

Universidad de Alcalá  
Departamento de Medicina



Universidad  
de Alcalá

# **NEUROPROTECCIÓN POR CANNABINOIDES EN LA ENFERMEDAD DE HUNTINGTON**

TESIS DOCTORAL

**Juan García Caldentey**

Alcalá de Henares, 2013



Universidad de Alcalá  
Departamento de Medicina



# NEUROPROTECCIÓN POR CANNABINOIDES EN LA ENFERMEDAD DE HUNTINGTON

Ensayo clínico fase II, aleatorizado, doble ciego controlado  
con placebo y cruzado sobre neuroprotección por  
cannabinoides en enfermedad de Huntington

Memoria de tesis para optar al grado de doctor presentado por  
el licenciado en medicina:

**Juan García Caldentey**

Director de la tesis:

**Dr. Justo García de Yébenes Prous**

Servicio de Neurología

Hospital Universitario Ramón y Cajal



A mis maestros, entre ellos mis padres y mis pacientes



## AGRADECIMIENTOS

Agradezco en primer lugar al Dr. Justo García de Yébenes, promotor y director del proyecto, por su gran aportación a mi formación como médico y persona. Por introducirme en el mundo de la investigación, como una herramienta más para poder ayudar a nuestros pacientes con enfermedad de Huntington. Por el complejo y ambicioso trabajo que supuso organizar este ensayo clínico y por su generosidad, al permitirme trabajar en él. Por su ilusión, estímulo, dedicación y paciencia para la realización de esta tesis.

A todos mis compañeros que han participado en el ensayo clínico: a mis colegas y amigos los Dres. Guillermo García Ribas y José Luis López-Sendón, por haber compartido generosamente conmigo sus conocimientos y por sus sugerencias y comentarios, que han enriquecido esta tesis. A Patricia Trigo, neuropsicóloga encargada de las evaluaciones neuropsicológicas y gran responsable de que se haya podido llevar a cabo con éxito el ensayo por su inestimable ayuda en la organización del proyecto. A la Dras. Mónica Aguiar, Itziar de Pablo y Mai Gálvez, farmacólogas de CAIBER, por su disponibilidad, ayuda y colaboración durante todo el ensayo. A Amaya Revilla, enfermera del CAIBER, por su gran dedicación y empatía con los pacientes. A Marisa Serrano, monitora del ensayo, por el gran esfuerzo realizado y la paciencia demostrada trabajando con investigadores en sus inicios. También a la Dra. María Jesús García de Yébenes, por su inestimable ayuda con la estadística del ensayo clínico.

A mis compañeros del servicio de Neurología del Hospital Ramón y Cajal, desde el jefe de servicio durante la realización del proyecto, el Dr. Fernández Ruiz, mis tutores y maestros durante mi residencia los Dres. Jaime Masjuan, Juan Carlos Martínez Castrillo, Iñigo Corral y Nuria García Barragán hasta todo el resto del servicio y, por supuesto, los residentes que han compartido conmigo la formación como neurólogos y los que me han visto iniciarme como adjunto de neurología. Mención especial se merecen mis coerres, las

Dras. Chelo Matute y Arantza Alonso, por su complicidad, compañerismo, amistad y cariño que han compartido conmigo todos estos años, que me han enriquecido muchísimo, sin poder olvidar la gran ayuda de la Dra. Arantza Alonso en la recopilación de los datos del ensayo.

Tengo también que agradecer el trabajo realizado por mis compañeros de la investigación básica, desde la Dra. M<sup>a</sup> Ángeles Mena, los Drs. Javier Fernández Ruiz, Manuel Guzman, Ismael Galve-Roperh hasta todos sus colaboradores en los laboratorios, ya que de ellos surge la hipótesis de trabajo de esta tesis, en una gran muestra de la investigación traslacional. Entre ellos me gustaría mencionar a los compañeros del laboratorio de neurobiología del Hospital Ramón y Cajal, M<sup>a</sup> José, M<sup>a</sup> Paz, Carolina, Ana, Juan y Marian por todo el esfuerzo realizado en el análisis de los biomarcadores y por su paciencia en enseñarme algunos entresijos del laboratorio.

Por último, precisamente por ser lo más importante, debo agradecer esta tesis a mi familia y amigos, por su incondicional apoyo. Especialmente a mis padres, ambos neurólogos, por ser mis ejemplos a seguir en la medicina y en la vida. Ellos han sido mi principal motivación para llegar donde estoy y donde espero llegar algún día. También a mis hermanos, Blas y Carlos, por su alegría en mis logros y por la lectura crítica de mis borradores. A mi buen amigo Víctor Borque, por revisar la tesis en busca de errores tipográficos y por ofrecerme siempre su ayuda y amistad. A mis abuelas, por el gran orgullo que supondrá para ellas tener a su primer nieto “Doctor”.



## SUMMARY

**Background and purpose:** Huntington's disease (HD) is an inherited, progressive neurodegenerative disorder characterized by motor, cognitive and behavioural deficits, caused by a cytosine-adenine-guanine (CAG) trinucleotide repeat expansion in the huntingtin gene. Pathologically HD leads to widespread neuronal degeneration, primarily in the striatum and cortex. Given that endocannabinoid system is involved in HD, cannabinoid stimulation has been investigated as a promising therapeutic strategy that improves deficits in HD models. In particular, these improvements occur through disease-modifying agents, mainly due to their anti-inflammatory, neuroprotective and neuroregenerative properties. This is a phase II clinical trial on neuroprotection by cannabinoids (CBs) in HD. The experimental treatment is Sativex®, a botanical extract with an equimolecular combination of delta-9-tetrahydrocannabinol and cannabidiol.

**Material and methods:** we conducted a double blind, randomized, placebo controlled trial, cross over, phase II clinical trial. Sativex® and placebo were dispensed as an oral spray, to be administered up to 12 sprays/day during 12 weeks. The primary objective was safety, assessed by the absence of more severe adverse events (SAE) and no greater deterioration of motor, cognitive, behavioural and functional scales during the phase of active treatment with respect to treatment with placebo. Motor, behavioural and functional domains were evaluated through the Unified Huntington's Disease Rating Scale (UHDRS: mUHDRS, bUHDRS and fUDRS). The cognitive deficits were evaluated according to the verbal and categorical fluency and the Stroop subtest of interference. The psychiatric deficits were also scored according to the hospital anxiety and depressions scales (HADS) and to the Neuropsychiatric inventory (NPI). Secondary objectives were evaluation of efficacy in clinical improvement of the same parameters as well as to suggest a

neuroprotective effect by modifying levels of biomarkers related to disease pathogenesis. We performed an analysis of monoamine metabolites and proteins involved in neurodegeneration in the cerebrospinal fluid (CSF), including levels of the  $\alpha\beta$ -42 amyloid peptide, protein tau and phosphorylated tau (p-tau).

**Results:** Twenty-four patients completed the trial. The sample included a majority of males (56%), mean age  $47.6 \pm 12.4$  and  $6.6 \pm 4.3$  years of evolution. Mean number of CAG triplets was 46 (range: 39-55). After ruling out both period and sequence effect, absence of SAE during active treatment was confirmed. Nevertheless, no differences for mUHDRS ( $p=0.286$ ), bUHDRS ( $p=1.0$ ), fUHDRS ( $p=0.581$ ), Stroop ( $p=0.824$ ), verbal fluency ( $p=0.405$ ), categorical fluency ( $p=0.824$ ), NPI ( $p=0.134$ ) and HADS ( $p=0.405$ ), were revealed during treatments with Sativex® or placebo. Regarding the biomarkers, we did not find variations for monoamine metabolites, tau ( $p=0.876$ ) or p-tau ( $p=0.627$ ) in CSF. We found that  $\alpha\beta$ -42 peptide increased by 13.5% with Sativex® compared to placebo, but it was of no statistical significance due to the small number of samples ( $p=0.258$ ).

**Conclusions:** The study showed that Sativex® is safe for patients with HD, with no SAE or worsening of the clinical scales used to measure symptoms burden. However, we did not find a symptomatic effect at the prescribed dosage and for a 12-week period. The study suggested a CBs potential neuroprotective effect in HD, at least with regards to amyloid deposition. Future studies should take into consideration a larger medication doses, and a larger treatment periods, especially if we would like to test its neuroprotective effect.

## RESUMEN

**Antecedentes y objetivos:** La enfermedad de Huntington (EH) es una enfermedad neurodegenerativa, hereditaria, caracterizada por alteraciones a nivel motor, cognitivo y psiquiátrico, causada por la expansión de repeticiones del trinucleótido citosina-adenina-guanina (CAG) en el gen de la huntingtina. Desde un punto de vista neuropatológico, la EH lleva a una degeneración neuronal generalizada, afectando sobre todo al estriado y a la corteza cerebral. Puesto que el sistema cannabinoide endógeno está implicado en la EH, la estimulación cannabinoide se ha propuesto como una terapia prometedora que beneficia en modelos de EH, sobre todo por su capacidad de modificar el curso de la enfermedad mediante su efecto antiinflamatorio, neuroprotector y neurorestaurador. Presentamos un ensayo clínico fase II de neuroprotección por cannabinoides (CBs) en la EH. El fármaco experimental es Sativex®, un extracto botánico enriquecido con una combinación equimolecular de delta-9-tetrahidrocannabinol y cannabidiol.

**Material y métodos:** Se realizó un ensayo clínico fase II, doble ciego, aleatorizado, controlado con placebo y cruzado. Se administró Sativex® y placebo en forma de pulverización oral, hasta un máximo de 12 pulverizaciones/día durante 12 semanas. El objetivo principal fue demostrar seguridad, evaluada por la ausencia de acontecimientos adversos graves (AAG) y sin agravamiento de las alteraciones motoras, cognitivas, conductuales y funcionales durante la fase con tratamiento activo respecto a la fase con placebo. Las alteraciones motoras, conductuales y funcionales fueron medidas con la escala unificada para la valoración de la EH (UHDRS: mUHDRS, cUHDRS y fUHDRS). Las alteraciones cognitivas fueron evaluadas con el test de fluencia verbal y categorial y la parte de interferencia del test de Stroop. Las alteraciones psiquiátricas se evaluaron con el cuestionario de depresión-ansiedad (HADS) y el inventario neuropsiquiátrico (NPI).

Los objetivos secundarios fueron evaluar la eficacia en la mejoría clínica con los mismos parámetros, así como sugerir un efecto neuroprotector mediante la modificación de los niveles de biomarcadores relacionados con la patogénesis de la enfermedad. Se analizaron las concentraciones de metabolitos de monoaminas y de las proteínas involucradas en la neurodegeneración en el líquido céfalo-raquídeo (LCR), incluyendo niveles del péptido amiloide  $a\beta$ -42, proteína tau y fosfo-tau (p-tau).

**Resultados:** Veinticuatro pacientes completaron el ensayo. En la muestra hubo un mayor número de varones (56%), la edad media fue de  $47,6 \pm 12,4$ , con  $66,6 \pm 4,3$  años de evolución. El número de repeticiones CAG fue de 46 (rango: 39-55). Descartado el efecto periodo y secuencia, se confirmó la ausencia de AAG durante el periodo de tratamiento activo. Sin embargo, no hubo diferencia en la mUHDRS ( $p=0,286$ ), cUHDRS ( $p=1,0$ ), fUHDRS ( $p=0,581$ ), Stroop ( $p=0,824$ ), fluidez verbal ( $p=0,405$ ), fluidez categorial ( $p=0,824$ ), NPI ( $p=0,134$ ) y HADS ( $p=0,405$ ) objetivada entre el tratamiento con Sativex® o placebo. Respecto a los biomarcadores, no se encontraron diferencias en los metabolitos de las monoaminas, tau ( $p=0,876$ ) ni p-tau ( $p=0,627$ ). Sólo el péptido  $a\beta$ -42 aumentó 13,5% con Sativex® respecto al placebo, sin significación estadística, debido al pequeño número de muestras ( $p=0,258$ ).

**Conclusiones:** El estudio demostró que Sativex® es seguro en pacientes con EH, sin AAG ni empeoramiento en las escalas clínicas. Sin embargo, no se encontró efecto sintomático con las dosis utilizadas en un periodo de 12 semanas. Sí hubo indicios de un posible efecto neuroprotector, al menos en lo que se refiere al depósito amiloideo. Para futuros ensayos clínicos, se debe considerar utilizar una dosis mayor durante un periodo de tiempo mayor, especialmente si se desea demostrar efecto neuroprotector.

<b>I. INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>1</b>
<b>1. Enfermedad de Huntington.....</b>	<b>2</b>
1) Definición.....	2
2) Historia.....	3
3) Epidemiología y distribución geográfica.....	7
4) Historia natural.....	9
5) Características clínicas.....	14
1. Síntomas motores.....	15
2. Alteraciones psiquiátricas.....	20
3. Alteraciones cognitivas.....	23
4. Otras alteraciones.....	26
6) Genética.....	27
1. Herencia.....	28
2. Mutación.....	29
3. Correlación entre genotipo y fenotipo.....	32
4. Diagnóstico molecular.....	33
5. Diagnóstico presintomático y consejo genético.....	34
6. Diagnóstico prenatal y preimplantacional.....	37
7) Neuropatología y patogénesis.....	38
1. Neuropatología.....	38
2. Patogénesis.....	47
8) Tratamiento actual.....	53
1. Tratamiento sintomático.....	54
2. Erradicación o prevención.....	61
3. Tratamiento neuroprotector.....	62

4. Tratamiento neurorestaurador.....	63
<b>2. Neuroprotección en la enfermedad de Huntington.....</b>	<b>64</b>
1) Definición de neuroprotección.....	64
2) Neurodegeneración susceptible de neuroprotección.....	64
3) Estrategias de neuroprotección.....	65
1. Inhibición de la transmisión excitadora.....	65
2. Potenciación de la función mitocondrial.....	67
3. Antioxidantes y bloqueantes de radicales libres.....	68
4. Inhibición de las caspasas.....	68
5. Regulación del metabolismo de la glucosa.....	69
6. Promotores de la autofagia.....	69
7. Inhibición de la agregación de la huntingtina mutada.....	70
8. Otros mecanismos.....	70
4) Neuroprotección por cannabinoides.....	72
<b>3. Cannabinoides y enfermedad de Huntington.....</b>	<b>73</b>
1) Historia del uso de cannabinoides en medicina.....	73
2) El sistema de señalización endocannabinoide.....	75
3) El sistema endocannabinoide en la enfermedad de Huntington.....	77
1. Función del sistema de señalización cannabinoide en los Ganglios basales.....	77
2. Cambios en el sistema de señalización cannabinoide en la enfermedad de Huntington.....	81
4) Acción farmacológica de los cannabinoides.....	83
5) Efectos sintomáticos de los cannabinoides en los trastornos del movimiento.....	85

6) Efectos neuroprotectores de los cannabinoides.....	86
7) Efecto neurorreparador de los cannabinoides.....	89
8) Estudios preclínicos sobre neuroprotección por cannabinoides en la enfermedad de Huntington.....	89
9) Estudios clínicos sobre neuroprotección por cannabinoides en la enfermedad de Huntington.....	91
<b>4. Sativex®.....</b>	<b>93</b>
1) Nombre del medicamento.....	93
2) Composición cualitativa y cuantitativa.....	93
3) Forma farmacéutica.....	93
4) Datos clínicos.....	93
1. Indicaciones terapéuticas.....	93
2. Posología y forma de administración.....	94
3. Contraindicaciones.....	96
4. Advertencias y precauciones especiales de empleo.....	96
5. Interacción con otros medicamentos.....	98
6. Reacciones adversas y sobredosis.....	100
5) Propiedades farmacológicas.....	104
1. Propiedades farmacodinámicas.....	104
2. Propiedades farmacocinéticas.....	109
6) Datos farmacéuticos.....	113
1. Lista de excipientes.....	113
2. Precauciones especiales de conservación.....	113
3. Naturaleza y contenido del envase.....	114

<b>II.</b>	<b>OBJETIVOS E HIPÓTESIS DE TRABAJO</b> .....	115
1.	<b>Hipótesis de trabajo</b> .....	116
2.	<b>Objetivos principales</b> .....	117
3.	<b>Objetivos secundarios y terciarios</b> .....	117
<b>III.</b>	<b>MATERIAL Y MÉTODOS</b> .....	121
1.	<b>Tipo de ensayo y diseño</b> .....	122
1)	Resumen del ensayo clínico.....	122
2)	Diseño del ensayo.....	124
3)	Medidas para evitar sesgos.....	125
1.	Diseño cruzado.....	125
2.	Aleatorización.....	127
3.	Enmascaramiento.....	127
4.	Monitorización del cumplimiento terapéutico.....	128
4)	Duración y criterios de finalización.....	129
2.	<b>Medicamento utilizado y fármaco control</b> .....	129
1)	Nombre del medicamento.....	129
2)	Composición cualitativa y cuantitativa.....	130
3)	Identificación de las muestras.....	130
4)	Placebo.....	130
5)	Tratamiento concomitante.....	130
3.	<b>Variables del ensayo</b> .....	131
1)	Variables principales.....	131
2)	Variables secundarias.....	137
4.	<b>Población a estudio</b> .....	140
1)	Selección de pacientes.....	140



1. Criterios de inclusión.....	141
2. Criterios de exclusión.....	143
3. Criterios de retirada de sujetos.....	144
2) Tamaño de la muestra y justificación.....	145
5. <b>Consentimientos informados</b> .....	146
6. <b>Seguimiento de pacientes</b> .....	148
1) Desarrollo del estudio.....	148
2) Esquema de trabajo.....	157
7. <b>Evaluación de la seguridad y eficacia</b> .....	159
1) Descripción de los métodos para valoración de la seguridad.....	159
2) Descripción de los métodos para valoración de la eficacia.....	159
8. <b>Seguridad</b> .....	160
1) Definiciones.....	160
2) Información mínima a especificar.....	161
3) Parámetros de seguridad.....	162
4) Evaluación de la intensidad de los acontecimiento adversos.....	163
5) Evaluación de la causalidad de los acontecimientos adversos.....	163
6) Evaluación de la gravedad de los acontecimientos adversos.....	165
7) Evaluación de la esperabilidad de los acontecimientos adversos.....	166
8) Procedimiento de notificación de acontecimientos adversos.....	166
9) Procedimiento de notificación de acontecimientos adversos graves e inesperados.....	167
10) Plan de seguimiento.....	167
9. <b>Plan estadístico</b> .....	168
1) Cálculo del tamaño muestral.....	168

2) Métodos estadísticos.....	168
3) Plan de análisis.....	169
4) Criterios para la finalización del ensayo.....	170
5) Pérdida de datos.....	170
6) Desviaciones del plan estadístico.....	170
7) Selección de sujetos para el análisis.....	170
<b>10. Consideraciones prácticas y éticas.....</b>	<b>171</b>
1) Acceso a los datos. Documentos fuente.....	171
2) Archivo de la documentación.....	172
3) Control y garantía de calidad.....	174
4) Ética y legislación. Declaración de Helsinki.....	175
<b>IV. RESULTADOS.....</b>	<b>177</b>
<b>1. Muestra.....</b>	<b>178</b>
1) Número de pacientes.....	178
2) Organigrama del estudio.....	180
3) Tiempos del ensayo.....	181
4) Colaboración de los pacientes.....	182
<b>2. Análisis basal de las características sociodemográficas y clínicas.....</b>	<b>183</b>
<b>3. Análisis del cumplimiento terapéutico.....</b>	<b>193</b>
<b>4. Análisis de la tolerabilidad de la medicación.....</b>	<b>194</b>
<b>5. Análisis de los acontecimientos adversos.....</b>	<b>196</b>
<b>6. Análisis de los tres tipos de efectos: periodo, secuencia y tratamiento.....</b>	<b>200</b>
1) Análisis del efecto periodo.....	200
2) Análisis del efecto secuencia.....	203

3) Análisis del efecto tratamiento.....	206
<b>7. Videofilmación de los pacientes.....</b>	<b>209</b>
<b>8. Evolución de las valoraciones de los trastornos motores.....</b>	<b>211</b>
1) Movimientos oculares.....	212
2) Distonía máxima.....	214
3) Corea máxima.....	216
4) Resto de la mUHDRS.....	218
5) mUHDRS total.....	220
<b>9. Evolución de las puntuaciones cognitivas, conductuales y funcionales.....</b>	<b>224</b>
1) Test de colores y palabras de Stroop.....	225
2) Test de fluidez verbal (versión FAS).....	226
3) Subescala funcional de la UHDRS (fUHDRS).....	227
4) Subescala conductual de la UHDRS (fUHDRS).....	228
5) Inventario neuropsiquiátrico (NPI).....	229
6) Cuestionario de depresión-ansiedad (HADS).....	230
<b>10. Análisis de los biomarcadores.....</b>	<b>231</b>
1) Metabolitos de monoaminas en líquido cefalorraquídeo.....	231
2) Proteínas involucradas en neurodegeneración en el líquido cefalorraquídeo.....	233
<b>V. DISCUSIÓN.....</b>	<b>235</b>
<b>1. Importancia de la investigación clínica en la enfermedad de         Huntington.....</b>	<b>236</b>
<b>2. Complejidad de la investigación clínica en la enfermedad de         Huntington.....</b>	<b>237</b>

1) Limitaciones de las escalas de evaluación de la EH.....	239
2) Efecto placebo en la EH.....	240
3) Falta de correlación entre la gravedad clínica y el estadio neuropatológico.....	241
<b>3. Tolerabilidad de los cannabinoides en la enfermedad de     Huntington.....</b>	<b>242</b>
<b>4. Seguridad de los cannabinoides en la enfermedad de Huntington.....</b>	<b>243</b>
<b>5. Influencia de las diferencias halladas en las características     basales.....</b>	<b>247</b>
<b>6. Eficacia de los cannabinoides en los síntomas de la enfermedad de     Huntington.....</b>	<b>249</b>
<b>7. Análisis individual de los pacientes participantes.....</b>	<b>253</b>
<b>8. Posible efecto neuroprotector de los cannabinoides en la Enfermedad de     Huntington.....</b>	<b>286</b>
<b>9. Limitaciones del estudio.....</b>	<b>288</b>
<b>10. Discrepancia en el efecto de fármacos entre modelos animales     y pacientes con enfermedad de Huntington.....</b>	<b>289</b>
<b>11. Futuras líneas de investigación clínica con cannabinoides     en la enfermedad de Hungtinton.....</b>	<b>290</b>
<b>12. Preguntas y respuestas respecto a nuestro ensayo clínico.....</b>	<b>291</b>
<b>VI. CONCLUSIONES.....</b>	<b>295</b>
<b>VII. APÉNDICES.....</b>	<b>299</b>
<b>A. Contrato con el Hospital Ramón y Cajal.....</b>	<b>300</b>
<b>B. Aprobación de la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios         (AEMPS).....</b>	<b>308</b>

<b>C. Aprobación del Comité Ético de Investigación Clínica (CEIC)</b> .....	311
<b>D. Aprobación de la dirección del centro</b> .....	313
<b>E. Registro en la base de datos americana: clinicaltrials.gov</b> .....	314
<b>F. Declaración de Helsinki</b> .....	318
<b>G. Certificado del seguro</b> .....	327
<b>H. Licencia de importación de estupefacientes</b> .....	328
<b>I. mUHDRS</b> .....	330
<b>J. Stroop</b> .....	334
<b>K. Fluidez Verbal-FAS</b> .....	337
<b>L. Fluidez categorial-animales</b> .....	338
<b>M. Goldberg</b> .....	339
<b>N. fUHDRS</b> .....	340
<b>O. cUHDRS</b> .....	342
<b>P. NPI</b> .....	346
<b>Q. HADS</b> .....	347
<b>R. DRS-2</b> .....	349
<b>S. Consentimiento informado general</b> .....	365
<b>T. Consentimiento informado de la punción lumbar</b> .....	375
<b>U. Consentimiento informado de la biopsia de piel</b> .....	377
<b>V. Consentimiento informado de la videofilmación</b> .....	380
<b>VIII. BIBLIOGRAFÍA</b> .....	381



# I. INTRODUCCIÓN

## I. INTRODUCCIÓN.

### 1. ENFERMEDAD DE HUNTINGTON.

#### 1) Definición.

La **enfermedad de Huntington (EH)** es una enfermedad neurodegenerativa de herencia autosómica dominante, que evoluciona de manera progresiva con alteraciones a nivel motor, cognitivo y psiquiátrico (1).

Se trata de una entidad única, en la que destaca un trastorno del movimiento muy característico, llamado corea. El **corea** (derivado del latín *choreus*, que significa “danza” y del griego *choros*, que significa “coro”) se define por movimientos involuntarios, súbitos, irregulares, no sostenidos, sin objetivo, que fluyen de una zona corporal a otra de forma impredecible y no estereotipada. La importancia de esta característica clínica hizo que en principio se conociera la enfermedad como “corea de Huntington”. Sin embargo, como puede haber muchas otras manifestaciones clínicas y el corea incluso puede estar ausente, ahora se prefiere el término de EH (2). Otra característica destacable de esta enfermedad es la **impersistencia motora**, consistente en la incapacidad de mantener una postura o acto concreto. **Otros trastornos del movimiento**, tan invalidantes o más que el corea, son: distonía, mioclonías, tics, parkinsonismo y ataxia con pérdida de reflejos posturales. A **nivel psiquiátrico** la EH puede cursar con depresión y apatía, manía, cuadros psicóticos con delirios, trastorno obsesivo-compulsivo, irritabilidad, rigidez mental, desinhibición y problemas del sueño. El **rasgo cognitivo** más característico de la EH es la disfunción ejecutiva con disminución en la habilidad para la toma de decisiones, la realización de tareas simultáneas y la flexibilidad mental, con defectos en el aprendizaje y la memoria, derivando en una demencia subcortical.



La EH está causada por una expansión inestable de tripletes citosina-adenina-guanina (CAG) en el **gen de la huntingtina (Htt)** (3) en el brazo corto del cromosoma 4. Esta mutación da lugar a una proteína alterada, cuya función es desconocida, aunque se han propuestos múltiples teorías (4,5). La fisiopatología de la enfermedad no es del todo conocida, se ha postulado que la proteína mutada puede ser tóxica para las células nerviosas, produciéndose una degeneración neuronal amplia, con especial afectación del estriado, del tálamo y del córtex cerebral (6).

La EH carece de tratamiento curativo o modificador del curso de la enfermedad en el momento actual, por lo que sólo disponemos de tratamiento sintomático o paliativo (7). Las víctimas de la enfermedad están condenadas a una lenta e inexorable progresión de su enfermedad que finaliza con la muerte 10 ó 20 años tras el inicio de la misma (8).

En este momento disponemos de modelos genéticos animales que nos pueden ayudar a comprender mejor la enfermedad y podrían llevar a la obtención de tratamientos capaces de cambiar el curso de la enfermedad.

## **2) Historia.**

En 1872, George Huntington (1850-1916) (figura I-1) publicó una descripción clínica, concisa pero precisa, de una enfermedad que se transmitía de padres a hijos (9). Con sólo 22 años, al terminar su licenciatura en medicina en la universidad de Columbia, Huntington se fue a trabajar a Ohio. Cuando solicitó su inscripción en el colegio de médicos, le pidieron que diera una presentación de algo que él considerara curioso. Así hizo su contribución a la medicina describiendo la enfermedad que llevaría su nombre y publicando un resumen en la revista *The Medical and Surgical Reporter* (10).



*“Not that I considered it of any great practical importance for you, but merely as a medical curiosity, and as such it may have some interest”*

(No es que lo considere de gran importancia práctica para ustedes, es sólo una curiosidad médica, y como tal, puede tener algún interés).

**Figura I-1. George Huntington.** Obtenida de [http://www.pmdi.org/images/Dr-George-Huntington\\_b.jpg](http://www.pmdi.org/images/Dr-George-Huntington_b.jpg)

Su descripción se basó en la observación de familias con la enfermedad, acompañando a su padre en su práctica clínica como médico rural en East Hampton, en Long Island, Nueva York. Huntington se dio cuenta de la naturaleza hereditaria de esta particular enfermedad, en la que destacaba un trastorno del movimiento, involuntario, caracterizado por la incapacidad para estar quieto o mantener una postura y se acompañaba de movimientos bruscos, irregulares, sin objetivo, que iban de una parte a otra del cuerpo, llamado corea. El término corea fue acuñado por Paracelso (1493-1541). Thomas Sydenham (1624-1689), el médico inglés más importante del siglo XVII, describió la corea reumática, de carácter esporádico y curso estable, con tendencia a la mejoría, no progresiva. Huntington también describió trastornos del equilibrio, pérdida de control emocional, trastornos del comportamiento y pérdida de la memoria y de funciones mentales superiores. Los pacientes que presentaban la enfermedad, casi siempre adultos jóvenes, se deterioraban de forma insidiosa hasta la muerte. Observó la frecuente transmisión de la enfermedad de padres a hijos, sin distinción por el sexo, sin saltarse

generaciones. Cuando el hijo de una persona afecta de la enfermedad, no padecía síntomas a lo largo de toda su vida, su descendencia quedaba libre de la enfermedad. Este patrón de herencia se reconoció, años más tarde, como un patrón de herencia mendeliano autosómico dominante por Osler en 1908 (11). Trabajos más recientes han sugerido que la enfermedad, de los casos que hubo en Nueva Inglaterra, se había gestado en Inglaterra y que, en 1630, un grupo de personas de la zona de Suffolk y Essex, en Inglaterra, embarcaron rumbo a Salem, Massachusetts y se asentaron en Long Island. Algunas de estas familias desarrollaron la enfermedad descrita por Huntington (12).

En el siglo XVIII, llegaban hasta los confines del Lago Maracaibo, en el estado de Zulia, en Venezuela, barcos procedentes de Hamburgo. En uno de ellos, viajaba el marinero español Antonio Justo Doria, cuya conducta licenciosa hizo que fuera abandonado en tierra. Los hechos posteriores vinieron a demostrar que el marinero era portador del gen de la EH y tanto él como sus descendientes fueron enormemente prolíficos. Se originó así el foco geográfico de EH más extenso jamás conocido (13). Hay constancia de pacientes con la enfermedad en la zona desde 1800. En 1991 se superaban los 7000 miembros, con unos 100 individuos afectados y vivos. Además todos los pacientes procedían de una misma mutación y no habían recibido medicación alguna, de modo que podía estudiarse la evolución natural de la enfermedad. El neurólogo Américo Negrette viajó al foco del lago Maracaibo donde describió una detallada historia clínica de numerosos pacientes y familias portadores de la enfermedad. Sus investigaciones fueron completamente costeadas a sus expensas. El gobierno venezolano interpretó el foco como un ejemplo de “manía danzadora”, una forma de histeria en masa, desentendiéndose del asunto (14,15).

El descubrimiento del foco venezolano tuvo un inmenso valor científico. Avila-Girón lo dio a conocer en 1973 (16). A partir de 1981, Ira Shoulson, Anne Young y John Penny, con financiación de la *Hereditary Disease Foundation* (controlada y dirigida por Nancy Wexler), organizaron viajes anuales para observar la historia natural de la enfermedad. Fue en esta población sobre la que Gusella y todo su grupo, en el año 1983, localizaron el gen de la enfermedad en el cromosoma 4, con cierta fortuna. Utilizaron una técnica llamada RFLP (restriction fragment length polymorphism), que consiste en la fragmentación del ADN mediante enzimas de restricción y posterior separación de los fragmentos, según el tamaño, mediante electroforesis en gel (17). Desde la localización del gen hasta su identificación pasaron 10 años. En 1993, el mismo grupo de Gusella, clonó con éxito la mutación IT15 (interesting transcript 15), encontrando que la mutación responsable de la enfermedad consistía en un aumento de repeticiones de tripletes CAG.

Se conocen algunos personajes célebre que han presentado la EH. Entre ellos destaca Woody Guthrie, célebre cantante de folk americano, cuya esposa, Marjorie Guthrie (figura I-2), ha sido la responsable de la puesta en marcha de organizaciones de pacientes, propulsando la investigación y la asistencia de estos enfermos.



Figura 1-2. Woody y Marjorie Guthrie. Obtenida de <http://memory.loc.gov/ammem/wwghtml/images/wandmarjorie.jpg>

### 3) Epidemiología y distribución geográfica.

La EH es una enfermedad de distribución mundial. La prevalencia es mayor en la población de origen caucásico de ascendencia europea occidental, en la que se encuentran afectos, según datos de 1992, 4-7 personas por 100.000 habitantes (18), aunque, como veremos, datos más recientes aumentan estas cifras. La prevalencia es relativamente consistente en toda Europa y en otras regiones del mundo donde hay población de ascendencia europea occidental, con excepción de Finlandia, donde la prevalencia es mucho más baja (19). Los grandes estudios epidemiológicos en

Norteamérica aportaron cifras de prevalencia entre 4 y 8 casos por 100.000 habitantes (20). En España, los estudios epidemiológicos realizados, muestran diferentes cifras de prevalencia: en Cádiz en el año 1970 se objetivó una prevalencia de 1,7 casos por 100.000 habitantes (21); en Salamanca la prevalencia fue de 8,5 casos por 100.000 habitantes en el año 1985 (22); en Valencia se publicó una prevalencia de 8,5 casos por 100.000 habitantes en 1997 (23). En otras partes del mundo, como Japón, China o países de raza negra, parece ser una enfermedad menos frecuente (24), se han estimado cifras de prevalencia de EH en Japón entre 0,11 y 0,45 por 100.000 habitantes (25). Las mayores tasas de prevalencia se dan en la región del lago Maracaibo de Venezuela y en la región de Moray Firth de Escocia, debido al efecto “fundador”.

Sin embargo, la prevalencia obtenida en los diferentes estudios, se refiere a pacientes con manifestaciones clínicas. Se calcula que la frecuencia del gen mutado en la población es 2,5-3 veces superior, ya que la EH se manifiesta típicamente en la edad media de la vida y, por tanto, en cualquier momento dado, dos tercios de los portadores del gen mutado todavía no han desarrollado síntomas (26).

Mucho más escasos son los estudios realizados para conocer la incidencia de la EH. En la zona del País Vasco y Navarra, en el 2005 se realizó un estudio en que se aportaba una incidencia de 4,7 pacientes por millón de habitantes y año (26). Un estudio realizado en Reino Unido en el año 2008 aporta una incidencia de 0,8 por 100.000 habitantes y año (27).

Se cree que la mutación del gen de la EH se produjo de manera independiente en múltiples localizaciones y que su distribución es desigual debido al efecto fundador (28–30), aunque estudios recientes sugieren que las mutaciones “de novo” siguen produciéndose. Es posible que esta mutagénesis esté favorecida en sujetos con determinados haplotipos (31).

No se han estudiado datos sobre el consumo de recursos socio-sanitarios o las implicaciones económicas atribuidas a esta enfermedad. Al tratarse de una enfermedad muy incapacitante que afecta a personas en la edad media de la vida, llevando a la muerte a los pacientes en unos 20 años, se estima que el impacto económico es alto. Nosotros hemos calculado, utilizando datos de otras enfermedades similares, que los gastos socio-sanitarios producidos, por cada paciente durante toda su vida, es de alrededor de  $1 \times 10^6$  €.

