Hou M, Sundler F, Edvinsson L. Neuropeptide expression in the human trigeminal nucleus caudalis and in the cervical spinal cord C1 and C2. *Cephalalgia* 2002; 22: 112–116.
- Uddman R, Tajti J, Moller S, Sundler F, Edvinsson L. Neuronal messengers and peptide receptors in the human sphenopalatine and otic ganglia. *Brain Res* 1999; 826: 193–199.
- Uluduz D, Ayta S, Özge A, Yalin OÖ, THDSG, Temel GÖ, et al. Cranial Autonomic Features in Migraine and Migrainous Features in Cluster Headache. *Noro Psikiyatrs Ars* 2018; 55: 220-224.

- Umemoto N, Kakurai M, Okazaki H, Kiyosawa T, Demitsu T, Nakagawa H. Serum levels of vasoactive intestinal peptide are elevated in patients with atopic dermatitis. *J Dermatol Sci* 2003; 31: 161-164.
- Van Dongen RM, Zielman R, Noga M, Dekkers OM, Hankemeier T, van der Maagdenberg AM, et al. Migraine biomarkers in cerebrospinal fluid: a systematic review and meta-analysis. *Cephalalgia* 2017; 37: 49–63.
- Vaudry D, Falluel-Morel A, Bourgault S, Basille M, Burel D, Wurtz O, et al. Pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide and its receptors: 20 years after the discovery. *Pharmacol Rev* 2009; 61: 283–357.
- Vaudry D, Gonzalez BJ, Basille M, Yon L, Fournier A, Vaudry H. Pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide and its receptors: from structure to functions. *Pharmacol Rev* 2000; 52: 269–324.
- Vollesen ALH, Amin FM, Ashina M. Targeted Pituitary Adenylate Cyclase-Activating Peptide Therapies for Migraine. *Neurotherapeutics* 2018; 15: 371-376.
- Vollesen AL, Guo S, Ashina M. PACAP38 dose-response pilot study in migraine patients. *Cephalalgia* 2017; 37: 391–395.
- Vollono C, Gnani V, Testani E, et al. Heart rate variability in sleep-related migraine without aura. *J Clin Sleep Med* 2013; 9: 707–714.
- Vos T, Flaxman AD, Naghavi M, Lozano R, Michaud C, Ezzati M et al. Years lived with disability (YLDs) for 1160 sequelae of 289 diseases and injuries 1990–2010: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010. *Lancet* 2012; 380: 2163-2196.
- Waschek JA, Baca SM, Akerman S. PACAP and migraine headache: immunomodulation of neural circuits in autonomic ganglia and brain parenchyma. *J Headache Pain* 2018 Mar 13; 19: 23.
- Waschek JA. VIP and PACAP: neuropeptide modulators of CNS inflammation, injury, and repair. *Br J Pharmacol* 2013; 169: 512–523.
- Welch KM, Nagesh V, Aurora SK, Gelman N. Periaqueductal grey matter dysfunction in migraine: cause or the burden of illness? *Headache* 2001; 41: 629-637.
- Yarnitsky D, Goor-Aryeh I, Bajwa ZH, Ransil BI, Cutrer FM, Sottile A, et al. 2003 Wolff Award: Possible parasympathetic contributions to peripheral and central sensitization during migraine. *Headache* 2003; 43: 704–714.

- Yelmo-Cruz S, Morera-Fumero AL, Abreu-González P. S100B and schizophrenia. *Psychiatry Clin Neurosci* 2013; 67: 67-75.
- Yilmaz N, Karsali K, Ordem S, Turkay M, Unal A, Dora B. Elevated S100B and neuron specific enolase levels in patients with migraine-without aura: evidence for neurodegeneration? *Cell Mol Neurobiol* 2011; 31:579–585.
- Zagami AS, Edvinsson L, Goadsby PJ. Pituitary adenylate cyclase activating polypeptide and migraine. *Ann Clin Transl Neurol* 2014; 1: 1036–1040.
- Zagami AS, Goadsby PJ, Edvinsson L. Stimulation of the superior sagittal sinus in the cat causes release of vasoactive peptides. *Neuropeptides* 1990; 16: 69–75.
- Zhang Y, Malmberg AB, Yaksh TL, Sjolund B, Sundler F, Hakanson R. Capsaicin-evoked release of pituitary adenylate cyclase activating peptide (PACAP) and calcitonin gene-related peptide (CGRP) from rat spinal cord in vivo. *Regul Pept* 1997; 69: 83–87.

VIII. ANEXOS

1. PUBLICACIONES

Prevalence of cranial autonomic parasympathetic symptoms in chronic migraine: Usefulness of a new scale

Cephalalgia
0(0) 1–5
© International Headache Society 2015
Reprints and permissions:
sagepub.co.uk/journalsPermissions.nav
DOI: 10.1177/0333102415593087
cep.sagepub.com


Nuria Riesco, Angel I Pérez-Alvarez, Laura Verano, Carmen García-Cabo, Juana Martínez-Ramos, Pablo Sánchez-Lozano, Eva Cernuda-Morollón and Julio Pascual

Abstract

Background: Cranial autonomic symptoms (CAS) seem to appear in around half of migraine patients.

Objective: Our aim was to analyse the prevalence and profile of CAS, mainly of cranial autonomic parasympathetic symptoms (CAPS), in a series of patients with chronic migraine (CM) according the new criteria for autonomic symptoms in the current IHS classification.

Patients and methods: We recruited consecutive CM patients attending our headache clinic. Five CPAS were surveyed: lacrimation, conjunctival injection, eyelid oedema, ear fullness and nasal congestion. They were graded as 0 (absent), 1 (present and mild) and 2 (present and conspicuous); therefore the score in this CAPS scale ranges from 0 to 10 points. As a cranial autonomic sympathetic symptom (CSAS), we also asked about the presence of ptosis.

Results: We interviewed 100 CM patients. Their mean age was 45 years (18–63 years); 93 were females. Eighteen had no CAPS, while 82 reported at least one CAPS. There were only six patients with scores higher than 5, the mean and median CAPS being 2.1 and 2, respectively. Prevalence of CAPS was lacrimation (49%), conjunctival injection (44%), eyelid oedema (39%), ear fullness (30%) and nasal congestion (20%). Ptosis was reported by 42.

Conclusion: These results, by using for the first time an easy quantitative scale, confirm that (mild) CAPS are not the exception but the rule in CM patients. The score in this CAPS scale could be of help as a further endpoint in clinical trials or to be correlated with potential biomarkers of parasympathetic activation in primary headaches.

Keywords

Chronic migraine, cranial autonomic symptoms, migraine

Date received: 6 January 2015; revised: 7 March 2015; 26 April 2015; accepted: 9 May 2015

Introduction

Migraine is a common, chronic and disabling disorder. Moderate-severe headache aggravated by exercise, noise and light and, in up to one-third of patients, aura are the most important symptoms required for its diagnosis. Most migraine patients, however, experience other clinical manifestations, for instance premonitory and resolatory symptoms (1,2). Involvement of the autonomic nervous system in migraine is very likely given the ‘general’ (nausea, vomiting, diarrhoea or polyuria) or ‘cranial’ (conjunctival injection, lacrimation, nasal congestion, ptosis, etc.) symptoms associated with migraine attacks (3). Migraine pathophysiology is complex, but either changes in the modulating nociceptive inputs from the locus ceruleus and raphe brainstem

nuclei (4) or a cortical spreading depression phenomenon (5) are thought to activate the trigemino-vascular system (TVS), which consists of a brainstem connection between trigeminal afferents and parasympathetic efferents of the facial nerve that synapse in the sphenopalatine ganglion (6). Activation of this reflex releases pain-producing, vasoactive neuropeptides, mainly calcitonin

Neuroscience Area, Service of Neurology, University Hospital Central de Asturias and INEUROPA, Spain

Corresponding author:

Julio Pascual, Neuroscience Area, Service of Neurology, University Hospital Central de Asturias, La Cadellada, 39011 Oviedo, Spain.
Email: juliopascual@telefonica.net

gene-related peptide (CGRP) in the case of the afferent trigeminal arm and vasoactive intestinal peptide (VIP) and pituitary adenylate cyclase activating polypeptide (PACAP) via the parasympathetic efferences around leptomeningeal and extracranial vessels (7,8). Unquestionably, the trigeminal nerve, with its transmitter CGRP, is crucial (7,9), but activation of the cranial autonomic system could also play a notable role in migraine pathophysiology (10).

Cranial autonomic symptoms (CAS) have been shown to appear in up to three-quarters of migraine patients (11–17). This correlation is not limited to adults, but also includes two out of three adolescents or children with migraine as noticed in a recent study (18). Studies analysing CAS in migraine have several limitations: 1) the analysed symptoms were different among the studies; 2) they do not separate parasympathetic symptoms (CAPS), thought to be due to a true activation of the TVS, from symptoms, such as miosis and ptosis, which are the result of secondary sympathetic hypofunction; and 3) contrary to pain, none of these studies have tried to numerically quantify CAS, and in particular CAPS.

Our aim was to analyse the prevalence and profile of CAS, and mainly of CAPS, in a series of patients with chronic migraine (CM) according to the criteria for autonomic symptoms appearing in the new International Headache Society (IHS) classification and by using an ad hoc numerical scale.

Patients and methods

Consecutive adult patients attending our headache clinic at the University Hospital Central de Asturias who had been diagnosed by us as having CM according to current IHS criteria (19) were included in this study. Patients were interviewed by a neurologist and explicitly asked whether they experience each of the following five CAPS, based on the criteria of the new International Classification for Headache Disorders, third edition beta (ICHD-III β), with their headaches: 1) lacrimation, 2) conjunctival injection, 3) eyelid oedema, 4) sensation of fullness in the ear and 5) nasal congestion and/or rhinorrhoea. We graded each CAPS as 0 (absent), 1 (present but mild) and 2 (present and conspicuous) (Figure 1). Therefore, the score in this CPAS scale ranges from 0 to 10 points. In addition, as a cranial sympathetic autonomic symptom (CASS), we also asked about the presence of ptosis with their headaches. This study was approved by our ethics committee.

Results

We interviewed 100 consecutive CM patients. Of this sample, the majority (93) were females, their mean age

Symptom	Present mild	Present conspicuous
Lacrimation	1	2
Conjunctival injection	1	2
Eyelid edema	1	2
Ear fullness	1	2
Nasal congestion	1	2
TOTAL		

Figure 1. Cranial autonomic parasympathetic symptom (CAPS) scale.

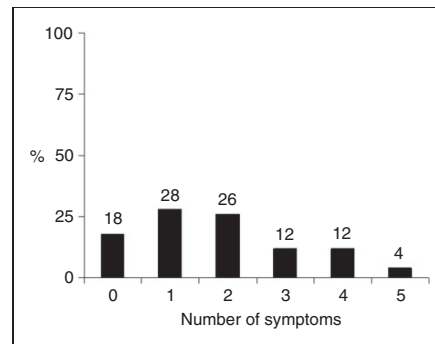


Figure 2. Chronic migraine (CM) patients (in percentage) and number of symptoms on the cranial autonomic parasympathetic symptom (CAPS) scale.

was 45 years (range 18–63 years) and the average duration of illness was 9.5 years (range 18–63 years). Eighteen CM patients had no CAPS, while 82 reported at least one CAPS (Figure 2). There were only six patients with scores higher than 5, the mean and median of CAPS being 2.1 and 2, respectively (Figure 3). Fifty-two patients graded at least one CAPS as 2 (Figure 3). Prevalence of individual CAPS was: lacrimation (49%), conjunctival injection (44%), eyelid oedema (39%), sensation of ear fullness (30%), nasal congestion and/or rhinorrhoea (20) (Table 1). Ptosis, as the CASS analysed, was reported by 42% of the CM patients in this series.

Discussion

This work confirms the high prevalence of CAS, and in particular of CAPS, in migraine patients, in this case specifically in patients suffering from CM. Eighty-two per cent of our CM patients noticed at least one CAPS.

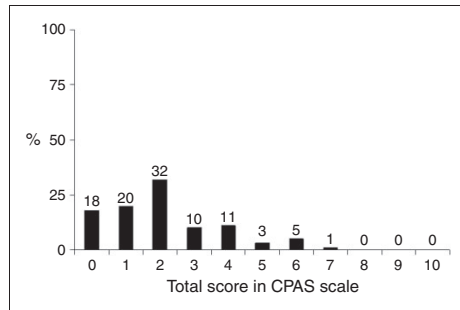


Figure 3. Percentage of chronic migraine (CM) patients with each score on the cranial autonomic parasympathetic symptom (CAPS) scale.

Table 1. Prevalence of CAS in our CM patients.

Symptom	Absent	Present	Mild	Conspicuous
Cranial parasympathetic symptoms (CAPS)				
Lacrimation	51	49	41	8
Conjunctival injection	56	44	36	8
Eyelid oedema	61	39	37	2
Ear fullness	70	30	22	8
Nasal congestion	80	20	17	3
Cranial sympathetic symptoms (CASS)				
Ptosis	58	42	38	4

CAS: cranial autonomic symptoms; CM: chronic migraine.

This percentage is even higher than the range, between 27% and 73%, reported in other studies which have analysed the prevalence of CAS in migraine patients (11–18). The higher rate of CAS found here can be explained by several reasons. First, patients were personally interviewed by one of us. Second, we examined patients with CM, that is, the most severe clinical form of migraine. Finally, in previous studies patients were asked about fewer symptoms, mainly as CAPS have been expanded in the new ICHD-III β (19). In spite of their high prevalence, the grade of CAPS fell in the low range of our ad hoc scale. In fact, as an average, they scored 2 out of 10 and there were only six patients with scores higher than 5.