#### **4) Historia natural.**

La historia natural de la EH es extremadamente variable en lo que se refiere a la edad de inicio, el tipo de manifestaciones clínicas y la velocidad de la progresión. Averiguar con precisión el momento en el que empiezan los signos o síntomas de la enfermedad, entraña una gran dificultad, ya que pueden no ser reconocidos durante mucho tiempo. Muchas veces los primeros síntomas son cambios sutiles de comportamiento, depresión o leves trastornos del movimiento, que son confundidos por pacientes, familiares y médicos como alteraciones no patológicas de la normalidad. Se define como la edad de inicio, en la mayoría de trabajos, la edad en la que aparece la más mínima manifestación definida como anomalía, fuera de lo claramente natural, recogida por un testigo fiable.

Diversos estudios han detectado diferencias entre portadores asintomáticos de la mutación y controles (32). En un estudio observacional reciente, se demuestra que ya puede haber alteraciones significativas en los pacientes con la mutación pero asintomáticos, como menor peso o menores puntuaciones en las pruebas cognitivas (33). Sin embargo, existe consenso sobre el hecho de que el diagnóstico de la enfermedad sólo debe realizarse cuando los síntomas están suficientemente desarrollados y son

específicos de la enfermedad, por lo que los portadores asintomáticos del defecto genético no deben ser catalogados como enfermos.

La edad de comienzo viene determinada en un 60% por la expansión de la repetición CAG en el gen de la Htt. Se ha demostrado la existencia de una correlación significativa entre el número de repeticiones CAG y la edad de comienzo (34–37). Así pues, la gravedad de la enfermedad y la edad de comienzo parecen ir en relación con el número de tripletes expandidos, siendo más grave y de inicio más temprano cuanto mayor sea el número de repeticiones (figura I-3). En un reciente trabajo publicado por nuestro grupo, se observó que los sujetos en cuyas familias no se habían identificado progenitores afectados por la enfermedad, tenían una edad de inicio de los síntomas entre 7 y 9 años más tarde de lo que les correspondía según el número de repeticiones CAG. Esto indica que la enfermedad se identifica tanto más pronto cuanto mayor atención se le presta, bien por parte del paciente y la familia como por parte de los médicos (38).



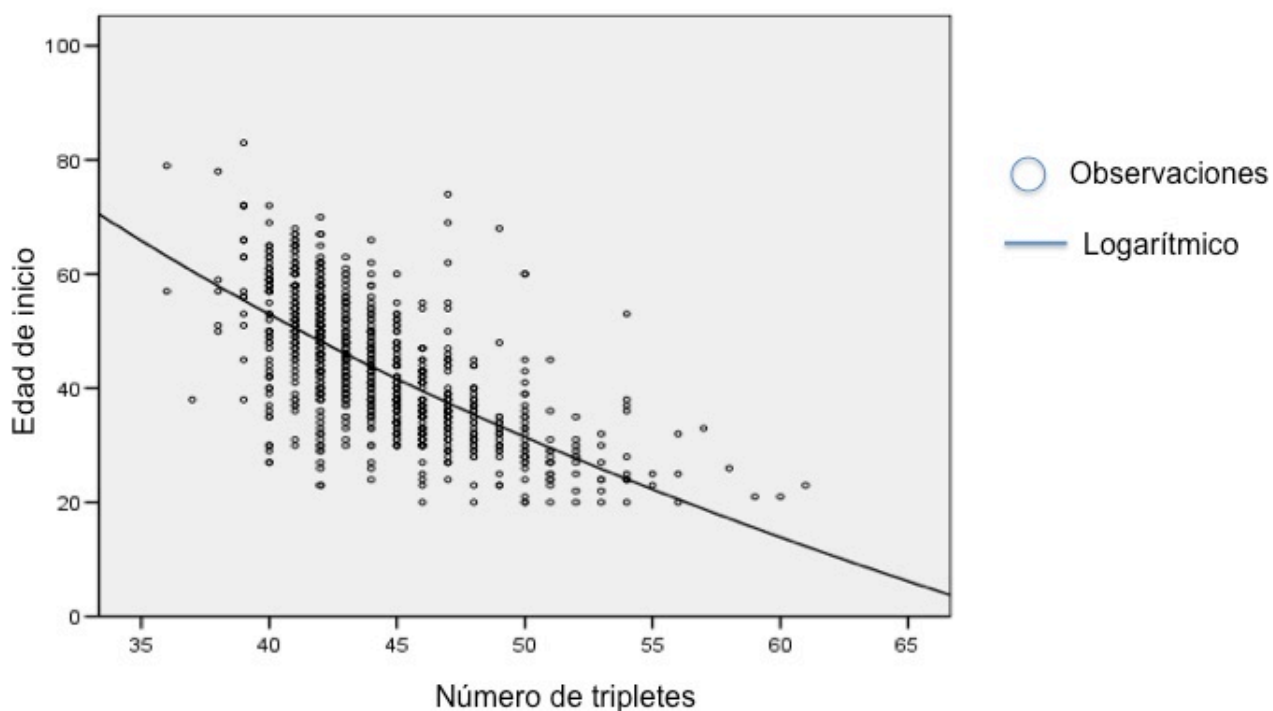


Figura I-3. Relación entre edad de inicio y número de repeticiones CAG. Modificado de Lee et al (39).

El resto de factores responsables de la gravedad clínica y la edad de comienzo, son otros factores genéticos y ambientales. La expresión del gen de la Htt puede estar regulada por otros genes. Se han identificado varios modificadores, aunque cada uno de ellos sólo explica una pequeña varianza adicional a la edad de inicio. Se ha demostrado que el alelo normal polimorfo tiene un efecto moderado aunque sólo en las grandes expansiones que van desde 47 a 83 repeticiones (40,41). Incluso mayor importancia, parecen tener los factores ambientales (42,43). Esto coincide con la observación de que el enriquecimiento ambiental mejora los síntomas motores y evita la pérdida de peso corporal de ratones transgénicos como los R6/1 (44). Otro hecho que apoya la intervención de los factores ambientales es que la edad de comienzo de la enfermedad

puede ser diferente en gemelos monocigotos (45). También se ha demostrado el efecto beneficioso de la educación en los pacientes con EH (38).

La mayor parte de los autores refieren edades para el comienzo de los síntomas entre la tercera y la cuarta década de la vida. Además, todos los estudios suelen ser coincidentes en que la edad media de muerte se sitúa entre 15 y 20 años después (8,23,46–48).

La importancia de la edad de inicio de la enfermedad es que existen diferencias clínicas en relación con la edad de comienzo de los síntomas:

- **Enfermedad de Huntington juvenil (EHJ):** A las formas de EH de comienzo antes de los 21 años se les denomina EHJ. Supone aproximadamente el 10% de todo los pacientes con EH (18,49). La transmisión de la enfermedad ocurre por vía paterna en el 90% de los casos y el número de repeticiones CAG es superior a 60, incluso por encima de 80 repeticiones (37,50). Entre las características clínicas de este grupo, destaca la presencia de rigidez, distonía, crisis convulsivas, deterioro cognitivo precoz y grave, depresión y psicosis, con ausencia de corea o es mínimo. En cuanto al deterioro cognitivo, como se explica más adelante, a pesar de la mayor repercusión funcional en esta forma clínica, el rendimiento en las evaluaciones neuropsicológicas está mejor preservado que en otras formas clínicas. Aun así, se trata de una forma de la enfermedad mucho más grave, con un curso clínico maligno y mucho más acelerado que la forma clásica (51).
- **Enfermedad de Huntington senil o tardía:** Forma de EH que aparece después de los 60 años, aunque algunos autores sugieren que la edad límite sea 55 años. Supone aproximadamente otro 10% de todos los pacientes con EH (23,48). El

número de repeticiones CAG suele ser bajo, generalmente inferior a 42. En este grupo el síntoma principal es el corea, con práctica ausencia de otros trastornos del movimiento o deterioro cognitivo con repercusión funcional, aunque en las evaluaciones neuropsicológicas sí se objetiva deterioro cognitivo, sobre todo con déficits en tareas visuoespaciales. También puede haber alteraciones psiquiátricas como desinhibición, incluso con exhibicionismo y abusos sexuales. Aun así, es una forma más benigna de la enfermedad.

Durante la evolución de la **EH clásica**, es decir, la de inicio en la edad adulta, se distinguen 3 estadios:

- Estadio 1 o fase inicial: Suele ocurrir en los primeros 10 años desde el diagnóstico de la enfermedad. Suelen presentar alteraciones motoras, de las que el corea es el síntoma más importante, aunque no el más incapacitante, y alteraciones psiquiátricas como depresión, impulsividad o agresividad, que son mucho más incapacitantes. Se trata de una etapa relativamente estable en cuanto a progresión. El paciente suele mantener y realizar todas las actividades de la vida diaria y puede mantener un trabajo con complejidad física y responsabilidad.
- Estadio 2 o fase intermedia: La discapacidad física es más importante. El corea es más marcado y aparecen otros trastornos del movimiento mucho más incapacitantes como la bradicinesia, la distonía o las mioclonías. Persisten las alteraciones psiquiátricas de la fase previa, pero se añade el deterioro cognitivo, con disminución para la capacidad de tomar decisiones y

de organización. Aumenta de forma progresiva la dependencia para las actividades de la vida diaria y cada vez es mayor la carga familiar física y psicológica.

- Estadio 3 o fase final: Etapa de larga y completa dependencia de la familia y del entorno social del paciente. Persisten trastornos motores graves y generalizados, con discapacidad física total. Progresiva el deterioro cognitivo hasta una demencia grave.

La muerte del paciente se suele deber a la combinación de inmovilidad, pérdida de peso, tendencia a realizar aspiraciones bronquiales y la debilidad general, que dejan al paciente muy vulnerable a otras enfermedades. En la mayor parte de trabajos, se menciona como principal causa de muerte la presencia de infección tipo neumonía, seguido de problemas cardiovasculares, en menor proporción el suicidio y por último otras causas como el cáncer (52,53).

### **5) Características clínicas.**

En la **forma clásica de la EH**, los signos iniciales de la enfermedad son inquietud general, descuido de la higiene, alteración del sueño, cambios del comportamiento, ansiedad y depresión. Después se desarrollan los signos motores, que pueden estar presentes desde el principio, que consisten en movimientos involuntarios. Es interesante constatar que los pacientes no son conscientes a menudo de sus dificultades y no se consideran enfermos. En general, los sujetos son más conscientes de sus cambios de estado de ánimo que de los trastornos del movimiento. Con la evolución de la enfermedad, se añaden alteraciones del equilibrio con ataxia de la marcha y aparecen

bradicinesia y rigidez, que simulan una enfermedad de Parkinson. Los movimientos oculares son siempre anormales (54), la hiperreflexia es constante y siempre hay pérdida de peso. Las alteraciones cognitivas están siempre presentes en mayor o menor medida. Los estudios neuropsicológicos pueden detectar disfunciones cognitivas incluso antes de que aparezcan los primeros síntomas de la enfermedad (55).

Así pues, en la EH se presentan multitud de síntomas de diferente índole en diferentes momentos. Para su mejor caracterización, los vamos a clasificar en: síntomas motores, alteraciones psiquiátricas, alteraciones cognitivas y otras alteraciones.

### 1. Síntomas motores.

Son los síntomas más característicos y se reconocen con mayor facilidad en la mayor parte de las ocasiones. La EH es, quizás, una de las enfermedades neurológicas con más variada expresividad motora, que abarca todo el espectro de trastornos del movimiento hiperkinéticos e hipocinéticos.

- a. **Corea:** Es el elemento típico de la EH desde un punto de vista estético, pero ni mucho menos es el más invalidante y, posiblemente, tampoco es el más frecuente. Se caracteriza por la presencia de **movimientos involuntarios fluctuantes, arrítmicos, impredecibles, de amplitud y velocidad variable, sin objetivo, no sostenidos, que aparecen en cualquier área corporal y parecen fluir de una parte a otra del cuerpo** (1,56). Inicialmente pueden tener apariencia pseudointencionada, ya que el paciente es capaz de “enmascararlo” en movimientos voluntarios e incluso inhibirlo parcialmente. La impresión para el observador es un aumento de movimientos aparentemente normales, tales como aumento en la gesticulación, muecas faciales, parpadeo excesivo o mordedura de

los labios entre otros, con sensación de intranquilidad. Al avanzar la enfermedad, los movimientos se hacen más evidentes, se pueden generalizar a todas las partes del cuerpo, y aumentan de amplitud y de frecuencia. A veces, el corea es realmente grave e interfiere seriamente en la capacidad funcional general e incluso en la marcha, pero en general, la incapacidad funcional está más relacionada con otras discinesias y con la ataxia que con el corea. El corea se modifica de manera apreciable a lo largo de la evolución de la enfermedad, comienza de forma gradual, es máximo en estadios intermedios y tiende a remitir en etapas avanzadas, cuando es sustituido por otras discinesias, la bradicinesia y el un síndrome acinético-rígido.

- b. **Distonía:** Es muy frecuente en la EH, incluso, según algunos estudios, hasta el 95% de los pacientes presentan distonía en algún momento de su evolución (57). Por tanto, podría ser la discinesia más frecuente, aunque muchas veces es leve y pasa desapercibida entre otras discinesias. La distonía se define como **movimientos de contracción simultánea de músculos antagonistas de forma sostenida, que frecuentemente producen torsión y movimientos repetitivos o posturas anormales** (58). La distonía progresa con el paso del tiempo, tiende a sustituir al corea, y puede llegar a causar dolor y discapacidad. La edad de inicio temprana de la EH, la duración más larga y el uso crónico de tratamiento antidopaminérgico, son los factores relacionados con una mayor gravedad de la distonía en la EH (59).
- c. **Mioclónías:** Discinesia mucho menos frecuente que el corea o la distonía, pero su presencia, especialmente si es masiva, no pasa desapercibida. Es bastante

típico de la EH juvenil y, a veces, es el síntoma inicial de esta variedad, incluso ocasionalmente el síntoma predominante (1,60,61). Se define como **movimientos involuntarios, repentinos y breves (casi siempre de menos de 100 milisegundos), descritos como sacudidas, producidos por contracciones o inhibiciones musculares** (62). Con frecuencia, la mioclonía se asocia al corea, siendo difícil separar con precisión cuándo acaba uno y comienza el otro, siendo por tanto, indistinguible. La mioclonía es el trastorno del movimiento más invalidante, ya que suele hacer caer objetos e impide realizar acciones, algo inusual en otros trastornos del movimiento como el corea. Siempre requiere tratamiento.

- d. **Tics:** Discinesia habitual en la EH, sólo por detrás de la distonía y el corea en lo que se refiere a frecuencia (63,64). Ocasionalmente, los tics son predominantes en la EH y el aspecto clínico es muy similar al encontrado en el síndrome de Guilles de la Tourette (64). Se definen como **movimientos relativamente breves e intermitentes (tics motores) o sonidos (tics vocales o fónicos), que suelen ser repentinos, bruscos y transitorios, con frecuencia repetitivos y estereotipados, que pueden semejarse a gestos normales. Suelen ser suprimibles de manera parcial o total y se preceden de una sensación creciente de ansiedad, que desaparece al realizarlos** (65). En la EH, los tics vocales son los más frecuentes, especialmente en la variante clásica (63). Los tics motores pueden ser fenómenos parecidos al corea, pero no suelen confundir a neurólogos bien entrenados.

- e. **Síndrome acinético-rígido:** La inmensa mayoría de los pacientes con EH presentan bradicinesia (66,67). El síndrome acinético-rígido se caracteriza por **acinesia y rigidez. La acinesia incluye la disminución del movimiento espontáneo (hipocinesia) y la lentitud de los movimientos voluntarios (bradicinesia). La rigidez es un exceso de tono muscular en reposo. Además se suele acompañar de la pérdida de reflejos posturales** (56). El temblor en reposo, la postura en flexión y la “congelación” o bloqueos de la marcha, son los otros síntomas motores cardinales del síndrome acinético-rígido, menos frecuentes en la EH. Este síndrome, en la EH, se suele manifestar como alteración en la maniobra de la “pinza” y en la realización de movimientos alternantes rápidos y secuenciales. El empleo de pruebas cronometradas sencillas permite comprobar que los pacientes con EH son más lentos que los controles, incluso más lentos que un grupo de pacientes con enfermedad de Parkinson (67,68). El síndrome acinético-rígido supone una grave incapacidad funcional en los pacientes con EH (66–68). Estos síntomas son más frecuentes en las fases avanzadas y en la variante juvenil. Además, este síndrome se puede ver claramente agravado con el uso de neurolépticos y puede responder a la medicación utilizada para la enfermedad de Parkinson (69). La causa del síndrome acinético-rígido en la EH no es bien conocida, aunque se sabe que los niveles de ácido homovanílico, un metabolito derivado de la dopamina, se encuentran consistentemente disminuidos, tanto respecto a controles como respecto a pacientes con enfermedad de Parkinson (70).
- f. **Alteraciones de la motilidad ocular:** Los pacientes con EH presentan prácticamente siempre alteraciones en los movimientos oculares (54). Aparecen



de forma precoz y empeoran progresivamente. Según algunos autores son el signo más precoz del inicio de la enfermedad, pudiendo estar presente incluso en pacientes presintomáticos (71,72). Los pacientes tienen **dificultades para iniciar los movimientos sacádicos, tanto horizontales como verticales, que tienden a ser hipométricos, lentos y con latencia retrasada**. Conforme la alteración avanza, el movimiento ocular se enlentece aún más y se asocia a movimientos cefálicos y parpadeo para iniciar los movimientos sacádicos. En las fases finales de la enfermedad puede haber una oftalmoparesia global.

- g. **Alteraciones de la marcha:** Las alteraciones de la marcha y las consecuentes caídas son muy frecuentes en la EH. Son de **origen multifactorial**, interviniendo el corea, que puede aumentar la variabilidad de las zancadas y alterar la sincronía del movimiento, la bradicinesia, que produce lentitud, disminución del braceo y de la altura alcanzada por los brazos en el braceo. Además se alteran los reflejos posturales y se produce una auténtica ataxia, con aumento de la base de sustentación. A todo esto se añaden otros problemas no motores, como la pérdida de introspección, la impulsividad o la inatención (73).
- h. **Otras alteraciones motoras:** La **hiperreflexia** es constante, con reflejos plantares habitualmente flexores, y puede presentarse en forma de reflejo suspendido o colgado, característico de la enfermedad, especialmente a nivel rotuliano. Un hallazgo muy típico es la **impersistencia motora**, que consiste en la incapacidad para mantener una actividad voluntaria a un nivel constante. Puede evidenciarse en la dificultad para mantener una presión constante durante un apretón de manos (signo del ordeño) o por la dificultad para mantener la lengua

protruida. La **disartria** es otro síntoma frecuente y puede ser relativamente precoz, que suele progresar hasta convertirse en anartria en fases avanzadas de la enfermedad. Suele ser de etiología mixta, aparentando ocasionalmente una auténtica disartria cerebelosa. También es común la **disfagia**, que suele aparecer en fases intermedias de la enfermedad, como consecuencia de la incoordinación en los movimientos deglutorios, de los movimientos coreicos bucolinguofaciales y, en ocasiones, por una actitud compulsiva hacia la comida que puede condicionar una deglución rápida sin masticación previa. En fases avanzadas de la enfermedad, el riesgo de broncoaspiración puede ser alto, precisando en muchos casos nutrición gastroenteral (1).

## 2. Alteraciones psiquiátricas.

Las alteraciones psiquiátricas en la EH pueden llegar a ser tan invalidantes o más que los síntomas motores, y repercuten especialmente en el entorno familiar y laboral. En algunos casos se pueden dar incluso conductas delictivas y abuso de sustancias tóxicas. Además, es necesario tener en cuenta que este tipo de síntomas puede preceder a la sintomatología motora en varios años. La tasa estimada de prevalencia de síntomas psiquiátricos en pacientes con EH varía entre un 33% y un 76% (74) y la prevalencia longitudinal es mucho más elevada (75).

- a. **Depresión:** La prevalencia de la depresión en la EH es elevada, en torno al 30-40% (76,77). Los síntomas pueden ser idénticos a la depresión de la población general. Los mecanismos neuropatológicos son desconocidos, entre ellos parece que puede contribuir la reacción del sujeto a la enfermedad. Sin embargo, los cuadros de depresión pueden preceder varios años a los síntomas motores y, por

tanto, al diagnóstico (76). Los síntomas depresivos hacen que exista un **aumento notable en la tasa de suicidios en los enfermos con EH**, que es 4 a 6 veces superior a la población general, lo que supone una tasa de suicidios del 5,7% (78) con una incidencia de entre el 0,5% y el 1% pacientes/año (79), aunque los datos que disponemos son muy antiguos. Además, no todos los estudios confirman estos datos, ya que aunque en jóvenes sí parecen reales, no está tan claro en edad avanzada. Se han sugerido dos periodos críticos en la evolución de la enfermedad con un mayor riesgo de suicidio. El primer periodo es inmediatamente anterior a recibir el diagnóstico definitivo de la enfermedad, cuando el paciente puede presentar mayor incertidumbre ante su futuro. El segundo periodo de riesgo es en el estadio 2 de la enfermedad, cuando el paciente ve limitada su independencia progresivamente (80).

- b. **Manía:** La manía y el síndrome bipolar tienen una prevalencia de vida de un 5%-10% en la EH (47,81). Los pacientes con EH pueden presentar un estado de ánimo exaltado o irritable, impulsividad, incremento de la actividad diaria, hipersexualidad, disminución de la necesidad de sueño y una autoestima exagerada. Algunos pacientes pueden desarrollar incluso un trastorno bipolar clásico, alternando fases de manía con otras fases de depresión. En ocasiones, el episodio maniaco puede ser la primera manifestación de la enfermedad.
  
- c. **Trastorno psicótico:** Los delirios se han descrito hasta en un 11% de los pacientes con EH y las alucinaciones en un 2%, utilizando el inventario neuropsiquiátrico (NPI). La prevalencia de vida de esquizofrenia en la EH se estima en un 9%. Sin embargo, la presencia de rasgos psicóticos puede

observarse hasta en un 30% de los pacientes (76). El cuadro psicótico más frecuente en la EH es un cuadro paranoico escasamente estructurado con ideas sobrevaloradas, que se acompaña de agresividad, irritabilidad y un escaso control de impulsos, delirios aislados y estados psicóticos que asemejan diferentes tipos de esquizofrenia. Suele ser más frecuente en pacientes con comienzo temprano de la enfermedad, adultos jóvenes, y se puede desencadenar por el consumo de algunos tóxicos, entre ellos los cannabinoides de uso ilícito. Generalmente, los síntomas psicóticos aparecen en la fase temprana de la enfermedad y disminuyen a lo largo de los años, a medida que el deterioro cognitivo es más frecuente.

- d. **Conductas obsesivas:** Los comportamientos y el lenguaje repetitivos, la inflexibilidad, la perseverancia y la preocupación por temas irrelevantes, son características frecuentes en la EH. No es inusual la aparición de pensamientos obsesivos y comportamientos compulsivos a lo largo del curso evolutivo de la enfermedad. Muchos portadores de la enfermedad experimentan cambios de personalidad con inflexibilidad mental en etapas tempranas de la enfermedad (82). En una serie de enfermos con EH se describió la existencia de síntomas obsesivo-compulsivos en un 22,3% de los pacientes tras su primera visita (83).
- e. **Apatía:** Es un síntoma frecuente en la EH, que no es sinónimo de depresión. Es el único síntoma psiquiátrico que parece estar relacionado directamente con la progresión de la enfermedad (75,82). La apatía se relaciona con el empeoramiento de la capacidad funcional de realizar las tareas de la vida diaria. Una vez presente, tiende a persistir o empeorar (84). La apatía se define como la

reducción cuantitativa de conductas voluntarias autogeneradas y con un propósito (85).

- f. **Otros síntomas psiquiátricos:** La **irritabilidad** puede oscilar desde una mera dificultad para tratar con los demás hasta una actitud agresiva caracterizada por una disminución en el control de impulsos, pudiendo emitir insultos verbales o incluso llegando a agredir físicamente a otras personas. Ocurre en la mayor parte de los pacientes y suele preceder a la aparición de síntomas motores (86). Según diferentes estudios, la prevalencia varía entre un 38 y un 73% (87,88). Es común la **perseveración**, que se define como la tendencia patológica a continuar, mantener o repetir una determinada actividad, sin que ello se deba a motivos fisiológicos o mecánicos, según la Real Academia Española. En la EH se manifiesta como rigidez mental y es frecuente que se formen ideas fijas, difíciles de modificar.

### 3. Alteraciones cognitivas.

Las alteraciones cognitivas están siempre presentes en mayor o menor medida. Los estudios neuropsicológicos pueden detectar disfunciones cognitivas incluso antes de que aparezcan los primeros síntomas de la enfermedad (33,55). En un principio, las alteraciones cognitivas son limitadas pero, con la evolución de la enfermedad, progresan afectando múltiples funciones intelectuales y producen un deterioro de la capacidad funcional que justifica el diagnóstico de demencia. La demencia asociada a la EH se describió hace años como una demencia frontal-subcortical, que se manifiesta como dificultad para activar procesos cognitivos, incluyendo enlentecimiento psicomotor (bradifrenia), deterioro de la memoria con mayor dificultad para la recuperación de la

información que para la fijación y alteración de la capacidad para solucionar problemas complejos junto a dificultad para el manejo del conocimiento adquirido(89). Destaca la ausencia de déficits afaso-agrafo-agnósicos en fases iniciales, característicos de la demencia cortical. Sin embargo, en la EH también hay abundantes signos de disfunción cortical, sobre todo en estadios finales.

En cuanto a la gravedad del deterioro cognitivo en pacientes con EH según la edad de inicio, los pacientes con EH de inicio juvenil tienen un rendimiento bastante mejor preservado que los pacientes con EH de inicio en edad adulta o senil. Los pacientes de inicio en edad senil, a pesar de su buena capacidad funcional, tienen un deterioro cognitivo importante donde destacan los déficits en tareas visuoespaciales. Los pacientes con inicio de la enfermedad en la edad adulta típica, muestran el peor funcionamiento cognitivo posible (90).

Los principales síntomas cognitivos son los siguientes:

- a. **Disfunción del córtex frontal:** Se especula que se puede deber a la pérdida de la influencia moduladora del estriado, junto a la enorme pérdida de neuronas de la corteza frontal. Esto explica el perfil de deterioro cognitivo frontal-subcortical descrito previamente, con relativa preservación de las praxias, el lenguaje y las gnosias hasta estadios finales de la enfermedad.
- b. **Disfunción ejecutiva:** Es el síntoma cognitivo más frecuente. Los pacientes se vuelven apáticos, irritables, obsesivos y perseverantes. Aparece en fases iniciales y conlleva dificultades para la planificación, razonamiento, organización y flexibilidad mental, que condiciona la toma de decisiones, la resolución de problemas y la organización de actividades planificadas.

- c. **Alteraciones visuoespaciales y visuoperceptivas:** También son frecuentes en la EH, en parte mediadas por las alteraciones motoras. Se produce una disminución de la capacidad de procesamiento visuoespacial, del sentido de la dirección y de la habilidad de la manipulación. Es característico el defecto en el juicio espacial centrado en la persona, con dificultad para calcular distancias y la relación de sus cuerpos con los objetos.
- d. **Alteraciones del aprendizaje y la memoria:** Se han detectado defectos en el aprendizaje y en la memoria, ya en etapas precoces de la enfermedad (33). Las alteraciones de la memoria se deben a un defecto en la codificación y recuperación de la información. De esta forma, los pacientes presentan dificultades para el aprendizaje de información nueva y el recuerdo libre, mejorando sensiblemente utilizando claves de recuerdo.
- e. **Trastornos del lenguaje:** Son frecuentes y consisten en la disminución en la fluencia verbal, en la complejidad sintáctica y en la prosodia. El lenguaje empeora progresivamente con la evolución de la enfermedad, apareciendo perseveraciones y elementos afásicos. Se ha observado una disminución de fluidez verbal, tanto en la conversación espontánea como en la enumeración de términos bajo una consigna fonética o semántica, así como una disminución en la complejidad sintáctica con tendencia a la simplificación del lenguaje (91,92). Estos trastornos, junto a la disartria, dificulta en gran medida la comunicación. En las etapas finales, los pacientes se encuentran en un estado de mutismo e incomunicación.

- f. **Pérdida de la capacidad de introspección:** Conlleva un déficit del reconocimiento de las propias limitaciones (93). Esto puede tener implicaciones en la aceptación del tratamiento médico y en la toma de decisiones de asuntos cotidianos, tales como la conducción de vehículos, las finanzas o el desarrollo de la actividad laboral.

#### 4. Otras alteraciones.

Se reúnen aquí otras manifestaciones típicas de la EH, que no se pueden catalogar dentro de los grupos descritos previamente, ya sea porque son independientes o porque abarcan varios grupos a la vez.

- a. **Pérdida de peso:** Se trata de una manifestación muy frecuente, que puede derivar en caquexia en fases avanzadas de la enfermedad. No es bien conocida la causa de la pérdida de peso, aunque parece influir un estado hipermetabólico y las alteraciones psiquiátricas como depresión o apatía. Su progresión parece estar relacionada directamente con el número de repeticiones CAG (94).
- b. **Problemas sexuales:** las alteraciones sexuales más frecuentes en la EH son inhibición del deseo sexual, descrito en un 63% de varones y en un 75% de mujeres con EH y la incapacidad para alcanzar el orgasmo, descrito en el 56% de varones y en el 42% de mujeres con EH. En el otro extremo del espectro, se encuentran la hipersexualidad, las agresiones sexuales, la promiscuidad, el incesto, la exposición indecente y el voyerismo, también descritos en la EH. Estas



actitudes se encuentran favorecidas por la desinhibición, la perseveración y la alteración del juicio, características de la enfermedad (95).

- c. **Problemas del sueño:** Son muy frecuentes en los pacientes con EH. Se deben a una amplia variedad de razones, como la depresión, la falta de estimulación durante el día, el deterioro del ciclo sueño-vigilia y los movimientos involuntarios, que a pesar de que suelen desaparecer durante el sueño, dificultan la conciliación del sueño y volverse a quedar dormido tras un despertar nocturno. Entre las alteraciones del sueño, se incluyen el insomnio, habitualmente de mantenimiento, el síndrome de fase de sueño adelantada, que consiste en acostarse pronto por la noche y despertarse temprano, los movimientos periódicos de las piernas, el trastorno del comportamiento de la fase Rapid Eye Movement (REM) del sueño y la disminución de la fase REM del sueño. Estas alteraciones suelen aparecer en estadios iniciales de la enfermedad, precediendo a los síntomas motores, y progresa con la duración de la enfermedad(96).

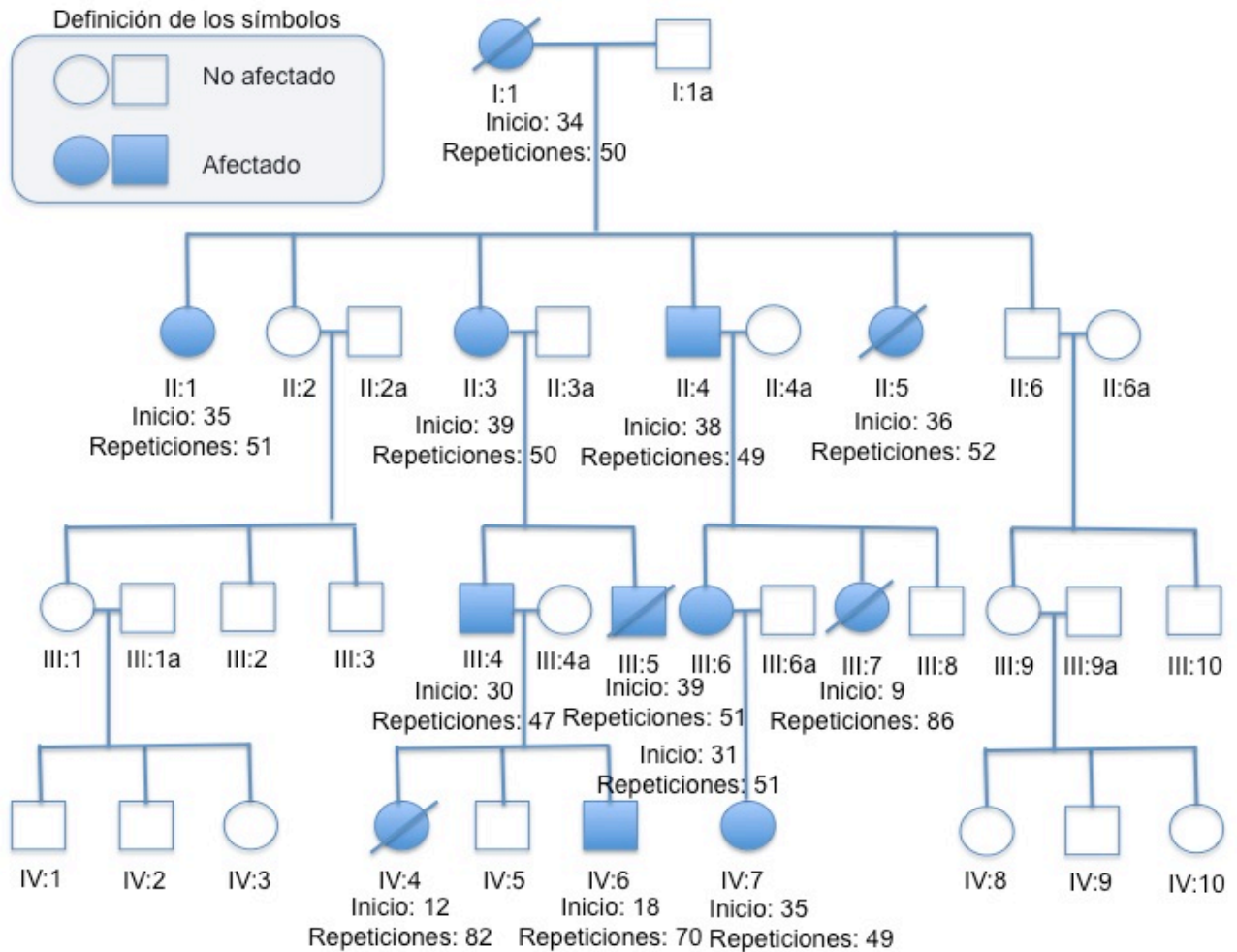
## 6) Genética.

La EH es una enfermedad hereditaria autosómica dominante causada por la expansión de la repetición del trinucleótido CAG en el gen de la Htt situado en el cromosoma 4p16.3. Fue el primer trastorno hereditario cuyo locus se localizó en una región cromosómica mediante una técnica llamada RFLP (ya comentada en el apartado de historia de la EH) y estudios de ligamiento de polimorfismos de distinta longitud producidos por enzimas de restricción con marcadores del ADN. El éxito de la estrategia de clonación posicional permitió finalmente la identificación del gen y de su mutación 10 años más tarde (3).

## 1. Herencia.

La EH es una enfermedad monogénica, que sigue el patrón de herencia mendeliano clásico. La herencia es de transmisión autosómica dominante, por lo que existe una transmisión vertical, es decir, un enfermo siempre tiene un progenitor afectado a excepción de los casos condicionados por mutaciones *de novo*. El riesgo de transmisión es del 50% para ambos sexos indistintamente. La primera descripción de este patrón de herencia, como ya se ha comentado previamente, corresponde a George Huntington (9). Durante un tiempo, se ha considerado la EH como una auténtica enfermedad autosómica dominante en la que los homocigotos se pensaba que no tenían diferencias con los heterocigotos. Sin embargo, un estudio con 8 pacientes homocigotos y 75 heterocigotos, evidenció un curso clínico más grave en los pacientes con ambos genes mutados (97). Esto podría sugerir que la más rápida progresión es consecuencia de un mayor efecto tóxico debido a la duplicación de la proteína mutada y de la formación de agregados.

De manera tradicional se ha considerado que la enfermedad de Huntington es una enfermedad autosómica dominante que se hereda con un patrón de penetrancia completa. Se entiende por penetrancia el porcentaje de individuos portadores de un gen mutado que muestra los síntomas de la enfermedad. Sin embargo, los cambios moleculares que producen esta enfermedad nos obligan a matizar una afirmación tan radical y no sirven de explicación a los fenómenos paradójicos que con frecuencia observamos. La penetrancia depende por tanto de dos parámetros, el tamaño de la mutación y la edad que alcanza el sujeto portador. Así pues, un individuo con un tamaño de la mutación grande, no precisa mucha edad para desarrollar los síntomas de la enfermedad. Del mismo modo, si el tamaño de la mutación es pequeño, el individuo puede no desarrollar nunca los síntomas de la enfermedad, si no vive lo suficiente.



**Figura I-4. Ejemplo de árbol genealógico de una familia con EH, en el que además se evidencia el fenómeno de anticipación genética. Se incluye la edad de inicio y el número de repeticiones. Modificada de Ranen NG et al 1995 (98).**

## 2. Mutación.

El gen de la Htt es de 210 kilobases (kb) de longitud, contiene 67 exones y codifica una proteína de 348 kiloDalton (kDa) llamada Htt. El exón 1 contiene una secuencia repetida de tripletes CAG muy polimórfica, cuyo tamaño varía entre 10 y 30 repeticiones en la población general, siendo los alelos más frecuentes los que contienen entre 15 y 20 repeticiones CAG. En los pacientes con EH, la longitud de esta secuencia está expandida

por encima del umbral de 36 repeticiones en un estado heterocigoto (3). Los sujetos con expansiones entre 31 y 35 repeticiones se encuentran en una zona de incertidumbre. Trabajos más recientes, aumentan el rango de incertidumbre de 27 a 35 repeticiones, definido como alelos intermedios, como se describe más adelante.

La mutación de la EH es una mutación dinámica, que se caracteriza por su naturaleza inestable. Las enfermedades causadas por mutaciones dinámicas, entre otros aspectos, se caracterizan por:

- Fenómeno de anticipación: consiste en que, al pasar a una nueva generación, la expansión inestable tiende a aumentar, y con ello, la edad de inicio de las manifestaciones clínicas tiende a disminuir y la gravedad suele ser mayor.
- El mosaicismo somático y germinal: consecuencia de la inestabilidad mitótica de este tipo de secuencias.
- Existencia de cromosomas fundadores: indica que la enfermedad se ha extendido en la población a partir de uno o pocos sucesos mutacionales ancestrales.
- Alelos intermedios: además de los alelos normales y los patológicos, pueden existir alelos con una longitud intermedia, alelos de riesgo, que constituyen un reservorio de alelos que pueden acabar siendo inestables en generaciones posteriores y, por tanto, patológicos.

Así se explican algunas características de la enfermedad, como la penetrancia, la anticipación, la variabilidad inter e intrageneracionales o la influencia del sexo transmisor en las manifestaciones clínicas. La transmisión paterna se asocia a la máxima inestabilidad por la espermatogénesis.

Según el número de repeticiones del gen HD, se distinguen tres tipos de alelos:

- i. Alelos normales: Son las repeticiones no asociadas a la enfermedad, son polimorfas en la población normal. Contienen entre 10 y 26 repeticiones.
  
- ii. Alelos intermedios: Estos alelos no se asocian a la enfermedad, pero ocasionalmente son proclives a la expansión. Las personas portadoras de estos alelos no desarrollan la enfermedad, pero existe el riesgo de que se expanda la secuencia CAG en sus hijos hasta alcanzar el rango de alelo patológico, transmitiendo la enfermedad. Esto se ha demostrado en las transmisiones paternas (99,100), no en las maternas (101). Contienen entre 27 y 34 repeticiones. Sin embargo, estudios recientes parecen indicar que en sujetos con alelos intermedios pueden tener alteraciones motoras, cognitivas y de comportamiento en comparación con sujetos con alelos normales, sugiriendo una sutil pero relevante manifestación de la enfermedad en estos sujetos (102,103). Incluso se ha demostrado en autopsia la neuropatología de la EH en un paciente con 29 repeticiones CAG (104). Por este motivo hay cierto escepticismo sobre el valor predictivo de los límites de los tripletes.

iii. Alelos patológicos: Las personas portadoras de estos alelos tienen un riesgo alto de desarrollar síntomas de la EH a lo largo de su vida. Contienen 36 o más repeticiones. Los alelos patológicos se clasifican a la vez en dos grupos:

1. Alelos de baja penetrancia: Los portadores pueden no desarrollar síntomas de la enfermedad y, si lo hacen, es en una edad muy avanzada, incluso por encima de la década de los ochenta. Contienen entre 36 y 39 repeticiones.
2. Alelos de penetrancia completa: Condiciona que los portadores, tarde o temprano, desarrollarán signos y síntomas de la enfermedad. Contienen más de 40 repeticiones.

### **3. Correlación entre genotipo y fenotipo.**

Ya se ha comentado en el apartado 1.4 (historia natural de la EH) que la edad de comienzo viene determinada en un 60% por la expansión de la repetición CAG en el gen de la Htt. El número de repeticiones CAG está en correlación inversa con la edad de comienzo de los síntomas de la EH y con la gravedad (34–37). La influencia del número de repeticiones en la sintomatología es llamativamente inferior entre 40 y 50 repeticiones CAG que en aquellas con 50 o más, probablemente por la influencia de factores modificadores también ya comentados, como otros factores genéticos y ambientales.

#### 4. Diagnóstico molecular.

El diagnóstico de la EH debe confirmarse mediante el análisis molecular de la expansión de tripletes CAG en el gen de la Htt. Ya se han comentado los diferentes tipos de alelos según el número de repeticiones. El análisis molecular presenta una sensibilidad y especificidad cercana al 100% cuando el número de repeticiones CAG es 40 o más (28). Sin embargo, estos datos se obtuvieron en Holanda, donde todos los estudios genéticos son realizados en un único centro de referencia. Puede haber cierta variación entre laboratorios, por las limitaciones comentadas más adelante. Estas variaciones pueden incluso considerar afecto a un sujeto sano o viceversa.

La realización del estudio genético debe abordarse con sumo cuidado, sobre todo en los sujetos presintomáticos. La realización del análisis y el consejo genético en la EH requiere un abordaje multidisciplinar en el que debería estar involucrado un equipo que integre, al menos, un neurólogo, un genetista, un psicólogo y un psiquiatra. Puesto que la EH es una enfermedad incurable, no todos los posibles portadores quieren saber si van a padecer la enfermedad, pero también influye el deseo de no transmitir la enfermedad a su descendencia. Esto ocasiona sentimientos contradictorios. Consciente de estas dificultades y problemas, la comunidad científica junto con las asociaciones de pacientes, elaboró unas normas para realizar estos estudios genéticos (105). Se establecieron criterios de inclusión y exclusión para los menores de edad y aquellos pacientes que tuvieran alguna patología psiquiátrica activa en el momento de solicitarlo, aconsejando esperar a que mejoraran o se estabilizaran. Además, desde 2007 está vigente en nuestro país una ley que regula cómo realizar los estudios genéticos (106).

El diagnóstico molecular de la EH tiene algunas limitaciones que deben ser tenidas en consideración:

- La electroforesis en gel de agarosa o acril-amida con marcadores de peso molecular, el método usado con mayor frecuencia para la determinación del tamaño de la expansión CAG, tiene un cierto margen de error en el tamaño de la expansión, hasta el punto de que entre hospitales con bastante experiencia en España y centros de referencia europeos, existe una discrepancia en dos o más tripletes en el 25% de los casos. En algún sujeto, esa diferencia puede cambiar el estatus de sano a afecto o viceversa. Conviene, por tanto, enviar las muestras a un laboratorio que maneje un número alto de muestras al año, aproximadamente más de 50 (107).
- En algunos casos de expansiones relativamente grandes o en los que existe una segunda mutación en la zona de anclaje al ADN genómico del “cebador” que se desea amplificar, puede producirse una deficiente amplificación del alelo expandido y el sujeto ser considerado como homocigoto para dos alelos normales. En estos casos es necesario repetir el análisis con diferentes “cebadores” y realizar un análisis de la segregación de los alelos en la familia para investigar la transmisión de los alelos en distintas generaciones (107).

### **5. Diagnóstico presintomático y consejo genético.**

Antes de realizar un análisis genético, el médico responsable debe informar al posible portador de la probabilidad “a priori” de padecer la enfermedad y de las implicaciones del estudio, tanto para él como para sus familiares. Siempre se debe informar del resultado al posible portador y un acompañante de confianza que el paciente elija, a ser posible no en riesgo de ser también portador de la mutación. En el caso de ser



un paciente con síntomas clínicos, se le debe hacer entender que si se confirma la presencia de la mutación, esto implicaría un riesgo de ser portadores tanto para sus hermanos como para sus hijos. Se debe aconsejar que el paciente y el acompañante comenten los resultados del estudio con los hermanos e hijos mayores de edad, y ofrecerse la posibilidad de informar personalmente a éstos si así lo requieren.

En el caso que se solicite un diagnóstico presintomático, es decir, sujetos asintomáticos con antecedentes familiares (sujetos “en riesgo”) se debe dejar claro que hasta el momento no disponemos de ningún tipo de tratamiento que pueda retrasar o evitar las manifestaciones de la enfermedad, sin embargo, conocer si el sujeto es portador de la mutación, permite evitar intervenciones médicas innecesarias y se pueden mejorar la calidad de vida los pacientes en manos de neurólogos expertos. Además, es de esperar que en los próximos años se produzcan avances importantes. Se debe ofrecer apoyo psicológico que se precise antes y después de recibir el resultado. El diagnóstico presintomático está sujeto a una serie de condiciones éticas y debe realizarse bajo el cumplimiento de una serie de normas internacionales (108). Se deben plantear, además, todas las consecuencias relacionadas con la presencia o ausencia de la mutación, así como las relacionadas con no hacerse el estudio. El resultado del estudio puede cambiar las expectativas del sujeto y tener consecuencias socioeconómicas, por ejemplo, afectando a potenciales empleos o para la tramitación de seguros de vida o de enfermedad.

La decisión de someterse al estudio genético compete exclusivamente al posible portador. La solicitud por parte de terceras personas no debe ser considerada por el médico. Sin embargo, se producen problemas éticos complejos en situaciones en las que el resultado del test tiene repercusión sobre terceras personas. Por ejemplo, una persona que se va a casar con un sujeto “en riesgo”, está embarazada de él o tienen hijos en

común. Estas situaciones plantean un problema difícil. Antes de proceder a la realización del estudio genético, excluyendo circunstancias excepcionales como la presencia de embarazo, debería haber un intervalo mínimo de 1 mes entre la administración de la información y la decisión de realizarse el estudio o no.

Una vez tomada la decisión de continuar con el procedimiento, se recomienda la obtención del consentimiento informado y una valoración psicológica o psiquiátrica para descartar la presencia de alteraciones psiquiátricas que contraindicaran la realización del estudio en ese momento, para tomar las medidas oportunas e informar tras la resolución o estabilización del cuadro psiquiátrico.

El laboratorio que realiza el estudio debe comunicar el resultado al médico responsable, nunca directamente al individuo solicitante. Los resultados deben ser revelados por el médico en persona al solicitante y su acompañante, siendo recomendable concretar una visita de control en el primer mes tras conocer los resultados, para valorar si ha habido repercusión sobre su estado mental o anímico.

El médico responsable no debe dar información del resultado del estudio a terceras personas sin el permiso especificado del solicitante, a menos que haya alguna circunstancia excepcional que impida al individuo manifestarse en un sentido u otro (muerte, coma, alteración de la capacidad de raciocinio, etc.). En estos casos sí se puede informar a los familiares del resultado del estudio. Además, ni el médico responsable ni el laboratorio donde se realiza el estudio, deben establecer contacto con otros familiares en riesgo sin el permiso del solicitante.

No se recomienda la realización del estudio genético en sujetos asintomáticos menores de edad, ya sean hijos naturales o hijos en proceso de adopción. El derecho de las personas a decidir libremente si quieren someterse o no al estudio genético cuando

alcancen la mayoría de edad, prevalece sobre el derecho de los padres a conocer el estatus genéticos de sus hijos.

Cabe resaltar que, los sujetos presintomáticos, a todos los efectos, no deben ser considerados como enfermos. El estudio genético indica si alguien ha heredado o no la mutación, pero no permite el diagnóstico clínico.

## 6. Diagnóstico prenatal y preimplantacional.

Cuando una pareja se plantea tener hijos, y uno de los futuros progenitores tiene el diagnóstico genético de EH, es posible hacer un diagnóstico prenatal o un diagnóstico preimplantacional.

En el caso del **diagnóstico prenatal**, se obtiene una muestra de ADN fetal, bien mediante biopsia corial en las semanas 11-12 de gestación o mediante amniocentesis en las semanas 15-16. Según la legislación actualmente en vigor en España, si el diagnóstico fuera positivo, se podría proceder a la interrupción voluntaria del embarazo hasta la semana 22. En este caso se considera que el derecho de los padres prevalece sobre el de los futuros hijos. No se debe realizar el diagnóstico prenatal si la opción de interrupción voluntaria del embarazo no ha sido considerada por los progenitores. En el caso de conflicto en la pareja, se debe tener en cuenta que es la mujer la que ha de tomar la decisión final.

El **diagnóstico preimplantacional** requiere de técnicas de fertilización asistida. Está indicado en mujeres menores de 48 años, con estudios de fertilidad normales en ambos progenitores. Consiste en realizar la fecundación “in vitro” y seleccionar los embriones sanos antes de la implantación en el útero materno.

## **7) Neuropatología y patogénesis.**

### **1. Neuropatología.**

La EH se caracteriza principalmente por una atrofia progresiva y predominante en el cuerpo estriado y, más concretamente, en el neoestriado. Este núcleo forma parte del sistema de los ganglios basales (GGBB), que tiene como función esencial la planificación y ejecución de las acciones motoras y de las posturas (109). Los GGBB son grandes estructuras subcorticales que constan de varios núcleos interconectados en el prosencéfalo, diencéfalo, mesencéfalo y la protuberancia del tronco cerebral. En la actualidad hay constancia de que los GGBB, además de interactuar con el sistema motor, también interactúan con toda la corteza frontal y el sistema límbico, por ello, intervienen en la función cognitiva y emocional, además de hacerlo en el control motor. Los GGBB comprenden, anatómicamente y fisiológicamente, el caudado, putamen, núcleo accumbens, el núcleo subtalámico (NST), el globo pálido interno (GPi), el globo pálido externo (GPe), la sustancia negra pars compacta (SNpc) y pars reticulada (SNpr), la amígdala y el núcleo pedúnculo pontino. El caudado y el putamen, en conjunto, se les conoce como neoestriado, y frecuentemente se abrevia a estriado (110).

El estriado recibe la mayor parte de las aferencias glutamatérgicas a los GGBB de casi toda la corteza cerebral (111), del hipocampo y de la amígdala (112) y aferencias dopaminérgicas de la SNpc (113). Además, recibe aferencias serotoninérgicas del núcleo del rafe y noradrenérgicas del locus ceruleus (114). Así, existen proyecciones dentro de los circuitos de los GGBB sensitivo-motoras, asociativas y límbicas, con repercusión a nivel motor, cognitivo y emocional, tal y como se observa en los pacientes con EH (115). Toda la información es procesada y enviada en forma de aferencias GABAérgicas al GPi y la SNpr. A su vez, estas estructuras enviarán proyecciones GABAérgicas inhibitorias a núcleos específicos del tálamo (núcleos ventro-mediales), de los que saldrán conexiones

glutamatérgicas excitatorias a zonas de la corteza cerebral que están implicadas en el control de las funciones motoras. Existen por tanto, dos vías estriatales principales que culminan en una acción inhibitoria del tálamo, una directa monosináptica a través del GPi, y otra indirecta, que pasa primero por el GPe y el NST y luego por la SNpr y el GPi, del que saldrá las eferencias hacia el tálamo (ver figura I-5). La función del circuito directo sería facilitar la ejecución de programas motores, inhibiendo elementos no deseados. La función del circuito indirecto sería suprimir la acción del resto de GGBB (ya que el NST tiene un neurotransmisor excitador). Así, la actividad no deseada que acompaña a un determinado acto motor, quedaría controlada, contribuyendo al inicio, realización y finalización del mismo (116).

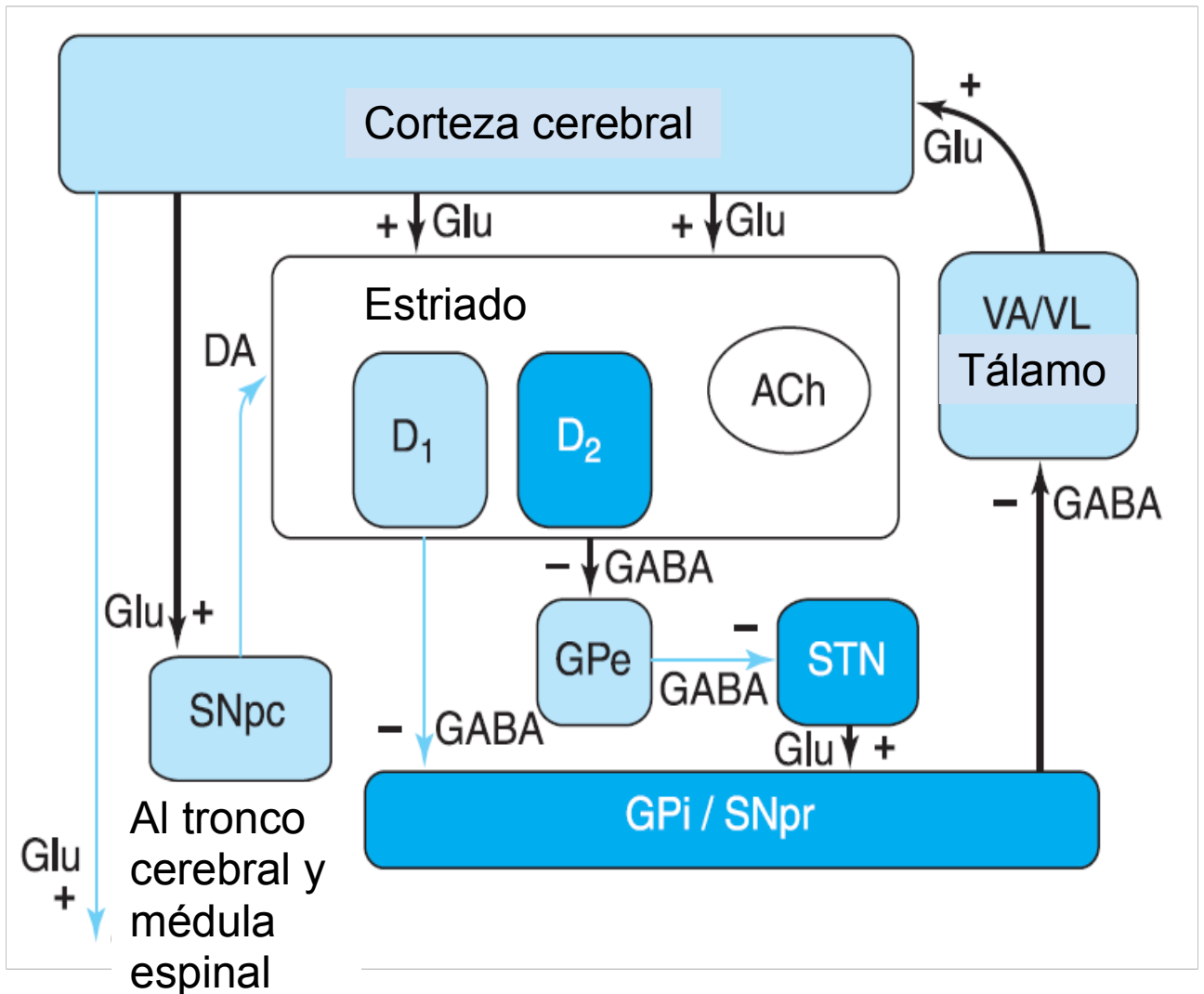


Figura I-5. Circuito de los ganglios basales. Modificado de [uabc.edu.mx/enfermedad-de-parkinson2012/](http://uabc.edu.mx/enfermedad-de-parkinson2012/) 40 células 40 ología-de-la-enfermedad-de-parkinson/ 40 células 40 ología-de-los-ganglios-basales.

Se distinguen dos poblaciones de neuronas en el estriado, utilizando la técnica de Nissl, una de neuronas pequeñas o medianas, que abarcan el 90% del total, y otra de neuronas de gran tamaño, superior a 40 micras, que suponen el 10% restante. Utilizando la técnica de Golgi, permite identificar 5 tipos diferentes de neuronas, que se agrupan en dos grupos según sus características morfológicas: las neuronas espinosas de axón largo

y amplio árbol dendrítico (neuronas de proyección), y las neuronas no espinosas (interneuronas). Las neuronas espinosas de proyección suponen el 80% de las neuronas del estriado y son GABAérgicas. A su vez, estas neuronas se dividen en dos poblaciones, las que expresan encefalina y receptores de dopamina D2 (que forman parte de la vía indirecta de los GGBB) y las que coexpresan sustancia P, dinorfina y receptores de dopamina D1 (que constituyen la vía directa). Estas neuronas espinosas de mediano tamaño son las más vulnerables y las que más se afectan en la EH. Las de la vía indirecta, que expresan receptores D2, son las primeras en degenerar y las responsables de los movimientos coreicos. Las neuronas de la vía directa, que expresan receptores D1, se pierden de forma progresiva y lenta, siendo responsables de la bradicinesia (117–120). Así, se puede dividir la enfermedad en dos estadios, uno inicial, en el cual las neuronas espinosas estriatales que se degeneran son las que expresan receptores D2, afectando a la vía indirecta, y un segundo estadio en el que se degeneran las neuronas que expresan D1, afectando también a la vía directa (116,121,122).

- **Estudio Neuropatológico.**

Al hablar de la neuropatología de la EH, es imprescindible mencionar los trabajos de Vonsattel y cols., que introdujeron un sistema de clasificación de la gravedad anatomopatológica en cerebros post mórtem de pacientes con antecedente clínico de EH. A través del análisis de 163 cerebros de pacientes con EH, establecieron cinco grados (del 0 al 4), basado en parte en la atrofia macroscópica del estriado y en parte en los cambios microscópicos estriatales (123). Hay una importante correlación entre esta graduación con las medidas de progresión clínica determinadas en el último examen clínico antes de la muerte (123–125). Más adelante se describen los cinco grados. Un reciente trabajo del mismo grupo, analiza el cerebro de 523 pacientes con EH,

observando un patrón de atrofia diferente en determinadas áreas del cerebro, en concreto analizan dos grupos de áreas principales, el estriado y la corteza. Observan relaciones diferentes de estas dos áreas con el tamaño de las repeticiones CAG, con la edad de inicio o con el peso del cerebro, sugiriendo que la atrofia de ambas áreas no es paralela. Así, los factores que intervienen en el proceso de neurodegeneración, podrían ser diferentes dependiendo del área cerebral y, conocerlos podría sugerir nuevas vías terapéuticas (126).

- Examen macroscópico (figura I-6).

En el examen externo se observa una atrofia global de predominio frontal, con peso medio inferior a 1100 g (117), que puede llegar a ser de hasta el 20% de su peso normal. La atrofia es cortical y de la sustancia blanca. En los cortes coronales en casi todos los casos se objetiva atrofia bilateral y simétrica del estriado de grado variable. También suele haber atrofia, aunque de menor grado, en el pálido, el tálamo, la amígdala, el hipotálamo, SNpr, la oliva superior y los núcleos cerebelosos profundos (127). La intensidad de estos cambios depende del tiempo de evolución y del estadio de la enfermedad.



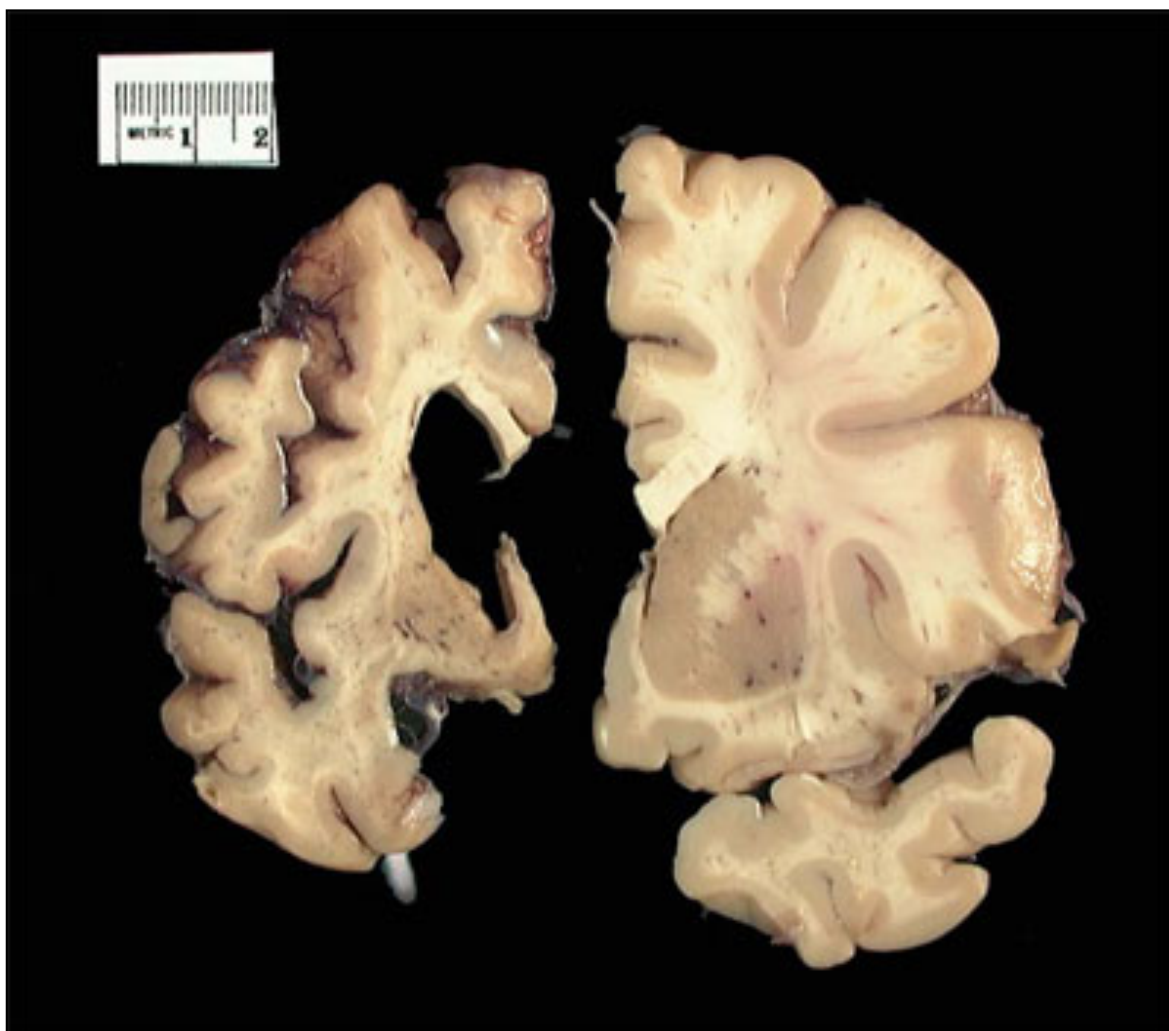


Figura I-6. Comparación entre un cerebro atrófico de un paciente con EH y un cerebro normal. Corte coronal. Obtenida de <http://naota.medgen.iupui.edu/hdrosternew/AboutHD/Images/piHDvC.jpg>. Cortesía del *Harvard Brain Tissue Resource Center*.

- Examen microscópico.

Histológicamente, la atrofia del estriado traduce una pérdida progresiva de neuronas espinosas GABAérgicas, que se acompaña de una intensa gliosis astrocitaria reactiva. Aunque hay evidencia de atrofia en otras áreas del cerebro, la gliosis astrocitaria se limita casi exclusivamente al estriado (117). También hay un aumento en la densidad de oligodendrocitos (124). A nivel cortical, se aprecia afectación de las capas profundas

de la corteza, con pérdida de neuronas piramidales grandes sin gliosis astrocitaria en las capas III, V y VI (128).

- Estudio inmunohistoquímico y molecular.

En la EH, además de pérdida neuronal y gliosis, se puede observar inclusiones intraneuronales. Estas inclusiones contienen Htt, y son precisos marcadores inmunohistoquímicos específicos para poder observarlas. La ultraestructura de estas inclusiones muestra que están formadas por agregados heterogéneos de filamentos y fibrillas, similares a las encontradas en otras enfermedades neurodegenerativas, como la enfermedad de Alzheimer (118). Estas inclusiones neuronales pueden ser intranucleares, citoplasmáticas o estar en dendritas distróficas, pero lo característico de la enfermedad es que las inclusiones de Htt pasen del citoplasma al núcleo. Su localización es sobre todo cortical más que estriatal, debido a que para que haya inclusiones, tiene que haber neuronas supervivientes. En la corteza hay más neuronas supervivientes que en el estriado, lo cual explica la falta de correlación entre la distribución y el número de inclusiones y la localización de las lesiones degenerativas (117–119). Recientemente, con la utilización de anticuerpos monoclonales más sensibles y específicos, también se ha logrado identificar inclusiones neuronales de Htt en otras localizaciones cerebrales, como los núcleos propios del puente, formación reticular bulbar, cuerpo geniculado lateral y núcleo dentado del cerebelo (117,129).

- Graduación de Vonsattel.

Vonsattel y cols. describieron cinco grados de afectación neuropatológica, con un gradiente de atrofia intranuclear e internuclear:

- Grado 0: Aquí se incluyen los individuos con la mutación que no mostraron signos clínicos de EH en el momento de la muerte. No se identifican fácilmente cambios macroscópicos. El examen microscópico con técnicas habituales sería normal, aunque los recuentos celulares desde la cola del núcleo caudado mostraron que el 26% al 40% de la pérdida neuronal estaba presente en los casos de grado 0 con manifestación clínica. Algunos estudios inmunohistoquímicos muestran pérdida de neuronas y de terminaciones sinápticas e inclusiones de agregados de Htt en las neuronas estriatales y corticales.
- Grado 1: Pocos cambios a nivel macroscópico, sin atrofia a nivel de la cabeza del caudado, accumbens y putamen, aunque sí puede haber discreta atrofia en la cola y el cuerpo de núcleo caudado. Microscópicamente se presenta pérdida neuronal y astrocitosis fibrilar leve asociada en las regiones dorsal y medial de la cabeza, en la cola y el cuerpo del núcleo caudado y en el putamen más dorsal. En la inmunohistoquímica se observan agregados de Htt en los

núcleos neuronales, el citoplasma perinuclear y los axones del estriado y de la corteza.

- Grado 2: La atrofia del estriado, a nivel del caudado, accumbens y putamen es clara, aunque la cabeza del núcleo caudado mantiene un límite convexo y ligeramente protuido en el asta frontal del ventrículo lateral. Microscópicamente, la pérdida neuronal se extiende más ventral y lateral en el núcleo caudado y ventral en el putamen. Las regiones estriatales dorsales hay depleción de la mayoría de neuronas espinosas intermedias.
- Grado 3: La atrofia es pronunciada, sobre todo en las regiones dorsales del estriado, habiendo un límite aproximadamente recto entre la cabeza del caudado y el ventrículo lateral. La pérdida neuronal y la astrocitosis reactiva se observa en la mayor parte del núcleo caudado y el putamen. Algunas regiones del núcleo ventral a nivel del caudado, accumbens y putamen se mantienen relativamente respetadas.
- Grado 4: Mayor atrofia del núcleo caudado y el putamen, así como la cápsula interna. El límite entre la cabeza del caudado y el ventrículo lateral en esta fase es ligeramente cóncavo y arrugado. Microscópicamente, la atrofia es grave, la pérdida neuronal y la astrocitosis afectan a todo el núcleo caudado y el

putamen. Existe mayor grado de atrofia en las regiones dorsales que en las ventrales, con preservación relativa del núcleo accumbens, incluso en estadios avanzados.

Los grados 0 y 1 representan etapas tempranas de la enfermedad. Los grados 3 y 4 representan estadios terminales. Los individuos con enfermedad de inicio tardío a menudo terminan en un grado 2 después de un curso clínico completo. Los pacientes con EH de inicio juvenil casi siempre muestran grados 3 ó 4.

## 2. Patogénesis.

- **La proteína huntingtina.**

La Htt es una proteína de membrana y citosólica de 350 kDa y 3144 aminoácidos, que tiene una extensión de 5 a 30 residuos de glutamina en el extremo NH<sub>2</sub> terminal, en la población sana, llamado dominio de poliglutaminas (poliQ). Los sujetos que contiene 31-35 glutaminas se consideran premutacionales, mientras que en los pacientes con EH, los residuos contienen más de 35 y, en la mayoría de los casos, más de 38 glutaminas (4). Se expresa de forma ubicua en todas las neuronas cerebrales, a nivel del soma, dendritas y axones, y probablemente en todos los tejidos, con una extendida localización subcelular, lo cual, dificulta la identificación del mecanismo patogénico primario. La Htt está asociada con numerosos orgánulos celulares como el núcleo, retículo endoplasmático, aparato de Golgi, vesículas sinápticas y mitocondrias (130,131).

Aunque la función de la Htt no mutada no está del todo aclarada, parece jugar un papel importante en la función sináptica, es necesaria en el periodo postembrionario, puede tener efectos antiapoptóticos y podría tener un efecto protector frente a la Htt mutada (132). Así pues, la Htt parece fundamental para el desarrollo del cerebro, participa

en la formación del citoesqueleto, participa en el transporte de vesículas a través del axón y en la endocitosis (4,5). Se considera una proteína esencial que controla el tráfico intracelular, rutas de señalización celular, y la regulación transcripcional de determinados genes, todo ello para mantener la homeostasis neuronal (133).

- **Posibles mecanismos patogénicos en la EH**

La Htt es cortada por numerosas proteasas intracelulares, incluyendo caspasas, y su procesamiento proteolítico juega un papel esencial en la fisiopatología de la EH. El fragmento que resulta del corte en el extremo N-terminal de la proteína mutada, es mucho más tóxico que la proteína mutada completa. Estos fragmentos cortados con expansiones grandes de poliQ pueden agregarse en oligómeros tóxicos (134,135).