To our knowledge, this is the first attempt of designing a scale to try to evaluate and quantify CAPS in primary headaches. Among the nine potential autonomic symptoms/signs (conjunctival injection, lacrimation, nasal congestion and/or rhinorrhoea, eyelid oedema, forehead and facial sweating, forehead and facial flushing, sensation of fullness in the ear, miosis and ptosis) appearing in the current IHS Classification (19), we selected five to evaluate CAPS for several

reasons. On the one hand, to try to prepare a scale ranging from 0 to 10, and therefore be as practical as possible, we graded the symptoms as just present or conspicuous. On the other hand, we decided not to include in the scale forehead and facial sweating and forehead and facial flushing, not only to keep just five symptoms within the scale, but as, at least in part, these symptoms also depend on the autonomic sympathetic system and also on the release of CGRP via the trigeminal nerve (20). Finally, though it was also evaluated, palpebral ptosis was not included in the scale, as it is considered a sign of sympathetic hypofunction; we decided not to ask about the presence of miosis for the same reason, but also as this is a sign which requires a high grade of shrewdness by the patients. In our opinion, this numerical scale can be useful for evaluating with several objectives the presence of CAPS in patients with primary headaches. For instance, it can be included as a secondary efficacy endpoint when evaluating both drugs or neuromodulation procedures in primary headaches or correlated with potential biomarkers of cranial parasympathetic activation, such as PACAP or VIP (21–24).

The most frequent symptoms were lacrimation and conjunctival injection, which were reported by almost half of our CM patients, while sensation of ear fullness and nasal congestion and/or rhinorrhoea were described in fewer than 30% of cases. It cannot be ruled out that the high rate of CAPS could be just an epiphenomenon secondary to migraine pain, but there is evidence indicating that the activation of the parasympathetic arm of the TVS plays a role in the pathophysiology of pain in primary headaches and specifically in migraine. Intranasal application of lidocaine, which may block the sphenopalatine ganglion, aborted migraine within 15 minutes in 36% of patients in a studied population (25). Yarnitsky et al. showed that patients with CPAS were more likely to experience pain relief by lidocaine than patients without CPAS, with a pain reduction of 53% and 15%, respectively (26). Based on the same rationale (27), high-frequency sphenopalatine stimulation, which seems to decrease parasympathetic output, is currently being evaluated in a randomized, controlled trial for the treatment of migraine pain, after some preliminary positive open results (28). In addition, levels of VIP are elevated in cranial venous blood during attacks in patients with CAPS and VIP and PACAP levels have been shown to be elevated ictally and interictally in CM patients in plasma (21–24). Both peptides, and especially PACAP, are able to induce head pain when administered in humans (29–32).

This work has several limitations. As occurs with the numeric ‘Glaxo’ 0 to 3 scale generally used in migraine clinical trials or with the visual analogue scale (VAS), our proposed CAPS scale contains an unquestionable

subjective component. Our results have been obtained in a series of CM patients attending a specialised clinic and, therefore, are not necessarily applicable to migraine patients in general. One further possible confounding factor could be the influence of both symptomatic and/or preventive treatments on CPAS, which most of our CM patients were taking and that were not stopped for ethical reasons. These treatments should, in

any case, reduce the rate of CAPS and given the high prevalence of CAPS found here, we do not think that treatments have had an outstanding influence on current results. Taking into account these limitations, our results confirm that (mild) CPAS are not the exception but the rule in CM patients, which suggests a role of the parasympathetic arm of the TVS both in migraine pain production and chronification.

Clinical implications

- This is the first attempt of designing a scale to try to evaluate and quantify (from 0 to 10) cranial autonomic parasympathetic symptoms (CAPS) in primary headaches.
- CAPS appear in around 80% of chronic migraine (CM) patients during attacks.
- In spite of their high prevalence, the grade of CAPS in CM fell in the low range of our ad hoc scale.
- The most frequent symptoms were lacrimation and conjunctival injection, which were reported by almost half of our CM patients.

Funding

This work was supported by the PI11/00889 and PI14/00020 FISSS grants (Plan Nacional I+D+I, Fondos Feder, ISCIII, Ministry of Economy, Spain).

Conflict of interest

J.P. reports consultancy from Allergan. The other authors have nothing to declare.

Acknowledgements

Authors responsible: for conception and design (J.P., E.C.), acquisition of clinical data (N.R., A.I.P., L.V., C.G., J.M., P.S. J.P.) analysis and interpretation of data (E.C., J.P.), drafting of the manuscript (J.P.), obtaining funding (J.P., E.C.) and supervision (J.P.).

References

1. Giffin NJ, Ruggiero L, Lipton RB, et al. Premonitory symptoms in migraine: An electronic diary study. *Neurology* 2003; 60: 935–940.
2. Quintela E, Castillo J, Muñoz P, et al. Premonitory and resolution symptoms in migraine: A prospective study in 100 unselected patients. *Cephalalgia* 2006; 26: 1051–1060.
3. Goadsby PJ, Lipton RB and Ferrari MD. Migraine: Current understanding and treatment. *N Engl J Med* 2002; 346: 257–270.
4. Akerman S, Holland PR and Goadsby PJ. Diencephalic and brainstem mechanisms in migraine. *Nat Rev Neurosci* 2011; 12: 570–584.
5. Zhang X, Levy D, Nosedá R, et al. Activation of meningeal nociceptors by cortical spreading depression: Implications for migraine with aura. *J Neurosci* 2010; 30: 8807–8814.
6. May A and Goadsby PJ. The trigeminovascular system in humans: Pathophysiologic implications for primary headache syndromes of the neural influences on the cerebral circulation. *J Cereb Blood Flow Metabol* 1999; 19: 115–127.
7. Goadsby PJ and Edvinsson L. The trigeminovascular system and migraine: Studies characterizing cerebrovascular and neuropeptide changes seen in humans and cats. *Ann Neurol* 1993; 33: 48–56.
8. Edvinsson L and Uddman R. Neurobiology in primary headaches. *Brain Res Rev* 2005; 48: 438–456.
9. Cernuda-Morollón E, Larrosa D, Ramón C, et al. Interictal increase of CGRP levels in peripheral blood as a biomarker for chronic migraine. *Neurology* 2013; 81: 1191–1196.
10. Goadsby PJ. Lacrimation, conjunctival injection, nasal symptoms...cluster headache, migraine and cranial autonomic symptoms in primary headache disorders: What's new? *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2009; 80: 1057–1058.
11. Barbanti P, Fabbri G, Pesare M, et al. Unilateral cranial autonomic symptoms in migraine. *Cephalalgia* 2002; 22: 256–259.
12. Avnon Y, Nitzan M, Sprecher E, et al. Different patterns of parasympathetic activation in uni- and bilateral migraineurs. *Brain* 2002; 126: 1660–1670.
13. Avnon Y, Nitzan M, Sprecher E, et al. Autonomic asymmetry in migraine: Augmented parasympathetic activation in left unilateral migraineurs. *Brain* 2004; 127: 2099–2108.
14. Gupta R and Bhatia MS. A report of cranial autonomic symptoms in migraineurs. *Cephalalgia* 2007; 27: 22–28.
15. Obermann M, Yoon MS, Dommes P, et al. Prevalence of trigeminal autonomic symptoms in migraine: A population-based study. *Cephalalgia* 2007; 27: 504–509.
16. Lai TH, Fuh JL and Wang SJ. Cranial autonomic symptoms in migraine: Characteristics and comparison with cluster headache. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2009; 80: 1116–1119.
17. Guven H, Çilliler AE and Çomoğlu SS. Unilateral cranial autonomic symptoms in patients with migraine. *Acta Neurol Belg* 2013; 113: 237–242.

18. Gelfand AA, Reider AC and Goadsby PJ. Cranial autonomic symptoms in pediatric migraine are the rule, not the exception. *Neurology* 2013; 81: 431–436.
19. Headache Classification Committee of the International Headache Society (IHS). The International Classification of Headache Disorders, 3rd edition (beta version). *Cephalalgia* 2013; 33: 629–808.
20. Goadsby PG. Autonomic nervous system control of the cerebral circulation. *Handb Clin Neurol* 2013; 117: 193–201.
21. Tuka B, Helyes Z, Markovics A, et al. Alterations in PACAP-38-like immunoreactivity in the plasma during ictal and interictal periods of migraine patients. *Cephalalgia* 2013; 33: 1085–1095.
22. Goadsby PJ, Edvinsson L and Ekman R. Vasoactive peptide release in the extracerebral circulation of humans during migraine headache. *Ann Neurol* 1990; 28: 183–187.
23. Cernuda-Morollón E, Martínez-Camblor P, Alvarez R, et al. Increased VIP levels in peripheral blood outside migraine attacks as a potential biomarker of cranial parasympathetic activation in chronic migraine. *Cephalalgia* 2015; 35: 310–316.
24. Cernuda-Morollón E, Martínez-Camblor P, Ramón P, et al. CGRP and VIP levels as predictors of efficacy of onabotulinumtoxin type A in chronic migraine. *Headache* 2014; 54: 987–995.
25. Maizels M and Geiger AM. Intranasal lidocaine for migraine: A randomized trial and open-label follow-up. *Headache* 1999; 39: 543–551.
26. Yarnitsky D, Goor-Aryeh I, Bajwa ZH, et al. 2003 Wolff Award: Possible parasympathetic contributions to peripheral and central sensitization during migraine. *Headache* 2003; 43: 704–714.
27. Khan S, Schoenen J and Ashina M. Sphenopalatine ganglion neuromodulation in migraine: What is the rationale? *Cephalalgia* 2014; 34: 382–391.
28. Tepper SJ, Rezai A, Narouze A, et al. Acute treatment of intractable migraine with sphenopalatine ganglion electrical stimulation. *Headache* 2009; 49: 983–989.
29. Hansen JM, Sitarz J, Birk S, et al. Vasoactive intestinal polypeptide evokes only a minimal headache in healthy volunteers. *Cephalalgia* 2006; 26: 992–1003.
30. Rahmann A, Wienecke T, Hansen JM, et al. Vasoactive intestinal peptide causes marked cephalic vasodilation, but does not induce migraine. *Cephalalgia* 2008; 28: 226–236.
31. Schytz HW, Birk S, Wienecke T, et al. PAXAP38 induces migraine-like attacks in patients with migraine without aura. *Brain* 2009; 132: 16–25.
32. Edvinsson L. Role of VIP/PACAP in primary headaches. *Cephalalgia* 2013; 33: 1070–1072.

Relationship between serum levels of VIP, but not of CGRP, and cranial autonomic parasympathetic symptoms: A study in chronic migraine patients

N Riesco¹, E Cernuda-Morollón¹, P Martínez-Cambor^{2,3},
AI Pérez-Alvarez¹, L Verano¹, C García-Cabo¹,
E Serrano-Pertierra¹ and J Pascual^{1,4}

Cephalalgia
0(0) 1–5
© International Headache Society 2016
Reprints and permissions:
sagepub.co.uk/journalsPermissions.nav
DOI: 10.1177/0333102416653232
cep.sagepub.com


Abstract

Background: Cranial autonomic parasympathetic symptoms (CAPS) appear in at least half of migraine patients theoretically as a result of the release of peptides by the trigemino-vascular system (TVS). Cranial pain pathways become sensitised by repeated episodes of TVS activation, leading to migraine chronification.

Objective: The objective of this article is to correlate the presence of CAPS with serum levels of vasoactive intestinal peptides (VIP) and calcitonin gene-related peptide (CGRP).

Patients and methods: Patients with chronic migraine (CM) were asked about the presence – during migraine attacks – of five CAPS, which were scored from 0 to 10 by using a quantitative scale. Serum VIP and CGRP levels were determined by ELISA.

Results: We interviewed 87 CM patients (82 females; mean age 44.7 ± 10.6 years). Seventeen had no CAPS, while 70 reported at least one CAPS. VIP levels ranged from 20.8 to 668.2 pg/ml (mean 154.5 ± 123.2). There was a significant positive correlation between scores in the CAPS scale and VIP levels (Spearman correlation coefficient = 0.227; $p = 0.035$). VIP levels were significantly higher in CM patients by at least one point in the scale vs those with 0 points ($p = 0.002$). Analysing symptoms individually, VIP levels were numerically higher in those patients with symptoms, though they were significantly higher only in those patients with lacrimation vs those without it ($p = 0.013$). There was no significant correlation between CGRP levels and the score in the CAPS scale.

Conclusions: Serum VIP, but not CGRP, levels seem to reflect the rate of activation of the parasympathetic arm of the TVS in migraine.

Keywords

Chronic migraine, cranial autonomic parasympathetic symptoms, CGRP, VIP

Date received: 21 September 2015; revised: 10 April 2016; accepted: 14 April 2016

Introduction

Migraine pain is the result of the activation of the trigemino-vascular system (TVS), which releases vasoactive neuropeptides, mainly calcitonin gene-related peptide (CGRP) and vasoactive intestinal peptide (VIP) around leptomeningeal and extracranial vessels (1). It is hypothesised that cranial pain pathways become sensitised by repeated episodes of TVS activation, leading to migraine chronification (2,3). CGRP has an important role in migraine. CGRP is the only neurotransmitter reliably released, by the afferent arm

¹Neuroscience Area, Service of Neurology, University Hospital Central de Asturias and INEUROPA, Oviedo, Asturias, Spain

²Biostatistic Unit, University Hospital Central de Asturias Oviedo, Asturias, Spain

³Universidad Autónoma de Chile, Santiago de Chile, Chile

⁴University Hospital Marqués de Valdecilla and IDIVAL, Santander, Spain

Corresponding author:

J Pascual, University Hospital Marqués de Valdecilla, 39008 Santander, Spain.

Email: juliopascual@telefonica.net

of the TVS, in acute migraine attacks at present (4,5), and intravenous (iv) CGRP causes headaches in patients with migraine (6). Continuous release of CGRP is able to induce central sensitisation of pain pathways (7–9), and plasma CGRP levels have been shown to be increased in patients with chronic migraine (CM) (10). In addition, CGRP antagonists are effective in the acute (11) and preventive (12) treatment of migraine.

Unquestionably, the trigeminal nerve, with its main transmitter CGRP, is crucial, but activation of the cranial autonomic parasympathetic efferent arm of the TVS seems to play a role in migraine pathophysiology (13,14). Cranial parasympathetic autonomic symptoms (CAPS) appear in more than half of migraine patients (15–22). Using a quantitative scale we were able to show that CAPS are not the exception but the rule in CM patients (23). This concurs with the reported increase in plasma levels of the parasympathetic marker VIP in CM patients (24), though this elevation was less consistent than that seen for CGRP (10).