En la EH, la Htt mutada se coexpresa con la Htt normal. Los agregados de Htt que se observan en la EH, alteran el funcionamiento de las neuronas, secuestrando la huntingtina normal o asociándose a proteínas implicadas en la transcripción o en el transporte. La mayor parte de la evidencia disponible, sugiere que la EH se debe, sobre todo, a una ganancia de función tóxica de la conformación anormal de la proteína de Htt mutada. El ARN puede tener también propiedades tóxicas y, quizá, la pérdida de las funciones de la Htt, puede contribuir a la patogénesis (136).

En la figura I-7, podemos observar la interacción normal de la Htt en el cuerpo neuronal con determinadas proteínas, regulando la señalización celular. También interacciona con proteínas involucradas en el tráfico celular, endocitosis vía receptor y reciclaje de vesículas sinápticas en los terminales axónicos, lo cual es importante para la transmisión sináptica normal. También en la figura podemos observar que la Htt mutada interacciona de manera anormal con otras proteínas, lo que conlleva a una alteración de las rutas de señalización y un incremento de la actividad de las caspasas. La Htt mutada

forma agregados que alteran las interacciones con otras proteínas provocando daño en la señalización celular.

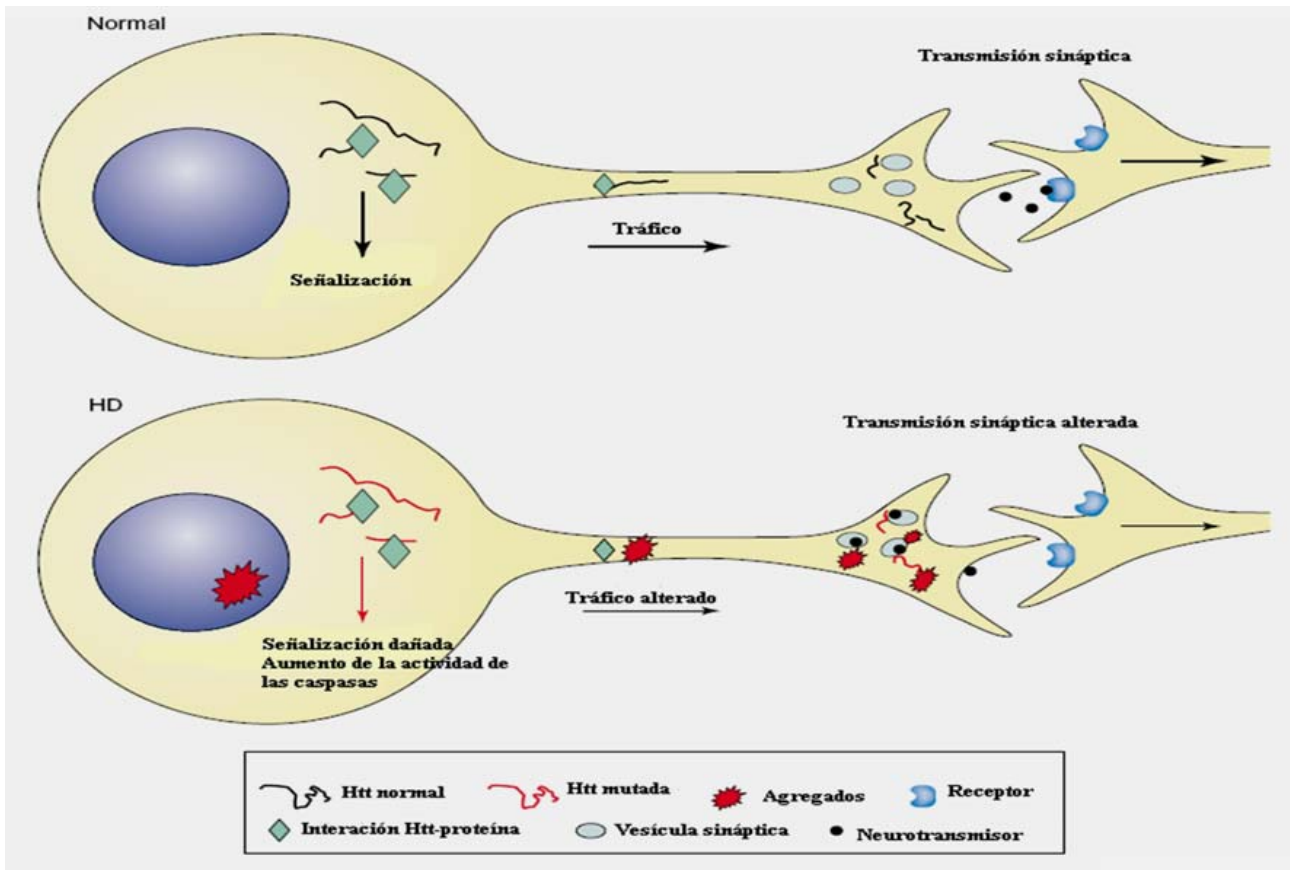


Figura I-7. Efectos de la Htt mutada en la transcripción sináptica. Modificado de Li and Li 2004 (4).

En la siguiente figura (figura I-8), se representan varios mecanismos patogénicos propuestos para la Htt mutada.

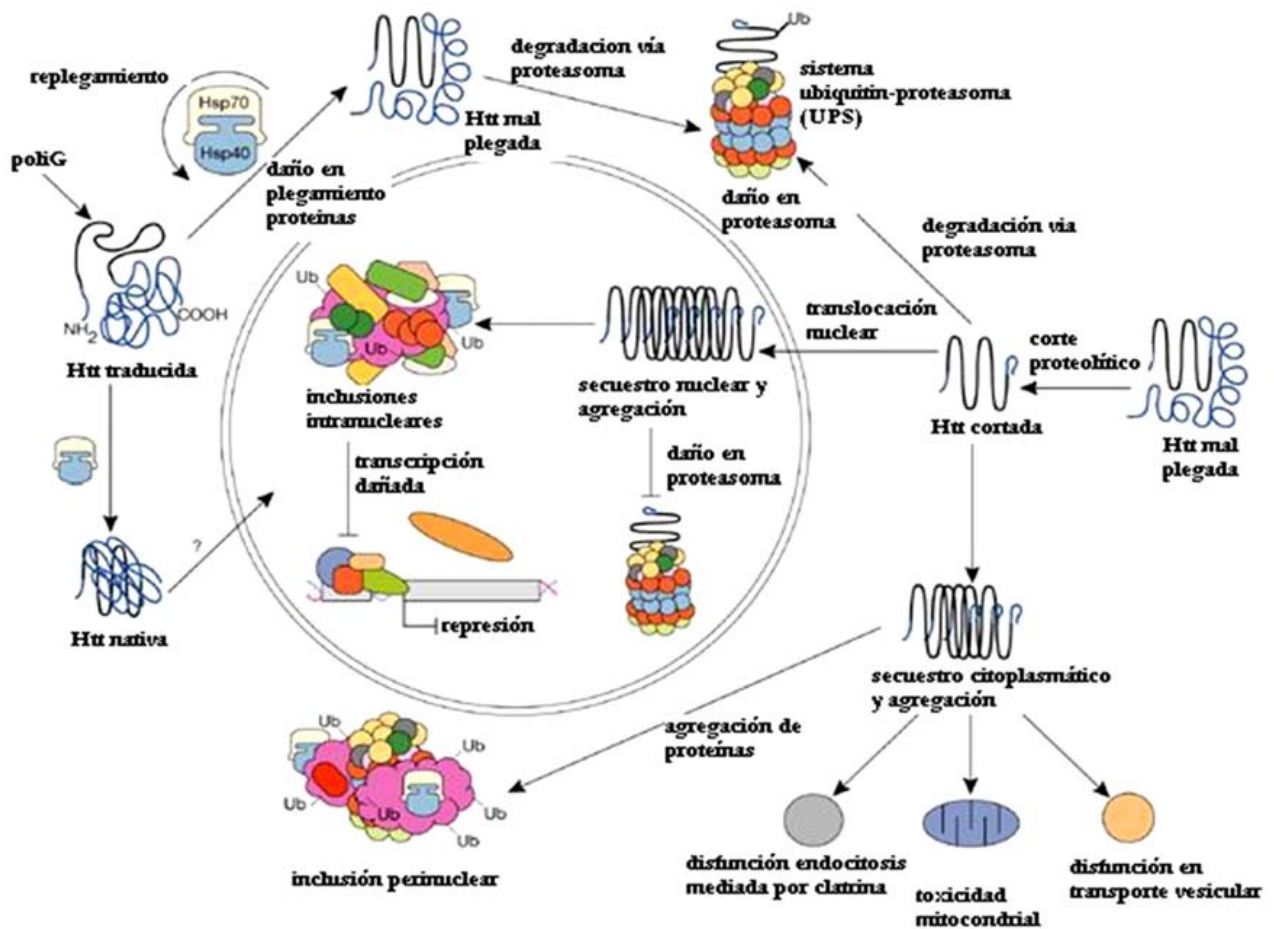


Figura I-8. Modelo de la patogénesis celular en la EH. Modificado de Landles and Bates 2004 (137).

Los **agregados de Htt mutada** pueden provocar toxicidad mediante el defecto en la síntesis de ARN, pueden disminuir la supervivencia celular, alterar el tráfico vesicular dependiente de microtúbulos o provocar alteraciones en el sistema ubiquitina proteasoma (UPS) (4,138–141). La toxicidad de los agregados también depende del compartimento celular donde se localicen, así, son más tóxicos en las neuritas que en el núcleo (4,142). Los agregados de Htt no pueden ser eliminados por la UPS, alterando así el sistema de limpieza celular (143,144). En las neuronas, los niveles basales de actividad UPS son



menores que en la glía, lo que podría explicar en parte, la mayor acumulación de agregados en las neuronas (145).

Un importante mecanismo de patogénesis en la EH, se cree que es la **alteración en la transcripción de genes**, que se ha demostrado en cultivos celulares y estudios bioquímicos (146). Parece que existe una desregulación en numerosos genes que codifican para receptores de neurotransmisores, enzimas y proteínas implicadas en la estructura de las neuronas, en las respuestas al estrés y en el transporte axonal (133,147). Los genes con una expresión relativa muy alta en el estriado comparado con otras regiones cerebrales, ven disminuida su expresión tanto en modelo de ratón de EH como en cerebros postmortem de pacientes con EH (148). Uno de los genes en los que se produce esta desregulación transcripcional es el BDNF (Brain Derived Neurotrophic Factor), asociándose además a la progresión de la enfermedad (149). Así, se ha demostrado que la disminución del BDNF en el estriado de modelos de ratones con EH es más evidente cuanto más grave es el fenotipo y, a su vez, la expresión elevada de BDNF en el cerebro atenúa el fenotipo de la EH (150,151).

Otro de los mecanismos patogénicos es el aumento de la **excitotoxicidad** en la EH (152). La excitotoxicidad es la excesiva estimulación de receptores de aminoácidos excitadores, especialmente del receptor N-metil-D-apartato (NMDA). En la EH se ha demostrado la existencia de niveles muy elevados de glutamato en el estriado, lo cual conlleva a una reducción de la recaptación glial de este aminoácido (153). Por otro lado, la homeostasis de calcio ( $Ca^{2+}$ ) está alterada en las neuronas estriatales, lo que conlleva a la muerte celular a través de numerosas rutas de señalización. La implicación prioritaria del receptor de NMDA en la excitotoxicidad, se debe precisamente a su alta permeabilidad al  $Ca^{2+}$  y a su baja cinética de activación/inactivación (154).

La **disfunción mitocondrial** con el déficit en el metabolismo energético, es otro de los mecanismos patogénicos producidos por la toxicidad de la Htt mutada. La mitocondria es el orgánulo donde se produce la mayor parte de energía, a través de la cadena respiratoria, en las células eucariotas. Además las mitocondrias también poseen algunos mecanismos reguladores de la muerte celular, como la familia de proteínas Bcl-2, el citocromo C y otros factores proapoptóticos. Cuando estos factores son liberados al citoplasmas celular, se ponen en marcha programas de muerte celular. La disfunción del metabolismo energético mitocondrial conlleva una reducción de la producción de ATP, desregulación de la homeostasis del  $\text{Ca}^{2+}$  y se potencia la formación de especies reactivas de oxígeno (ROS) que pueden también estar implicados en la ejecución de la muerte celular programada (155,156). Se ha demostrado que la sobreexpresión de Htt mutada, con repeticiones de PoliQ dentro del rango patológico, incrementa la muerte celular inducida por estrés oxidativo en cultivos celulares y se correlaciona con una mayor activación de caspasa-3 (157). Además también se han observado anomalías en la cadena transportadora de electrones y en la maquinaria glicolítica. Los pacientes con EH, tienen reducido el consumo de glucosa en el cerebro, especialmente en los GGBB, así como un aumento en la concentración de lactato en la corteza occipital (158,159). El déficit energético descrito parece estar mediado por el daño en la fosforilación oxidativa, el estrés oxidativo, el daño en el manejo del  $\text{Ca}^{2+}$  mitocondrial, las anomalías en el tráfico mitocondrial, el descenso en la glucólisis y el déficit en el complejo II de la cadena respiratoria mitocondrial (succinato deshidrogenas, SDH), y en el complejo IV (citocromo C oxidasa) (160,161).

La Htt regula algunas funciones del citoesqueleto celular, como el **transporte vesicular** y el reciclaje. En la EH el transporte vesicular está alterado, produciéndose en consecuencia la disfunción sináptica (162,163). Parece que esto se puede deber a la

alteración que se produce de la Htt mutada con proteínas asociadas, aunque también se puede deber al bloqueo de las vías de transporte por los microtúbulos por los agregados neuríticos (162,164). Así la alteración del transporte axonal de BDNF, provoca un déficit en las neuronas corticales que afecta a su liberación en el estriado. Se ha demostrado que la liberación de BDNF procedente de aferencias corticales está dañado en esta enfermedad, con la consecuente disminución del abastecimiento neurotrófico sobre las células estriatales (165).

El último mecanismo implicado podría ser la **alteración en el sistema de degradación de proteínas UPS y la autofagia**. El UPS principalmente degrada proteínas de vida corta, tanto nucleares como citoplasmáticas, marcándolas con cadena de poliubiquitina (166). Algunas alteraciones de proteínas de este sistema se han relacionado con algunas enfermedades neurodegenerativas, como la enfermedad de Parkinson familiar por parkina (167). La autofagia es la ruta de degradación celular utilizada para proteínas citoplasmáticas de larga vida, complejos proteicos o para organelas dañadas (168). Ambos sistemas están alterados en la EH (166).

## **8) Tratamiento actual.**

La variabilidad de los aspectos motores, psiquiátricos y cognitivos de la EH requiere un esfuerzo coordinado de diversos profesionales, entre los que se incluyen neurólogos, psiquiatras, psicólogos, rehabilitadores, logopedas y trabajadores sociales. El tratamiento se debe realizar de forma individualizada para cada paciente y según el estadio en que se encuentre la enfermedad.

Las opciones terapéuticas en la EH están limitadas. Dos revisiones Cochrane recientes, no han podido recomendar ninguna intervención sintomática (7) o modificadora de la enfermedad (169) para el control de los síntomas motores o no motores de la EH.

En la actualidad, el tratamiento de la EH se centra básicamente en el control de los síntomas y en terapias rehabilitadoras para intentar mantener la funcionalidad del sujeto el mayor tiempo posible. Sin embargo, los avances que se están produciendo en el conocimiento de los mecanismos patogénicos y en el desarrollo de terapias dirigidas a modificar la evolución natural de la enfermedad, hacen que el abordaje médico de la EH se pueda plantear en cuatro aspectos diferentes: tratamiento sintomático, erradicación o prevención, tratamiento neuroprotector y tratamiento neurorestaurador.

### **1. Tratamiento sintomático**

Debemos sopesar siempre el riesgo/beneficio antes de instaurar un tratamiento. Ya se ha comentado que, el corea, a pesar de ser el síntoma más llamativo, muchas veces no es el síntoma más incapacitante y, con el tiempo, tiende a desaparecer, siendo sustituido por parkinsonismo y distonía. Además los fármacos utilizados pueden tener efectos secundarios o consecuencias más incapacitantes que los propios síntomas. Por último, se debe tener en cuenta que los pacientes con EH son especialmente sensibles a los psicofármacos, por lo que siempre es necesario comenzar con dosis bajas y realizar incrementos graduales de los fármacos seleccionados.

Actualmente, el tratamiento de la EH se centra básicamente en el control de los síntomas motores y psiquiátricos, mientras que el deterioro cognitivo es difícil de modificar desde el punto de vista farmacológico. Entre el arsenal terapéutico para los síntomas de la EH, además de los fármacos y la rehabilitación, disponemos de la cirugía, incluyendo tanto las lesiones en GGBB como la estimulación cerebral profunda (ECP) y un nuevo grupo de fármacos considerados aparte, los estabilizadores dopaminérgicos.

- **Tratamiento farmacológico de los síntomas motores.**

El espectro de intensidad del **corea** es muy amplio, desde un corea leve casi imperceptible para el paciente y sus observadores, hasta un corea grave invalidante. Sólo se debe tratar el corea cuando interfiere en la capacidad funcional del paciente. Los fármacos utilizados habitualmente para el control del corea son los **bloqueantes de la actividad dopaminérgica cerebral**, ya sean **bloqueantes de los receptores dopaminérgicos estriatales** o **depletores dopaminérgicos presinápticos** que vacían la dopamina de las terminaciones dopaminérgicas nigroestriatales.

Dentro del primer grupo, destacan sobre todo los **neurolépticos atípicos**. Se han utilizado varios, entre ellos la **olanzapina**, la **quetiapina**, la **risperidona**, la **ziprasidona** y la **clozapina** (170–175). Además de su efecto anticoreico, tienen beneficio sobre la ansiedad, la agresividad y la psicosis. Sin embargo, tienen efectos secundarios que pueden ser graves, tanto inmediatos, como somnolencia, sedación o cansancio, como diferidos, como acatisia, parkinsonismo, discinesias tardías o depresión. La eficacia de estos fármacos se ha descrito en múltiples casos aislados, sin embargo, la mayoría no cuentan con estudios suficientemente amplios como para poder avalarlos (7). Existe una tendencia a la utilización de **olanzapina**, además de por su poder anticoreico, por producir una tendencia a mejorar el apetito y el sueño (170,171,176). La **clozapina**, un buen neuroléptico atípico con pocos efectos extrapiramidales, no ha demostrado un gran efecto útil sobre el corea, ya que se requieren dosis muy altas que inducen efectos secundarios como somnolencia e hipotensión ortostática, que limita notablemente su uso (174,175). En cuanto a los **neurolépticos típicos** como el **haloperidol**, aunque es útil para remitir el corea, sus frecuentes efectos extrapiramidales y su tolerabilidad limitan su uso a casos muy concretos.

Dentro del grupo de **depletors dopaminérgicos presinápticos**, destaca la **tetrabenazina**. Se trata de un fármaco del que existen suficientes publicaciones que avalan su utilidad (177–179), incluso en un ensayo clínico multicéntrico, doble ciego, aleatorizado, comparado con placebo (180). Los resultados mostraron que el tratamiento con tetrabenazina reducía de forma significativa el corea. Sin embargo, tampoco está libre de efectos secundarios, entre los más frecuentes destacan la somnolencia, el insomnio, el parkinsonismo, la acatisia, el suicidio y, sobre todo, la depresión y la hipotensión arterial. Se recomienda escalado lento y utilizar la mínima dosis eficaz.

Otro fármaco, con demostrada acción anticoreica, es la **amantadina** (181–183). Es un fármaco considerado “sucio”, con múltiples efectos farmacológicos, entre ellos es antagonista reversible de los receptores NMDA del glutamato de las neuronas estriatales, que ha demostrado ser bastante útil para disminuir las discinesias coreiformes de los pacientes con enfermedad de Parkinson. Además tiene un efecto antiparkinsoniano y anticolinérgico del que también se pueden beneficiar los pacientes con EH, aunque se debe tener en cuenta los cambios mentales y la desorientación que se puede producir por el efecto anticolinérgico. Suele ser bien tolerada, aunque en algunas ocasiones puede inducir o agravar la presencia de insomnio o producir *livedo reticularis* y edemas en las extremidades inferiores.

También cabe mencionar aquí, otros fármacos con discreta acción anticoreica pero muy bien tolerados, como las benzodiacepinas, que además ayudan a controlar la ansiedad, la cual se relaciona con aumento del corea, y los antagonistas del calcio.

Se han probado otros fármacos para el control del corea, que no han podido demostrar su utilidad, como el riluzol (184,185), el levetiracetam (186) o la paroxetina, ya sea por falta de eficacia o por efectos secundarios que impiden su recomendación.

Otro síntoma frecuente en la EH, que puede producir tanta discapacidad o más que el corea, es la **distonía**. El tratamiento de elección para la distonía, sobre todo si es focal, como el blefaroespasm o tortícolis, es la **toxina botulínica** (187). Se trata de una neurotoxina que se administra por vía intramuscular o subcutánea y su acción es bloquear las terminaciones colinérgicas en la unión neuromuscular, produciendo debilidad del músculo con exceso de contracción por la distonía. Así mejora la contracción mantenida, la postura o el movimiento anómalo y el dolor. El efecto de la toxina es transitorio, por lo que los pacientes tienen que ser infiltrados cada 3-6 meses.

La **bradicinesia**, síntoma que pueden aparecer en la EH en la progresión o como efecto secundario del tratamiento anticoreico, se debe tratar en primera instancia revisando toda la medicación del paciente y realizar las modificaciones oportunas. Una vez ajustada la medicación, si la bradicinesia es incapacitante, se puede beneficiar del tratamiento con **agonistas dopaminérgicos** o de la **levodopa** (188). De nuevo, la escalada debe ser muy lenta y se debe dejar la mínima dosis eficaz para evitar efectos secundarios tanto cognitivos como psiquiátricos que empeoren la sintomatología del paciente.

Otro fármaco que parece que será útil para el tratamiento de la distonía y la bradicinesia, es la pridopina, de la que se hablará más adelante (189).

Otros síntomas motores como los **trastornos de la marcha** o la **pérdida de los reflejos posturales**, carecen de tratamiento farmacológico. Se pueden tratar los trastornos motores, como el corea o la distonía, que pueden influir en la marcha. Puede ser útil la rehabilitación, sobre todo para hacer más consciente la marcha que ha perdido el control automático (190). Sin embargo, en las fases finales de la enfermedad, el paciente suele perder su autonomía y precisar silla de ruedas.

La **disartria** y los **trastornos de la deglución** también se pueden beneficiar de la **logopedia**, aunque con el avance de la enfermedad, se puede llegar a una descoordinación masticatoria-deglutoria que obliga a la alimentación con dieta triturada y finalmente a la alimentación por sonda nasogástrica o gastrostomía si el riesgo de broncoaspiración es muy alto.

- **Tratamiento farmacológico de los síntomas psiquiátricos.**

A pesar de la importancia de los síntomas psiquiátricos en la EH y de que pueden ser manifestaciones predominantes, apenas existen estudios que comparen la eficacia de los diferentes fármacos utilizados. La **ansiedad**, la **depresión**, la **apatía** y el **trastorno obsesivo-compulsivo** son los síntomas psiquiátricos más importantes, que deberían ser tratados, incluso se deberían prevenir, en primer lugar, con **soporte psicológico** y con **terapia ocupacional**. En cuanto al tratamiento farmacológico, ya se ha comentado la utilidad de los **neurolépticos atípicos** para las alteraciones psicóticas, la ansiedad y el control de impulsos, además de disminuir el corea, teniendo en cuenta sus limitaciones. Los fármacos **ansiolíticos** o **antidepresivos**, en concreto los **inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina (ISRS)** pueden ser útiles para la ansiedad, depresión, irritabilidad u obsesiones (191). Además, la mayoría de los ISRS promueven la secreción de (Brain Derived Neurotrophic Factor –BDNF–) en modelos experimentales, y se especula con su posible efecto neuroprotector, como veremos más adelante. Los fármacos que actúan como **estabilizadores del ánimo**, como la **carbamacepina**, la **oxcarbazepina**, la **gabapentina** o el **ácido valproico** también han mostrado beneficio en el control de la sintomatología psiquiátrica, solos o asociados a olanzapina (192). Como siempre, antes de añadir un nuevo fármaco, se deben revisar los fármacos que toma el paciente y puedan provocar estos síntomas.



- **Tratamiento farmacológico de los síntomas cognitivos.**

La mejor estrategia clínica para el mantenimiento de las funciones cognitivas y funcionales de los pacientes con EH podría ser la **estimulación cognitiva** y la **terapia ocupacional**, ya que mantiene sus mentes activas y les permite estar socialmente integrados un mayor tiempo (193). En cuanto al tratamiento farmacológico, se ha probado la **rivastigmina**, un **inhibidor de la acetilcolinesterasa central**, útil en la enfermedad de Alzheimer, que ha podido demostrar utilidad en las capacidades cognitivas (194–196), que no se han reproducido en poblaciones más grandes ni con otro fármaco con una acción muy parecida como es el donepezilo (197,198).

- **Tratamiento quirúrgico.**

Los tratamientos quirúrgicos, incluyendo **lesiones (palidotomía)** inicialmente y en la actualidad técnicas de **estimulación cerebral profunda (ECP) del GPi** han demostrado ser eficaces en el tratamiento de las discinesias en patologías como la enfermedad de Parkinson avanzada o la distonía generalizada (199). Recientemente se han comenzado a utilizar para los síntomas motores de la EH, en concreto la corea y la distonía, con todavía muy pocas evidencias en la literatura. En un caso publicado, se realizó una palidotomía bilateral a una paciente de 13 años con EH con afectación distónica generalizada y parkinsonismo, refractario a la medicación. El beneficio fue escaso y poco alentador, ya que a los 3 meses de la intervención, la mejoría clínica respecto a la distonía fue mínima y hubo un claro empeoramiento de la espasticidad (200). Posteriormente, se han publicado varios casos de EH tratados con ECP del GPi bilateral, con mejoría significativa y mantenida en el tiempo del corea, la distonía, el parkinsonismo (201–205) e incluso la disfagia o tics vocales incapacitantes (206). La ECP del GPi puede mejorar sustancialmente los signos motores, tanto hiperkinéticos como

hipocinéticos de la EH, pero no puede detener el proceso degenerativo ni cambia el curso natural de la enfermedad. Además, con los datos publicados, no se puede concluir actualmente cuándo se debe realizar la intervención ni el grado de afectación clínica que deben tener los pacientes para ser intervenidos. Se podría recomendar la ECP en pacientes jóvenes con gran incapacidad por trastornos motores susceptibles de mejoría y mala respuesta a los tratamientos médicos (116). Nuestra experiencia se limita a un caso de EH intervenido por grave distonía mediante ECP del GPi bilateral, en el que se objetivó una mejoría espectacular pero transitoria.

- **Estabilizadores dopaminérgicos.**

Los estabilizadores dopaminérgicos son una nueva clase farmacológica. Tienen efectos sintomáticos tanto a nivel motor como psiquiátrico, por lo que no se pueden incluir en ninguno de los apartados previos. Además podrían tener también efecto neuroprotector (207).

Estudios previos, han demostrado que la neurotransmisión de glutamato y dopamina están afectados en la EH. El mecanismo por el que la dopamina modula la excitación neuronal inducida por glutamato en los GGBB y la corteza parece estar dañado (208). Los estabilizadores dopaminérgicos actúan normalizando la señal dopaminérgica dependiendo del estado dopaminérgico. En los casos donde la dopamina está elevada, estos fármacos provocan la inhibición dopaminérgica y, cuando la dopamina tiene niveles muy bajos, provocan una potenciación de la señal dopaminérgica (209). De esta forma, constituyen un prometedor tratamiento para enfermedades donde están involucrados los circuitos dopaminérgicos del cerebro, como la EH o la esquizofrenia.

Entre los fármacos estabilizadores dopaminérgicos, se encuentra el **aripiprazol**, un agonista parcial del receptor D2, que actúa con un grado de actividad menor que los

agonistas endógenos y tiene una actividad intrínseca muy baja. Se ha utilizado con éxito en el tratamiento de psicosis y manías (210), pero tiene un efecto criminal sobre la acinesia de la EH. Otro tipo de estabilizadores dopaminérgicos son las **pridopidas**, como los compuestos **(-)OSU6162** y **ACR16**. Actúan como agonistas puros del receptor D2, con preferencia por los autorreceptores presinápticos y baja afinidad por los receptores postsinápticos. Parece que normalizan las funciones psicomotoras alteradas, con muy poco efecto en la actividad psicomotora normal (211,212). Han demostrado ser útiles en animales que presentan signos relevantes de la EH como la depresión, la ansiedad y la disfunción motora, aunque sin claros efectos sobre el corea. También ha sido útil en un ensayo clínico preliminar con pacientes con EH (213) y en un reciente ensayo clínico fase III (189), con un beneficio estadísticamente significativo, pero clínicamente irrelevante, demostrando su seguridad a dosis de 90 mg al día. Su utilidad fundamental incluye los signos de acinesia, distonía y los movimientos oculares. Se ha publicado recientemente la extensión hasta 1 año del estudio, demostrando un perfil de seguridad aceptable (214), que tal vez permita un nuevo ensayo clínico con dosis mayores.

## 2. Erradicación o prevención.

Consiste en intentar cortar la transmisión de la enfermedad en las familias, para así disminuir el número de pacientes afectados en una población. Esto incluye una paternidad responsable y realizar **diagnósticos presintomáticos, prenatales y preimplantacionales**, ya comentados previamente en el apartado de genética. Aunque el objetivo sería intentar erradicar la enfermedad, es muy probable que no se pueda, ya que existen datos que sugieren la producción de nuevas mutaciones en descendientes de personas sanas con expansiones CAG intermedias (215).

### 3. Tratamiento neuroprotector

La EH es una enfermedad neurodegenerativa en la que se puede hacer el diagnóstico mucho antes de la aparición de los síntomas. Se cree que el defecto genético da lugar a una proteína anormal expandida, que es la causa primaria de la muerte neuronal y de la aparición de la enfermedad, pero además parece que el defecto genético puede hacer más vulnerable a la neurona frente a mecanismos como el estrés oxidativo, el déficit de factores tróficos o la excitotoxicidad (193). Todo esto hace que la EH sea un modelo perfecto de enfermedad donde probar fármacos que puedan intervenir en la cascada de la neurodegeneración en estadios tempranos. En el tratamiento neuroprotector, se pretende ralentizar el curso o la evolución natural de la enfermedad a través de la modificación de los mecanismos participantes en el daño neuronal. En este sentido, son varios los compuestos que se han ensayado como tratamiento neuroprotector.

Existen numerosas estrategias de neuroprotección, con muchos posibles fármacos en investigación, como se detalla en el siguiente apartado sobre neuroprotección en la EH. Algunos ejemplos serían: **antagonistas glutamatérgicos** como la **amantadina** o el **riluzole**; **fármacos antioxidantes**, como el **ácido ascórbico**, la **coenzima Q10**, la **carnitina**, la **creatina**, la **vitamina E**, los **ácidos grasos** o **riboflavina**; **factores tróficos** como el **BDNF**; **inhibidores de las caspasas** como la **minociclina**, **inhibidores de la acetilación de histonas**, como el **ácido valproico**, la **mitramicina** o el **fenibutirato**; **potenciadores de la autofagia**, como la **rapamicina**, el **litio** o la **trehalosa** (193). Muchos de estos fármacos no disponen todavía de estudios y ninguno ha demostrado su eficacia en estudios controlados.

En este apartado, también podemos incluir la **terapia génica con RNA de interferencia**. Hoy en día existen estudios, tanto *in vitro* como en modelos animales, que

sugieren que es posible evitar la formación de la proteína mutada. Consiste en terapias capaces teóricamente de suprimir la expresión de la proteína mutada, sin afectar a la proteína salvaje (216–219). En los próximos años podrían aparecer estudios preclínicos para valorar la selectividad, seguridad y eficacia de estos RNA de interferencia, incrementando las esperanzas de poder conseguir algún día un tratamiento curativo de la EH.

#### **4. Tratamiento neurorestaurador**

Consiste en la restauración de la estructura cerebral y de los circuitos neuronales, invirtiendo los efectos destructores derivados de la progresión de la EH. Aunque actualmente es inviable, el **implante intracerebral de células indiferenciadas**, potencialmente capaces de restituir la función de las neuronas perdidas durante el proceso neurodegenerativo, se está investigando. Los precursores neuronales, los neuroblastos, son capaces de migrar a determinadas regiones cerebrales y restablecer automáticamente el daño en los circuitos neuronales del cerebro de animales adultos (220). En estudios con series pequeñas sometidos a este procedimiento, se ha encontrado una evolución muy desigual, con algunas complicaciones y con resultados contradictorios a largo plazo que sugieren pérdida de la viabilidad del trasplante o progresión de la enfermedad (221–224). Estos datos, junto a las connotaciones éticas que puede implicar el procedimiento, hace que por ahora no sea viable.

## 2. NEUROPROTECCIÓN EN LA ENFERMEDAD DE HUNTINGTON.

### 1) Definición de neuroprotección.

La neuroprotección se puede definir como la preservación de la estructura, función y viabilidad de las neuronas. En términos más genéricos, se puede definir como el enlentecimiento o la prevención de la neurodegeneración. En el caso de la EH, la terapia neuroprotectora estaría dirigida a modificar la patología subyacente, en lugar de tratar los síntomas de la enfermedad (225).

La EH es una de las pocas enfermedades neurodegenerativas en la que se puede hacer el diagnóstico mucho antes del inicio de los síntomas clínicos. Este hecho, ofrece una oportunidad única para intervenir en los estadios tempranos de la cascada de la neurodegeneración, quizá incluso antes de que la pérdida neuronal asociada a la enfermedad haya empezado (226). Así, **la EH es un modelo excelente para testar tratamientos neuroprotectores** (191,227–230). Sin embargo, no existen en la actualidad tratamientos capaces de parar o enlentecer la progresión de la enfermedad. La investigación básica y traslacional en la EH, nos ha brindado un gran número de posibles terapias neuroprotectoras, que están empezando a ser probadas en ensayos clínicos, entre ellas, los cannabinoides (231,232).

### 2) Neurodegeneración susceptible de neuroprotección.

La EH está causada por la expresión mutada de la proteína Htt, que contiene una expansión de residuos de glutamina en el extremo NH<sub>2</sub> terminal. La presencia de la proteína mutada desencadena una compleja y poco comprendida serie de eventos bioquímicos deletéreos, que conducen progresivamente a las neuronas a estrés, disfunción fisiológica, respuestas compensatorias y finalmente muerte neuronal. Además, se cree que las neuronas de los pacientes con EH, son más vulnerables frente a

mecanismos como el estrés oxidativo, el déficit de factores tróficos o la excitotoxicidad entre otros (193).

La neurodegeneración parece ser un proceso bastante prolongado, como lo demuestran los signos de neuroplasticidad crónica y la lenta involución de las neuronas, con la pérdida gradual de sinapsis, las espinas dendríticas, las ramas dendríticas, los segmentos axonales y recursos de apoyo celulares como las mitocondrias y orgánulos implicados en la biosíntesis, modificación, transporte y degradación de moléculas celulares (225).

Una de las principales características de la neurodegeneración en la EH es la selectividad regional y celular. Los cambios neuropatológicos más tempranos y agresivos se encuentran en el estriado. De esta forma, se ha considerado que el principal objetivo de la neuroprotección es proteger el estriado. Sin embargo, no se puede olvidar que también hay afectación de otras regiones cerebrales como la corteza cerebral.