The aim of our work was to correlate the presence and grade cranial parasympathetic activation as measured by a numeric CAPS scale with blood levels of CGRP and VIP in a series of CM patients.

Patients and methods

Consecutive adult patients attending our headache clinic diagnosed as having CM according to current criteria (25) were included in this study. CAPS were evaluated by using an ad hoc scale (23). As in previous work (23), patients were interviewed by a neurologist and explicitly asked whether they experienced each of the following five CAPS with their headaches: lacrimation, conjunctival injection, eyelid oedema, sensation of ear fullness and nasal congestion and/or rhinorrhoea. We graded each CAPS as 0 (absent), 1 (present but mild) and 2 (present and conspicuous). Therefore, the score in this CAPS scale ranges from 0 to 10 points. Clinicians interviewing CM patients and biologists performing laboratory determinations were blinded to VIP levels and CAPS scores, respectively.

Patients rested in supine position and blood samples were obtained from the right cubital vein between 9:30 a.m. and noon in a fasting condition. The blood was collected and allowed to clot and serum was separated after centrifugation at 2000 g. Aliquots were stored at -80°C until assayed. All samples were obtained in the absence of acute moderate-severe pain and the participants had taken no symptomatic medication in the previous 24 hours. Serum levels of CGRP and VIP were determined using commercial enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) kits (USCN Life Science Inc., Hubei, China) strictly following the

manufacturer's instructions. Absorption levels were measured with a spectrophotometer from Bio-Rad (Hercules, CA, USA). The detection limit of the assay was <4.3 pg/ml for CGRP and <2.34 pg/ml for VIP. The protocol was approved by our ethics committee and all patients signed an informed consent.

Mean \pm standard deviation, median and range were used to describe continuous variables while absolute and relative frequencies were used to describe the categorical ones. Kolmogorov-Smirnov goodness of fit test was used in order to check the normal distribution. Standard robust Student-Welch (SW) or non-parametric Mann-Whitney (MW) tests, depending on the normal distribution, were applied to compare the values of the variables among groups. Spearman correlation coefficient was used to measure the linear relationship between CAPS scale and VIP and CGRP levels; 95% confidence intervals (CIs) were also provided. Naïve Bootstrap method was employed in order to make inferences on the Spearman correlation coefficient, both CIs and hypothesis testing. *P* values below 0.05 were considered significant. All analyses were performed with the free available software R.3.1 (www.r-project.org)

Results

A total of 87 CM patients were included in the study. Their mean age was 44.7 ± 10.6 years (median 45, range 19–65); only five (5.7%) were males. Seventeen (19.5%) CM patients had no CAPS, while 70 (80.5%) reported at least one CAPS. Both the mean and median of CAPS were two (Figure 1).

VIP levels ranged from 20.8 to 668.2 pg/ml (mean 154.5 ± 123.2 , median 109.8) and were higher in patients with one or more points in the scale than in

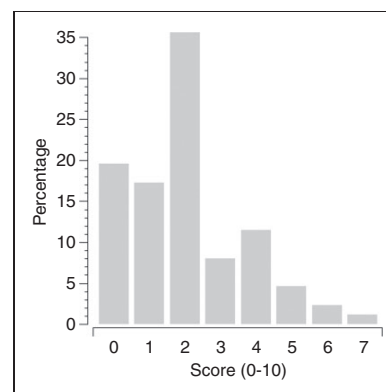
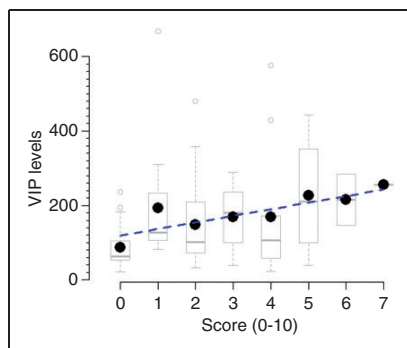


Figure 1. Frequencies histogram for the score distribution.

Table 1. VIP and CGRP levels in CM patients with and without CAPS.

	VIP levels			CGRP levels		
	No	Yes	<i>p</i> value	No	Yes	<i>p</i> value
Conjunctival injection	137.1 ± 112.8	176.8 ± 133.7	0.146	62.9 ± 31.6	70.3 ± 29.6	0.270
Lacrimation	125.7 ± 108.3	185.4 ± 131.8	0.024	62.5 ± 30.7	70.1 ± 30.8	0.252
Eyelid oedema	135.2 ± 94.9	187.6 ± 146.9	0.093	63.2 ± 31.6	71.3 ± 29.2	0.230
Nasal congestion	158.4 ± 126.8	138.5 ± 108.9	0.521	65.2 ± 32.9	69.9 ± 20.5	0.455
Ear fullness	150.0 ± 130.6	164.9 ± 105.5	0.579	65.7 ± 31.1	67.1 ± 30.8	0.855
CAPS	87.7 ± 66.8	170.7 ± 129.1	<0.001	60.8 ± 34.9	67.4 ± 29.9	0.479

VIP: vasoactive intestinal peptides; CGRP: calcitonin gene-related peptide; CM: chronic migraine; CAPS: cranial autonomic parasympathetic symptoms.

**Figure 2.** Box-plot for vasoactive intestinal peptide (VIP) levels by score punctuation. Dots represent mean values and the dashed line stands for the regression trend.

patients with zero points (MW $p=0.002$). Analysing individual symptoms, VIP levels were only significantly higher in those patients with lacrimation vs those without it (Table 1). In addition, a significant positive correlation of small magnitude between scores in the CAPS scale and VIP levels was found (Spearman correlation coefficient = 0.227 (0.021–0.452) ($p=0.034$) (Figure 2).

CGRP levels ranged from 11.4 to 157.7 (mean 66.1 ± 30.8 ; median 61.4). There was a non-significant correlation between CGRP levels and the general score in the CAPS scale (Spearman correlation coefficient = 0.097 (–0.121; 0.302) ($p=0.370$)). CGRP levels were also similar in those patients with or without positive punctuation in CAPS and no relationship with the individual CAPS symptoms was found (Table 1).

Discussion

The main finding of this study was that serum VIP, but not CGRP, levels correlate with the presence of CAPS symptoms as measured by a quantitative scale. VIP

levels in patients with one or more points in the scale were higher than the levels in patients with zero points. As already shown for cluster headache (26), serum VIP levels, therefore, seem to reflect the rate of activation of the cranial parasympathetic system in migraine. According to our data the increased activity of the cranial parasympathetic system in CM does not seem to be just a passive phenomenon secondary to the release of CGRP due to trigeminal activation.

In theory, together with CGRP, peripheral VIP levels could contribute to objectively monitor migraine status and response to preventive treatments (27,28), which could be of specific help for a more objective follow-up of patients included in clinical trials, especially in those involving the cranial parasympathetic system, such as the stimulation of the sphenopalatine ganglion (29). As an example of this, both CGRP and VIP blood levels have been shown to be significantly higher in CM patients responding to onabotulinumtoxinA as compared to nonresponders (27). CGRP levels were sensitive, very specific and had a high potency to predict response to onabotulinumtoxinA, but about half of CM patients with good response can have CGRP levels in the range of controls. These results could suggest that, together with CGRP, there are probably other molecules involved in the pathophysiology of CM, such as VIP, pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide (PACAP) or peptide histidine methionine (PHM), which are stored and released by the parasympathetic arm of the TVS (7,13).

There are several arguments supporting an involvement of the cranial parasympathetic system in CM pathophysiology, at least in some patients. Leaving the high prevalence of CAPS in migraine and specifically in CM patients aside (23), VIP levels are increased in CM outside of migraine attacks (24), which could be interpreted as a distant sign of a rather permanent activation of the parasympathetic arm of the TVS contributing to sensitisation of perivascular leptomeningeal sensory afferents and, as a result of this, to chronification of migraine pain. Facts such as the increased VIP

levels in a high proportion of CM with excellent response to onabotulinumtoxinA (27) and normal CGRP levels or the response of some CM patients to sphenopalatine ganglion stimulation (29) further support a role for the cranial parasympathetic system in the pathophysiology of CM. This would also explain in part why some migraine patients do not seem to respond to gepants (12), the pure CGRP antagonists, or even to the new monoclonal CGRP antibodies (30,31), according to the first reported data.

This study has several limitations. First, data shown here include a limited number and selected clinical population of CM patients. Second, the true specificity of VIP (and CGRP) increase in CM is not known. One of our potential confounders could be the fact that, due to ethical reasons, most CM patients tested here were on oral preventives. However, this could make our results even more relevant as these drugs

should theoretically reduce the TVS activation and as a consequence would decrease neuropeptide release. Third, we have not measured the levels of other parasympathetic peptides, especially PACAP, which seem to play a crucial role in migraine and CM pathophysiology (32,33). Finally, we are aware that, as occurs with the numeric 0–3 pain scale, our CAPS scale contains an unquestionable subjective component. To try to avoid potential bias, both clinicians interviewing CM patients and biologists performing the VIP ELISA assays were blind to laboratory determinations and CAPS scores, respectively. Considering all these limitations, our results confirm that some rate of non-passive activation of the cranial parasympathetic arm of the TVS occurs in CM patients, as shown by our concurring clinical and laboratory data. This activation can be quantified, which could be of interest for a more objective follow-up of our CM patients.

Article highlights

- Low-grade cranial autonomic parasympathetic symptoms (CAPS) appear in around 80% of chronic migraineurs (CM) during attacks.
- Serum levels of vasoactive intestinal peptides (VIP) correlate with the presence of CAPS and seem to reflect the activation of the trigemino-vascular system (TVS).
- The absence of correlation of CAPS and calcitonin gene-related peptide (CGRP) plasma levels suggests that the increased activity of cranial parasympathetic system in CM may be not just a passive phenomenon secondary to the release of CGRP due to trigeminal activation.

Acknowledgements

Authors were responsible for conception and design (JP, ECM), acquisition of clinical data (NR, AIP, LV, CG, JM, JP), analysis and interpretation of data (ECM, NR, PMC, ESP, JP), drafting of the manuscript (JP), obtaining funding (JP, ECM) and supervision (JP).

Declaration of conflicting interests

The authors declared the following potential conflicts of interest with respect to the research, authorship, and/or publication of this article: JP reports consultancy for Allergan. The rest of authors report no disclosures.

Funding

The authors disclosed receipt of the following financial support for the research, authorship, and/or publication of this article: this study was supported by the PI14/0020 FISS grants (Plan Nacional I+D+I, Fondos Feder, ISCIII, Ministry of Economy, Spain).

References

1. Ho TW, Edvinsson L and Goadsby PJ. CGRP and its receptors provide new insights into migraine pathophysiology. *Nat Rev Neurol* 2010; 10: 573–582.
2. Goadsby PJ, Lipton RB and Ferrari MD. Migraine: Current understanding and treatment. *N Engl J Med* 2002; 346: 257–270.
3. Akerman S, Holland PR and Goadsby PJ. Diencephalic and brainstem mechanisms in migraine. *Nat Rev Neurosci* 2011; 12: 570–584.
4. Goadsby PJ, Edvinsson L and Ekman R. Vasoactive peptide release in extracerebral circulation of humans during migraine headache. *Ann Neurol* 1990; 28: 183–187.
5. Rodríguez-Osorio X, Sobrino T, Brea D, et al. Endothelial progenitor cells. A new key for endothelial dysfunction in migraine. *Neurology* 2012; 79: 474–479.
6. Lassen LH, Haderslev PA, Jacobsen VB, et al. CGRP may play a causative role in migraine. *Cephalgia* 2002; 22: 54–61.
7. Edvinsson L and Uddman R. Neurobiology in primary headaches. *Brain Res Brain Rev* 2005; 48: 438–456.
8. Strassman AM, Raymond SA and Burnstein R. Sensitization of meningeal sensory neurons and the origin of headaches. *Nature* 1996; 384: 560–564.
9. Seybold VS. The role of peptides in central sensitization. *Handb Exp Pharmacol* 2009; 451–491.
10. Cernuda-Morollón E, Larrosa D, Ramón C, et al. Interictal increase of CGRP levels in peripheral blood as a biomarker for chronic migraine. *Neurology* 2013; 81: 1191–1196.