### **3) Estrategias de neuroprotección.**

Existen numerosos estudios acerca de posibles fármacos y mecanismos neuroprotectores en la EH en modelos animales. De forma conceptual, hemos dividido los mecanismos según las siguientes categorías, aunque muchos de los fármacos actúan a través de varios de estos mecanismos:

#### **1. Inhibición de la transmisión excitadora.**

La **excitotoxicidad** es uno de los mecanismos patogénicos en la EH. Varios fármacos han intentado demostrar su efecto neuroprotector siendo inhibidores de la transmisión excitadora. Entre ellos, destacan dos de los fármacos más estudiados, el riluzol y la remacemida.

**Riluzol** es un fármaco antiglutamatérgico, con potencial utilidad como neuroprotector, en base a su capacidad de inhibir la liberación de glutamato en las terminaciones nerviosas, estabilizando la forma inactiva de canales de sodio y bloqueando los receptores de NMDA de manera no competitiva. Ha demostrado ser capaz de aumentar la supervivencia y alterar la formación de agregados de Htt en ratones R6/2 (233). Además, en pacientes se ha observado que protege frente al hipometabolismo de glucosa en cerebro y aumenta la producción de neurotrofinas (234). Fue probado en un ensayo abierto de 6 semanas, siendo bien tolerado y asociándose a un reducción del corea del 35% en las escalas (184). El grupo de estudio de Huntington en el 2003, también demostró que el riluzol mejoraba el corea, pero sin mejorar la capacidad funcional y, debido a las alteraciones en las transaminasas hepáticas, este fármaco no pudo ser recomendado (235).

**Remacemida** es un inhibidor de baja afinidad del receptor NMDA que, combinado con la **coenzima Q<sub>10</sub>** (cofactor esencial en la cadena respiratoria de electrones mitocondrial que acepta electrones del complejo I y II), son capaces de disminuir agregados de Htt, aumentan el volumen del estriado, mejoran la función motora y alargan la vida a ratones R6/2 (236). Fue probado, junto a la coenzima Q<sub>10</sub> en un ensayo multicéntrico por el grupo de estudio de Huntington en el 2001, demostrando que los pacientes tratados tenían una tendencia a enlentecer el deterioro de la capacidad funcional en un 13%, pero no llegó a ser una diferencia significativa. Además la coenzima Q<sub>10</sub> se asoció, con mayor frecuencia que el placebo, a malestar estomacal y la remacemida con mayor frecuencia de náuseas, vómitos y mareos. A causa de estos decepcionantes resultados, ninguno de los dos fármacos pueden ser recomendados (237).



También se han investigado otros **antagonistas glutamatérgicos** con posible efecto neuroprotector, como el **baclofeno** (238), la **amantadina** (239), la **memantina** (239,240) y la **lamotrigina** (241).

## 2. Potenciación de la función mitocondrial.

Ya se ha comentado previamente que la **disfunción mitocondrial** con el déficit en el metabolismo energético es otro de los mecanismos patogénicos producidos por la toxicidad de la Htt mutada. Entre los fármacos potenciadores de la función mitocondrial destacan la coenzima Q<sub>10</sub> y la creatina.

**Creatina** es un compuesto natural que, mediante su intermediario fosfocreatina, provee a la célula de energía en forma de ATP. En ratones, potencia la supervivencia celular, regulando la homeostasis de numerosas funciones celulares. En un estudio, se demostró un aumento de la supervivencia de 97,7 a 114,6 días, asociándose a una reducción en el número de agregados de Htt en el estriado de ratones transgénicos (242). Sin embargo, en humanos no se ha demostrado este tipo de beneficio (243). En un estudio piloto 10 g de creatina fue bien tolerada durante 12 meses por 13 pacientes, excepto por náuseas transitorias y diarrea en 2 pacientes. En un estudio aleatorizado, doble ciego, controlado con placebo de 64 pacientes con EH, a los que se les administró creatina 8 g al día durante 16 semanas fue bien tolerado y se asoció con un aumento de la creatina sérica y cerebral, junto a una reducción del 8-hidroxi-2'-deoxiguanosina sérica, un indicador de daño oxidativo del ADN (244). En otro estudio con 5 g al día de creatina, no se demostró mejoría funcional, neuromuscular o cognitiva en pacientes con EH en estadios iniciales o intermedios (245).

**Coenzima Q<sub>10</sub> (ubiquinona)**, ya comentado su ensayo junto a la remacemida, puede actuar como potenciador de la función mitocondrial y como antioxidante o como

pro-oxidante, dependiendo del potencial redox de las células (246). En un estudio piloto a dosis de 600 mg y 120 mg por día, demostró ser bien tolerada, aunque algunos pacientes podían padecer efectos adversos como cefalea, acidez, fatiga o aumento de los movimientos involuntarios (247). Ya se ha comentado que no puede ser un fármaco recomendado para la EH.

### 3. Antioxidantes y bloqueantes de radicales libres.

Las neuronas de los pacientes con EH son más vulnerables frente al estrés oxidativo y la formación de radicales libres. Los fármacos utilizados como antioxidantes y atrapadores de radicales libres son el **ácido lipoico**, el **tocoferol** y la **ibedenona**. Ibedenona es un análogo sintético de la coenzima Q<sub>10</sub> (ubiquinona) que inhibe la peroxidación de lípidos mediante la producción de ATP (248). No ha demostrado eficacia en un ensayo clínico controlado (249).

Otros fármacos también investigados por este mecanismo de neuroprotección serían la **vitamina E** (250), la **coenzima Q<sub>10</sub>** (ya comentada), **OPC-14117** (251) y la **melatonina** (sin estudios).

### 4. Inhibición de las caspasas.

En este grupo destaca la **minociclina**, un antibiótico de segunda generación con gran capacidad de atravesar la barrera hematoencefálica. Su efecto neuroprotector se atribuye a su capacidad para reducir la producción de caspasas 1 y 3 y de reducir la actividad de la óxido nítrico sintetasa (252). También tiene propiedades antiinflamatorias y antiapoptóticas.

**Minociclina** ha demostrado retrasar la progresión de la EH en modelos animales, en concreto en el modelo de ratón R6/2 de EH (252). Datos preliminares basados en

estudios clínicos pilotos, sugieren que la minociclina es bien tolerada y no se asocia a efectos adversos graves o alteraciones de laboratorio. Sin embargo no demostró claro beneficio en las evaluaciones clínicas (253–255). También ha demostrado ser bien tolerada en un ensayo más grande, doble ciego, controlado con placebo, de 60 pacientes con EH (256). La minociclina también ha demostrado efecto neuroprotector en otras enfermedades neurodegenerativas (257). Sin embargo, otros grupos no han encontrado diferencias en las alteraciones del comportamiento o en los agregados de Htt en modelos de ratón R6/2 con minociclina (258).

### **5. Regulación del metabolismo de la glucosa.**

Curiosamente, la **paroxetina**, un inhibidor de la recaptación de serotonina, utilizado con frecuencia para el tratamiento de la depresión, ha demostrado disminuir la progresión de la enfermedad y alargar la supervivencia en modelos de ratón R6/2 (259). Se cree que la paroxetina es capaz de normalizar la hiperglucemia de estos ratones, lo que sugiere que la señal serotoninérgica mejora la regulación del metabolismo de la glucosa en ratones, disminuyendo la pérdida de peso corporal.

### **6. Promotores de la autofagia.**

Ya se ha comentado en la patogenia de la EH que la autofagia está alterada. En este grupo destacan dos fármacos, la rapamicina y la trehalosa.

**Rapamicina** es un fármaco antibiótico, antifúngico e inmunosupresor. Actúa inhibiendo la diana de rapamicina en mamíferos (mTOR), promoviendo la macroautofagia de los agregados proteicos y, por tanto, disminuyendo su toxicidad, en combinación con **litio** (260).

Trehalosa es un disacárido que ha demostrado disminuir en un 30% los agregados cerebrales de Htt en un modelo de ratón R6/2 (261). Además, también es un activador de autofagia (262).

### **7. Inhibición de la agregación de la Htt mutada.**

Entre los fármacos capaces de inhibir la agregación de Htt mutada, destacan la cistamina y la geldanamicina.

Cistamina es un derivado aminoácido que inhibe competitivamente las transglutaminasas, las cuales están muy elevadas en la EH. Ha demostrado en modelos animales como el ratón transgénico R6/2 de EH que aumenta la supervivencia, mejora el peso y algunas alteraciones motoras (263,264).

Geldanamicina es una benzoquinona que activa la chaperona Hsp90, activando así una cascada de proteínas de choque térmico que, como se ha demostrado en modelos de EH de cultivos de células in vitro, inhiben la agregación de Htt mutada (265).

### **8. Otros mecanismos.**

Ya se ha comentado que muchos fármacos estudiados como neuroprotectores actúan a través de varios mecanismos. Existen muchos otros mecanismos con los correspondientes fármacos, teniendo todos ellos en común que no han podido demostrar el efecto neuroprotector en estudios controlados en humanos. A continuación describimos los más destacados.

**Liberación de factores tróficos**, entre ellos el **GDNF (glial derived neurotrophic factor)**, **Neurturin**, **BDNF (brain-derived neurotrophic factor)** o **CNTF (ciliary neurotrophic factor)**, muchas veces mediante la implantación en el estriado de células fetales o genéticamente modificadas (266). También a través de este mecanismo actúa el

**medio condicionado de glía.** Estudios *in vitro* demuestran que las células de glía, en condiciones determinadas, liberan al medio numerosas sustancias neuroprotectoras como antioxidantes (como el glutatión y el ácido ascórbico) y factores neurotróficos (como el GDNF, BDNF, etc.) junto con otras proteínas neurotróficas (267–270).

**Inhibición de la acetilación de histonas,** entre los fármacos investigados destacan el **ácido valproico**, la **mitramicina** y el **fenibutirato**. Todos ellos sin estudios clínicos.

**Fármacos que aumentan la energía celular,** entre ellos ya comentada la creatina, también tendrían efecto neuroprotector por este mecanismo la **etil-EPA** (271) y la **carnitina** (sin estudios).

Un tratamiento capaz de actuar aumentando los niveles de energía celular, potenciando la función mitocondrial e inhibiendo el daño oxidativo, sería la **dieta cetogénica** (272). El cerebro es uno de los órganos más activos del cuerpo desde el punto de vista metabólico, siendo muy eficiente en el metabolismo de la glucosa para la obtención de ATP (273). En pacientes con EH, el metabolismo energético está alterado tanto en el cerebro como en el músculo esquelético, por lo que los pacientes pierden peso a pesar de una elevada ingesta de alimentos. Las dietas cetogénicas contienen un alto contenido en grasas y bajo en azúcares, que obligan al cuerpo a utilizar como fuente de glucosa los cuerpos cetónicos y mimetizar así los cambios metabólicos sufridos en el ayuno (274). Los cuerpos cetónicos son el beta-hidroxibutirato, acetato-acetona y acetona, estos compuestos son fuentes alternativas de acetil Co-A para entrar en el ciclo de Krebs y producir ATP de manera más eficiente que el proveniente del piruvato (275). Estudios recientes han demostrado que el aceite de oliva reduce el daño producido por el ácido 3-nitropropionico en un modelo de EH en rata (276) y retrasa el comienzo de la pérdida de peso en ratones R6/2, mejorando su actividad motora (274).

#### **4) Neuroprotección por cannabinoides.**

El sistema cannabinoide está emergiendo como un regulador clave del destino de las células neuronales y es capaz de conferir neuroprotección por la participación directa en vías de supervivencia celular y en el control de la neurogénesis (231). Muchos trastornos neurológicos, entre ellos la EH, presentan un componente neurodegenerativo que está asociado con la excitotoxicidad, el estrés oxidativo y la neuroinflamación. Ciertos cannabinoides (CBs) han demostrado que pueden inhibir estos eventos y así detener la progresión de la neurodegeneración (231). Estas propiedades, hacen que los CBs sean fármacos atractivos para el desarrollo de nuevas estrategias terapéuticas para enfermedades como el Alzheimer, la esclerosis múltiple, la isquemia cerebral, la enfermedad de Parkinson o la EH (231).

En el siguiente apartado se especifica el mecanismo de acción de los CBs para ejercer su efecto neuroprotector y toda la investigación llevada a cabo hasta ahora en la utilidad de los cannabinoides en la EH.

### 3. CANNABINOIDES Y ENFERMEDAD DE HUNTINGTON.

#### 1) Historia del uso de cannabinoides en medicina.

El uso de la planta *Cannabis Sativa* como fármaco medicinal por diferentes culturas y civilizaciones, tiene una historia antigua con la primera evidencia de sus propiedades terapéuticas hace unos 5000 años (277,278). El interés por estos compuestos, llegaron a las sociedades europeas y norteamericanas en el siglo XIX. Un irlandés, Sir William B. O'Shaugnessey llevó a cabo la primera serie de experimentos formales sobre el potencial uso medicinal de *Cannabis Sativa*, publicando sus resultados en 1842 para el tratamiento del dolor, la espasticidad y el reumatismo (231). Sin embargo, la dificultad para obtener preparaciones consistentes, la disponibilidad de tratamientos sintéticos más efectivos para el dolor y, sobre todo, los diferentes convenios internacionales sobre estupefacientes llevados a cabo durante la primera mitad del siglo XX, que consideraron los CBs como sustancias con alto potencial de abuso sin propiedades terapéuticas, relegaron la investigación y el uso de los mismos (279).

En los años 60, hubo un renovado interés por los CBs, con unos pocos investigadores interesados en estudiar la planta *Cannabis Sativa*, siendo capaces en 1964 de identificar y aislar el principal componente psicoactivo de esta planta, llamado  **$\Delta$ 9-tetrahidrocannabinol ( $\Delta$ 9-THC)** (280). Otros componentes de la planta, como el **cannabidiol (CBD)**, cannabinol, etc., también fueron identificados y aislados, muchos de ellos con propiedades farmacológicas diferentes al  $\Delta$ 9-THC (281) (figura I-9).

Además, en los últimos años ha habido un notable avance en el conocimiento de la biología endocannabinoide, que ha impulsado la investigación sobre estos fármacos a la vanguardia de la investigación biomédica (231). A finales de los años 80 y principios de los 90, se descubrieron los dos tipos de receptores de CBs, los **receptores cannabinoides tipo 1 (CB1)** y los **receptores cannabinoides tipo 2 (CB2)**, ambos

pertenecientes a la superfamilia de receptores de membrana acoplados a la proteína G, que son activados farmacológicamente por  $\Delta^9$ -THC y otros CBs (281–284).

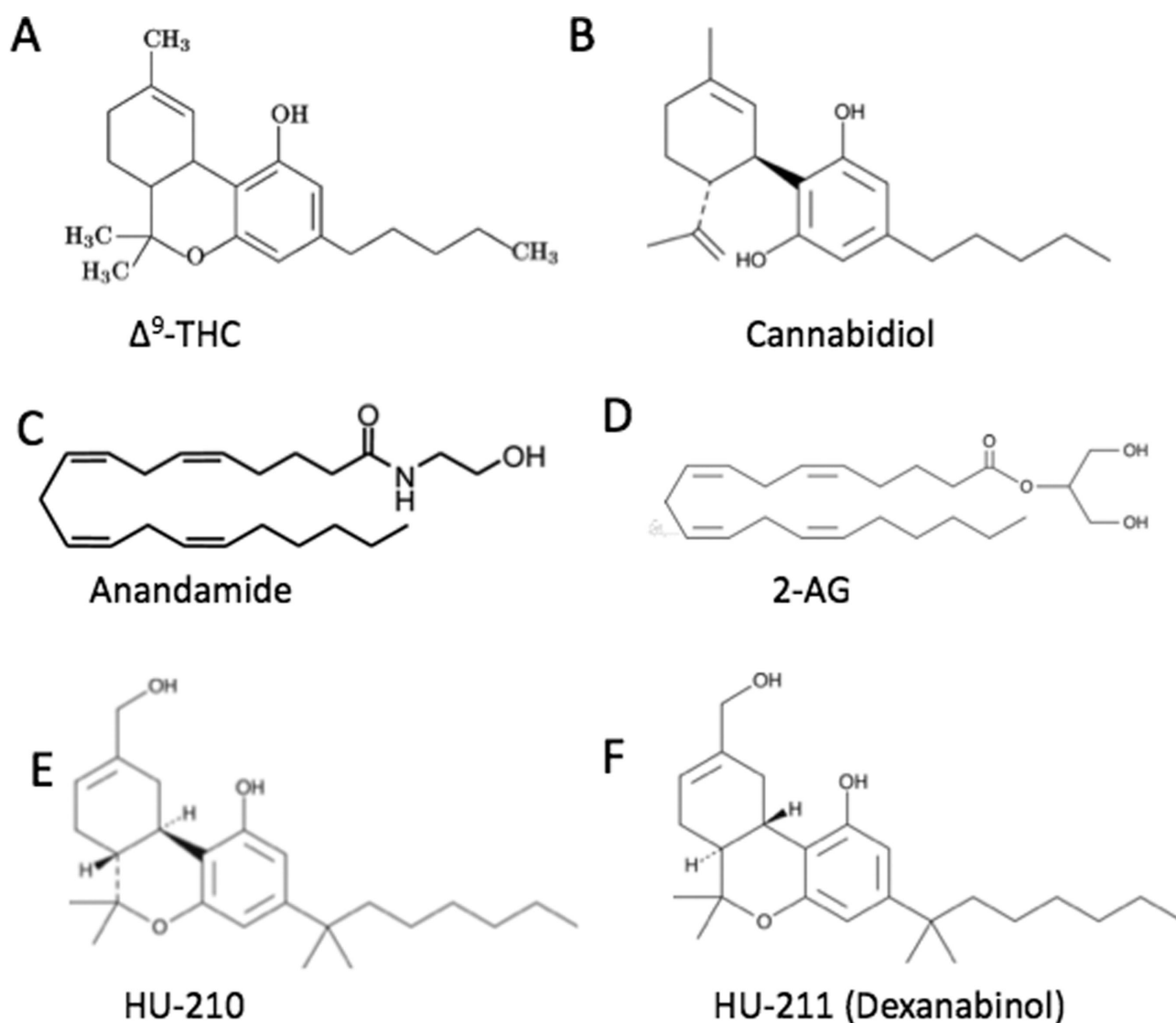


Figura I-9. Estructura química de los CB, fitocannabinoides y endocannabinoides. Modificado de A. Gowran et al. 2011 (231).

Actualmente el sistema cannabinoide es reconocido como un importante modulador de varios procesos del sistema nervioso central, incluyendo el dolor (285,286), el apetito (287,288), la función motora (289–291), la plasticidad sináptica (292), la neuroinflamación (293,294) y la muerte neuronal (295–297). Las aplicaciones terapéuticas



actuales de las medicaciones a base de CBs, como el dronabinol y la nabilona, incluyen el tratamiento de la anorexia y los vómitos (298). La solución para pulverización oral, comercializada con el nombre de **Sativex®**, que contiene  $\Delta$ 9-THC y CBD, ha demostrado ser de utilidad en el tratamiento de la espasticidad y del dolor de los pacientes con esclerosis múltiple (299). Además, el  $\Delta$ 9-THC ha demostrado ejercer una acción antitumoral en estudios clínicos (300). Existe un creciente interés en el desarrollo de una aproximación basada en los CBs para el tratamiento de trastornos asociados a la neuroinflamación y a la neurodegeneración (231), como sería el caso de la EH. Como se describe más adelante, **en este ensayo clínico se ha decidido utilizar Sativex® en pacientes con EH.**

## 2) El sistema de señalización endocannabinoide.

El sistema cannabinoide endógeno está compuesto por moléculas **endocannabinoides** que son lípidos, sobre todo la **anandamida**, la N-etanolamina del ácido araquidónico, y el ester glicerol de este ácido graso, llamado **2-araquidonoil-glicerol (2-AG)** (301–303) y otros ácidos grasos menores menos estudiados. También se ha descrito recientemente un nuevo ligando endógeno que activa los receptores CBs, que tienen una estructura peptídica (304). Se ha demostrado cómo se sintetizan estos endocannabinoides, los enzimas que intervienen en su procesamiento y el fin de su acción por un mecanismo de inactivación endógeno en el que interviene un sistema mediado por un transportador, pendiente de caracterizar (305,306). Los endocannabinoides se sintetizan a demanda y se transportan de manera retrógrada a través de la membrana postsináptica para activar los receptores CB1 presinápticos, dando lugar a una disminución de la liberación de neurotransmisores. Se han descrito dos enzimas de degradación de los endocannabinoides, una específica para el 2-AG llamada

monoacil-glicerol lipasa (MAGL) (307) y otra que actúa preferentemente sobre la anandamida, pero también sobre la 2-AG, llamada ácido graso amida hidrolasa (FAAH) (308). Todos estos descubrimientos han permitido demostrar la existencia de un sistema de señal cannabinoide que está activo en el cerebro y en la periferia, ejerciendo una función moduladora y homeostática (309,310).

La mayor parte de las acciones de los endocannabinoides se llevan a cabo a través de su interacción con los receptores de CBs clásicos, el CB1 y el CB2. Los receptores CB1 están muy expresados en el sistema nervioso central, preferentemente en las neuronas, mientras que los receptores CB2 se asocian al sistema inmunológico, tanto periférico como en el sistema nervioso central, localizado preferentemente en la microglía (301,311). Además de estos receptores, se han descrito otros tipos de receptores relacionados con las señales endocannabinoides. Es el caso del TRPV1 (transient receptor potencial vanilloid tipo 1), regulado por CBs e involucrado en el dolor y la inflamación (312,313), el receptor acoplado a la proteína de unión GTP GRP55 (314) y el receptor anormal de CBD (315). Además, evidencias recientes indican que ciertos CBs también son capaces de unirse y activar los receptores nucleares de la familia de receptores PPAR (peroxisome-proliferator-activated receptor), induciendo acciones como el control de la respuesta inflamatoria (316). Por tanto, la evidencia indica que los efectos de los CBs no se limitan sólo a su acción mediante los receptores CB1 y CB2, y se espera que la lista de dianas de los CBs aumente en los próximos años, con posible desarrollo de nuevos fármacos (232).

La activación de los receptores CBs inhibe la adenilato ciclasa, resultando en una reducción de los niveles del segundo mensajero cAMP (cyclic adenosine monophosphate). Este segundo mensajero regula una serie de cascadas de señalización intracelular, esencial para un buen número de funciones celulares, como la regulación de

la muerte celular (317). La activación de los receptores CBs también se acopla a los canales iónicos de regulación como el canal voltaje-dependiente del  $\text{Ca}^{2+}$  y a la activación de canales de potasio ( $\text{K}^+$ ) intracelulares. La modulación de los canales iónicos dependientes de voltaje, se cree que es la base de la disminución de los neurotransmisores excitatorios inducidos por los CBs.

### **3) El sistema endocannabinoide en la enfermedad de Huntington.**

#### **1. Función del sistema de señalización cannabinoide en los GGBB.**

Los endocannabinoides, las enzimas de sus síntesis y degradación y los receptores, son particularmente abundantes en los GGBB (291,301). Es la lógica consecuencia de la importante función moduladora ejercida por el sistema de señalización cannabinoide en el control de los movimientos, que a su vez es la consecuencia de la ubicación de los elementos específicos de este sistema de señalización en los principales grupos de neuronas y sinapsis dentro del circuito de los GGBB (figura I-10) (291). Así, los núcleos que reciben eferencias estriatales, el GPe, el GPi y la SNpr, contienen altos niveles de endocannabinoides, tanto anandamida como 2-AG (318,319), y de receptores CB1, que es el receptor principal involucrado en el control del movimiento en circunstancias normales (291). Los sitios de unión a los receptores CB1 están localizados en las terminaciones nerviosas presinápticas de las neuronas de proyección estriatal, las neuronas espinosas de mediano tamaño (320–323), ya descritas previamente. Esto explica los altos niveles de ARN mensajero de transcripción de este receptor que se encuentran en el caudado y el putamen (324). Los receptores CB1 están presentes en las neuronas estriatales de las dos vías de proyección, la directa y la indirecta. Sin embargo, los receptores CB1 no están generalmente presentes en las neuronas estriatales intrínsecas, a excepción de las interneuronas GABAérgicas y algunas interneuronas de la

subpoblación colinérgica (322,323). Los receptores CB1 también están presentes presinápticamente en las neuronas glutamatérgicas dentro del circuito de los GGBB, como las aferencias del estriado provenientes de la corteza cerebral y, en particular, las aferencias provenientes de la SN, cuyos cuerpos neuronales se encuentran en el NST (figura I-10) (321,324). Por otro lado, las neuronas dopaminérgicas nigroestriatales no presentan receptores CB1, sino el ya descrito receptor TRVP1 (325–327).

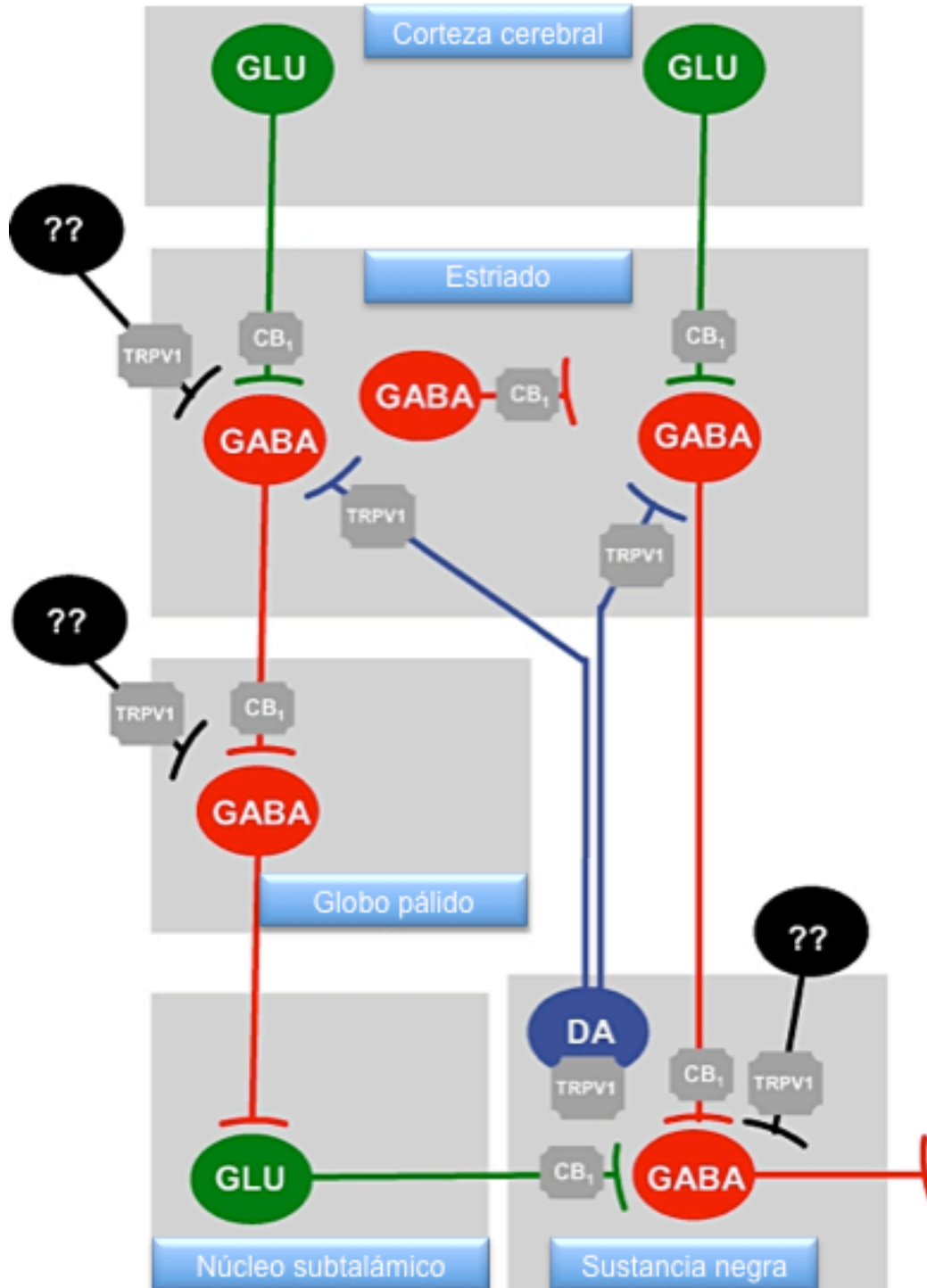


Figura I-10. Localización de los RCB1 y TRPV1 en las subpoblaciones específicas dentro del circuito de los GGBB. Las vías reguladoras están representadas en azul, las vías inhibitorias en rojo y las excitatorias en verde. Las neuronas desconocidas se representan en negro. Modificado de Fernández Ruiz 2009 (291).

Además, las células gliales, que en su mayoría son astrocitos, podrían expresar de forma natural el receptor CB2, aunque los niveles de este receptor deben ser muy bajos en condiciones normales (328,329). Curiosamente, estos receptores están muy regulados en los astrocitos, siendo inducidos en las células de la microglía activada en respuesta a diferentes daños citotóxicos, tal y como ocurre en la mayoría de las enfermedades de los GGBB (329).

La principal función de la señalización cannabinoide en los circuitos de los GGBB es ser un sistema de señalización retrógrada en las sinapsis GABAérgicas y glutamatérgicas, ya que la ubicación de los receptores CB1 a nivel presináptico, permite que puedan controlar eventos presinápticos, como la síntesis, la liberación o recaptación de estos neurotransmisores (291). Así pues, los endocannabinoides y los receptores CB1 parecen tener un papel en la supresión de la despolarización sináptica de la excitación o la inhibición y también en la depresión a largo plazo de las sinapsis estriatales (291). Además, la anandamida podría ser capaz de inhibir algunos eventos presinápticos en las sinapsis dopaminérgica, actuando a través del receptor TRPV1 localizado en las neuronas dopaminérgicas nigroestriatales (326). Sin embargo, también es posible modular la transmisión dopaminérgica mediante la interacción a nivel de la transducción de la proteína G o adenilato-ciclasa tanto de los receptores CB1 como los receptores de dopamina D1 y D2 (319,330), especialmente cuando los receptores CB1 están localizados junto a los receptores D1 en las neuronas nigroestriatales y junto a los receptores D2 en las neuronas de proyección al globo pálido (331) (ver figura I-11).

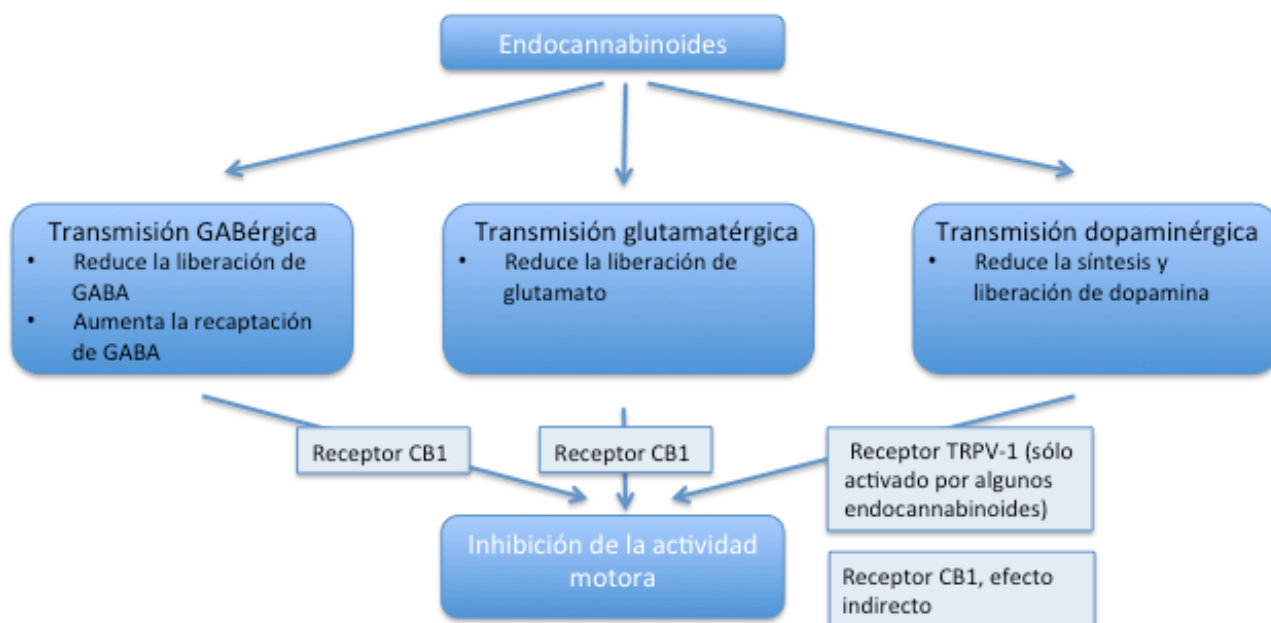


Figura I-11. Esquema del efecto modulador de los endocannabinoides en los tres principales neurotransmisores de los GGBB. Modificado de Fernández-Ruiz 2009 (291).

## 2. Cambios en el sistema de señalización cannabinoide en la EH.

Estudios en muestras obtenidas postmortem de pacientes con EH, mostraron una progresiva y marcada pérdida de receptores CB1 en diferentes estructuras de los GGBB (estriado, globo pálido y sustancia negra) (332–334). Estos datos se corroboraron con estudios paralelos utilizando diferentes modelos animales de EH (331,335), tanto en modelos de ratón R6/1, R6/2 o HD94, donde la magnitud de la pérdida de receptores CB1 se correlacionó con el tamaño de las repeticiones CAG (336–339), como en modelos de ratas con atrofia estriatal generada por la aplicación de excitotoxinas específicas o toxinas mitocondriales (340–343). Además, recientemente se ha demostrado que el déficit de receptores CB1, en un modelo doble mutado de ratón R6/2 de EH con déficit de los receptores CB1, es clave en la patogenia de la EH (344).

Todos estos datos, indican de forma contundente, que la señalización cannabinoide (tanto los receptores CB1 como los endocannabinoides) se vuelve progresivamente hipofuncionante en los GGBB de la EH (en los pacientes y en los modelos experimentales), lo cual puede explicar la naturaleza hiperkinética de la enfermedad y la capacidad potencial de los compuestos capaces de unirse a los receptores CB1 de aliviar las alteraciones motoras, tal y como veremos en el siguiente apartado (291,345). Hay evidencias de que esta pérdida de los receptores CB1, está presente incluso en condiciones en las que el daño estriatal todavía no se ha producido o es mínimo. Por ejemplo, se han obtenidos muestras de pacientes muertos en estadios muy tempranos de la enfermedad, en los que ya se evidencia esta pérdida de receptores CB1 antes de la muerte neuronal (333,345). Este hecho demuestra que la pérdida de receptores CB1 debe ser un evento involucrado en la iniciación y/o en las fases tempranas de la EH, más que ser una consecuencia de la degeneración del estriado (345). La pérdida o el mal funcionamiento de los receptores CB1 podrían contribuir al inicio y/o progresión de la enfermedad haciendo a estas neuronas más vulnerables a los diferentes estímulos citotóxicos vinculados al daño celular en la EH, como el estrés oxidativo, la excitotoxicidad o la inflamación (346). En este caso, la activación de estos receptores podría utilizarse como una estrategia neuroprotectora en esta enfermedad (345), como se explicará más adelante.