11. Olesen J, Diener HC, Husstedt IW, et al. Calcitonin gene-related peptide receptor antagonist BIBN 4096 BS for the acute treatment of migraine. *N Engl J Med* 2004; 350: 1104–1110.
12. Ho TW, Connor KM, Zhang Y, et al. Randomized controlled trial of the CGRP receptor antagonist telcagepant for migraine prevention. *Neurology* 2014; 83: 958–966.
13. Goadsby PG. Autonomic nervous system control of the cerebral circulation. *Handb Clin Neurol* 2013; 117: 193–201.
14. Goadsby PJ. Lacrimation, conjunctival injection, nasal symptoms...cluster headache, migraine and cranial autonomic symptoms in primary headache disorders: What's new? *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2009; 80: 1057–1058.
15. Barbanti P, Fabbrini G, Pesare M, et al. Unilateral cranial autonomic symptoms in migraine. *Cephalalgia* 2002; 22: 256–259.
16. Avnon Y, Nitzan M, Sprecher E, et al. Different patterns of parasympathetic activation in uni- and bilateral migraineurs. *Brain* 2002; 126: 1660–1670.
17. Avnon Y, Nitzan M, Sprecher E, et al. Autonomic asymmetry in migraine: Augmented parasympathetic activation in left unilateral migraineurs. *Brain* 2004; 127: 2099–2108.
18. Gupta R and Bhatia MS. A report of cranial autonomic symptoms in migraineurs. *Cephalalgia* 2007; 27: 22–28.
19. Obermann M, Yoon MS, Dommes P, et al. Prevalence of trigeminal autonomic symptoms in migraine: A population-based study. *Cephalalgia* 2007; 27: 504–509.
20. Lai TH, Fuh JL and Wang SJ. Cranial autonomic symptoms in migraine: Characteristics and comparison with cluster headache. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2009; 80: 1116–1119.
21. Guven H, Çilliler AE and Çomoğlu SS. Unilateral cranial autonomic symptoms in patients with migraine. *Acta Neurol Belg* 2013; 113: 237–242.
22. Gelfand AA, Reider AC and Goadsby PJ. Cranial autonomic symptoms in pediatric migraine are the rule, not the exception. *Neurology* 2013; 81: 431–436.
23. Riesco N, Pérez-Alvarez AI, Verano L, et al. Prevalence of autonomic parasympathetic symptoms in chronic migraine: Usefulness of a new scale. *Cephalalgia* 2016; 36: 346–350.
24. Cernuda-Morollón E, Martínez-Cambor P, Alvarez R, et al. Increased VIP levels in peripheral blood outside migraine attacks as a potential biomarker of cranial parasympathetic activation in chronic migraine. *Cephalalgia* 2015; 35: 310–316.
25. Headache Classification Committee of the International Headache Society (IHS). The International Classification of Headache Disorders, 3rd edition (beta version). *Cephalalgia* 2013; 33: 629–808.
26. Goadsby PJ and Edvinsson L. Human in vivo evidence for trigeminovascular activation in cluster headache. Neuropeptide changes and effects of acute attack therapies. *Brain* 1994; 117: 427–434.
27. Cernuda-Morollón E, Martínez-Cambor P, Ramón P, et al. CGRP and VIP levels as predictors of efficacy of onabotulinumtoxin type A in chronic migraine. *Headache* 2014; 54: 987–995.
28. Cernuda-Morollón E, Ramón C, Martínez-Cambor P, et al. OnabotulinumtoxinA decreases interictal CGRP plasma levels in patients with chronic migraine. *Pain* 2015; 156: 820–824.
29. Khan S, Schoenen J and Ashina M. Sphenopalatine ganglion neuromodulation in migraine: What is the rationale? *Cephalalgia* 2014; 34: 382–391.
30. Dodick DW, Goadsby PJ, Silberstein SD, et al. Safety and efficacy of ALD403, an antibody to calcitonin gene-related peptide, for the prevention of frequent episodic migraine: A randomized, double-blind, placebo-controlled, exploratory phase 2 trial. *Lancet Neurol* 2014; 13: 1100–1107.
31. Dodick DW, Goadsby PJ, Spierings EL, et al. Safety and efficacy of LY2951742, a monoclonal antibody to calcitonin gene-related peptide, for the prevention of migraine: A phase 2, randomized, double-blind, placebo-controlled study. *Lancet Neurol* 2014; 13: 885–892.
32. Schytz HW, Birk S, Wienecke T, et al. PACAP38 induces migraine-like attacks in patients with migraine without aura. *Brain* 2009; 132: 16–25.
33. Amin FM, Hougaard A, Schytz HW, et al. Investigation of the pathophysiological mechanisms of migraine attacks induced by pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide-38. *Brain* 2014; 137: 779–784.

Research Submission

No Change in Interictal PACAP Levels in Peripheral Blood in Women With Chronic Migraine

Eva Cernuda-Morollón, PhD; Nuria Riesco, MD; Pablo Martínez-Camblor, PhD;
Esther Serrano-Pertierra, PhD; Carmen García-Cabo, MD; Julio Pascual, MD, PhD

Objective.—To determine total pituitary adenylate cyclase activating polypeptide (PACAP) in peripheral blood as a potential marker of the activation of the parasympathetic arm of the trigemino-vascular system in chronic migraine (CM) in a case-control study.

Methods.—Women older than 17 and diagnosed as CM were recruited. Healthy women with no headache history and women with episodic migraine (EM) served as control groups. Total PACAP and vasoactive intestinal peptide (VIP) levels were determined in blood samples obtained from the right antecubital vein by ELISA outside a migraine attack and having taken no symptomatic medication the day before.

Results.—We assessed serum samples from 86 women with CM, 32 healthy women, and 35 women with EM. There were no differences in PACAP levels in CM patients (109.8 ± 43.8 , 97.4 [32.5–253.1] pg/mL), controls (108.7 ± 43.0 , 98.7 [50.7–197.3] pg/mL), or EM patients (98.8 ± 34.3 , 94.2 [52.0–190.7] pg/mL). VIP levels were significantly increased ($P = .027$) in CM as compared to control healthy women (136.0 ± 111.5 pg/mL; 103.1 [20.5–534.0] pg/mL vs 88.6 ± 61.0 pg/mL; 66.0 [21.1–256.1]) and EM patients (103.0 ± 56.7 pg/mL; 103.5 [15.2–263.0] pg/mL). In the range of this study variables such as age, CM duration, the presence of aura, analgesic overuse, depression, fibromyalgia, vascular risk factors, history of triptan consumption or kind of preventative treatment did not significantly influence PACAP or VIP levels.

Conclusion.—In contrast to VIP, interictal PACAP level measured in peripheral blood does not seem to be a biomarker reflecting parasympathetic activation in CM.

Key words: chronic migraine, pituitary adenylate cyclase activating polypeptide, trigemino-vascular system, vasoactive intestinal peptide

(Headache 2016;00:00-00)

From the Neuroscience Area, Service of Neurology, University Hospital Central de Asturias, Oviedo and Ineuropa, Oviedo (E. Cernuda-Morollón, N. Riesco, E. Serrano-Pertierra, C. García-Cabo, and J. Pascual); Oficina de Investigación Biosanitaria OIB, Oviedo, Asturias, Spain, Universidad Autónoma de Chile, Santiago, Chile (P. Martínez-Camblor); University Hospital Marqués de Valdecilla and IDIVAL, Santander, Spain (J. Pascual).

Address all correspondence to J. Pascual, University Hospital Marqués de Valdecilla, Av. Valdecilla s/n, 39008 Santander, Spain, email: juliopascual@telefonica.net

Accepted for publication July 1, 2016.

Migraine pathophysiology is complex, but the phenomenon of cortical spreading depression and changes in the modulating nociceptive inputs by brainstem nuclei, such as the raphe and locus ceruleus,^{1–3} are thought to activate the trigemino-vascular system (TVS).⁴ This system consists of a brainstem connection between trigeminal afferents and parasympathetic efferents of facial nerve,

Conflict of Interest: Julio Pascual has served in the advisory board of Allergan. The remaining authors do not declare any conflict of interest.

which, when activated, releases pain-producing neuropeptides around leptomeningeal and extracranial vessels.^{4,5} Unquestionably, the trigeminal nerve, with its transmitter calcitonin gene-related peptide (CGRP), is crucial,^{6,7} but activation of the cranial autonomic system could also play a role in migraine pathophysiology.⁸ The autonomic nervous system is involved in migraine as reflected by the “general” (nausea, vomiting, diarrhea or polyuria) and “cranial” (conjunctival injection, lacrimation, nasal congestion, etc) symptoms appearing with attacks. Cranial autonomic parasympathetic symptoms have been shown to appear in up to three quarters of migraine patients.^{9–16} Vasoactive intestinal peptide (VIP) release has been classically invoked as the explanation for the appearance of cranial parasympathetic symptoms in migraine and cluster headache.^{17,18} Recent evidence, however, indicates that the release of pituitary adenylate cyclase activating polypeptide (PACAP) by the efferent arm of the TVS might also be implicated in the appearance of cranial parasympathetic symptoms and in the development of migraine headache.^{19–23}

In terms of frequency, migraine can be divided into two types: episodic (EM) (fewer than 15 headache days per month) and chronic (CM) (15 or more headache days per month). The International Headache Society (IHS) defines CM as 15 or more headache days per month for at least 3 months, with ≥ 8 days per month fulfilling migraine criteria, in the absence of medication overuse.²⁴ Although the source of pain persistence in CM is unknown, it is widely accepted that pain pathways become sensitized by repeated episodes of activation of the two arms, sensory and parasympathetic, of the TVS,^{25,26} which is reflected by the increased blood levels of CGRP and VIP even between attacks in CM.^{7,27–29} Using a quantitative scale we have shown that parasympathetic autonomic symptoms are not the exception but the rule in CM.³⁰ According to current data, it seems reasonable to speculate that blood level of PACAP could also be a biomarker of parasympathetic activation in CM.

PATIENTS AND METHODS

Study Participants.—Females older than 18 and 65 years attending our headache clinic diagnosed by us as having CM according to current ICHD-3 β criteria were included in this study.²⁴ Our clinic is the referral consultation center for refractory headaches for the one million people living in our region. Neurologists working in the eight public hospitals in our region can send headache patients to our clinic. All patients fulfilling criteria for medication overuse had been detoxified at least once for a minimum of two months at least 6 months before the study. As control groups, we recruited healthy women (medical students, residents, nurses, or physicians from our hospital) with no history of headache and taking no medication (including oral contraceptives) and females also attending our clinic and meeting IHS diagnostic criteria for EM diagnosis. Healthy subjects were, without exception, interviewed by one of the physicians in charge of the clinic. All subjects underwent a general physical and neurological examination. Without exception, migraine (chronic or episodic) had at least a normal neuroimaging study. Exclusion criteria were pregnant or breastfeeding women, excessive use of alcohol (>30 g/day >4 days/week), a history of sinusitis and serious, active psychiatric and somatic diseases, including diabetes. Depression was diagnosed when the score of the Beck Depression Inventory (BDI-II version) was ≥ 14 . The study was approved by the Ethic Review Board of our center and all the participants gave written consent. Samples were obtained between January 2013 and June 2015. A total of 212 patients were diagnosed as CM in that time period in our clinic. Patients were approached personally by one of the clinicians in charge of the clinic (N.R., C.G-C. and J.P.) in one of their visits to our center. We excluded 126 patients due to several reasons: 12 did not give their consent, in 15 cases clinical data were not complete, and in the remaining 99 cases we could not obtain samples outside a migraine attack.

Laboratory Determinations.—Patients rested in supine position and blood samples were obtained from the right antecubital vein between 9:30 a.m.

and noon in a fasting condition. The blood was collected, allowed to clot and serum was separated after centrifugation for 10 min at $2000 \times g$. Aliquots were stored at -80°C until assayed. All samples were obtained between February 2013 and June 2015 outside of a migraine attack (24 h before and after the sampling) and having taken any symptomatic medication in the previous 24 h. Due to ethical reasons, preventatives were not withdrawn.

Serum PACAP and VIP levels were determined using commercial enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) kits from BlueGene Biotech (e01p0585) and Cloud-clone Corp (CEA380Hu) respectively, strictly following manufacturer's instructions. Absorption levels were measured with a spectrophotometer from BioRad. The detection limit of the assay was <1 pg/mL for PACAP and <2.34 pg/mL for VIP.

Statistical Analysis.—PACAP and VIP levels and age (years) are described by mean \pm standard deviations and with medians and ranges. Absolute and relative frequencies were used for describing categorical variables. Due to the asymmetry of the continuous variables (PACAP and VIP), they were compared among the different groups from two-tailed nonparametric (ANOVA) Kruskal-Wallis test; two-tailed nonparametric Mann-Whitney test was used to compare each pair; in this case, the Bonferroni correction was applied. In a standard way, the two-tailed exact chi-square tests were used to compare the categorical variables by the different groups. *P* values below .05 were considered statistically significant. The free software R (www.r-project.org) was used for the statistical computes. There was no a priori statistical power calculation. The sample size was based on our previous studies determining VIP.

RESULTS

We assessed plasma samples from 86 women with CM (mean age 42.8 ± 13.4 ; median 44 range [17–63] years), 32 healthy women with no headache history (39.6 ± 13.3 years; 35 [21–61] years), and 35 women with EM (43.9 ± 13.4 years; 47 [17–66] years). By history, the average time in which patients had remained in a CM situation was

9.5 ± 8.4 years. Comorbidities and treatment of women with CM and EM enrolled in this study are illustrated in Table 1. PACAP and VIP levels were in all cases above the limit of detection.

PACAP levels in patients with CM (109.8 ± 43.8 pg/mL; 97.4 [32.5–253.1] pg/mL) were not different when compared to those of EM (98.8 ± 34.3 pg/mL; 94.3 [52.0–190.1] pg/mL) and controls (108.7 ± 43.0 pg/mL; 98.7 [50.7–197.2] pg/mL); *P* = .884. (Fig. 1).

VIP levels were significantly different among groups (*P* = .027); women with CM (136.0 ± 111.5 pg/mL; 103.1 [20.5–534.0] pg/mL) had the highest values while control women (88.6 ± 61.0 pg/mL; 66.0 [21.1–256.1]) had the lowest; VIP levels for EM were 103.0 ± 56.7 pg/mL; 103.5 [15.2–263.0] pg/mL. Comparisons for pairs reported *P* values of .027 (controls vs CM), .093 (controls vs EM), and .371 (CM vs EM) and significance disappears when Bonferroni correction is applied (Fig. 2).

In the range of this study, variables such as age, CM duration, presence of aura, analgesic overuse, depression, fibromyalgia, vascular risk factors, history of triptan consumption, hormonal status, or kind of preventative treatment did not significantly associate with PACAP or VIP levels.

COMMENTS

The main finding of this study was that, contrary to VIP, interictal serum PACAP levels are not increased (or decreased) in a large series of CM women when compared to matched controls without a headache history. Two recent reports have analyzed interictal peripheral levels of PACAP, or its fragment PACAP-38, in migraine.^{31,32} Both papers have found low levels of interictal PACAP in migraine patients. In the first paper, Tuka et al reported, using radioimmunoassay, decreased interictal PACAP-38 levels in EM patients as compared to controls. PACAP levels increased ictally, but it is important to emphasize that ictal level was not statistically different to that of controls. Recently, Xun Han et al have published that interictal PACAP levels, determined by ELISA, were significantly lower in migraine patients when compared to controls and chronic

Table 1.—Main Characteristics of Our Patients

		CM	EM	CONTROLS
Mean Age, Range		42.8 (17–63)	43.9 (17–66)	39.6 (21–61)
Aura		42 (48.8%)	16 (45.7%)	0
Comorbidities	Arterial hypertension	12 (14.0%)	3 (8.6%)	0
	Hypercholesterolemia	16 (18.6%)	4 (11.4%)	3 (9.4%)
	Depression	39 (45.3%)	8 (22.9%)	0
	Fibromyalgia	8 (9.3%)	3 (8.6%)	0
	Others: Obesity	4 (4.7%)	2 (5.7%)	2 (6.3)
	Asthma	6 (7.0)	1 (2.9%)	0
	Epilepsy	1 (1.2%)	1 (2.9%)	0
Analgesic overuse		24 (27.9%)		
Prophylactic treatment	Topiramate	47 (54.7%)	8 (22.9%)	0
	Beta-blockers	26 (30.2%)	7 (20.0%)	0
	Amitriptyline	32 (37.2%)	7 (20.0%)	0
	Serotonin reuptake inhibitors	7 (8.1)	2 (5.7%)	0
	Candesartan or lisinopril	17 (19.8%)	6 (17.1%)	0
	Zonisamide	9 (10.5%)	1 (2.9%)	0
	Valproic acid	4 (4.7%)	6 (17.1%)	0
Monotherapy (1 prophylactic treatment)		29 (33.7%)	12 (34.3%)	0
Polytherapy (≥ 2 prophylactic treatments)		51 (59.3%)	10 (28.6%)	0
Symptomatic treatment	Triptans	62 (72.1%)	22 (62.9%)	0
	NSAIDs	62 (72.1%)	21 (60.0%)	0
	Ergotics	1 (1.2%)	0	0
	Opioids	6 (7.0%)	1 (2.9)	0

*Ten overused triptans, 7 a mixture of acute medications, 6 opioids, and 1 ergotamine-containing preparations.

tension-type headache patients. Therefore, and concurring with our results, these authors could not find increased PACAP levels. Their results of low interictal PACAP levels, though interpreted by these authors as suggestive of a possible involvement

of PACAP in migraine pathogenesis, are difficult to explain.³² Suggested explanations for the lower interictal PACAP-38 concentration have included a deficit of brain energy, abnormalities of mitochondrial compartments, imbalanced Mg^{2+}

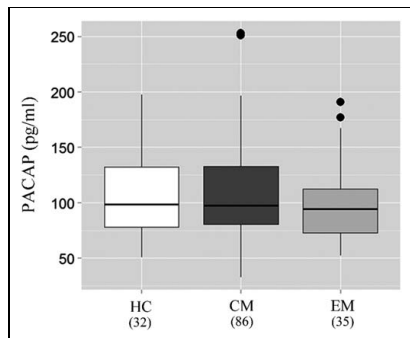


Fig. 1.—Box plot for PACAP levels in CM (86 patients) vs EM (35) patients and healthy control women (32, HC) showing no significant differences between the groups.

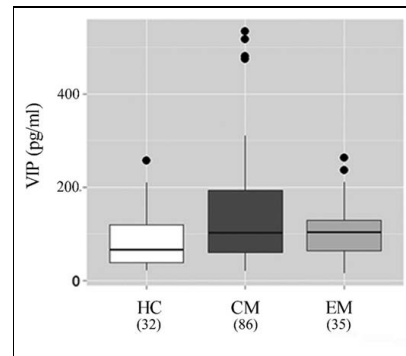


Fig. 2.—Box plot for VIP levels in CM (86 patients) vs EM (35) patients and HC (32). In contrast to PACAP levels, VIP levels were significantly increased in both CM and EM as compared to HC.

concentrations in neurons and degenerative changes affecting the PACAP-releasing circuitries.³²

Taking all these data into account, we could conclude that, in contrast to CGRP^{7,27,28} and VIP,²⁹ serum level of PACAP, as measured in cubital vein and by ELISA, does not seem to be a useful biomarker to test in this case the activity of the cranial parasympathetic arm of the TVS, at least interictally and in women with CM.

Our results are surprising considering the proposed involvement of PACAP in migraine and in CM pathophysiology. Cranial autonomic parasympathetic symptoms do appear, depending on criteria and study design, in 27% to 73% of migraine patients,⁶⁻¹⁶ and a recent study using an ICHD-III β based scale has shown that around 80% of CM patients show an average of two cranial parasympathetic autonomic symptoms.³⁰ Meningeal vessels receive dense parasympathetic innervation. Activation and sensitization of nociceptors around extracranial and intracranial vessels is a primary source of pain in migraine and parasympathetic outflow to cephalic vasculature may trigger activation and sensitization of perivascular sensory afferents and thereby migraine pain.^{6,22,33,34} The parasympathetic innervation of the cerebral circulation, releasing a number of substances, including acetylcholine, PACAP, and VIP, represents the most powerful neural vasodilator on that bed. Tracing studies have revealed that VIP-positive nerves originate in the sphenopalatine and otic ganglia, while PACAP-positive neurons are found both in the above parasympathetic ganglia, but also in the human trigeminal ganglion,³⁵ where there is no VIP immunoreactivity.³⁶ The localization of PACAP to both parasympathetic and sensory systems would suggest that, unlike VIP, the role of this peptide is dual on vasomotor function and sensory mechanisms.³⁷⁻³⁹ This could explain that PACAP infusion into migraineurs triggers migraine²¹ and indeed produces vasodilatation⁴⁰ and, occasionally, headache in nonmigraine subjects, while VIP, a more potent cranial vasodilator, does not induce such headache.⁴¹

This study has some limitations. Our results are only applicable to a pure headache limitation. In addition, due to ethical reasons, we did not stop preventatives our CM patients. This could have influenced our

results, though all CM patients included were still meeting CM criteria in spite of being on preventatives. To avoid methodological problems, we worked far from the limit of detection of PACAP and using the same techniques and samples that in parallel were tested for VIP and in our previous studies measuring CGRP levels.^{7,29,42-44} Even though our samples were processed immediately, our findings could also be due to the very short half-life of PACAP.⁴⁵ In addition, it must be taken into account that any analysis of peptides in the peripheral circulation measures in fact peptides coming from the entire body.²² In line with this, a very recent study has found elevated ictal PACAP-38 levels in the external jugular vein in 15 migraine patients as measured by radioimmunoassay.⁴⁵ Further research, therefore, is needed to clarify the actual implication of PACAP in migraine and in CM pathophysiology and its potential role as a migraine biomarker.

Acknowledgments: This study was supported by the PII4/00020 FISSS grant (Fondos Feder, ISCIII, Ministry of Economy, Spain).

STATEMENT OF AUTHORSHIP

Category 1

(a) Conception and Design

Julio Pascual

(b) Acquisition of Data

Eva Cernuda-Morollón, Nuria Riesco, Esther Serrano-Pertierra, Carmen García-Cabo, Julio Pascual

(c) Analysis and Interpretation of Data

Eva Cernuda-Morollón, Pablo Martínez-Cambor, Julio Pascual

Category 2

(a) Drafting the Article

Julio Pascual

(b) Revising It for Intellectual Content

Eva Cernuda-Morollón, Julio Pascual

Category 3

(a) Final Approval of the Completed Article

Eva Cernuda-Morollón, Nuria Riesco, Esther Serrano-Pertierra, Pablo Martínez-Cambor, Carmen García-Cabo, Julio Pascual

REFERENCES

1. Goadsby PJ, Lipton RB, Ferrari MD. Migraine: Current understanding and treatment. *N Engl J Med*. 2002;346:257–270.
2. Akerman S, Holland PR, Goadsby PJ. Diencephalic and brainstem mechanisms in migraine. *Nat Rev Neurosci*. 2011;12:570–584.
3. Zhang X, Levy D, Noseda R, et al. Activation of meningeal nociceptors by cortical spreading depression: Implications for migraine with aura. *J Neurosci*. 2010;30:8807–8814.
4. May A, Goadsby PJ. The trigeminovascular system in humans: Pathophysiologic implications for primary headache syndromes of the neural influences on the cerebral circulation. *J Cereb Blood Flow Metabol*. 1999;19:115–127.
5. Goadsby PJ, Edvinsson L. The trigeminovascular system and migraine: Studies characterizing cerebrovascular and neuropeptide changes seen in humans and cats. *Ann Neurol*. 1993;33:48–56.
6. Edvinsson L, Uddman R. Neurobiology in primary headaches. *Brain Res Rev*. 2005;48:438–456.
7. Cernuda-Morollón E, Larrosa D, Ramón C, et al. Interictal increase of CGRP levels in peripheral blood as a biomarker for chronic migraine. *Neurology*. 2013;81:1191–1196.
8. Goadsby PJ. Lacrimation, conjunctival injection, nasal symptoms...cluster headache, migraine and cranial autonomic symptoms in primary headache disorders-what's new? *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2009;80:1057–1058.
9. Barbanti P, Fabbrini G, Pesare M, et al. Unilateral cranial autonomic symptoms in migraine. *Cephalalgia*. 2002;22:256–259.
10. Avnon Y, Nitzan M, Sprecher E, et al. Different patterns of parasympathetic activation in uni- and bilateral migraineurs. *Brain*. 2002;126:1660–1670.
11. Avnon Y, Nitzan M, Sprecher E, et al. Autonomic asymmetry in migraine: Augmented parasympathetic activation in left unilateral migraineurs. *Brain*. 2004;127:2099–2108.
12. Gupta R, Bhatia MS. A report of cranial autonomic symptoms in migraineurs. *Cephalalgia*. 2007;27:22–28.
13. Obermann M, Yoon MS, Dommes P, et al. Prevalence of trigeminal autonomic symptoms in migraine: A population-based study. *Cephalalgia*. 2007;27:504–509.
14. Lai TH, Fuh JL, Wang SJ. Cranial autonomic symptoms in migraine: Characteristics and comparison with cluster headache. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2009;80:1116–1119.
15. Guven H, Cilliler AE, Comoglu SS. Unilateral cranial autonomic symptoms in patients with migraine. *Acta Neurol Belg*. 2013;113:237–242.
16. Gelfand AA, Reider AC, Goadsby PJ. Cranial autonomic symptoms in pediatric migraine are the rule, not the exception. *Neurology*. 2013;81:431–436.
17. Goadsby PJ, Edvinsson L, Ekman R. Vasoactive peptide release in the extracerebral circulation of humans during migraine headache. *Ann Neurol*. 1990;28:183–187.
18. Goadsby PJ, Edvinsson L. Human in vivo evidence for trigeminovascular activation in cluster headache. Neuropeptide changes and effects of acute attack therapies. *Brain*. 1994;117:427–434.
19. Goadsby PG. Autonomic nervous system control of the cerebral circulation. *Handb Clin Neurol*. 2013;117:193–201.
20. Schytz HW, Birk S, Wienecke T, et al. PACAP38 induces migraine-like attacks in patients with migraine without aura. *Brain*. 2009;132:16–25.
21. Amin FM, Hougaard A, Schytz HW, et al. Investigation of the pathophysiological mechanisms of migraine attacks induced by pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide-38. *Brain*. 2014;137:779–784.
22. Edvinsson L. Role of VIP/PACAP in primary headaches. *Cephalalgia*. 2013;33:1070–1072.
23. Kaiser EA, Russo AF. CGRP and migraine: Could PACAP play a role too? *Neuropeptides*. 2013;47:451–461.
24. Headache Classification Committee of the International Headache Society (IHS). The International Classification of Headache Disorders, 3rd edition (beta version). *Cephalalgia*. 2013;33:629–808.
25. Strassman AM, Raymond SA, Burnstein R. Sensitization of meningeal sensory neurons and the origin of headaches. *Nature*. 1996;384:560–564.
26. Seybold VS. The role of peptides in central sensitization. *Handb Exp Pharmacol*. 2009;451–491.
27. Rodríguez-Osorio X, Sobrino T, Brea D, et al. Endothelial progenitor cells. A new key for endothelial dysfunction in migraine. *Neurology*. 2012;79:474–479.
28. Fau PC, Kuo PH, Chang SH, et al. Plasma calcitonin gene-related peptide in predicting and diagnosing pediatric migraine. *Cephalalgia*. 2009;29:883–890.

29. Cernuda-Morollón E, Martínez-Camblor P, Alvarez R, et al. Increased VIP levels in peripheral blood outside migraine attacks as a potential biomarker of cranial parasympathetic activation in chronic migraine. *Cephalalgia*. 2015;215:310–316.
30. Riesco N, Pérez-Alvarez AI, Verano L, et al. Prevalence of cranial autonomic parasympathetic symptoms in chronic migraine: Usefulness of a new scale. *Cephalalgia*. 2016 Jun 1. pii: 0333102416653232. [Epub ahead of print]
31. Tuka B, Helyes Z, Markovics A, et al. Alterations in PACAP-38-like immunoreactivity in the plasma during ictal and interictal periods of migraine patients. *Cephalalgia*. 2013;33:1085–1095.
32. Han X, Dong Z, Hou L, et al. Interictal plasma pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide levels are decreased in migraineurs but remain unchanged in patients with tension-type headache. *Clin Chem Acta*. 2015;450:151–154.
33. Olesen J, Burstein R, Ashina M, et al. Origin of pain in migraine: Evidence for peripheral sensitisation. *Lancet Neurol*. 2009;8:679–690.
34. Yarnitski D, Goor-Aryeh I, Bajwa ZH, et al. 2003 Wolff Award: Possible parasympathetic contributions to peripheral and central sensitization during migraine. *Headache*. 2003;43:704–714.
35. Edvinsson L, Hara H, Uddman R. Retrograde tracing of nerve fibers to the rat middle cerebral artery with true blue: Colocalization with different peptides. *J Cereb Blood Flow Metab*. 1989;9:212–218.
36. Tajti J, Uddman R, Moller S, et al. Messenger molecules and receptor mRNA in the human trigeminal ganglion. *J Auton Nerv Syst*. 1999;76:176–183.
37. Edvinsson L, Elsas T, Suzuki N, et al. Origin and co-localization of nitric oxide synthase, CGRP, PACAP, and VIP in the cerebral circulation of the rat. *Microsc Res Tech*. 2001;53:221–228.
38. Christiansen T, Bruun A, Knight YE, et al. Immunoreactivity of NOS, CGRP, PACAP, SP and VIP in the trigeminal nucleus caudalis and in the cervical spinal cord C1 and C2 of the cat. *J Headache Pain*. 2003;4:156–163.
39. Amin FM, Asghar MS, Guo S, et al. Headache and prolonged dilatation of the middle meningeal artery by PACAP38 in healthy volunteers. *Cephalalgia*. 2012;32:140–149.
40. Rahmann A, Wienecke T, Hansen JM, et al. Vasoactive intestinal peptide causes marked cephalic vasodilation, but does not induce migraine. *Cephalalgia*. 2008;28:226–236.
41. Hansen JM, Sitarz J, Birk S, et al. Vasoactive intestinal polypeptide evokes only a minimal headache in healthy volunteers. *Cephalalgia*. 2006;26:992–1003.
42. Cernuda-Morollón E, Martínez-Camblor P, Ramón P, et al. CGRP and VIP levels as predictors of efficacy of onabotulinumtoxin type A in chronic migraine. *Headache*. 2014;54:987–995.
43. Cernuda-Morollón E, Martínez-Camblor P, Serrano-Pertierra E, Larrosa D, Pascual J. OnabotulinumtoxinA decreases interictal CGRP plasma levels in patients with chronic migraine. *Pain*. 2015;156:820–824.
44. Vaudry D, Falluel-Morel A, Bourgault S, et al. Pituitary adenylate cyclase activating polypeptide and its receptors: 20 years after the discovery. *Pharmacol Rev*. 2009;61:238–357.
45. Zagami AS, Edvinsson L, Goadsby PJ. Pituitary adenylate cyclase activating polypeptide and migraine. *Ann Clin Transl Neurol*. 2014;1:1036–1040.