El sistema cannabinoide, también se modifica en fases más avanzadas de la enfermedad, en condiciones de daño del estriado, con el aumento de los receptores CB2 en las células de la microglía. Ya se ha comentado que los receptores CB2 son muy escasos en condiciones normales en el estriado, pero hay una regulación con inducción a la formación de estos receptores en respuesta al daño. Esta regulación ocurre en los elementos de la glía, los astrocitos y, particularmente, la microglía reactiva (347,348). Esto



también se ha descrito en otras enfermedades neurodegenerativas o neuroinflamatorias (como la enfermedad de Alzheimer, la esclerosis múltiple, el dolor neuropático, el ictus y otras) (231). La activación de los receptores CB2 en las células gliales, presuntamente podrían mejorar la homeostasis en la EH, reduciendo la influencia citotóxica de las células de la microglía reactiva y/o aumentando el soporte trófico ejercido por los astrocitos.

Finalmente, también hay datos que hacen pensar que hay cambios en las enzimas involucradas en el metabolismo de los endocannabinoides en los pacientes y modelos animales de EH. Así, se ha encontrado que la FAAH, enzima involucrada en la degradación de anandamida, está drásticamente disminuida en los linfocitos obtenidos de pacientes con EH en comparación con linfocitos de personas sanas (349).

#### **4) Acción farmacológica de los cannabinoides.**

Toda la evidencia científica descrita apoya la idea de que el sistema de señalización endocannabinoide desempeña un papel importante en la actividad de los circuitos cerebrales de los GGBB. Entre esta evidencia, destaca:

- a. Los abundantes elementos de señalización endocannabinoide en los GGBB.
- b. Los importantes efectos motores tras la activación o inhibición de este sistema de señalización endocannabinoide.
- c. La modulación por los endocannabinoides de neurotransmisores clave dentro de los circuitos de los GGBB.

Por este motivo, **el tratamiento farmacológico de este sistema de señalización, puede servir como una nueva terapia para el tratamiento de la disfunción motora en aquellos trastornos que afectan a las estructuras de los GGBB, como es el caso de la EH (291).**

Las sustancias capaces de activar el sistema de señalización cannabinoide, pueden actuar como agonistas de los receptores o inhibiendo los mecanismos de inactivación de los endocannabinoides (291). Así pues, de acuerdo con lo descrito previamente, estas sustancias tendrían efectos importantes en el control del movimiento, de naturaleza inhibitoria (291). Sin embargo, la mayoría de estudios publicados hasta ahora, han encontrado cierta variación en la magnitud y duración de los efectos motores, dependiendo de las características de estos compuestos en términos de afinidad por el receptor, potencia y estabilidad metabólica (291). La mayoría de estos efectos, se originan a través de la activación de los receptores CB1, así mismo, los efectos motores de la mayoría de los agonistas cannabinoide, se revierte con rimonabant y otros antagonistas selectivos del receptor CB1 (291). Sin embargo, ciertos efectos motores mediados por anandamida o su análogo AM404 (un compuesto inicialmente desarrollado como inhibidor de la absorción de endocannabinoides, pero que también presenta otras propiedades) se revierten por el antagonista del receptor TRPV1 y no por el rimonabant. Por lo tanto, parece que estos están más relacionados con la capacidad de estos compuestos de unirse a los receptores TRPV1 que con la capacidad de activar los receptores CB1 (326,343,350).

### **5) Efectos sintomáticos de los cannabinoides en los trastornos del movimiento.**

A finales de los años 90, ensayos clínicos intentaron demostrar si los CBs derivados de las plantas (351) o algunos de sus análogos (352), podrían utilizarse para mejorar los movimientos coreicos de la EH, en base a la hipofuncionalidad del sistema cannabinoide en esta enfermedad. Sin embargo, estos estudios demostraron agravamiento de los movimientos coreicos, en vez de mejorar la hipercinesia (351,352).

El hecho de que se reduzca en fase temprana los receptores CB1, coincidiendo con la fase en la que predominan los síntomas hipercinéticos en la EH, nos da la idea que la activación directa o indirecta de estos receptores podrían tener un efecto antihipercinético. Sin embargo, la masiva pérdida de receptores CB1, junto a la aparición de síntomas hipocinéticos más que hipercinéticos en las fases más avanzadas de la enfermedad, restringe este efecto sintomático sólo a las fases tempranas de la enfermedad (345). En evaluaciones preclínicas realizadas en la Universidad Complutense de Madrid, han demostrado, sorprendentemente, este efecto sólo con determinados agonistas CBs que combinan la capacidad de aumentar la actividad endocannabinoide con la capacidad de activar directamente los receptores TRPV1 (345). Estos receptores, además, no se degradan durante la progresión de la enfermedad (345). Por tanto, más que a través de los receptores CB1, la diana relevante para el tratamiento de las hipercinesias de las primeras etapas de la EH son los receptores TRPV1 (291,345).

Es muy posible que el motivo por el que fracasaron los estudios con CBs para los movimientos coreicos de finales de los 90, fuera porque se utilizaron compuestos sin actividad sobre los receptores TRPV1 (291,351,353). Se ha descrito un cierto efecto beneficioso de análogo del THC, nabilona, en una paciente con EH, aunque la mejoría parece que se podía atribuir más a las alteraciones psiquiátricas que a las motoras (354). Por tanto, el compuesto ideal, basándonos en estos trabajos preclínicos, sería un

compuesto híbrido con capacidad dual para activar los receptores CB1 y los TRPV1 (291,345). Desgraciadamente, estos compuestos híbridos todavía están pendientes de validación clínica (345). **El Sativex® no activa los receptores TRPV1.**

#### **6) Efectos neuroprotectores de los cannabinoides.**

**Los CBs podrían utilizarse para detener o retrasar la progresión de la degeneración estriatal en la EH (291,345,355–358).**

Esto se basa, en primer lugar, por el tipo de cambios experimentados por el sistema cannabinoide durante el curso de la EH. Como ya se ha descrito, en las fases más tempranas de la enfermedad, hay una reducción de los niveles de endocannabinoides (tanto la síntesis de endocannabinoides esta inhibida, como, sobre todo, hay una pérdida de los receptores CB1) antes de la aparición de los signos neuropatológicos de muerte celular. Por tanto puede tener un papel en el inicio de las primeras fases de la enfermedad, activando un desbalance en la homeostasis del glutamato, que podría iniciar la excitotoxicidad. Si esto es así, la estimulación de este sistema (por ejemplo, activando los receptores CB1) podría reducir la progresión de la degeneración estriatal. Por otro lado, los receptores CB2, pueden tener un papel en la regulación de la influencia de las células gliales en la toxicidad de la microglía activada en la homeostasis neuronal. Si esto es verdad, la activación de los receptores CB2 podría contribuir a la atenuación de la degeneración estriatal en esta enfermedad (345).

Evidencia reciente indica que el sistema de señal endocannabinoide, tiene un papel en el control de la homeostasis y supervivencia neuronal. Así pues, la activación de los receptores CBs con agonistas sintéticos o naturales, incluyendo los endocannabinoides, se asocia a modificaciones en las señales intracelulares implicadas en las respuestas celulares a la supervivencia, a la homeostasis y a la reparación (232,359), permitiendo así

a las neuronas y a las células gliales limitar el alcance de diversos procesos citotóxicos, como la excitotoxicidad, el estrés oxidativo y la inflamación, que actúan en los procesos neurodegenerativos (232,357,358). Las propiedades neuroprotectoras y las posibles neurorreparadoras de estos compuestos, están probablemente basadas en estas capacidades que, en el caso de los CBs, muestran la extraordinaria característica de estar todas presentes a la vez con una sola molécula (232,357,358,360) (figura I-12). Probablemente, este hecho es consecuencia de la ubicación de elementos clave de la señalización cannabinoide en sustratos moleculares y celulares para la supervivencia de la neurona (232). Así por ejemplo, como ya se ha mencionado previamente, los receptores CB1 se encuentran en las sinapsis glutamatérgicas, tanto a nivel presináptico como postsináptico, que permite el control de un exceso de liberación de glutamato y la sobreactivación de receptores glutamatérgicos, tanto limitando la entrada de calcio como la activación de la vía de destrucción calcio-dependiente (232,361–363). También se ha comentado previamente, que los receptores CB1 se encuentran además en las neuronas GABAérgicas pero, mientras que los receptores localizados en neuronas glutamatérgicas se activan bajo condiciones de excitotoxicidad, los receptores localizados en las neuronas GABAérgicas son silenciados (364,365). Por tanto, los CBs capaces de activar los receptores CB1 pueden mejorar la homeostasis del glutamato (232).

Además, como también se ha comentado previamente, la activación por los CBs de los receptores CB2, puede tener un papel neuroprotector, ya sea mejorando el efecto protector de la microglía o disminuyendo la destrucción de la inflamación (232,357,358). Así, la activación de los receptores CB2 puede reducir la liberación de factores citotóxicos como citoquinas inflamatorias y puede reducir la generación ROS y óxido nítrico por la microglía activada, reduciendo el daño, a la vez que se aumenta la producción de

moléculas que favorecen la supervivencia como factores neurotróficos o citoquinas antiinflamatorias (232,357,358,366) (Figura I-12).

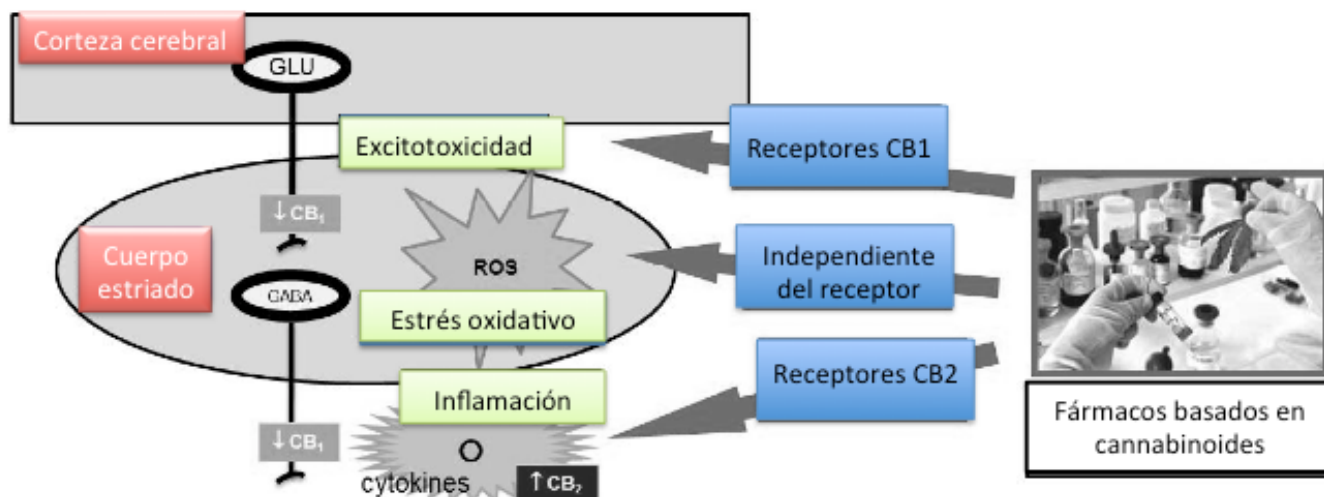


Figura I-12. Esquema de las tres potenciales dianas del proceso citotóxico (la excitotoxicidad, el estrés oxidativo y la inflamación) que son susceptibles de ser tratadas, modificando el curso de la enfermedad, con CB en la EH. Modificado de Sagredo et al 2012 (232).

Además, la disfunción mitocondrial y el estrés oxidativo también son causas de la degeneración estriatal en la EH. Algunos cannabinoides pueden ser efectivos contra este tipo de eventos neurotóxicos, como es el caso de la  $\Delta^9$ -THC y del CBD, dos derivados CBs con efecto antioxidante. Este efecto parece independiente de los diferentes receptores CBs, y es derivado de la presencia de grupos fenólicos en su estructura química. Además, tienen una presumible acción como eliminadores de radicales libres (232,345,367). El CBD es un componente natural de la planta, con propiedades antioxidantes potentes debido a su estructura química, pero libre de efectos adversos relevantes en algunos CBs como el desarrollo de tolerancia o efectos psicoactivos, debido a su pobre unión a los receptores CB1 (232,367,368). El CBD ha demostrado ser eficaz

como neuroprotector en diferentes modelos de enfermedades neurodegenerativas (232).

**Sativex® contiene ambos CBs, Δ9-THC y el CBD.**

### **7) Efecto neuroreparador de los cannabinoides.**

Recientes estudios revelan que los CBs también podrían tener un efecto neuroregenerativo, siendo capaces de influir en la neurogénesis del adulto (369). Se sugiere que los CBs pueden ser activos en la proliferación de células progenitoras, en la diferenciación a neuronas y en su migración al estriado dañado (291,345,369–371). Sería una acción equivalente a la realizada por las diferentes neurotrofinas como FGF-2 y el BDNF (345,372–374). Esto permitiría mejoría de la EH, una vez ya se hubiera iniciado la neurodegeneración.

Recientemente se ha demostrado la presencia de una población de célula progenitoras que expresan receptores cannabinoides en las capas subependimarias del cerebro de adultos sanos y con EH (375).

Por desgracia la evidencia todavía es escasa (291,345).

### **8) Estudios preclínicos sobre neuroprotección por cannabinoides en la EH.**

Con la idea de que los CBs son neuroprotectores por la combinación de distintos pero complementarios efectos, se han realizado varios experimentos para intentar determinar los tipos de agonistas CBs capaces de mejorar la supervivencia neuronal en diferentes modelos de EH (329,376–381).

Algunos estudios se han llevado a cabo en modelos celulares de EH, que han revelado que varios compuestos derivados de CBs, como el cannabinoil (CBN), cannabidiol (CBD), el Δ8-tetrahydrocannabinol (Δ8-THC) y el Δ9-THC, en los que

resultaron citoprotectores (380). Sin embargo, otros autores, utilizando éstos en ensayos *in vitro*, no han encontrado el efecto protector (381).

Los compuestos CBs, también se han utilizado como agentes neuroprotectores en modelos *in vivo* de EH, sobre todo con ratas con atrofia estriatal generada con excitotóxicos o toxinas mitocondriales (377–379). Estos modelos pueden reproducir sobre todo alguno de los diferentes eventos citotóxicos que pueden contribuir a la patogénesis de la EH, como la excitotoxicidad, el estrés oxidativo o la inflamación. Pintor y su grupo demostraron que la activación de los receptores CB1 podría proveer neuroprotección, atenuando la elevación de los niveles de glutamato extracelular. Obtuvieron los resultados utilizando un agonista no selectivo, el WIN55,212-2, cuyo efecto positivo sólo se revertía con el antagonista rimonabant (378).

La disfunción mitocondrial y el estrés oxidativo también se pueden reproducir en modelos de ratas intoxicadas con el inhibidor del complejo II inhibidor 3-nitropropionico (382,383). Los CBs podrían ser efectivos contra este tipo de eventos neurotóxicos, como es el caso del  $\Delta^9$ -THC (376) y del CBD (379), por su gran efecto antioxidante.

También la activación de los elementos de la glía, en concreto, la microglía reactiva, se puede reproducir en ratas lesionadas con otro inhibidor del complejo II de las mitocondrias, el malonato, que es un inhibidor reversible, actuando a través del mecanismo apoptótico, activando los receptores NMDA y caspasa-3 (384). En estos modelos, los agonistas selectivos para los receptores CB2, y no los agonistas del CB1, han sido los CBs capaces de proteger las neuronas estriatales de la muerte (329,357).



### 9) Estudios clínicos sobre neuroprotección por cannabinoides en la EH.

**Todos los datos descritos hasta ahora, aportan una sólida evidencia como para pasar a la evaluación clínica de los CBs en pacientes con EH.** De hecho, ya se han publicado estudios que intentan determinar si algunos CBs específicos son eficaces en pacientes con EH, aunque estos estudios se han centrado en síntomas (como el corea o las alteraciones conductuales) y no en la progresión de la enfermedad. Así, la nabilona fue utilizada en dos ensayos no controlados en pacientes únicos (352,354). Este análogo del  $\Delta 9$ -THC, comercializado como Cesamet®, es un potente agonista de los receptores CB1, por lo que se intentó atenuar los movimientos hiperkinéticos y algunas alteraciones del comportamiento. Pero los resultados fueron contradictorios, en uno de los estudios con nabilona hubo mejoría sintomática (354), pero en el otro empeoramiento (352). Más recientemente, la nabilona también se ha usado en un estudio cruzado, doble ciego, controlado con placebo, en el cual se producía mejoría en los síntomas motores y algunos cognitivos (385). Otro compuesto cannabinoide ha sido estudiado en un ensayo controlado, el CBD, pero a pesar de que fue bien tolerado, no mostró beneficio en la gravedad del corea en 15 pacientes con EH (386).

Los estudios descritos, no evaluaron la progresión de la enfermedad. Además se utilizaron agonistas CBs aislados. Sin embargo, los datos obtenidos de modelos animales, sugieren que la combinación de diferentes CBs o el uso de CBs con amplio espectro de acción podrían ser más recomendables en un ensayo clínico que evaluara el efecto neuroprotector, dada la diversidad de dianas y procesos citotóxicos en los que los CBs pueden aportar beneficio (232). En este sentido, **una buena alternativa podría ser el Sativex®**, un derivado cannabinoide que es una preparación equimolecular de  $\Delta 9$ -THC y CBD enriquecido con extracto botánicos (232,387–389). Como ya se ha descrito, ambos derivados CBs ya se han investigado en modelos animales, con resultados positivos

(232,376,379) y, la combinación de ambos, enriquecido con los mismos extractos botánicos que el Sativex®, ha sido recientemente evaluada en estos modelos animales con similares resultados (390), siendo sometida a la protección de patentes (232). La presencia de  $\Delta$ 9-THC en el Sativex® permite a este fármaco activar los receptores CB1 y CB2, dos dianas involucradas en los efectos de neuroprotección, como la excitotoxicidad y la inflamación respectivamente (232,329,344,348,378,391). Además, la presencia de CBD aumenta el potencial antioxidante de este fármaco, además de aportar otras ventajas, como el amplio espectro de efectos biológicos, algunos importantes para la neuroprotección, como su efecto antiinflamatorio o el aumento de serotonina (232,368,379,392–395).

Por último, a pesar de que los efectos a largo plazo del uso crónico de Sativex® en humanos, todavía no son conocidos, es importante destacar que el CBD tiene una buena tolerancia y una baja toxicidad y, providencialmente, es capaz de atenuar los posibles efectos adversos asociados al uso crónico de  $\Delta$ 9-THC (232), como las alteraciones psicóticas, sobre todo en una enfermedad que cursa con alteraciones psiquiátricas.

**Todo esto, hace que Sativex® sea una buena opción para el tratamiento de pacientes con EH.**

#### 4. SATIVEX®.

Toda la información presentada a continuación, ha sido obtenida del “**Investigator Brochures Sativex® Oromucosal Spray**”. No se han incluido las referencias de todos los datos aportados, ya que la referencia siempre ha sido el manual del investigador.

##### 1) Nombre del medicamento.

Sativex® 2,7 mg/2,5 mg solución para pulverización bucal.

##### 2) Composición cualitativa y cuantitativa.

Cada ml contiene: 38-44 mg y 35-42 mg de dos extractos (como extractos suaves) de *Cannabis sativa L., folium cum flore* (hoja y flor de cannabis) equivalentes a 27 mg de  $\Delta$ 9-THC y 25 mg de CBD. Disolvente de extracción: dióxido de carbono líquido.

Cada pulverización de 100 microlitros contiene: 2,7 mg de  $\Delta$ 9-THC y 2,5 mg de CBD. Cada pulverización de 100 microlitros también contiene hasta 0,04 g de alcohol.

##### 3) Forma farmacéutica.

Solución para pulverización bucal.

Solución en envase pulverizador.

##### 4) Datos clínicos.

###### 1. Indicaciones terapéuticas.

Sativex® está indicado como tratamiento adicional para la mejoría de los síntomas en pacientes con espasticidad moderada o grave debida a la esclerosis múltiple (EM) que no han respondido de forma adecuada a otros medicamentos antiespásticos y que han

mostrado una mejoría clínicamente significativa de los síntomas relacionados con la espasticidad durante un período inicial de prueba del tratamiento.

No existen datos previos sobre el uso de Sativex® en pacientes con EH. El compuesto, además de para la espasticidad, ha sido utilizado en varios estudios en fase III en pacientes con dolor neuropático, problemas vesicales en EM y dolor en pacientes oncológicos. En estos pacientes ha demostrado eficacia, con un perfil bajo de efectos secundarios que generalmente desaparecen rápidamente tras la supresión del fármaco.

## 2. Posología y forma de administración.

Sativex® sólo debe utilizarse por vía bucal.

El tratamiento debe ser iniciado y supervisado por un médico especialista con experiencia en el tratamiento de esta población de pacientes.

La pulverización debe realizarse en diferentes lugares de la superficie bucal, alternando el lugar de aplicación en cada uso del producto.

Debe informarse a los pacientes de que la determinación de la dosis óptima puede tardar hasta dos semanas y que pueden producirse efectos indeseables durante este período, principalmente mareos. Estas reacciones suelen ser de carácter leve y desaparecen en pocos días. Sin embargo, los médicos deben considerar mantener o reducir la dosis actual, o interrumpir el tratamiento, al menos temporalmente, en función de la gravedad e intensidad de las reacciones.

**Período de ajuste de la dosis:** Es necesario un período de ajuste de la dosis para alcanzar la dosis óptima. La cantidad y momento de las pulverizaciones variarán según el paciente. El número de pulverizaciones debe aumentarse cada día de acuerdo con las pautas proporcionadas en la tabla I-1. La dosis de la tarde/noche debe administrarse en cualquier momento entre las 16 h y la hora de acostarse. Cuando se añada la dosis de la

mañana, debe administrarse en cualquier momento entre la hora de levantarse y el mediodía. El paciente puede continuar incrementando gradualmente la dosis en una pulverización al día, hasta un máximo de 12 pulverizaciones al día, o hasta la aparición de efectos secundarios. Deben dejarse transcurrir como mínimo 15 minutos entre cada pulverización.

Día	Número de pulverizaciones por la mañana	Número de pulverizaciones por la noche	Número total de pulverizaciones
1	0	1	1
2	0	1	1
3	0	2	2
4	0	2	2
5	1	2	3
6	1	3	4
7	1	4	5
8	2	4	6
9	2	5	7
10	3	5	8
11	3	6	9
12	4	6	10
13	4	7	11
14	5	7	12

**Tabla I-1. Pauta ascendente del Sativex®.**

**Período de mantenimiento:** Después del período de ajuste de la dosis, se recomienda que los pacientes mantengan la dosis óptima alcanzada. La dosis media en ensayos clínicos con pacientes con esclerosis múltiple es de ocho pulverizaciones al día. Una vez alcanzada la dosis óptima, los pacientes pueden distribuir las pulverizaciones a lo largo del día según su respuesta y tolerabilidad individuales. Puede ser apropiado volver a realizar un ajuste ascendente o descendente de la dosis si se producen cambios en la gravedad del estado del paciente, modificaciones de la medicación concomitante o

si se desarrollan reacciones adversas problemáticas. Las dosis superiores a 12 pulverizaciones al día no son recomendables y sólo deben tenerse en consideración en caso de que los beneficios potenciales sean mayores que los riesgos.

### **3. Contraindicaciones.**

Sativex® está contraindicado en pacientes con:

- Hipersensibilidad a los cannabinoides o a alguno de sus excipientes.
- Antecedentes personales conocidos o sospechados o antecedentes familiares de esquizofrenia u otras enfermedades psicóticas, antecedente de trastorno grave de la personalidad y otros trastornos psiquiátricos importantes distintos de la depresión asociada a la enfermedad subyacente.
- Mujeres en periodo de lactancia, debido a la probabilidad de niveles considerables de CBs en la leche materna y a los posibles efectos adversos en el desarrollo del lactante.

### **4. Advertencias y precauciones especiales de empleo.**

A menudo se notifican mareos leves o moderados. Esto suele ocurrir en las primeras semanas de tratamiento.

No se recomienda el uso de Sativex® en niños o adolescentes menores de 18 años de edad debido a la ausencia de datos sobre seguridad y eficacia.

No se recomienda el uso de Sativex® en pacientes con enfermedad cardiovascular grave. Sin embargo, tras la administración de hasta 18 pulverizaciones dos veces al día

de Sativex® en voluntarios sanos, no se observaron cambios clínicamente relevantes en la duración de los intervalos QTc, PR o QRS, la frecuencia cardíaca ni la presión arterial.

Se debe tener cuidado al tratar a pacientes con antecedentes de epilepsia o crisis recurrentes hasta que no se disponga de más información.

$\Delta$ 9-THC y CBD son metabolizados en el hígado, y aproximadamente un tercio de estos fármacos inalterados y sus metabolitos son excretados en la orina (el resto a través de las heces). Varios metabolitos de  $\Delta$ 9-THC pueden ser psicoactivos. No se han realizado estudios específicos en pacientes con insuficiencia hepática o renal significativa. En estos pacientes, los efectos de Sativex® pueden ser exagerados o prolongados. Para esta población de pacientes se recomienda efectuar una evaluación clínica frecuente.

Sativex® contiene aproximadamente un 50% v/v de etanol. Cada pulverización contiene hasta 0,04 g de etanol. Un vaso de vino pequeño (125 ml) con un contenido nominal de etanol del 12% v/v contiene aproximadamente 12 g de etanol. La dosis máxima recomendada es de hasta 12 pulverizaciones al día, que contienen menos de 0,5 g de etanol.

Existe riesgo de que aumente la incidencia de caídas en pacientes con reducción de la espasticidad y cuya fuerza muscular es insuficiente para mantener la postura o la marcha. Además de un mayor riesgo de sufrir caídas, las reacciones adversas de Sativex® sobre el sistema nervioso central (SNC) podrían afectar a diversos aspectos de la seguridad personal, como por ejemplo en la preparación de comidas y bebidas calientes.

A pesar de que existe un riesgo teórico de que pueda producirse un efecto aditivo con relajantes musculares como el baclofeno y las benzodiazepinas, aumentando así el riesgo de caídas, dicho efecto no se ha observado en los ensayos clínicos con Sativex®. No obstante, conviene advertir a los pacientes de esta posibilidad.

Aunque no se han observado efectos en la fertilidad, los resultados de estudios independientes realizados con animales indican que los CBs afectan a la espermatogénesis. Las pacientes en edad fértil y los pacientes varones que tengan una pareja en edad fértil deben adoptar medidas anticonceptivas fiables durante el tratamiento y durante tres meses después de su interrupción.

Es posible que los pacientes con antecedentes de abuso de sustancias sean más propensos a abusar también de Sativex®.

La interrupción brusca del tratamiento con Sativex® a largo plazo no da lugar a un patrón uniforme o perfil temporal de los síntomas de abstinencia y probablemente sus consecuencias se limiten a trastornos pasajeros del sueño, del estado emocional o del apetito en algunos pacientes. No se han observado incrementos de la dosificación diaria en el uso a largo plazo y los niveles de “intoxicación” notificados por los propios pacientes son bajos. Por ello, es improbable la aparición de dependencia a Sativex®.

### **5. Interacción con otros medicamentos.**

Los dos componentes principales de Sativex®,  $\Delta$ 9-THC y CBD, son metabolizados por el sistema enzimático del citocromo P450. En los ensayos clínicos en los que Sativex® se ha administrado de forma concomitante con otros medicamentos metabolizados por el sistema enzimático del citocromo P450, no se han observado interacciones farmacológicas clínicamente aparentes a dosis terapéuticas.

Los efectos inhibidores de Sativex® sobre el sistema del citocromo P450 observados in vitro y en modelos animales sólo se apreciaron a exposiciones significativamente superiores a la exposición máxima observada en ensayos clínicos.

En un estudio in vitro con  $\Delta$ 9-THC de origen vegetal y CBD de origen vegetal 1:1% (v/v), no se observó ninguna inducción relevante de enzimas del citocromo P450 para las



enzimas humanas CYP1A2, CYP2C9, CYP2C19 y CYP3A4 en hepatocitos humanos a dosis de hasta 1  $\mu$ M (314 ng/ml).

No se han observado cambios clínicamente relevantes en los niveles de  $\Delta$ 9-THC y CBD tras estudios de interacción alimentaria y farmacológica con Sativex®.

Al administrar Sativex® junto con alimentos, se produce un aumento medio de la concentración máxima (C<sub>máx.</sub>), el área bajo la curva (AUC) y la semivida. La magnitud de este aumento fue inferior a la variabilidad interindividual para estos parámetros.

El tratamiento concomitante con el inhibidor de CYP3A4 ketoconazol, produjo un aumento de la C<sub>máx.</sub> y el AUC del  $\Delta$ 9-THC y su metabolito principal así como del CBD. El grado de este aumento fue sustancialmente inferior a la variabilidad interindividual. Tras el tratamiento con el inductor de CYP3A4 rifampicina, se observó una reducción en la C<sub>máx.</sub> y el AUC del  $\Delta$ 9-THC y su principal metabolito así como del CBD. La magnitud de esta reducción para THC y CBD fue sustancialmente inferior a la variabilidad interindividual. No obstante, se observaron pequeños cambios, que en ocasiones fueron estadísticamente significativos, aunque estuvieron dentro de los límites de la variabilidad interindividual natural.

El tratamiento concomitante con el inhibidor de CYP2C19 omeprazol, no produjo cambios notables en ninguno de los parámetros farmacocinéticos.

Se debe tener cuidado al usar medicamentos hipnóticos, sedantes y fármacos con un potencial efecto sedante ya que puede producirse un efecto aditivo en la sedación y en los efectos miorrelejantes.

Aunque no se ha observado un mayor número de acontecimientos adversos en pacientes que ya tomaban fármacos antiespásticos junto con Sativex®, debe tenerse cuidado al administrar de forma concomitante Sativex® con dichos fármacos dado que

puede producirse una reducción del tono y la fuerza musculares, lo que conllevaría un mayor riesgo de caídas.

Sativex® puede interactuar con el alcohol y afectar a la coordinación, la concentración y la rapidez de respuesta.

## **6. Reacciones adversas y sobredosis.**

En el programa clínico de Sativex® se incluyeron más de 1.500 pacientes con esclerosis múltiple (EM) en ensayos controlados con placebo y estudios abiertos a largo plazo en los que algunos pacientes recibieron hasta 48 pulverizaciones al día.

Las reacciones adversas notificadas con mayor frecuencia durante las primeras cuatro semanas de exposición fueron mareos (presentes principalmente durante el período de ajuste de la dosis inicial) y fatiga. Estas reacciones fueron normalmente de carácter leve a moderado y remitieron en pocos días, incluso si se continuaba con el tratamiento. Cuando se utilizó la pauta de ajuste de la dosis recomendada, la incidencia de mareos y fatiga en las primeras cuatro semanas fue mucho menor.

En la tabla I-2 se indica la frecuencia de los acontecimientos adversos que presentaron una relación plausible con Sativex®, a partir de ensayos controlados con placebo en pacientes con EM, de acuerdo con la clasificación de órganos del sistema MedDRA (algunos de estos acontecimientos adversos pueden formar parte de la enfermedad subyacente).

<b>Clasificación de órganos del sistema MedDRA</b>	<b>Muy frecuentes ≥ 1/10</b>	<b>Frecuentes De ≥ 1/100 a &lt; 1/10</b>	<b>Poco frecuentes De ≥1/1000 a &lt; 1/100</b>
Infecciones e infestaciones			Faringitis
Trastornos del metabolismo y de la nutrición		Anorexia (incluyendo apetito disminuido), aumento del apetito	
Trastornos psiquiátricos		Depresión, desorientación, disociación, estado de ánimo eufórico	Alucinaciones (no especificadas, auditivas, visuales), ilusiones, paranoia, ideación suicida, percepción delirante*
Trastornos del sistema nervioso	Mareo	Amnesia, alteración del equilibrio, alteración de la atención, disartria, disgeusia, letargia, alteración de la memoria, somnolencia	Síncope
Trastornos oculares		Visión borrosa	
Trastornos del oído y del laberinto		Vértigo	
Trastornos cardíacos			Palpitaciones, taquicardia
Trastornos vasculares			Hipertensión
Trastornos respiratorios, torácicos y mediastínicos			Irritación de garganta
Trastornos gastrointestinales		Estreñimiento, diarrea, boca seca, glosodinia, ulceración de la boca, náuseas, molestias en la boca, dolor bucal, vómitos	Dolor abdominal (superior), cambio de color de la mucosa oral*, alteración oral, exfoliación de la mucosa oral*, estomatitis, cambio de color de los dientes
Trastornos generales y alteraciones en el lugar de administración	Fatiga	Dolor en la zona de aplicación, astenia, sensación anormal, sensación de embriaguez, malestar general	
Lesiones traumáticas, intoxicaciones y complicaciones de procedimientos terapéuticos		Caída	

\*Notificada en estudios abiertos a largo plazo.

**Tabla I-2. Frecuencia de los acontecimientos adversos que presentan una relación plausible con Sativex®.**

Se notificaron síntomas psiquiátricos como ansiedad, ilusiones, cambios de humor e ideas paranoides durante el tratamiento con Sativex®. Es probable que estos síntomas fueran el resultado de los efectos transitorios sobre el SNC y, en general, fueron de intensidad leve a moderada y bien tolerados. Remitieron al reducir o interrumpir el tratamiento con Sativex®.

También se notificaron desorientación (o confusión), alucinaciones e ideación paranoide o reacciones psicóticas transitorias, y, en pocos casos, no pudo descartarse una relación causal entre la administración de Sativex® y las ideas de suicidio. En cualquiera de estas circunstancias se interrumpió inmediatamente el tratamiento con Sativex® y se vigiló al paciente hasta que los síntomas remitieron por completo.

Se observaron alteraciones en la frecuencia cardíaca y en la presión arterial tras la administración de la primera dosis. Por ello, se recomendó precaución durante el período de ajuste de la dosis inicial. Se observaron episodios de desmayo con el uso de Sativex®. Se notificó un único caso de extrasístoles supraventriculares, aunque éste se produjo en el contexto de alergia aguda a frutos secos.

También se observaron reacciones adversas que pudieron estar asociadas con la vía de administración del medicamento. Las reacciones en el lugar de aplicación consistieron principalmente en escozor de leve a moderado en el momento de la aplicación. Las reacciones frecuentes en el lugar de aplicación incluyeron dolor en la zona de aplicación, dolor y molestias bucales, disgeusia, úlceras bucales y glosodinia. Se observaron dos casos de posible leucoplasia, si bien ninguno de ellos fue confirmado histológicamente, y un tercer caso no estuvo relacionado con el tratamiento. En consecuencia, se recomendó a los pacientes que experimentaron molestias o úlceras en el lugar de aplicación del medicamento que alternaran de lugar en la boca y que no siguieran efectuando pulverizaciones en la zona de la mucosa dolorida o inflamada.

También se recomendó una exploración bucal periódica en el tratamiento a largo plazo. Si se observaban lesiones o se notificaba dolor persistente, debía interrumpirse el tratamiento hasta la total remisión de los síntomas.