Neuropeptides as a Marker for Chronic Headache

Nuria Riesco¹ · Eva Cernuda-Morollón¹ · Julio Pascual²

© Springer Science+Business Media New York 2017

Abstract

Purpose of Review The purpose of this review is to revise current evidence on trigemino-vascular system (TVS) neuropeptides as potential biomarkers for chronic primary headaches, mainly for chronic migraine (CM).

Recent Findings Within sensory neuropeptides, released by an activated trigeminal nerve, calcitonin gene-related peptide (CGRP) levels seem to be a good biomarker of acute migraine and somewhat sensitive and specific for CM. CGRP, however, is not increased in 20–30% of CM patients, which suggests that CGRP is not the only neuropeptide involved in migraine pain generation and maintenance. Data for other sensory neuropeptides are inconsistent (neurokinin, substance P) or absent (amylin and cholecystokinin-8). Among parasympathetic neuropeptides, vasoactive intestinal polypeptide (VIP) is increased interictally in CM, and in at least some migraine cases ictally, pituitary adenylate cyclase-activating peptide (PACAP) has been shown to be increased ictally in jugular blood, but interictal, peripheral data do not indicate such an increase, and there are no data for other parasympathetic peptides. Finally, S100B, as a potential marker of glial TVS activation, has been studied with inconsistent results in migraine patients.

Summary Current data on TVS neuropeptides as potential migraine biomarkers must be taken with caution, even for

the promising case of CGRP. We do not know with certainty whether increased levels are the reflection of TVS activation, the reliability and homogeneity of the different laboratory tests, or what is the influence on these measurements of the short half-life of many of these peptides or of preventive treatments. One further limitation would be whether the described increases in levels of some neuropeptides such as CGRP are specific for migraine versus other headaches.

Keywords CGRP · Chronic migraine · Episodic migraine · PACAP · S100B · VIP

Introduction

Headache is the most prevalent neurological symptom and the most frequent reason for neurological consultation. Some primary headaches, and in particular migraine, are currently ranked by the World Health Organization among the main causes for years lived with disability. Given the current barriers, improving diagnosis and optimizing treatment paradigms could substantially reduce this global burden. The International Headache Society (IHS) classification categorizes a headache as primary if not caused by another disorder and secondary if headache is a symptom of an underlying medical illness, such as space-occupying lesions, infections, head injuries, or a variety of metabolic disorders [1]. In this review paper, we will focus on the most frequent chronic primary headaches and in particular in migraine. Primary headaches include tension-type headache, migraine, trigemino-autonomic headaches and a miscellanea of rather infrequent headaches. Tension-type headache is the most prevalent headache, but—in terms of burden and consultation—migraine, which is suffered by around 15% of the population, is the most relevant headache.

This article is part of the Topical Collection on *Chronic Daily Headache*

✉ Julio Pascual
juliopascual@telefonica.net

¹ Service of Neurology, University Hospital Central de Asturias, Oviedo, Spain

² Service of Neurology, University Hospital Marqués de Valdecilla and IDIVAL, Av. Valdecilla s/n, 39008 Santander, Spain

Published online: 09 March 2017



In terms of frequency, tension-type headache and migraine can be divided into two types: episodic and chronic. The IHS classification defines chronic migraine (CM) as ≥ 15 headache days per month for the last 3 months, with ≥ 8 days per month meeting migraine criteria [1]. Estimates of worldwide prevalence of CM range from approximately 1.4 to 2.2% [2, 3]. CM is much more frequent in middle-aged women, a segment of the population where prevalence of CM can reach 5% [3].

Migraine is a complex disorder considered to be a neurovascular disorder with a genetic component. Either a cortical spreading depression phenomenon or changes in the modulating nociceptive inputs from the raphe and locus ceruleus in the brainstem are thought to activate the so called trigemino-vascular system (TVS) [4, 5]. This system consists of a brainstem connection between trigeminal and upper cervical afferents and parasympathetic efferents of facial nerve, which, when activated, releases pain-producing neuropeptides (summarized in Fig. 1). Such a release induces sterile inflammation and dilatation of leptomeningeal and extracranial vessels, which is the reason for the typical throbbing or pulsating migraine pain. We still do not have a good understanding of the pathophysiology of CM or of the exact mechanisms that lead to transformation from episodic migraine to CM. It is widely accepted, however, that pain pathways become sensitized by repeated episodes of trigeminal activation. The development of central sensitization, clinically reflected as the appearance of allodynia, as a result of permanent neuropeptide release is thought to be source of pain persistence in CM [6].

Because there are no biological markers of migraine or other primary headaches, diagnosis is based on clinical history and exclusion of secondary headache disorders. At least theoretically, determining the levels of these neuropeptides could be a potential biomarker for CM, which could allow us a more objective diagnosis and treatment follow-up. In this paper, we

review current evidence on neuropeptides as potential biomarkers in the main chronic primary headaches, mainly in CM.

Sensory Neuropeptides

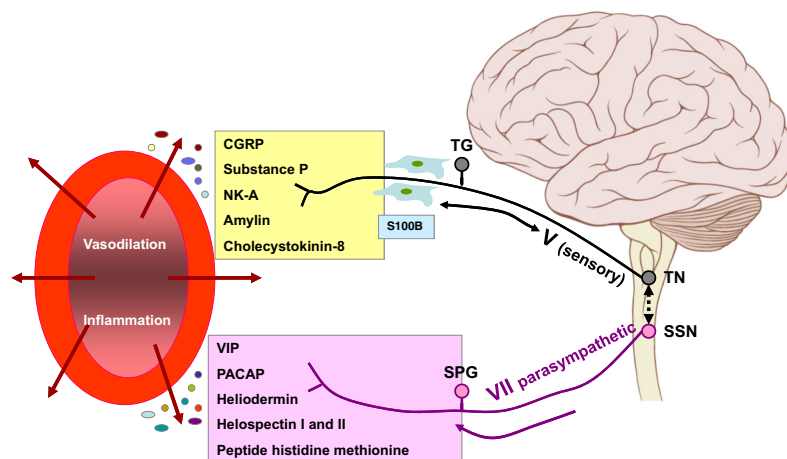
Several powerful vasodilator peptides are found in cell bodies within the trigeminal neurons that innervate blood vessels, including calcitonin gene-related peptide (CGRP), substance P, neurokinin A, amylin and cholecystokinin-8 [7].

Calcitonin Gene-Related Peptide

CGRP is the most potent and the most interesting of the neuropeptides that have been mapped to the trigeminal system. CGRP is a neuropeptide consisting of 37 amino acids predominantly expressed in the nervous system [8, 9, 10]. It originates from the gene-encoding calcitonin and CGRP depending upon alternative splicing. Almost half of the cell bodies of human trigeminal ganglia contain CGRP. Although many other signal molecules are located in the trigeminal ganglion, CGRP is the most abundant in man and can be seen as a marker of trigeminal activity. Human CGRP has two isoforms: α -CGRP (or CGRP1) and β -CGRP (or CGRP2) [11, 12]. α -CGRP is widely distributed in the central and peripheral nervous systems. Most of the cranial vasculature is innervated by α -CGRP-containing C and A δ sensory nerve fibers. β -CGRP, which differs from α -CGRP by 3 amino acids, is located in the enteric nerve terminals.

CGRP seems to play an important role in migraine. Lassen et al. have demonstrated that intravenous CGRP causes a delayed moderate-severe headache selective for migraine subjects [13]. Further evidence of the involvement of CGRP in

Fig. 1 Scheme of the human TVS anatomy and activation showing the neuropeptides in the sensory, trigeminal nerve, in the parasympathetic arm via the facial nerve and in the glial cells. *CGRP* calcitonin gene-related peptide, *NK-A* neurokinin A, *PACAP* pituitary adenylate cyclase-activating peptide, *S100B* S100 beta protein, *SPG* sphenopalatine ganglion, *SSN* superior salivary nucleus, *TG* trigeminal Gasser ganglion, *TN* spinal trigeminal nucleus, *VIP* vasoactive intestinal polypeptide



migraine is provided by data from clinical trials, as triptans block CGRP release and the CGRP antagonist olcegepant and telcagepant, and more recently, the monoclonal CGRP antibodies have been shown to be effective for the acute and preventive treatment of migraine, respectively [14–16].

CGRP is the only neurotransmitter reliably released acutely in migraine at present. Goadsby et al. found a marked increase in plasma levels of CGRP in the external jugular vein in migraine patients with and without aura. In a subsequent study, Goadsby and Edvinsson showed that increased CGRP levels returned to normal with the relief of headache with subcutaneous sumatriptan [17–19]. Due to the obvious difficulties to obtain jugular vein samples, several groups have measured CGRP levels in peripheral blood during migraine attacks. Sarchielli et al. also found an elevation of CGRP in plasma during attacks of migraine, which was reversed by rizatriptan [20, 21]. More recently, Rodríguez-Osorio et al. also found a very significant increase in CGRP levels in peripheral blood in a series of episodic migraine (EM) patients during attacks [22].

Interestingly, an increase in peripheral CGRP levels in interictal, headache free, periods has been detected in migraine patients recruited in specialized headache clinics [23, 24], and similar results have been reported measuring salivary and cerebrospinal levels of CGRP in migraine patients between attacks [25, 26, 27]. Ashina and colleagues found no difference in interictal plasma CGRP levels in patients with chronic tension-type headache and healthy control subjects, but an exploratory analysis showed that eight patients whose usual headache quality was throbbing, who would probably be diagnosed with the new IHS criteria as CM [1], had significantly higher antecubital CGRP levels than control subjects [28]. This finding could suggest that interictal CGRP levels measured in peripheral blood could be a potential migraine biomarker, especially in CM when a rather permanent activation of the trigemino-vascular system, at least theoretically, should occur. In a recent study, our group showed that CGRP plasma levels measured in peripheral blood outside migraine attacks and in the absence of symptomatic medication were significantly increased in 103 women with CM (average +122%) as compared to healthy controls without a history of migraine [29]. Even though the CGRP levels were also significantly higher than those of healthy women in EM and in cluster headache patients (average +37% in both cases), these increases were much lower. Applying ROC and AUC analysis, for a CGRP concentration of 58 pg/mL, 69% of the EM and 86% of the CM patients were correctly classified.

These data show that interictal concentrations of CGRP in serum from peripheral blood samples have good sensitivity and specificity for CM detection, indicating that CGRP could be the first biomarker to aid in a more objective diagnosis for CM. A reliable biomarker should predict the response to a specific treatment and also

change with such treatment. In a further step, our group showed that CGRP levels in CM patients strongly correlated with their response to onabotulinumtoxinA therapy [30]. CM patients with CGRP levels higher than 72 pg/mL presented a higher probability of becoming a responder than patients below this threshold. In the same patients [31], we have shown that onabotulinumtoxinA significantly decreases CGRP levels in peripheral blood samples between attacks, measured 1 month after injection, therefore confirming interictal, peripheral levels of CGRP as a potential CM biomarker. Interestingly, CGRP levels did not change in the subset of patients who did not respond to onabotulinumtoxinA. Pretreatment CGRP levels in these “CM” patients were already below the CM threshold suggesting that some patients with a CM phenotype could suffer from other headaches (e.g., psychogenic headache, tension-type headache, or other secondary headaches) in which CGRP does not seem to be involved. These data have been fully confirmed recently by Domínguez-Vivero et al. These authors show that interictal levels of CGRP in peripheral blood are increased in CM who responds to onabotulinumtoxinA treatment as compared to nonresponders. Again, plasma levels of >50 ng/mL were associated with a good response to onabotulinumtoxinA and classify correctly 85% of responders [32].

Other Sensory Neuropeptides

Substance P is a nondecapeptide first described more than 60 years ago and suggested to be involved in nociceptive transmission. In many vascular beds, including the cerebral bed, SP is a potent vasodilator, and its effect is endothelium dependent. The 13-preprotachykinin that produces substance P may be differentially cleaved to yield a decapeptide with a similar profile of action and localization in the trigeminal system, neurokinin A. Substance P and neurokinin A were found to be released in the innervated tissues upon noxious stimulation and induce neurogenic inflammation, which, once it occurs in the cranial dura matter, was thought to underlie the generation of migraine pain [7]. However, in contrast to CGRP, blockade of substance P, though very effective in blocking plasma extravasation, was ineffective in the therapy of migraine pain. There have been very few studies of plasma substance P in migraine patients, and these have provided contradictory results [33]. Goadsby et al. reported that plasma CGRP level increased in migraine, but that substance P did not change [17]. Fusayusu et al. found increased interictal substance P (and CGRP) levels in migraineurs as compared to those in nonheadache controls and suggested a role in migraine pathophysiology [23]. To the best of our knowledge, there are no studies analyzing amylin or cholecystokinin-8 levels in patients with primary headaches.

Parasympathetic Neuropeptides

As mentioned above, unquestionably, the trigeminal nerve, with its transmitter CGRP, is crucial in TVS activation and migraine chronification, but activation of the cranial autonomic system, and in particular of the efferent parasympathetic arm, also plays a role in migraine pathophysiology. The parasympathetic innervation of the cerebral circulation represents the most powerful of the neural vasodilator influences upon that bed. The parasympathetic system is capable of altering brain blood flow independent of the prevailing metabolic demand and perfusion pressure [7]. The autonomic nervous system is involved in migraine as reflected by the “general” (nausea, vomiting, diarrhea, or polyuria) and “cranial” (conjunctival injection, lacrimation, nasal congestion, etc) symptoms appearing with attacks. Cranial autonomic parasympathetic symptoms have been shown to appear in up to three quarters of episodic migraine patients [34–41]. In a recent study, 82 out of 100 women with CM had at least one cranial autonomic parasympathetic symptom [42].

The parasympathetic system arises from the superior salivatory nucleus and passes out of the brain in the facial (VIIth cranial) nerve, distributing fibers through the sphenopalatine and otic ganglia to dilate vessels by way of several neuropeptides. As reviewed by Goadsby, together with the classical neurotransmitter acetylcholine and the free radical nitric oxide, the system is characterized by the presence of several neuropeptides: vasoactive intestinal polypeptide (VIP), pituitary adenylate cyclase-activating peptide (PACAP), peptide histidine methionine (PHM), helodermin, and helospectin I and II [7]. It has been proposed that parasympathetic outflow to cephalic vasculature may trigger activation and sensitization of perivascular sensory afferents and thereby migraine pain [43].

Vasoactive Intestinal Polypeptide

VIP is a polypeptide of 28 amino acid residues that belongs to a glucagon/secretin superfamily. Both the large cerebral and cortical pial vessels have a rich VIPergic innervation, which induces a powerful vasodilation in various species, including humans [7, 44].

Two decades ago, Goadsby and Edvinsson showed increased VIP plasma levels during cluster headache attacks reflecting the intense parasympathetic activation [45]. Few studies have tested VIP levels in migraine. Although, contrary to CGRP, VIP levels were in the range of controls in a series of episodic migraine patients [17], plasma VIP levels were elevated in the jugular blood in the subgroup of migraineurs with pronounced autonomic symptoms. In an Italian study, VIP levels, also measured in external jugular vein, were significantly reduced in five migraine patients with autonomic symptoms after

successful treatment with rizatriptan [21]. Similar findings have been reported in VIP saliva in a small series of episodic migraineurs after sumatriptan [26]. Our group has recently shown that VIP levels are increased CM, though this increase in VIP levels was less pronounced and consistent as that seen for CGRP [46]. One further report in CM patients has found a significant correlation of VIP, but not of CGRP, levels with the presence and degree of cranial autonomic parasympathetic symptoms, as measured by an ad hoc quantitative scale [47]. Considering all these data and as shown for cluster headache [45], it seems that serum VIP levels reflect the degree of cranial parasympathetic system in migraine.

Pituitary Adenylate Cyclase-Activating Peptide

Tracing studies have revealed that VIP-positive nerves originate in the sphenopalatine and otic ganglia, while PACAP-positive neurons are found both in the above parasympathetic ganglia but also in the human trigeminal ganglion [48], where there is no VIP immunoreactivity [49]. The localization of PACAP to both parasympathetic and sensory systems would suggest that, unlike VIP, the role of this peptide is dual on vasomotor function and sensory mechanisms [50, 51]. This could explain that PACAP infusion into migraineurs triggers migraine and indeed produces vasodilatation and, occasionally, headache in nonmigraine subjects, while VIP, a more potent cranial vasodilator, does not induce such headache [52–55].

Data on peripheral levels of PACAP in migraine patients are not homogeneous. Ictal PACAP levels in the external jugular vein in 15 migraine patients as measured by radioimmunoassay have been found to be increased in a recent study [56]. Two recent reports have analyzed interictal peripheral levels of PACAP, or its fragment PACAP-38, in migraine and cluster headache [57, 58]. Both papers have found low levels of interictal PACAP in migraine patients. In the first paper, Tuka et al. reported, using radioimmunoassay, decreased interictal PACAP-38 levels in EM patients as compared to controls. PACAP levels increased ictally, but it is important to emphasize that ictal level was not statistically different to that of controls [57]. Similar findings have been reported by the same group for cluster headache patients [58]. Recently, Xun Han et al. have published that interictal PACAP levels, determined by ELISA, were significantly lower in migraine patients when compared to controls and chronic tension-type headache patients. These results of low interictal PACAP levels, though interpreted by these authors as suggestive of a possible involvement of PACAP in migraine pathogenesis, are difficult to explain [59]. Suggested explanations for the lower interictal PACAP-38 concentration have included a deficit of brain energy, abnormalities of mitochondrial compartments, imbalanced Mg^{2+} concentrations in neurons, and degenerative

changes affecting the PACAP-releasing circuitries. In contrast to VIP, our group has recently reported that, contrary to VIP, interictal serum PACAP levels in a large series of CM women

were in the range of matched controls without a headache history [60]. Therefore, in spite of the evidence suggesting a relevant role of PACAP in the pathophysiology of migraine

Table 1 Summary of studies analysing the levels of TVS neuropeptides in primary headaches

Authors [Reference n°]	Migraine		Tension-type headache	Cluster headache
	Ictal	Interictal		
CRRP (blood)				
Goadsby et al. [17]	↑J			
Sarchielli et al. [20, 21]	↑	↑		
Rodríguez-Osorio et al. [22]	↑			
Fusayasu et al. [23]		↑		
Ashina et al. [24]		↑		
Jang et al. [32]		↑		
Ashina et al. [28]			↔	
Cernuda-Morollón et al. [29–31]		↑ EM/CM		↑
Domínguez-Vivero et al. [32]		↑ EM/CM		
Goadsby and Edvinsson [45]				↑J
CGRP (saliva)				
Jang et al. [25]		↑		
Bellami et al. [32]		↑		
CGRP (cerebrospinal fluid)				
Van Dongen et al. [27]	↑	↑		
Substance P (blood)				
Goadsby et al. [17]	↔J			
Fusayasu et al. [23]		↑		
Substance P (saliva)				
Jang et al. [25]		↑		
VIP (blood)				
Goadsby et al. [17]	↑J			
Sarchielli et al. [21]	↑			
Cernuda-Morollón et al. [46]		↑ EM/CM		↑
Riesco et al. [47]		↑ EM/CM		↑
PACAP (blood)				
Zagami et al. [56]	↑J			
Tuka et al. [57]	↔	↓		
Tuka et al. [58]			I↔	II↓
Cernuda-Morollón et al. [60]		↔ EM/CM		
S100B (blood)				
Papandreou et al. [63]	↑		↑	
Teepker et al. [64]	↑	↑		
Yilmaz et al. [65]	↑	↑		
Celikbilek et al. [66]		↓		
Riesco et al. [in preparation]		↔ EM/CM		

CM= chronic migraine; EM= episodic migraine; I= ictal; II= interictal; J= jugular blood

pain and in contrast to CGRP and VIP, serum levels of PACAP, as measured in cubital vein and by ELISA, do not seem to be a useful biomarker to test in this case the activity of the cranial parasympathetic arm of the TVS.

Other Parasympathetic Neuropeptides

To be best of our knowledge, there is no report on the levels of the other parasympathetic neuropeptides, heliodermin, helospectin I and II, and peptide histidine methionine in migraine or other primary headaches.

Glial Neuropeptides

Trigeminal ganglia contain not only neuronal cells but also glial cells. Glial cells, which were thought to play just a supportive role, are now known to directly modulate neuronal function, survival, and activity. Satellite glial cells have been reported to modulate the excitability state of ganglion neurons and play an important role in peripheral sensitization. Trigeminal CGRP release activates satellite glial cells that then release nitric oxide and other proinflammatory cytokines that contribute to sensitization in migraineurs [61]. S100 beta (S100B) is a calcium-binding protein, produced mostly and released by glial cells in the central nervous system in response to inflammatory stimuli. An increased expression of S100B has been shown after experimental stimulation of trigeminal nerves, and it has been proposed that an increased S100B activity could contribute to sensitization of trigeminal neurons and has an impact on pain generation and maintenance [62].

Data on S100B serum levels in primary headaches are limited and inconsistent. S100B was shown to be increased in children with migraine and tension-type headache in one study [63]. Two further studies found elevated S100B levels in migraine patients, even interictally [64, 65]. However, Celikbilek et al. found markedly decreased interictal S100B levels in migraineurs [66], and in our large series of episodic and CM patients, interictal S100B values are in the range of controls [Riesco et al. in preparation].

Conclusions

Among sensory neuropeptides, peripheral CGRP levels seem to be a good biomarker of acute migraine and somewhat sensitive and specific for CM. CGRP, however, is not increased in 20–30% of CM patient, which suggests that CGRP is not the only neuropeptide involved in migraine pain generation and maintenance. Data for other sensory neuropeptides are inconsistent (substance P) or absent (amylin and cholecystokinin-8). Regarding parasympathetic neuropeptides, VIP is

increased interictally in CM, and in at least in some migraine cases ictally, PACAP has been shown to be increased ictally in jugular blood, but interictal, peripheral data do not suggest such an increase, and there are no study analyzing the levels of other parasympathetic peptides. Finally, S100B, as a potential marker of glial TVS activation, has been studied with inconsistent results in migraine patients (Table 1).

Even though for several relevant reasons there is a real need for biomarkers for migraine and other primary headaches, current data on TVS neuropeptides as potential migraine biomarkers must be taken with caution, even for the promising case of CGRP. We do not know with certainty whether increased levels are the reflection of the activation of the TVS, the reliability and homogeneity of the different laboratory tests to measure, or what is the influence on these measurements of the short half-life of many of these peptides or of preventive treatments. One further limitation would be whether the described increases in levels of some neuropeptides such as CGRP are specific from migraine versus other primary headaches and versus other secondary headaches which can resemble migraine or CM phenotype.

Acknowledgements This work was supported by the PI14/00020 FISSS grant (Fondos Feder, ISCIII, Ministry of Economy, Spain).

Compliance with Ethical Standards

Conflict of Interest Nuria Riesco and Eva Cemuda-Morollón declare that they have no conflicts of interest.

Julio Pascual declares personal fees for serving on the Advisory Board of Novartis and Allergan.

Human and Animal Rights and Informed Consent This article does not contain any studies with human or animal subjects performed by any of the authors.

References

Papers of particular interest, published recently, have been highlighted as:

- Of importance
- Of major importance

1. Headache Classification Committee of the International Headache Society (IHS). The international classification of headache disorders, 3rd edition (beta version). *Cephalalgia*. 2013;33:629–808.
2. Natoli JL, Manack A, Dean B, Butler Q, Turkel CC, Stovner L, et al. Global prevalence of chronic migraine: a systematic review. *Cephalalgia*. 2010;30:599–609.
3. Castillo J, Muñoz P, Guitera V, et al. Epidemiology of chronic daily headache in the general population. *Headache*. 1999;39:190–6.
4. Goadsby PJ, Lipton RB, Ferrari MD. Migraine—current understanding and treatment. *N Engl J Med*. 2002;346:257–70.
5. Moskowitz MA. The visceral organ brain: implications for the pathophysiology of vascular head pain. *Neurology*. 1991;41:182–6.