**Efectos sobre la capacidad para conducir y utilizar máquinas:** Sativex® puede producir efectos indeseables como mareos y somnolencia que pueden alterar la capacidad y realización de tareas en las que se requiere destreza. Los pacientes no deben conducir, utilizar máquinas ni participar en actividades peligrosas si experimentan efectos significativos sobre el SNC como mareos o somnolencia. Los pacientes deben saber que se han observado algunos casos de pérdida de consciencia con Sativex®.

**Sobredosis:** No se han realizado estudios de sobredosis deliberada con Sativex® en pacientes. Sin embargo, en un estudio exhaustivo de Sativex® llevado a cabo en 257 individuos, con 18 pulverizaciones en un período de 20 minutos dos veces al día, se observaron signos y síntomas de sobredosis/intoxicación. Éstos incluyeron mareos, alucinaciones, delirios, paranoia, taquicardia o bradicardia con hipotensión. En tres de 41 sujetos que recibieron 18 pulverizaciones dos veces al día, presentaron sintomatología compatible con psicosis tóxica transitoria que se resolvió al interrumpir el tratamiento. Veintidós sujetos que recibieron una dosis considerablemente superior a la dosis recomendada finalizaron con éxito el período de estudio de 5 días.

En caso de sobredosis debe administrarse un tratamiento sintomático y de apoyo.

## 5) Propiedades farmacológicas.

### 1. Propiedades farmacodinámicas.

- **Mecanismo de acción:**

Como parte del sistema endocannabinoide humano, los receptores CB1, se encuentran en el sistema nervioso central, predominantemente en los ganglios basales, también en las terminaciones nerviosas, donde intervienen en la regulación retrógrada de la función sináptica. Los receptores CB2 están en la glía y en el sistema inmune. El  $\Delta^9$ -THC actúa como agonista parcial en los receptores CB1 y CB2, imitando los efectos de los endocannabinoides, que pueden modular los efectos de los neurotransmisores (por ejemplo, reducir los efectos de neurotransmisores excitatorios como el glutamato).

El efecto neuroprotector a nivel del sistema nervioso central, está mediado tanto por los receptores CB1 como por los CB2. Los receptores CB1 intervienen en los mecanismos de protección celular como la densidad sináptica, la excitotoxicidad y la liberación de factores neurotróficos como el BDNF. Los receptores CB2 intervienen en la respuesta inflamatoria. Algunos otros mecanismos patogénicos posibles, como la producción de radicales libres o el deterioro de la función mitocondrial, pueden, además, mejorar con el tratamiento con CBs (ver apartado 3).

En modelos animales de EM y espasticidad, los agonistas de los receptores CBs han mostrado reducir la rigidez de las extremidades y mejorar la función motora. Los antagonistas CBs evitan estos efectos y los ratones con CB1 inactivados muestran una espasticidad más grave. En el modelo de ratón con encefalomiелitis autoinmune experimental crónica recurrente, Sativex® produjo una reducción de la rigidez en las extremidades posteriores dosis-dependiente.

En modelos experimentales de EH R6/2 Sativex® produce una mejoría del cuadro conductual, de las alteraciones bioquímicas cerebrales, de los cambios en las proteínas

indicadoras de la densidad sináptica que aparecen en estos ratones y de los niveles de BDNF (ver apartado 3).

- **Experiencia clínica:**

Sativex® ha sido estudiado a dosis de hasta 48 pulverizaciones/día en ensayos clínicos controlados de hasta 19 semanas de duración en más de 1.500 pacientes con EM. En los estudios fundamentales para evaluar la eficacia y la seguridad de Sativex® en la mejoría de los síntomas en pacientes con espasticidad moderada o grave debida a la EM, la variable principal de eficacia fue la Numeric Rating Scale (NRS), una escala de clasificación numérica de 0 a 10 puntos, en la que los pacientes indicaron el nivel medio de sus síntomas relacionados con la espasticidad durante las últimas 24 horas, y en la que 0 corresponde a ausencia de espasticidad y 10, la peor espasticidad posible.

En un primer ensayo de fase III controlado con placebo durante un período de tratamiento de 6 semanas, la diferencia respecto a placebo alcanzó significación estadística, pero la diferencia entre tratamientos de 0,5 a 0,6 puntos en la escala NRS presentaba una relevancia clínica cuestionable. En un análisis de respondedores, el 40% de los pacientes que recibieron Sativex® y el 22% de los que recibieron placebo respondieron al tratamiento utilizando el criterio de reducción superior al 30% en la puntuación de la escala NRS. Se observó una tendencia a favor de Sativex® en los criterios secundarios de eficacia, incluida la escala de Ashworth modificada, pero ninguno de ellos alcanzó significación estadística.

Un segundo estudio de fase III de 14 semanas de duración no logró mostrar un efecto terapéutico significativo aunque la mayoría de criterios de valoración mostraron una tendencia a favor de Sativex®. La diferencia respecto al placebo fue de 0,2 puntos en la escala NRS.

Se postuló que en los análisis de cambios medios un efecto terapéutico clínicamente importante en algunos pacientes estaba siendo enmascarado parcialmente por los datos de los pacientes que no respondieron. En los análisis comparando las puntuaciones de la escala NRS con el cambio de la impresión global del paciente (IGP), se calculó que una respuesta del 19% en la escala NRS representaba una mejoría clínicamente relevante de la IGP y una respuesta del 28% representaba una “mejoría considerable” en la IGP. En los análisis combinados exploratorios post-hoc de los dos estudios anteriores, se halló que un período de prueba de 4 semanas con un umbral de respuesta en la escala NRS del 20% es un buen factor pronóstico de respuesta final, definida como una reducción del 30%.

Un tercer ensayo de fase III incorporó un período inicial de prueba formalizado de 4 semanas de tratamiento previo a la aleatorización. El objetivo del ensayo era evaluar el beneficio del tratamiento continuado para los pacientes que alcanzan una respuesta inicial al tratamiento. Un total de 572 pacientes con EM y espasticidad resistente recibieron Sativex® con simple ciego durante cuatro semanas. Tras cuatro semanas de tratamiento activo, 241 cumplieron el criterio de inclusión de una reducción de al menos el 20% en la escala NRS para síntomas de espasticidad con un cambio medio desde el inicio del tratamiento de -3,0 puntos. A continuación, estos pacientes fueron distribuidos aleatoriamente para seguir recibiendo la medicación activa o bien para cambiar a placebo durante la fase de doble ciego de 12 semanas, con un tratamiento total de 16 semanas.

Durante la fase de doble ciego, los pacientes que recibieron Sativex® en general mantuvieron la mejoría de los síntomas alcanzada durante el período inicial de tratamiento de 4 semanas (el cambio medio respecto a la aleatorización en la escala NRS fue de -0,19), mientras que los pacientes que cambiaron a placebo empezaron a retroceder a los niveles previos al tratamiento (el cambio medio en la escala NRS fue de



+0,64). La diferencia entre los grupos de tratamiento fue de 0,84 con un intervalo de confianza (IC) del 95%: -1,29, -0,40.

Entre los pacientes que presentaron una reducción del 20% respecto al inicio en la puntuación de la escala NRS a la semana 4 y continuaron en el ensayo para recibir el tratamiento aleatorizado, el 74% (con Sativex®) y el 51% (con placebo) alcanzaron una reducción del 30% a la semana 16.

A continuación se muestran los resultados de las variables secundarias durante la fase aleatorizada de 12 semanas. La mayoría de las variables secundarias mostraron un patrón similar en la puntuación de la escala NRS; los pacientes que continuaron con Sativex® mantuvieron la mejoría observada en el período inicial de tratamiento de 4 semanas, mientras que los pacientes que cambiaron a placebo empezaron a retroceder a los niveles previos al tratamiento:

Escala de Ashworth modificada: Sativex® -0,1; Placebo +1,8; Diferencia ajustada -1,75 (IC del 95%: -3,80, 0,30)

Frecuencia de los espasmos (al día): Sativex® -0,05; Placebo +2,41 Diferencia ajustada -2,53 (IC del 95%: -4,27, -0,79)

Interrupción del sueño por espasticidad(escala NRS del 0 al 10): Sativex® -0,25; Placebo +0,59; Diferencia ajustada -0,88 (IC del 95%: -1,25, -0,51)

Recorrido de 10 metros cronometrado (segundos): Sativex® -2,3; Placebo +2,0; Diferencia ajustada -3,34 (IC del 95%: -6,96, 0,26)

Índice de motricidad (brazo y pierna): No se observaron diferencias entre los grupos de tratamiento.

Índice de Barthel de actividades básicas de la vida diaria: Razón de Probabilidades (OR) de mejoría: 2,04.

La impresión global de cambio del paciente tuvo una odd ratio (OR) de 1,71, la impresión global de cambio del cuidador una OR de 2,40 y la impresión global de cambio del médico una OR de 1,96. Así, mostraron una elevada superioridad estadísticamente significativa de Sativex® frente a placebo.

El beneficio del tratamiento continuado a largo plazo se demostró en un estudio de retirada aleatorizado, con grupos paralelos y controlado con placebo en pacientes tratados con Sativex® a largo plazo. Se incluyó a 36 pacientes con una duración media de uso de Sativex® antes del ensayo de 3,6 años. Los pacientes fueron distribuidos aleatoriamente para continuar el tratamiento con Sativex® o cambiar a placebo durante 28 días. La variable principal fue el tiempo transcurrido hasta el fracaso terapéutico, definido como el tiempo desde el primer día de tratamiento aleatorizado hasta un aumento del 20% en la escala NRS o la retirada prematura del tratamiento aleatorizado. Un 44% de los pacientes que recibieron Sativex® y un 94% de los pacientes que recibieron placebo experimentaron fracaso terapéutico, y el índice de riesgo (Hazard Ratio, HR) fue de 0,335 (IC del 95%: 0,16, 0,69), que representó una reducción del riesgo del 65% con el tratamiento continuado.

En un estudio diseñado para identificar su potencial adictivo, una dosis de 4 pulverizaciones seguidas de Sativex® no fue significativamente distinta de placebo. Dosis superiores de Sativex®, de 8 a 16 pulverizaciones seguidas, mostraron un potencial adictivo comparable al de dosis equivalentes de dronabinol, un cannabinoide sintético.

La función cognitiva (memoria a corto plazo, tiempo de reacción en la elección y atención dividida) no se vio afectada por Sativex® a las dosis probadas en este estudio. En un estudio del intervalo de QTc, una dosis de Sativex® de 4 pulverizaciones en 20 minutos dos veces al día se toleró bien, pero una dosis considerablemente

supraterapéutica de 18 pulverizaciones en 20 minutos dos veces al día dio lugar a una psicoactividad significativa y deterioro cognitivo.

El presente ensayo clínico es el primero en la EH.

## 2. Propiedades farmacocinéticas.

- **Absorción:**

Tras la administración de Sativex® (cuatro pulverizaciones), tanto  $\Delta$ 9-THC como CBD se absorben rápidamente y se detectan en el plasma al cabo de 15 minutos, después de una única administración bucal. Con Sativex® se alcanzó una  $C_{m\acute{a}x}$ . media de aproximadamente 4 ng/ml unos 45-120 minutos después de la administración de una única dosis de 10,8 mg de  $\Delta$ 9-THC y en general se toleró bien, con poca evidencia de psicoactividad significativa.

Existe un alto grado de variabilidad en los parámetros farmacocinéticos entre pacientes. Tras la administración de una única dosis de Sativex® (cuatro pulverizaciones) en ayunas, el nivel plasmático medio de  $\Delta$ 9-THC mostró un coeficiente de variación (CV) del 57,3% para la  $C_{m\acute{a}x}$ . (intervalo: 0,97-9,34 ng/ml) y un CV del 58,5% para el AUC (intervalo: 4,2-30,84 h\*ng/ml). Asimismo, el porcentaje de CV para CBD fue del 64,1% (intervalo: 0,24-2,57 ng/ml) y del 72,5% (intervalo: 2,18-14,85 ng/ml) para los mismos parámetros respectivamente. Después de nueve días consecutivos de administración, los porcentajes de CV para los mismos parámetros fueron del 54,2% (intervalo  $C_{m\acute{a}x}$ . = 0,92-6,37) y del 37,4% (AUC<sub>0- $\tau$</sub>  = 5,34-15,01 h\*ng/ml) para  $\Delta$ 9-THC y del 75,7% (intervalo  $C_{m\acute{a}x}$ . = 0,34-3,39 ng/ml) y del 46,6% (AUC<sub>0- $\tau$</sub>  = 2,40-13,19 h\*ng/ml) para CBD, respectivamente.

Existe un alto grado de variabilidad en los parámetros farmacocinéticos entre los pacientes que reciben una dosis única y dosis repetidas. De 12 pacientes que recibieron

cuatro pulverizaciones de Sativex® como dosis única, 8 presentaron reducciones en la  $C_{m\acute{a}x}$ . Después de nueve días de múltiples dosis, mientras que 3 presentaron aumentos (1 abandonó). Para CBD, 7 presentaron reducciones en la  $C_{m\acute{a}x}$ . después de dosis múltiples, mientras que 4 experimentaron aumentos.

Cuando Sativex® se administra por vía bucal, los niveles plasmáticos de  $\Delta 9$ -THC y demás CBs son inferiores en comparación con los obtenidos tras la inhalación de CBs a una dosis similar. Una dosis de 8 mg de extracto de  $\Delta 9$ -THC vaporizado administrado mediante inhalación dio lugar a una  $C_{m\acute{a}x}$ . plasmática media de más de 100 ng/ml pocos minutos después de la administración, con una psicoactividad significativa.

En la tabla I-3 se presentan los parámetros farmacocinéticos de Sativex®, extracto de  $\Delta 9$ -THC vaporizado y cannabis fumado.

	$C_{m\acute{a}x}$ . de $\Delta 9$ -THC ng/ml	$T_{m\acute{a}x}$ . de $\Delta 9$ -THC minutos	AUC <sub>(0-t)</sub> de $\Delta 9$ -THC ng/ml/min
<b>Sativex® (proporciona 21,6 mg de <math>\Delta 9</math>-THC)</b>	5,40	60	1362
<b>Extracto de <math>\Delta 9</math>- THC vaporizado inhalado (proporciona 8 mg de THC)</b>	118,6	17,0	5987,9
<b>Cannabis fumado (proporciona 33,8 mg de <math>\Delta 9</math>-THC)</b>	162,2	9,0	No hay datos

Tabla I-3. Parámetros farmacocinéticos de Sativex®, extracto de THC vaporizado y cannabis fumado. Modificado de Huestis et al(396).

- **Distribución:**

Los cannabinoides son altamente lipófilos, por lo que se absorben y se distribuyen rápidamente en la grasa corporal. Las concentraciones resultantes en sangre tras la

administración bucal de Sativex® son inferiores a las obtenidas al inhalar la misma dosis de  $\Delta$ 9-THC, debido a que la absorción es más lenta y la redistribución por los tejidos grasos es rápida. Además, parte de  $\Delta$ 9-THC experimenta un metabolismo hepático de primer paso a 11-OH-THC, el principal metabolito de  $\Delta$ 9-THC, y asimismo CBD es metabolizado a 7-OH-CBD. La unión a proteínas de  $\Delta$ 9-THC es elevada (aproximadamente de un 97%).  $\Delta$ 9-THC y CBD pueden almacenarse durante un período de hasta cuatro semanas en los tejidos grasos, desde donde son lentamente liberados a niveles subterapéuticos al torrente circulatorio, después metabolizados y excretados en la orina y las heces.

- **Metabolismo:**

$\Delta$ 9-THC y CBD son metabolizados en el hígado. Además, parte de  $\Delta$ 9-THC experimenta un metabolismo hepático de primer paso a 11-OH-THC, el principal metabolito de  $\Delta$ 9-THC, y asimismo CBD es metabolizado a 7-OH-CBD. La isoenzima hepática humana P450 2C9 cataliza la formación de 11-OH-THC, el principal metabolito, que posteriormente es metabolizado por el hígado para dar lugar a otros compuestos como el 11-nor-carboxi- $\Delta$ 9-THC (THC-COOH), que es el metabolito más abundante en plasma y orina humanos. La subfamilia P450-3<sup>a</sup> cataliza la formación de otros metabolitos menores hidroxilados. CBD es metabolizado ampliamente, y se han identificado más de 33 metabolitos en la orina. La principal vía metabólica es la hidroxilación y la oxidación en C-7 seguidas de hidroxilaciones adicionales en los grupos pentil y propenil. El principal metabolito oxidado identificado es el ácido CBD-7-oico con una cadena lateral de hidroxietilo.

- **Eliminación:**

A partir de estudios clínicos con Sativex®, un análisis farmacocinético no compartimental muestra que la semivida de eliminación terminal de primer orden del plasma es de 1,94, 3,72 y 5,25 horas para  $\Delta$ 9-THC y de 5,28, 6,39 y 9,36 para CBD tras la administración de 2, 4 y 8 pulverizaciones, respectivamente.

Como se muestra en la literatura, la eliminación de CBs orales del plasma es bifásica, con una semivida inicial de aproximadamente cuatro horas, y semividas de eliminación terminales del orden de 24 a 36 horas, o más. Los CBs se distribuyen por todo el organismo y son fácilmente solubles en lípidos, por lo que se acumulan en el tejido graso. La liberación de CBs del tejido graso es la responsable de la prolongada semivida de eliminación terminal.

- **Datos preclínicos sobre seguridad:**

En los estudios no clínicos, los efectos adversos graves sólo se observaron a niveles de exposición por encima de la exposición máxima humana, lo que tiene poca relevancia para el uso clínico.

En estudios de toxicidad en la reproducción llevados a cabo con los extractos de  $\Delta$ 9-THC y CBD presentes en Sativex® no se observaron efectos adversos sobre la fertilidad de machos o hembras en términos de número de apareamientos de animales, número de machos y hembras fértiles, ni en los índices de cópula o fertilidad. Se registró una reducción del peso absoluto de los epidídimos, con un nivel de dosis “sin efecto” para la fertilidad masculina de 25 mg/kg/día (150 mg/m<sup>2</sup>). Los niveles de dosis “sin efecto” para los efectos sobre la supervivencia embrionaria temprana y fetal, en estudios en ratas, fueron de aproximadamente 1 mg/kg/día (6 mg/m<sup>2</sup>), un nivel cercano o inferior al nivel máximo probable de dosis en humanos de Sativex®. No se observaron evidencias que

sugirieran ninguna actividad teratogénica en ratas ni en conejos a niveles de dosis considerablemente superiores a los niveles máximos probables de dosis en humanos. Sin embargo, en un estudio prenatal y posnatal en ratas, la supervivencia y la lactancia de las crías se vieron afectadas a dosis de 2 y 4 mg/kg/día (12 y 24 mg/m<sup>2</sup>, respectivamente). Datos extraídos de la literatura han mostrado efectos negativos de Δ9-THC y/o CBD sobre la cantidad de espermatozoides y su movilidad.

En estudios con animales, tal como cabía esperar debido a la naturaleza lipófila de los CBs, se hallaron niveles considerables de cannabinoides en la leche materna. Tras dosis repetidas, los CBs se concentran en la leche materna (de 40 a 60 veces el nivel plasmático). Las dosis superiores a las dosis clínicas normales pueden afectar a las tasas de crecimiento de los lactantes.

## **6) Datos farmacéuticos.**

### **1. Lista de excipientes.**

Etanol anhidro.

Propilenglicol.

Esencia de menta.

### **2. Precauciones especiales de conservación.**

Conservar en nevera (entre 2°C y 8°C).

Una vez abierto el envase pulverizador, no es necesaria su conservación en la nevera, pero no debe conservarse a temperatura superior a 25°C. Guardar en posición vertical. Mantener alejado del calor y de la luz solar directa.

### **3. Naturaleza y contenido del envase.**

Envase pulverizador de vidrio de color topacio, tipo I, equipado con una bomba dosificadora que posee un tubo de inmersión de polipropileno y un cuello de elastómero cubierto con un capuchón de polietileno. La bomba dosificadora libera 100 microlitros por pulverización.

Tamaño del envase: 5,5 ml y 10 ml. El tamaño de envase de 5,5 ml permite realizar hasta 48 pulverizaciones de 100 microlitros después del cebado. El tamaño de envase de 10 ml permite realizar hasta 90 pulverizaciones de 100 microlitros después del cebado.



## II. OBJETIVOS E HIPÓTESIS DE TRABAJO

## II. OBJETIVOS E HIPÓTESIS DE TRABAJO.

Este ensayo clínico se realizó en pacientes seleccionados del Registro de Enfermedad de Huntington del Hospital Ramón y Cajal. Se procuró seleccionar pacientes en fase inicial de la enfermedad. Se entiende por fase inicial a la que ocurre durante los 10 primeros años desde el inicio del diagnóstico clínico realizado por la presencia de signos motores inequívocos de alteración patológica. El diseño y planteamiento se hizo con las siguientes hipótesis y objetivos:

### 1. HIPÓTESIS DE TRABAJO

**La estimulación de los receptores cannabinoides en pacientes con EH es segura, sin más efectos secundarios ni empeoramiento de la situación clínica en comparación con el placebo. Además los cannabinoides pueden mejorar algunos biomarcadores, sugiriendo propiedades neuroprotectoras para el cerebro de estos pacientes.**

Para evaluar la seguridad, se han estudiado los eventos adversos y la ausencia de agravamiento de déficits motores, cognitivos o psiquiátricos medidos por los diferentes componentes de la escala unificada para la valoración de la enfermedad de Huntington “Unified Huntington Disease Rating Scale” (UHDRS) (397).

El efecto neuroprotector está mediado tanto por los receptores CB1 como por los CB2. Los receptores CB1 intervienen en los mecanismos de protección celular como la densidad sináptica, la excitotoxicidad y la liberación de factores neurotróficos como el BDNF. Los receptores CB2 intervienen en la respuesta inflamatoria. Algunos otros mecanismos patogénicos posibles, como la producción de radicales libres o el deterioro de la función mitocondrial, pueden, además, mejorar con el tratamiento con

cannabinoides de manera directa, sin intervención de receptores (232,390). La eficacia se ha evaluado midiendo estos biomarcadores.

## 2. OBJETIVOS PRINCIPALES.

El objetivo principal del ensayo es demostrar que los cannabinoides, utilizando la fórmula comercial de **Sativex®**, administrado en pacientes con EH durante 12 semanas, **es seguro, con ausencia de efectos secundarios importantes y sin agravamiento de los déficits motores, cognitivos y psiquiátricos**, medidos de acuerdo con los distintos componentes de la **escala unificada para la valoración de la enfermedad de Huntington (UHDRS)** (397).

La seguridad ha sido evaluada de la siguiente manera:

- 1) Durante el periodo de tratamiento con el componente activo **no debía haber más acontecimientos adversos graves** que durante el periodo de tratamiento con placebo.
- 2) Durante el periodo de tratamiento con el componente activo, las **escalas clínicas de los pacientes (UHDRS motora, cognitiva, conductual y funcional)** **no debían presentar un deterioro estadísticamente significativo**, respecto al periodo de tratamiento con placebo.

## 3. OBJETIVOS SECUNDARIOS Y TERCIARIOS.

Los objetivos secundarios y terciarios del ensayo son demostrar eficacia en la mejoría clínica, así como sugerir un efecto neuroprotector mediante la modificación en los niveles de biomarcadores relacionados con la patogénesis de la enfermedad.

En nuestro laboratorio se ha llevado a cabo la medición de los niveles de metabolitos de monoaminas y de proteínas involucradas en neurodegeneración en el líquido céfalo-raquídeo (LCR):

- 1) Las **concentraciones de metabolitos de monoaminas** presentes en el sistema nervioso central, que actúan como neurotransmisores, entre los que destacan la dopamina, la noradrenalina y la serotonina, en el LCR, han sido ampliamente utilizados como indicadores del nivel de actividad funcional de las vías neuronales monoaminérgicas centrales (398). En la EH, la reducción de la neurotransmisión dopaminérgica, provoca una disminución de algunos metabolitos de monoaminas, como el ácido homovalínico (HVA) (70). Así, ante una posible mejoría clínica y un posible efecto neuroprotector tras el tratamiento con Sativex®, se podía esperar encontrar una **tendencia a la normalización de estas concentraciones**.
  
- 2) Las **proteínas involucradas en la neurodegeneración en el LCR**, analizadas en nuestro laboratorio, son la proteína **tau** y **fosfo-tau (p-tau)** y el péptido  **$\beta$ -amiloide ( $a\beta$ -42)**. Tanto tau como p-tau aumentan con la degeneración neuronal, por lo que ante un posible efecto neuroprotector de Sativex®, esperaríamos encontrar una **reducción de los niveles de estas proteínas**. El péptido  $a\beta$ -42 es un biomarcador de la formación de placas de amiloide. La enfermedad más importante en la que están presentes las placas de amiloide es la enfermedad de Alzheimer, en la cual, encontramos disminuidos los niveles de  $a\beta$ -42 en el LCR (399). No está claro el papel del  $a\beta$ -42 en la EH.

Además, la eficacia del Sativex® en la EH también será evaluada con otros biomarcadores analizados en otros laboratorios. Sin embargo, el análisis de estos biomarcadores no forma parte de la tesis, por lo que aquí simplemente se nombran:

- 1) Al final del periodo de tratamiento con el componente activo, los niveles de **factor neurotrófico derivado del cerebro (Brain Derived Neurotrophic Factor –BDNF-)** en plasma y en LCR, se esperaría que fueran mayores que los niveles al final del periodo con placebo.
- 2) Al final del periodo de tratamiento con el componente activo, los niveles de **citoquinas citotóxicas** en plasma y LCR deberían ser menores que al final del periodo con placebo.
- 3) Al final del periodo de tratamiento con el componente activo, el cociente de **proteínas anti-/pro-apoptóticas** en plasma y LCR debería ser mayor que al final del periodo con placebo.
- 4) Al final del periodo de tratamiento con el componente activo, las alteraciones en la **expresión génica en fibroblastos** debería normalizarse, en comparación con lo observado al final del periodo con placebo.
- 5) Al final del periodo de tratamiento con el componente activo, los niveles de **miR-34**, un compuesto que se ha reconocido recientemente como biomarcador de neurodegeneración, se esperaría que fueran menores que al final de periodo con placebo.

En modelos experimentales de EH, con ratas y ratones R6/2, el Sativex® produce una mejoría del cuadro conductual, de las alteraciones bioquímicas cerebrales, de los cambios en las proteínas indicadoras de la densidad sináptica que aparecen en estos animales y de los niveles de BDNF (376–379).

### III. MATERIAL Y MÉTODOS

### III. MATERIAL Y MÉTODOS.

#### 1. TIPO DE ENSAYO Y DISEÑO.

##### 1) Resumen del ensayo clínico.

Se utilizó un diseño de ensayo clínico fase II, doble ciego, unicéntrico, aleatorizado, controlado con placebo y cruzado con dos periodos y dos fases de tratamiento.

Se trata del primer ensayo clínico en una nueva indicación: **Neuroprotección por cannabinoides en Enfermedad de Huntington.**

El fármaco evaluado fue Sativex®. El objetivo primario fue demostrar seguridad, con ausencia de acontecimientos adversos graves y de empeoramiento en las escalas de evaluación clínica. El objetivo secundario y terciario fue demostrar eficacia, tanto en las escalas de evaluación clínica como en la normalización de biomarcadores.

El ensayo fue llevado a cabo en el hospital Ramón y Cajal, tras la firma del contrato (apéndice A) y obtención de las correspondientes autorizaciones: aprobación por la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios (AEMPS) (apéndice B), dictamen favorable del Comité Ético de Investigación Clínica del Hospital Ramón y Cajal (CEIC) (apéndice C) y conformidad de la Dirección del Centro (apéndice D). El ensayo fue registrado en la base de datos americana: [clinicaltrials.gov](http://clinicaltrials.gov) (apéndice E).

- Promotor: Fundación para la investigación Biomédica Hospital Universitario Ramón y Cajal (FIBIORYC).
- Código del protocolo: Código: SAT-HD.

N<sup>a</sup> EudraCt: 2010-024227-24



- Investigador principal: Justo García de Yébenes Prous. Jefe de sección del servicio de Neurología del Hospital Ramón y Cajal.
- Investigadores colaboradores: Juan García Caldentey, José Luis López-Sedón, Guillermo García Ribas. Médicos adjuntos del servicio de Neurología del Hospital Ramón y Cajal.
- Neuropsicólogos: Patricia Trigo y Mónica Bascuñana. Psicólogas del FIBIORYC.
- Enfermera: Amaya Revilla. Enfermera de la Unidad de investigación clínica-Consorcio de apoyo a la investigación biomédica en red (CAIBER).
- Responsable de la monitorización: María Luisa Serrano Olmeda. Unidad de investigación clínica-CAIBER.
- Comité ético de Investigación clínica que evalúa el ensayo: CEIC del Hospital Ramón y Cajal.
- Comité de seguridad independiente: Mónica Aguilar y María Ángeles Gálvez Múgica. Farmacólogas clínicas de la Unidad de investigación clínica-CAIBER. Víctor Abaira. Bioestadístico, jefe de la Unidad de Bioestadística del Hospital Ramón y Cajal.

## 2) Diseño del ensayo.

Se realizó un estudio cruzado, en el que cada paciente recibió tratamiento y placebo de manera alternativa. Lo que diferenció cada brazo de tratamiento es precisamente esta secuencia.

El estudio se precedió de un primer periodo de 6 semanas desde la selección de los pacientes hasta la aleatorización, para estabilización de la medicación concomitante.

Los pacientes participantes del ensayo, tras el periodo de 6 semanas con la medicación concomitante estable, y tras firmar el consentimiento informado, fueron asignados a uno de los dos grupos de tratamiento:

- **Grupo de tratamiento A (secuencia AB):** Recibieron en primer lugar el fármaco en estudio durante 12 semanas. Posteriormente se realizó un periodo de lavado de 4 semanas y finalmente recibieron placebo durante otras 12 semanas.
- **Grupo de tratamiento B (secuencia BA):** Recibieron en primer lugar placebo durante 12 semanas, posteriormente realizaron el periodo de lavado de 4 semanas y finalizaron con el fármaco activo durante otras 12 semanas.

Por consiguiente, la secuencia de tratamiento fue AB para el primer grupo y BA para el segundo (Figura III-1)

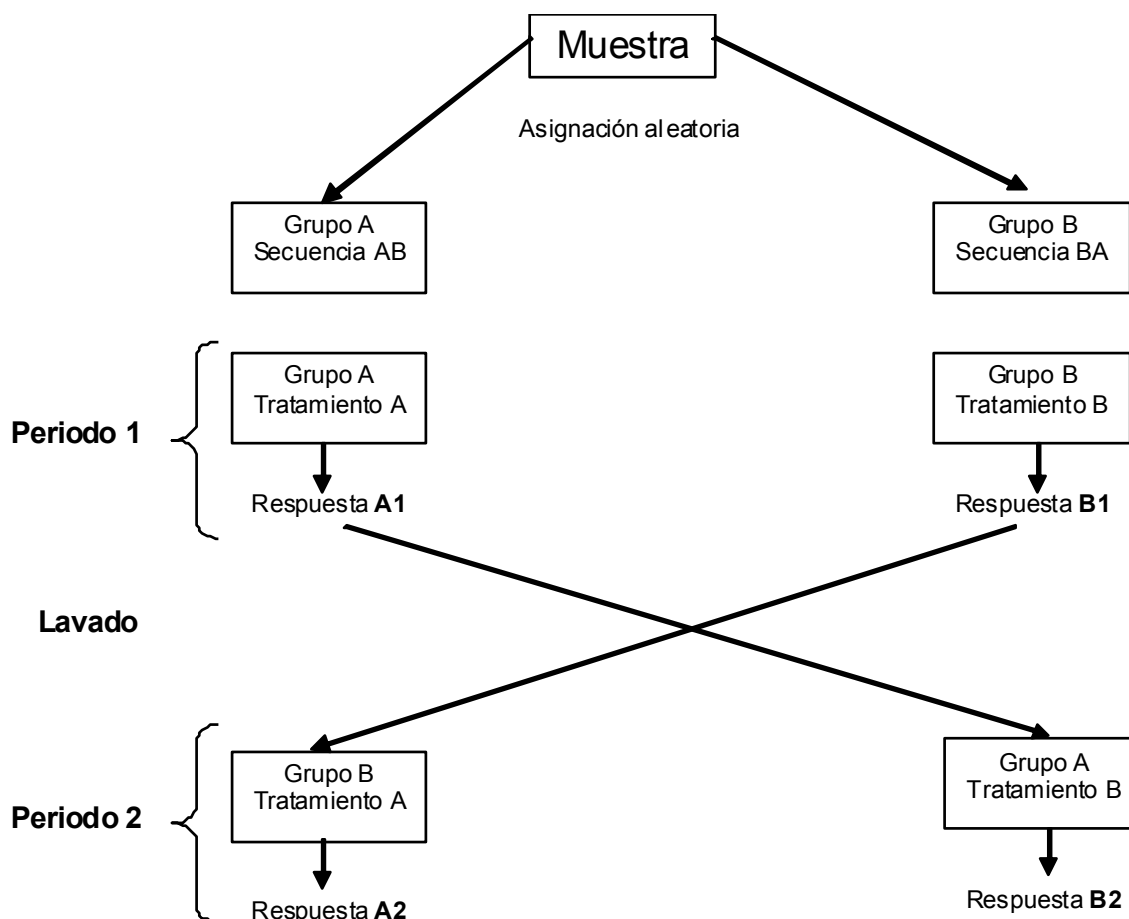


Figura III-1. Estructura del Ensayo Clínico Cruzado.

Tras el primer periodo de tratamiento o placebo, hubo 4 semanas de lavado. El estudio finalizó 4 semanas después del final del segundo periodo de tratamiento.

### 3) Medidas para evitar sesgos.

#### 1. Diseño cruzado.

El propio diseño del ensayo, cruzado, ya fue una medida para evitar sesgos. De esta forma, cada paciente fue control de sí mismo en cada uno de los periodos del estudio, por lo que la variabilidad fue menor.

El principal inconveniente de este tipo de estudios, es que el primer periodo de tratamiento puede influir en el segundo, a pesar del periodo de lavado. Para evitar este inconveniente, al analizar los datos, se evaluaron tres tipos de efectos:

- **Efecto de tratamiento:** En principio es el análisis lógico. Consiste en comparar los resultados obtenidos por el tratamiento activo en los dos periodos del ensayo ( $A_1+A_2$ ), con los obtenidos por el placebo en sus dos periodos respectivos ( $B_1+B_2$ ) (figura III-1).
- **Efecto periodo:** Dado que cada paciente se observa en dos periodos distintos, es importante determinar si existió algún cambio entre el primero y el segundo, por ejemplo cambios en la enfermedad independientes del tratamiento. Para este análisis se comparan las respuestas del primer periodo ( $A_1+B_1$ ) frente a las del segundo periodo ( $A_2+B_2$ ) (figura III-1).
- **Efecto secuencia:** Es importante saber si la secuencia en la que se recibieron las intervenciones afectó a los resultados. Se describe como una interacción entre el propio tratamiento y el efecto periodo. Un efecto secuencia podría darse, por ejemplo, cuando la respuesta en el segundo periodo está influida por el tratamiento recibido en el primer periodo, es decir, cuando puede quedar cierto efecto residual. Se evalúa mediante la comparación ( $A_1+B_2$ ) frente a ( $B_1+A_2$ ) (figura III-1). Si existe efecto secuencia, no es correcto comparar los tratamientos utilizando todos los datos del estudio. Los únicos resultados válidos serían los del primer periodo.