6. Strassman AM, Raymond SA, Burstein R. Sensitization of meningeal sensory neurons and the origin of headaches. *Nature*. 1996;384:560–4.
7. Goadsby PJ. Autonomic system control of the cerebral circulation. *Handbook Clin Neurol*. 2013;117:193–201.
8. Benarroch EE. CGRP: sensory neuropeptide with multiple neurologic implications. *Neurology*. 2011;77:281–7.
9. Russo AF. Calcitonin gene-related peptide (CGRP): a new target for migraine. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*. 2015;55:533–52.
10. Russell FA, King R, Smillie SJ, Kodki X, Brain SD. Calcitonin gene-related peptide: physiology and pathophysiology. *Physiol Rev*. 2014;94:1099–142. **Comprehensive review of CGRP.**
11. Emeson RB, Hedjran F, Yeakley JM, Guise JW, Rosenfeld MG. Alternative production of calcitonin and CGRP mRNA is regulated at the calcitonin-specific splice acceptor. *Nature*. 1989;341:76–80.
12. Tippins JR, Di Marzo V, Panico M, Guise JW, Rosenfeld MG. Investigation of the structure/activity relationship of human calcitonin gene-related peptide (CGRP). *Niochem Biophys Res Commun*. 1986;134:1306–11.
13. Lassen LH, Haderslev PA, Jacobsen VB, Iversen HK, Sperling B, Olesen J. CGRP may play a causative role in migraine. *Cephalalgia*. 2002;22:54–61.
14. Olesen J, Diener HC, Husstedt IW, Goadsby PJ, Hall D, Meier U, et al. Calcitonin gene-related peptide receptor antagonist BIBN 4096 BS for the acute treatment of migraine. *N Engl J Med*. 2004;350:1104–10.
15. Ho TW, Mannix LK, Fan X, Assid C, Furtek C, Jones CJ, et al. Randomized controlled trial of an oral CGRP receptor antagonist, MK-0974, in acute treatment of migraine. *Neurology*. 2008;70:1304–12.
16. Pascual J. AMG 334 CGRP antibody for migraine: time to celebrate? *Lancet Neurol*. 2016;15:347–9.
17. Goadsby PJ, Edvinsson L, Ekman R. Vasoactive peptide release in the extracerebral circulation of humans during migraine headache. *Ann Neurol*. 1990;28:183–7.
18. Goadsby PJ, Edvinsson L. The trigeminovascular system and migraine: studies characterizing cerebrovascular and neuropeptide changes seen in humans and cats. *Ann Neurol*. 1993;33:48–56.
19. Edvinsson L, Uddman R. Neurobiology in primary headaches. *Brain Res Rev*. 2005;48:438–56.
20. Gallai V, Sarchielli P, Floridi A, et al. Vasoactive peptide levels in the plasma of young migraine patients with and without aura assessed both interictally and ictally. *Cephalalgia*. 1995;15:384–90.
21. Sarchielli P, Pini LA, Zanchin G, Franceschini M, Codini M, Glioti G, et al. Clinical-biochemical correlates of migraine attacks with rizatriptan responders and non-responders. *Cephalalgia*. 2006;26:257–65.
22. Rodríguez-Osorio X, Sobrino T, Pérez-Mato M, Rodríguez-Osorio X, Leira R, Blanco M, et al. Endothelial progenitor cells: a new key for endothelial dysfunction in migraine. *Neurology*. 2012;79:474–9. **This paper shows that CGRP is elevated peripherally in acute migraine.**
23. Fusayasu E, Kowa H, Takeshima T, Nakaso K, Nakashima K. Increased plasma substance P and CGRP levels, and high ACE activity in migraineurs during headache-free periods. *Pain*. 2007;128:209–14.
24. Ashina M, Bendtsen L, Jensen R, Schifter S, Olesen J. Evidence for increased plasma levels of calcitonin gene-related peptide in migraine outside of attacks. *Pain*. 2000;86:133–8.
25. Jang MU, Park JW, Kho HS, Chung SC, Chung JW. Plasma and saliva levels of nerve growth factor and neuropeptides in chronic migraine patients. *Oral Dis*. 2011;17:187–93.
26. Bellamy JL, Cady RK, Durham PL. Salivary levels of CGRP and VIP in rhinosinusitis and migraine patients. *Headache*. 2006;46:24–33.
27. Van Dongen RM, Zielman R, Noga M, Dekkers OM, Hankemeier T, van der Maagdenberg AM, Terwindt GM, Ferrari MD. Migraine biomarkers in cerebrospinal fluid: a systematic review and meta-analysis. *Cephalalgia*. 2017;37:49–63. **This paper reviews the studies testing potential migraine biomarkers in CSF.**
28. Ashina M, Bendtsen L, Jensen R, Schifter S, Olesen J. Plasma levels of calcitonin gene-related peptide in chronic tension-type headache. *Neurology*. 2000;55:1335–40.
29. Cemuda-Morollón E, Larrosa D, Ramón C, Vega J, Martínez-Cambor P, Pascual J. Interictal increase of CGRP levels in peripheral blood as a biomarker for chronic migraine. *Neurology*. 2013;81:1191–6. **This paper shows that interictal, peripheral levels of CGRP can be a reliable biomarker for CM patients.**
30. Cemuda-Morollón E, Martínez-Cambor P, Ramón P, Larrosa D, Serrano-Pertierra E, Pascual J. CGRP and VIP levels as predictors of efficacy of onabotulinumtoxin type A in chronic migraine. *Headache*. 2014;54:987–95. **This manuscript shows that peripheral CGRP can predict response to preventive treatment in CM.**
31. Cemuda-Morollón E, Ramón C, Martínez-Cambor P, Serrano-Pertierra E, Larrosa D, Pascual J. OnabotulinumtoxinA decreases interictal CGRP plasma levels in patients with chronic migraine. *Pain*. 2015;156:820–4. **This paper shows that CGRP levels are decreased after successful preventive treatment of CM, supporting a role of CGRP as a CM biomarker.**
32. Domínguez-Vivero C, Vieites-Prado BC, Pérez-Mato M, Sobrino T, Rodríguez-Osorio X, López A, Campos F, Martínez F, Castillo J, Leira R. CGRP and PTX3 as predictors of efficacy of onabotulinumtoxin type A in chronic migraine. *Headache*, in press. **This paper confirms CGRP as a CM biomarker, but also shows that there are other potential biomarkers, such as pentraxin 3.**
33. Tajti J, Szok D, Majláth Z, Tuka B, Csáti A, Vecsei L. Migraine and neuropeptides. *Neuropeptides*. 2015;52:19–30. **Comprehensive review of the status of neuropeptides in migraine.**
34. Goadsby PJ. Lacrimation, conjunctival injection, nasal symptoms...cluster headache, migraine and cranial autonomic symptoms in primary headache disorders—what's new? *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2009;80:1057–8.
35. Barbanti P, Fabbri G, Pesare M, Vanacore N, Cerbo R. Unilateral cranial autonomic symptoms in migraine. *Cephalalgia*. 2002;22:256–9.
36. Avnon Y, Nitzan M, Sprecher E, Rogowski Z, Yarnitsky D. Different patterns of parasympathetic activation in uni- and bilateral migraineurs. *Brain*. 2003;126:1660–70.
37. Gupta R, Bhatia MS. A report of cranial autonomic symptoms in migraineurs. *Cephalalgia*. 2007;27:22–8.
38. Obermann M, Yoon MS, Dommes P, Kuznetsova J, Maschke M, Weimar C, et al. Prevalence of trigeminal autonomic symptoms in migraine: a population-based study. *Cephalalgia*. 2007;27:504–9.
39. Lai TH, Fuh JL, Wang SJ. Cranial autonomic symptoms in migraine: characteristics and comparison with cluster headache. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2009;80:1116–9.
40. Guven H, Cilliler AE, Comoglu SS. Unilateral cranial autonomic symptoms in patients with migraine. *Acta Neurol Belg*. 2013;113:237–42.
41. Gelfand AA, Reider AC, Goadsby PJ. Cranial autonomic symptoms in pediatric migraine are the rule, not the exception. *Neurology*. 2013;81:431–6.
42. Riesco N, Pérez-Alvarez AI, Verano L, García-Cabo C, Martínez-Ramos J, Sánchez-Lozano P, et al. Prevalence of cranial autonomic parasympathetic symptoms in chronic migraine: usefulness of a new scale. *Cephalalgia*. 2016;36:346–50.
43. Yarnitsky D, Goor-Aryeh I, Bajwa ZH, Ransil BI, Curter FM, Sotile A, et al. 2003 Wolff Award: possible parasympathetic contributions to peripheral and central sensitization during migraine. *Headache*. 2003;43:704–14.
44. Edvinsson L, Ekman R. Distribution and dilatory effect of vasoactive intestinal polypeptide (VIP) in human cerebral arteries. *Peptides*. 1984;5:329–31.

45. Goadsby PJ, Edvinsson L. Human in vivo evidence for trigeminovascular activation in cluster headache: neuropeptide changes and effects of acute attack therapies. *Brain*. 1994;117:427–34.
46. Cernuda-Morollón E, Martínez-Camblor P, Alvarez R, Larrosa D, Ramón C, Pascual J. Increased VIP levels in peripheral blood outside migraine attacks as a potential biomarker of cranial parasympathetic activation in chronic migraine. *Cephalalgia*. 2015;215:310–6. **This paper shows that peripheral, interictal VIP levels are increased in CM.**
47. Riesco N, Cernuda-Morollón E, Martínez-Camblor P, Pérez-Alvarez AI, Verano L, García-Cabo C, Serrano-Pertierra E, Pascual J. Relationship between serum levels of VIP, but not of CGRP, and cranial autonomic parasympathetic symptoms: a study in chronic migraine patients. *Cephalalgia* 2016. doi:10.1177/0333102416653232. **This paper shows that VIP (and not CGRP) correlates with the presence and degree of cranial parasympathetic symptoms in CM.**
48. Edvinsson L, Hara H, Uddman R. Retrograde tracing of nerve fibers to the rat middle cerebral artery with true blue: colocalization with different peptides. *J Cereb Blood Flow Metab*. 1989;9:212–8.
49. Tajiri J, Uddman R, Moller S, Sundler F, Edvinsson L. Messenger molecules and receptor mRNA in the human trigeminal ganglion. *J Auton Nerv Syst*. 1999;76:176–83.
50. Edvinsson L, Elsas T, Suzuki N, Shimizu T, Lee TJ. Origin and colocalization of nitric oxide synthase, CGRP, PACAP, and VIP in the cerebral circulation of the rat. *Microsc Res Tech*. 2001;53:221–8.
51. Christiansen T, Bruun A, Knight YE, Goadsby PJ, Edvinsson L. Immunoreactivity of NOS, CGRP, PACAP, SP and VIP in the trigeminal nucleus caudalis and in the cervical spinal cord C1 and C2 of the cat. *J Headache Pain*. 2003;4:156–63.
52. Edvinsson L. Role of VIP/PACAP in primary headaches. *Cephalalgia*. 2013;33:1070–2.
53. Amin FM, Asghar MS, Guo S, Hougaard A, Hansen AE, Schytz HW, et al. Headache and prolonged dilatation of the middle meningeal artery by PACAP38 in healthy volunteers. *Cephalalgia*. 2012;32:140–9.
54. Rahmann A, Wienecke T, Hansen JM, Fahrenkrug J, Olesen J, Ashina M. Vasoactive intestinal peptide causes marked cephalic vasodilation, but does not induce migraine. *Cephalalgia*. 2008;28:226–36.
55. Hansen JM, Sitarz J, Birk S, Rahmann AM, Oturai PS, Fahrenkrug J, et al. Vasoactive intestinal polypeptide evokes only a minimal headache in healthy volunteers. *Cephalalgia*. 2006;26:992–1003.
56. Zagami A, Edvinsson L, Goadsby PJ. Pituitary adenylate cyclase activating polypeptide and migraine. *Ann Clin Transl Neurol*. 2014;1:1036–40. **This work shows that PACAP levels are increased ictally in jugular blood.**
57. Tuka B, Helyes Z, Markovics A, Bagoly T, Szolcsányi J, Szabo N, et al. Alterations in PACAP-38-like immunoreactivity in the plasma during ictal and interictal periods of migraine patients. *Cephalalgia*. 2013;33:1085–95. **This paper is the first studying PACAP ictal and interictal levels in migraine patients.**
58. Tuka B, Szabó N, Tóth E, Kincses ZT, Párdutz A, Szok D, et al. Release of PACAP-38 in episodic cluster headache patients—an exploratory study. *J Headache Pain*. 2016;17:69.
59. Han X, Dong Z, Hou L, Wan D, Chen M, Tang W, et al. Interictal plasma pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide levels are decreased in migraineurs but remain unchanged in patients with tension-type headache. *Clin Chem Acta*. 2015;450:151–4. **This study shows decreased PACAP levels in migraine, but not in tension-type headache.**
60. Cernuda-Morollón E, Riesco N, Martínez-Camblor P, Serrano-Pertierra E, García-Cabo C, Pascual J. No change in interictal PACAP levels in peripheral blood in women with chronic migraine. *Headache*. 2016;56:1448–54. **This study shows no change in interictal PACAP levels in a large series of CM women as compared to matched controls.**
61. Dublin P, Hanani M. Satellite glial cells in sensory ganglia: their possible contribution to inflammatory pain. *Brain Behav Immunol*. 2007;21:592–8.
62. Donato R, Sorci G, Riuzzi F, Arcuri C, Bianchi R, Brozzi F, et al. S100B's double life: intracellular regulator and extracellular signal. *Biochim Biophys Acta*. 2008;1793:1008–22.
63. Papandreou O, Soldatou A, Tsitisika A, Kariyannis C, Papandreou T, Zachariadi A, et al. Serum S100 beta protein in children with acute recurrent headache: a potentially useful marker for migraine. *Headache*. 2005;45:1313–6.
64. Teepker M, Munk K, Mylius V, Haag A, Moller JC, Oertel WH, et al. Serum concentration of s100b and NSE in migraine. *Headache*. 2009;49:245–52.
65. Yilmaz N, Karsali K, Ordem S, Turkay M, Unal A, Dora B. Elevated S100B and neuron specific enolase levels in patients with migraine-without aura: evidence for neurodegeneration? *Cell Mol Neurobiol*. 2011;31:579–85.
66. Celikbilek A, Sabah S, Tanik N, Ak H, Atalay T, Yilmaz N. Is serum S100B protein an useful biomarker in migraine? *Neurol Sci*. 2014;35:1197–201.

2. CONSENTIMIENTO INFORMADO

Consentimiento informado para Controles sin cefalea

Estamos realizando un estudio sobre posibles alteraciones bioquímicas en pacientes con migraña crónica. El estudio comprende la comparación de determinaciones bioquímicas en pacientes sin dolor de cabeza en comparación con pacientes que tienen migraña menos de 10 días mes y migraña diaria o casi diaria. No presenta ningún riesgo para la salud.

Se solicita su colaboración para este estudio, que permitiría mejorar el conocimiento y el tratamiento del paciente con dolor de cabeza crónico. Se le realizará únicamente un análisis de sangre. Es importante que no haya tomado medicaciones al menos 24 horas antes del análisis de sangre. Todos los datos se tratarán de forma anónima y restringida a los miembros del equipo de investigación.

Habiendo recibido la información necesaria, acepto participar como control sano en el estudio de determinación bioquímica de neuropéptidos inductores de dolor.

Fdo:

DNI:

En a de de 20.....

Consentimiento informado para pacientes

Con este formulario solicitamos su autorización para participar en una investigación. Los objetivos del estudio son comprender mejor determinadas alteraciones bioquímicas que pueden tener lugar en pacientes que, como usted, sufren dolor de cabeza diario o casi diario. Esto puede ayudarnos a mejorar el tratamiento de esta enfermedad.

El modo de estudiarlo es el siguiente:

- Tras la valoración habitual en nuestra consulta de dolor de cabeza, le pediremos que rellene durante un mes un diario de cefaleas. Con el diario confirmaremos o no el diagnóstico de cefalea crónica diaria y evaluaremos variables como su consumo de analgésico.

- Se le practicará una extracción de sangre (20 cc) tras la confirmación del diagnóstico de migraña crónica y antes de iniciar el tratamiento farmacológico. Esta extracción se repetirá 1,5 y 3 meses después del inicio del tratamiento preventivo de sus cefaleas. Se le pedirá que no haya tomado medicación analgésica para sus dolores de cabeza las 24 horas previas a la extracción.

Si desea abandonar el estudio puede hacerlo en cualquier momento, sin explicación alguna por su parte y sin que esto suponga ningún perjuicio para su tratamiento por nuestra parte.

Todos los datos se tratarán de forma anónima y restringida a los miembros del equipo de investigación. Habiendo recibido la información necesaria, acepto participar como control paciente en el estudio de determinación bioquímica de neuropéptidos inductores de dolor.

Fdo:

DNI:

En a de de 20.....