## **2. Aleatorización.**

Se utilizó el tipo de asignación aleatoria simple. La aleatorización se llevó a cabo mediante una tabla simple de números aleatorios elaborados para tal fin en el Servicio de Bioestadística del Hospital Ramón y Cajal. Estos códigos de aleatorización, estuvieron en un sobre cerrado en el servicio de Farmacia. Una vez que el paciente firmaba el consentimiento informado, se abría el sobre correspondiente a cada paciente, averiguando en ese momento el brazo al que había sido asignado. Sólo el servicio de Farmacia sabía el brazo asignado, tanto los pacientes como los investigadores fueron ciegos.

La asignación a cada grupo de tratamiento, se realizó en proporción 1:1.

## **3. Enmascaramiento.**

Todos los miembros del equipo de investigación, incluidos el investigador principal, el resto de investigadores, las psicólogas, la enfermera, los pacientes y sus cuidadores, fueron ciegos durante el ensayo, puesto que el efecto placebo podía influir en la evaluación de los resultados. El ciego se pudo llevar a cabo gracias a la utilización de un placebo. Como placebo se utilizó un disolvente, envasado en frascos idénticos a los del fármaco en estudio. Tanto el fármaco en estudio como el placebo, fueron proporcionados por el laboratorio GW Pharma Ltd (Porton Down Science Park, Salisbury, Wiltshire, SP4 OJQ. Reino Unido), propietarios del fármaco en estudio. El laboratorio farmacéutico no intervino en la elaboración ni el desarrollo del protocolo clínico, ya que es un ensayo clínico independiente y no persigue un objetivo comercial.

Si durante el ensayo, se hubiera producido una ruptura del ciego, entonces los datos correspondientes al objetivo secundario de eficacia para el participante, no se

hubieran admitido para el análisis. Sin embargo, los acontecimientos adversos presentados por estos sujetos, sí se hubieran incluido en el análisis.

El estudio fue supervisado por un comité de seguridad independiente, compuesto por un farmacólogo clínico experto, un investigador clínico experto y un estadístico. El comité se reunió cada 3 meses con el monitor del ensayo y los investigadores durante el desarrollo del ensayo o si lo hubiera requerido el investigador principal si hubiera tenido lugar cualquier acontecimiento inesperado.

Si la situación clínica de un paciente participante en el estudio, hubiera requerido la ruptura del ciego, ésta se podía haber llevado a cabo bajo la solicitud del investigador principal, de cualquier miembro del equipo investigador o del comité de seguridad mencionado. La medicación fue empaquetada en lotes individuales, de forma de que si se rompía un ciego, no se rompiera el ciego de todo el estudio.

#### **4. Monitorización del cumplimiento terapéutico.**

El medicamento se administró en forma de spray bucal, de forma que no fue posible contabilizar el medicamento administrado.

Para comprobar el cumplimiento terapéutico de los pacientes participantes del ensayo clínico, en todas las visitas en las que se había estado tomando medicación, se midió en todos los pacientes los niveles de cannabis en orina. Este dato fue almacenado por la farmacóloga clínica, siendo los datos no accesibles para el equipo investigador durante el ensayo.

#### **4) Duración y criterios de finalización.**

La duración del ensayo clínico fue de septiembre del 2011 a junio del 2012, 38 semanas.

El estudio se consideró finalizado cuando el último paciente incluido hubo realizado la última visita programada.

La visita final se realizó en todos los participantes. En los participantes que completaron el estudio, la última visita tuvo lugar 4 semanas después del final del segundo periodo de tratamiento. En los pacientes que no completaron el estudio, la visita final tuvo lugar en un intervalo de 4 semanas desde el abandono del estudio. La visita final del estudio, incluía la recogida de acontecimientos adversos, la realización de un electrocardiograma, extracciones para analíticas (bioquímica y hematología), estudio de biomarcadores en suero y obtención de las escalas motoras, cognitivas, conductuales y funcionales de la UHDRS.

## **2. MEDICAMENTO UTILIZADO Y FÁRMACO CONTROL**

Toda la información sobre Sativex® ha sido expuesta en el apartado de introducción. Aquí sólo mencionamos la información básica, cómo se hizo la identificación de las muestras, la descripción del fármaco control y la medicación concomitante permitida y prohibida. De nuevo, la información ha sido obtenida del “**Investigator Brochures Sativex® Oromucosal Spray**”.

### **1) Nombre del medicamento.**

Sativex® 2,7 mg/2,5 mg Solución para pulverización bucal.

## **2) Composición cualitativa y cuantitativa.**

Cada ml contiene: 38-44 mg y 35-42 mg de dos extractos (como extractos suaves) de *Cannabis sativa L., folium cum flore* (hoja y flor de cannabis) equivalentes a 27 mg de  $\Delta$ 9-THC y 25 mg de CBD. Disolvente de extracción: dióxido de carbono líquido.

Cada pulverización de 100 microlitros contiene: 2,7 mg de  $\Delta$ 9-THC y 2,5 mg de CBD. Cada pulverización de 100 microlitros también contiene hasta 0,04 g de alcohol.

## **3) Identificación de las muestras.**

Tanto la medicación del estudio como el placebo, fueron aportados por los Laboratorios GW Pharmaceuticals Ltd (Porton Down Science Park, Salisbury, Wiltshire, SP4 OJQ. Reino Unido) y Otsuka Pharmaceuticals, fabricantes del producto. La medicación fue etiquetada de acuerdo a las recomendaciones del Real Decreto 223/2004.

Se requirió de una licencia de importación de estupefacientes (apéndice H) que hubo que solicitar a la AEMPS para que autorizara a GW como exportador y a la farmacia del Hospital Ramón y Cajal como importadora de este estupefaciente.

## **4) Placebo**

Disolvente como placebo envasado en frascos idénticos a los de fármaco del estudio. Se administra igual, 1 pulverización en la cavidad bucal hasta un máximo de 12 aplicaciones al día.

## **5) Tratamiento concomitante**

- Permitidos: Benzodiazepinas, antidepresivos, neurolépticos y tetrabenazina.
- Prohibidos: No existen prohibiciones específicas.



### 3. VARIABLES DEL ENSAYO.

#### 1) Variables principales.

El objetivo principal del ensayo clínico fue la **seguridad del Sativex® administrado durante 12 semanas en pacientes con EH**. Para evaluar este objetivo, las variables principales fueron la ausencia de efectos secundarios importantes y el no agravamiento de déficits motores, cognitivos y psiquiátricos, medidos de acuerdo con los distintos componentes de la escala unificada para la valoración de la enfermedad de Huntington (Unified Huntington Disease Rating Scale -UHDRS-) (397).

El **componente motor de la escala UHDRS (mUHDRS)** (397) (apéndice I) se ha dividido en 4 tipos de parámetros motores:

1. **Movimientos oculares**, en el que se evalúa la capacidad de realizar el seguimiento de un objeto, la capacidad de iniciar las sacadas y la propia velocidad de las sacadas, tanto en los movimientos horizontales como verticales. La gravedad se puntúa de 0 (normal) a 24 puntos (máxima discapacidad).
2. **Distonía máxima**, evaluada en 5 partes del cuerpo: el tronco, los miembros superiores derecho e izquierdo y los miembros inferiores derecho e izquierdo. La gravedad se cuantifica de 0 puntos (normal) a 20 puntos (distonía máxima).
3. **Corea máxima**, evaluada en 7 partes del cuerpo: la cara, el área buco-lingual, el tronco, los miembros superiores derecho e izquierdo y los miembros inferiores derecho e izquierdo. Se valora la gravedad máxima cuando hay fluctuación, siendo 0 puntos (no corea) y máximo 28 puntos (corea máxima).

4. **Resto de puntuaciones motoras**, se trata de una mezcla heterogénea de trastornos motores en los que predomina el parkinsonismo, la ataxia, la impersistencia motora, la disfunción ejecutiva y otras. La puntuación abarca de 0 puntos (normal) a 52 puntos (disfunción máxima).
5. El quinto parámetro sería la **escala completa (mUHDRS total)** o suma de las 4 subescalas anteriores, con un rango de 0 a 124 puntos (397).

Se definió como empeoramiento clínicamente relevante un cambio de 3 o más puntos en la escala completa mUHDRS.

Los déficits cognitivos, funcionales y psiquiátricos, se evaluaron mediante múltiples escalas neuropsicológicas, entre las que destaca la fluidez verbal y categorial y el Stroop de interferencia. Además se estudiaron los cambios psiquiátricos con el cuestionario de depresión-ansiedad (HADS) y el inventario Neuropsiquiátrico de Cummings (NPI). Por último se analizaron los cambios en los componentes funcionales y conductuales de la escala UHDRS.

La forma de interpretar y puntuar cada una de las escalas neuropsicológicas, fue la siguiente:

- **Test de colores y palabras de Stroop** (apéndice J) (400): El objetivo del test es evaluar la habilidad de atención dividida y la resistencia a la interferencia. La referencia original es de Stroop JR (Studies of interference in serial verbal reaction. J Exp Psicol 1935; 18:643-662) y la versión actualizada y utilizada en el ensayo es de Goden CJ (Stroop Color and Word Test. Chicago: Stoelting Co.,

1978). Consta de 3 partes: lectura de los nombres de los colores o palabras (P), la denominación del color de impresión sin palabras (C) y la denominación del color de impresión de los nombres de los colores, obviando el contenido verbal de lectura, que se denomina interferencia (I). En total consta de tres puntuaciones P, C e I. Las láminas siempre se presentan en el mismo orden y se le instruye al sujeto para que lea o nombre los elementos lo más rápido que le sea posible. Es decir, se recoge cuántas palabras o colores ha dicho el paciente en un tiempo límite de 45 segundos. Si el sujeto comete un error, se le interrumpe y se le solicita de nuevo la ejecución del elemento en cuestión, penalizándose así en un incremento del tiempo requerido para la ejecución. Un sujeto normal debería decir más de 50 elementos en C y P. El valor más importante y el que se suele tener en cuenta al comparar los test, es la resistencia a la interferencia. El efecto interferencia depende de muchos factores como la capacidad de atención, concentración e inhibición de respuesta además de posibles problemas de lectura o visión. Se considera patológico si sacando las puntuaciones típicas hay una desviación de 10 puntos. Los límites considerados normales, según la versión utilizada en el ensayo, se encuentran entre 35 y 65 puntos en cualquiera de las puntuaciones (400).

- **Test de Fluidez Verbal (versión FAS)** (apéndice K): El objetivo del test es valorar la fluencia fonética, diciendo palabras que empiezan por una letra preestablecida. Son 3 apartados de letras, la “F”, la “A” y la “S”. El paciente tiene un minuto como máximo para decir todas las palabras que se le ocurran sin ningún tipo de ayuda. La puntuación es la suma de las respuestas correctas de las tres partes. Las palabras se registran en intervalos de 15 segundos. No

son válidos los nombres propios de personas o lugares ni las palabras que no empiecen con la letra especificada. Si un sujeto repite una palabra, se tiene en cuenta sólo la primera vez que la dice y el resto se considera como errores de repetición. Todas las otras respuestas, como palabras que empiezan por una inicial equivocada, nombres propios, etc., se puntúan como errores de intrusión. Tampoco se tienen en cuenta los diminutivos con una misma raíz. Se tiene en cuenta el grado de escolaridad y la edad. Un sujeto normal debería decir cerca de las 20 palabras, la media suele estar en 20 (401).

- **Test de Fluidez categorial: Animales** (apéndice L). El objetivo del test es valorar la fluencia semántica, diciendo palabras pertenecientes a un mismo campo semántico, en este caso, animales. Se pide al sujeto que diga tantos nombres de animales como le sea posible en un minuto. La puntuación es el número total de respuestas correctas dadas en un minuto. Las palabras se registran en intervalos de 15 segundos. Si el sujeto repite una palabra que ya ha dicho, se puntúa sólo la primera como correcta y el resto como errores de repetición. El resto de palabras que no sean animales, se puntúan como errores de intrusión. Se suma el total sin tener en cuenta perseveraciones, diminutivos, etc. El criterio de normalidad sería también una media de 20 nombres de animales (401).
- **Cuestionario de salud global Goldberg-12 (GHQ-12)** (cuestionario versión corta de 12 preguntas) (apéndice M). El objetivo es valorar la salud mental de los sujetos. Se trata de un cuestionario autoadministrado, en el que se tiene en cuenta los problemas recientes, de las últimas semanas. Para nuestro ensayo

clínico, en lugar de ser autoadministrado, fue pasado por un clínico, para evitar problemas de comprensión. En cuanto a la puntuación, cada pregunta consta de 4 posibles respuestas, las cuales se valoran como 0 ó 1. Se considera que: de 0 a 4 puntos son indicadores de ausencia de psicopatología; de 5 a 6 como de psicopatología subumbral y de 7 a 12 puntos como indicativos de presencia de psicopatología, en resumen si puntúa 5 o más de 5 es indicativo de un estado depresivo por parte del paciente (402). Esta escala no constaba en el protocolo del ensayo clínico, por lo que no se tuvo en cuenta a la hora de analizar el efecto del tratamiento.

- **Subescala funcional de la UHDRS (fUHDRS)** (apéndice N) (397). Tiene dos partes, la puntuación total y el porcentaje. Su objetivo es evaluar la independencia de los pacientes y su capacidad para realizar las actividades de la vida diaria. Cada apartado puntúa 1 punto si lo puede realizar y 0 puntos si no lo puede realizar. Al final se suman todos los puntos. A mayor puntuación, mayor grado de independencia por parte del paciente. En el porcentaje 100% es totalmente independiente y 5% estado casi vegetal (397).
- **Subescala conductual de la UHDRS (cUHDRS)** (apéndice O) (397). Su objetivo es evaluar y medir la frecuencia y la gravedad de los síntomas relacionados con el afecto, el contenido del pensamiento y el estilo para afrontarlo. Las puntuaciones, tanto en frecuencia como en gravedad, van de 0 a 4. El total es la suma de cada respuesta. A mayor puntuación mayor indicador de alteraciones conductuales (397).

- **Inventario neuropsiquiátrico de Cummings (NPI)** (apéndice P). El objetivo de este inventario es evaluar las manifestaciones neuropsiquiátricas más frecuentes en las demencias y determinar, también, su frecuencia e intensidad de aparición y desarrollo. Proporciona información de indicadores psiquiátricos. Fue desarrollado por Cummings en 1994 (403). Contiene un listado de 12 alteraciones neuropsiquiátricas (delirios, alucinaciones, agitación/agresión, etc.). Inicialmente se pregunta sobre la existencia del síntoma y, si la respuesta es positiva, se evalúa la frecuencia y la intensidad del mismo. En cuanto a la puntuación, para la frecuencia, cada ítem se puntúa en una escala que va de 0 (inexistente) a 4 (muy frecuente o continuamente). La gravedad se puntúa mediante una escala de 3 puntos: leve, moderado o grave. En cada variable se realiza el producto entre la frecuencia y la gravedad. La puntuación final es la suma de las puntuaciones parciales de cada ítem. La puntuación máxima es de 144 puntos.
- **Cuestionario de depresión-ansiedad (HADS)** (apéndice Q) (404): Su objetivo es ser instrumento de screening para la detección de pacientes con trastornos afectivos. Este cuestionario está compuesto por 14 ítems, 7 de los cuales miden la ansiedad y los 7 restantes la depresión. La puntuación de cada ítem es de 0 a 3. Se puntúa según la respuesta del paciente a preguntas marcadas por una D (depresión), que son las preguntas pares, o una A (ansiedad), que son las preguntas impares. A mayor puntuación mayores niveles de depresión y ansiedad. Los rangos son los siguientes: 0-7 normal, 8-10 caso probable y 11-21 depresión y ansiedad (405).

- **Escala de evaluación de demencia Mattis (DRS 2)** (apéndice R) (406): Se trata de una escala para evaluar el estado cognitivo general de sujetos con deterioro cognitivo. Consta de 36 tareas, agrupadas en 5 categorías generales, cada una de las cuales evalúa un área cognitiva diferente. Estas categorías son: atención, iniciación y perseverancia, construcción, conceptualización y memoria. Se da un resultado global, con un máximo de 144 puntos. A menor puntuación, mayor gravedad del deterioro cognitivo. El punto de corte es de 123. Esta escala ha demostrado ser útil en la evaluación inicial, en el seguimiento de la progresión y en los cambios de las funciones cognitivas con el tiempo. Se utiliza para ciertos tipos de demencias, con compromisos cognitivos subcorticales, entre ellas la EH (406). De nuevo, esta escala no constaba en el protocolo del ensayo clínico, por lo que no se incluyeron sus resultados en el análisis del efecto del tratamiento.

Se definió como empeoramiento clínicamente relevante un cambio de 10 o más puntos en las escalas cognitivas, un cambio de 3 o más puntos en la subescala cUHDRS o un cambio de 2 o más puntos en la subescala fUHDRS, evaluadas en las visitas de seguridad y final de cada periodo de tratamiento.

## 2) Variables secundarias.

El objetivo secundario del ensayo fue **sugerir eficacia del tratamiento**, mediante la **mejoría clínica** y la **normalización de biomarcadores**.

El LCR está en contacto con el cerebro, por lo que es posible recoger señales bioquímicas de algunas enfermedades cerebrales. Así, se han desarrollado **biomarcadores en el LCR** que permiten el diagnóstico de la enfermedad de Alzheimer en

fases preclínicas e incluso algunos que se correlaciona con su progresión (399). También en la EH se han observado algunos cambios en el LCR, incluyendo cambios en los niveles de metabolitos de monoaminas (407), las vías metabólicas del triptófano (408), un marcador de la peroxidación de los lípidos y el estrés oxidativo, los F2-isoprostanos (409) y los niveles de actividad de la transglutaminasa, involucrada en el entrecruzamiento de proteínas y la respuesta antioxidante (410). También los niveles de proteínas tau y p-tau, y tal vez los niveles de los péptidos  $\alpha\beta$ -42, se modifiquen como en la mayoría de enfermedades neurodegenerativas (399). Sin embargo, ninguno de estos biomarcadores ha sido suficientemente estudiado para determinar su potencial como biomarcador clínicamente útil.

En nuestro laboratorio (laboratorio de la Dra. María Ángeles Mena), se ha llevado a cabo la medición de los niveles de metabolitos de monoaminas y de proteínas involucradas en neurodegeneración en el LCR:

- Las **concentraciones de metabolitos de monoaminas en el LCR** han sido ampliamente utilizados como indicadores del nivel de actividad funcional de las vías neuronales monoaminérgicas centrales (398). Entre estas monoaminas, destacan la dopamina, la noradrenalina y la serotonina, que actúan como neurotransmisores en el sistema nervioso central. Sus metabolitos, analizados en el estudio, han sido: la **3-metoxi-4-hidroxifenilglicol (MHPG)**, la **3,4-dihidroxifenilacético (DOPAC)**, el **Triptófano (trip)**, el **ácido 5-hidroxiindolacético (5HIAA)** y el **ácido homovalínico (HVA)**. En la EH, la reducción de la neurotransmisión dopaminérgica, provoca una disminución de algunos metabolitos de monoaminas, como el HVA (70). Para el análisis de estos metabolitos, sus niveles fueron medidos por HPLC.



- Las **proteínas involucradas en la neurodegeneración en LCR**, analizadas en nuestro laboratorio, como ya se ha comentado, son la proteína **tau** y **p-tau** y el péptido **a $\beta$ -42**. Tanto tau como p-tau aumentan con el daño neuronal. No está claro el papel del péptido a $\beta$ -42 en la EH. El análisis de estos biomarcadores en nuestro laboratorio se llevó a cabo mediante kits de ELISA.

Las modificaciones de los niveles plasmáticos y en LCR de otros biomarcadores con repercusión en la EH (BDNF, indicadores de actividad mitocondrial, indicadores de daño oxidativo, cambio en la expresión de genes, actividad del proteosoma y citoquinas), serán también analizados en otros laboratorios del grupo, pero no son objeto de análisis en la presente tesis. Para evaluar estos biomarcadores, se obtuvieron las siguientes muestras de los participantes en el ensayo, para analizar los biomarcadores que se nombran a continuación:

- Plasma o suero:
  - Marcadores de inflamación (laboratorio del Dr. Julián Romero Paredes).
  - miR34b (laboratorio del Dr. Manuel Guzmán).
- Linfocitos periférico:
  - CB1, CB2, MAGL, FAAH (laboratorio del Dr. Javier Fernández Ruiz).
  - DREAM (laboratorio del Dr. José Ramón Naranjo).

- Líquido cefalorraquídeo:
  - Endocannabinoides (laboratorio del Dr. Manuel Guzmán).
  - mHtt (laboratorio del Dr. José J. Lucas).
  - DREAM (laboratorio del Dr. José Ramón Naranjo).
  - BDNF (laboratorio del Dr. José Ramón Naranjo).
  - Marcadores de inflamación (laboratorio del Dr. Julián Romero Paredes).
  
- Fibroblastos:
  - Sensibilidad a toxinas (laboratorio del Dr. Manuel Guzmán).
  - mHtt (laboratorio del Dr. José J. Lucas).

Los biomarcadores usados como variables secundarias se obtuvieron al final de cada periodo de tratamiento.

#### **4. POBLACIÓN A ESTUDIO.**

##### **1) Selección de pacientes.**

El presente ensayo clínico se realizó sobre pacientes seleccionados del Registro de Enfermedad de Huntington del Hospital Ramón y Cajal. Este registro cuenta con más de 400 pacientes, de los cuales disponemos de datos demográficos, la historia médica, la medicación concomitante, la exploración física y neurológica, las puntuaciones de la escala UHDRS y el tamaño de la expansión de tripletes CAG en el gen de la Htt. Todos estos datos se suelen actualizar anualmente. Se hizo una selección de posibles candidatos con toda esa información clínica disponible en el registro, antes del screening.

Se seleccionaron pacientes en fase inicial de la enfermedad. Se entiende por fase inicial a la que ocurre durante los 10 primeros años desde el inicio del diagnóstico clínico, realizado por la presencia de signos motores inequívocos de alteración patológica. Se descartaron pacientes con alteraciones psiquiátricas graves o intentos autolíticos previos.

Los pacientes seleccionados para la visita de screening recibieron un código que consistió en el prefijo SAT seguido del número en orden de entrada consecutivo de 3 dígitos (de SAT-001 hasta SAT-027). Tras la visita de aleatorización, el código consistió en el mismo prefijo seguido de 1 y el número correspondiente al orden de aleatorización (de SAT-101 hasta SAT-126).

El tiempo máximo permitido entre el screening y la aleatorización fue de 6 semanas.

### **1. Criterios de inclusión.**

- Pacientes que, tras haber recibido información sobre el diseño, los fines del estudio, los posibles riesgos que de él pueden derivarse y de que en cualquier momento pueden denegar su colaboración, otorguen por escrito su consentimiento para participar en el estudio.
- Pacientes mayores de 18 años.
- Pacientes capaces de entender el propósito del estudio y estar disponibles para realizar frecuentes visitas al hospital.
- Pacientes que dispongan de un cuidador que conozca bien al paciente y que sea capaz de informar y mantener contacto con el equipo investigador.

Normalmente los cuidadores deben pasar al menos 4 horas al día con el paciente.

- Pacientes que mantengan su medicación basal estable durante al menos 6 semanas antes de la fecha de aleatorización, y durante todo el periodo del estudio.
- Pacientes con EH que manifiesten, en la visita de screening, puntuaciones de la escala mUHDRS entre 5 y 50 puntos.
- Pacientes con buena situación cognitiva (Mini Mental Test mayor de 25/30) en la visita de screening, sin evidencia de depresión grave, según el criterio del médico responsable, y sin evidencia de psicosis.
- Pacientes no consumidores de productos derivados de la marihuana ni otras drogas de abuso en el momento del screening ni durante el estudio.
- Mujeres en edad fértil sólo si utilizan un correcto método de anticoncepción.

## 2. Criterios de exclusión.

- Alteraciones psiquiátricas graves como ideas de suicidio (en el año previo a entrar en el estudio), intentos de suicidio, alucinaciones, ideas delirantes o paranoias.
- Indicadores clínicos o de laboratorio de enfermedad concomitante grave.
- Pacientes con patología vascular grave.
- Pacientes con historia de crisis epilépticas de repetición.
- Embarazo o planificación de quedarse embarazada durante el transcurso del estudio. Mujeres en edad fértil que no quieran tomar medidas anticonceptivas adecuadas. Lactancia.
- Pacientes con patología en la cavidad bucal que impida la administración segura del fármaco mediante pulverización bucal.
- Alergia o sensibilidad a la medicación del estudio o a cualquiera de sus compuestos.
- Alcoholismo o drogadicción en el momento del screening que pueda interferir en la adherencia a los requerimientos del estudio. En el caso de la drogadicción se exige 2 años sin consumo de tóxicos.

- Incapacidad o falta de voluntad del individuo o del representante legal de dar su consentimiento informado escrito.

### **3. Criterios de retirada de sujetos.**

El paciente pudo suspender su participación en el estudio en cualquier momento que lo deseara. A juicio y criterio del médico investigador, también se pudo decidir la retirada de un paciente del ensayo, si éste no cumplía con las normas del protocolo.

De forma específica, se consideraron criterios de retirada:

- Toxicidad de la medicación.
- Mal cumplimiento del tratamiento.
- Voluntad de abandonar el estudio del paciente o retirada del consentimiento informado.
- Ideas de suicidio.
- Elevación de las enzimas hepática por encima 3 veces los valores normales.
- Pérdida del cuidador adecuado.
- Faltar a los días de las visitas o violaciones del protocolo graves.

- Eventos adversos graves o progresión grave de la enfermedad que requiriera la retirada de la mediación.
- Cambios en el estado clínico que, en opinión del equipo investigador, cumpliera los criterios de exclusión.
- Muerte.

Para poder llevar a cabo el análisis, fue preciso haber realizado todas las visitas del estudio. Los datos obtenidos de los pacientes que se retiraron, se utilizaron para evaluar el objetivo principal de seguridad, pero no para los objetivos secundarios de eficacia.

Los pacientes que se retiraron prematuramente del estudio, pudieron ser sustituidos para completar la muestra de 24 pacientes por brazo de estudio.

Los pacientes que abandonaron prematuramente el estudio fueron invitados a realizar una visita final.

## **2) Tamaño de la muestra y justificación.**

Por tratarse de un estudio piloto, se estimó el número mínimo de pacientes que fuera suficiente para probar el concepto pretendido. Se estimó que 24 pacientes en cada grupo experimental era suficiente.

El número de pacientes a incluir en el estudio se calculó reescalando las variables de los biomarcadores para que las medias sean 100 y asumiendo que la media después del tratamiento fuera de 85 con una desviación típica de la diferencia de 20 lo que correspondería a un tamaño del efecto de 0,75, con un nivel alfa= 0,05 y potencia del 90%

y asumiendo un 10% de pérdidas, se calculó el tamaño muestral. Estos parámetros fueron obtenidos de estudios publicados. El análisis de la significación de los efectos secundarios se realizó mediante chi cuadrado y el de la significación de los cambios de biomarcadores mediante t pareada. Teniendo en cuenta estos datos se estimó que 24 pacientes serían suficientes para realizar este estudio, que es una prueba de concepto.

Por razones de seguridad, teniendo en consideración que podía haber pacientes que abandonaran el estudio, se intentó incluir en el estudio 2 sujetos adicionales, 26 pacientes en total.

## 5. CONSENTIMIENTOS INFORMADOS

El consentimiento informado fue explicado al paciente y firmado en la visita de screening. Se firmó en presencia de alguno de los investigadores, el paciente y el cuidador. El paciente debía firmar personalmente el consentimiento informado, escribir su nombre y el del investigador que le informaba y poner la fecha, antes de realizar cualquier procedimiento específico del estudio.

Además del consentimiento informado, se le dio una hoja de información con todos los detalles, las implicaciones y las limitaciones del protocolo, los efectos secundarios conocidos y los riesgos de participar en el ensayo. Nos aseguramos de que el paciente comprendía toda la información y se le insistió en la posibilidad de poder retirarse del estudio sin ninguna implicación en sus cuidados por parte del equipo investigador.

Al paciente se le permitió considerar la información todo el tiempo que necesitara, teniendo la oportunidad de consultar sus dudas con miembros de su familia o con su médico de cabecera.

El consentimiento informado fue firmado por el paciente, el investigador que daba la información y el cuidador como testigo. Se firmó por triplicado, una copia se la quedó el



paciente, otra se incluyó en la historia clínica y el tercer consentimiento se guardó en el archivo del investigador.

Además del consentimiento informado general para participar en el estudio, se le explicó al paciente la posibilidad de participar, además, permitiendo la realización de dos punciones lumbares y dos biopsias de piel, así como la posibilidad de permitir que fueran grabadas en video algunas de sus exploraciones neurológicas. Los tres procedimientos fueron independientes de la participación en el ensayo, por lo que, si voluntariamente decidían participar en estos procedimientos, debieron firmar un consentimiento informado específico para cada uno.

- 1) Consentimiento informado general (apéndice S).**
  
- 2) Consentimiento informado de la punción lumbar (apéndice T).**
  
- 3) Consentimiento informado de la biopsia de piel (apéndice U).**
  
- 4) Consentimiento informado de la videofilmación (apéndice V).**

## 6. SEGUIMIENTO DE PACIENTES.

### 1) Desarrollo del estudio.

A los pacientes seleccionados del Registro de EH del Hospital Ramón y Cajal, se les llamó telefónicamente para concertar una cita y explicar el estudio. En la primera valoración, se comprobó que cumplían con todos los criterios de inclusión y ninguno de los criterios de exclusión. Se les completó la historia médica y familiar con todos los datos que podían faltar, se les realizó una exploración física completa que incluyó talla, peso corporal y temperatura, la frecuencia cardiaca (FC) y la presión arterial (PA) sistólica y diastólica. Se comprobó que no había alteraciones analíticas previas que hubieran podido contraindicar la participación de los pacientes en el estudio y se comprobó que disponíamos del tamaño de la mutación (el número de tripletes CAG) del gen de la Htt. Si los pacientes mostraban interés en participar y eran candidatos, se les entregaba la hoja de información y se les daba una cita para la visita de screening. En los casos necesarios, se procedió a estabilizar la medicación concomitante. En ese momento, además, se le facilitó al paciente y a su cuidador un número de teléfono móvil, el cual portaba siempre un miembro del equipo investigador, al que podían llamar ante cualquier evento adverso o duda.

- **Visita 0 (visita de screening).**

Las visitas de screening se llevaron a cabo en las 6 semanas previas a la aleatorización.

En las visitas de screening se explicó de nuevo a los pacientes el estudio y se resolvieron todas las dudas que les hubieran podido surgir, tanto a los pacientes como a sus cuidadores. Tras este procedimiento, se firmaron los consentimientos informados por triplicado. Se ofreció además, la posibilidad de participar permitiendo la realización de dos

punciones lumbares y dos biopsias de piel, para lo cual, firmaron los correspondientes consentimientos informados. También fueron informados de la posibilidad de que fueran videofilmados durante la exploración neurológica de algunas visitas, para lo cual también firmaron el correspondiente consentimiento informado.

Tras las firmas de los consentimientos informados, se comprobó de nuevo que se disponía de las historias médicas y familiares completas, se realizó una nueva exploración física con talla, peso, temperatura, frecuencia respiratoria (FR), FC y PA. Posteriormente se realizaron determinaciones de hematología, bioquímica y análisis de orina incluyendo tóxicos. También se obtuvieron muestras para la determinación de biomarcadores en suero. A las mujeres en edad fértil, además, se les realizó un test de embarazo. A todos los participantes se les hizo un electrocardiograma (ECG) con 12 derivaciones. Finalmente, se les cuantificó los déficits motores, cognitivos y psiquiátricos con las escalas correspondientes.

El equipo investigador recogió todos los datos y rellenó los cuadernos de recogida de datos (CRDs). Los investigadores se quedaban pendientes del resultado de las analíticas para comprobar los resultados y apuntarlos en el CRD, recogiendo si eran normales, alterados pero sin significado clínico o alterados con significado clínico. Una vez comprobadas las analíticas, se firmaron, se fecharon y se incluyeron en las historias clínicas. En cuanto al ECG de 12 derivaciones, se comprobaron y recogieron los siguientes parámetros: FC, duración de PR, QT y QRS, así como la ausencia de alteraciones significativas o clínicamente relevantes. Una vez comprobados los ECG, se firmaron, se fecharon y se incluyeron en las historias clínicas.

Finalmente, se comprobó si tras todos estos procedimientos, los pacientes seguían siendo candidato a participar en el ensayo clínico.

- **Visita 1 (aleatorización).**

Se realizaron en la semana 0 del estudio. En esas visitas se verificó que los pacientes cumplían con todos los criterios de inclusión y ninguno de exclusión. Se comprobó que no hubieran habido acontecimientos adversos. También se realizó una nueva exploración física y neurológica y se recogieron las constantes vitales. Las exploraciones neurológicas realizadas para objetivar los déficits motores según la escala mUHDRS, fueron videofilmadas en aquellos pacientes que habían dado su consentimiento.

Después se procedió a la aleatorización de los pacientes y se les proporcionó la medicación correspondiente. En las visitas 1 se les entregó una caja con 6 viales. Para mantener el frío, se les dio la medicación en una nevera portátil con un bloque de hielo. Una vez en su domicilio, debían guardar la medicación sin usar en la nevera. Una vez utilizado por primera vez un vial, ya podía mantenerse fuera de la nevera durante 1 semana. Cada semana debían cambiar de vial, aunque no se hubiera consumido del todo. Se les dio toda la información para realizar la pauta ascendente correctamente y la administración adecuada del fármaco. Todos los pacientes y sus cuidadores, disponían de un número de teléfono móvil al que llamar con cualquier duda, que portaba un miembro del equipo investigador durante 24 horas al día. Como la siguiente visita era en 4 semanas, se les instruía para que trajeran toda la medicación, tanto los viales usados como los no usados. Lógicamente, en la siguiente visita debían traer 2 viales sin usar, los cuales debían conservar el frío con las neveras portátiles.

- **Visita 2 (visita de seguridad).**

Se realizaron en la semana 4 del estudio. Consistieron en visitas de seguridad al mes de iniciar la medicación. En ese momento los pacientes estaban ya con la dosis máxima tolerada. Se comprobó que la medicación se estuviera administrando de forma correcta y si era bien tolerada. Se registraron las medicaciones que los pacientes habían tomado, se recogieron los acontecimientos adversos y se comprobó que todavía quedaban dos viales por empezar a cada paciente. Si todo era correcto, se les proporcionó una segunda caja con otros seis viales, que de nuevo, se llevaban a casa con las neveras portátiles y los bloques de hielo. En total debían llevarse 8 viales.

Durante estas visitas se investigó sobre la presencia de acontecimientos adversos y cambios en la medicación concomitante desde la última visita realizada. Se recogieron muestras de sangre para determinaciones de hematología y bioquímica. También se recogió orina para analizar la presencia de cannabinoides. El resultado de cannabinoides en orina se llevó aparte, en mano, al laboratorio, para que el equipo investigador no tuviera acceso al resultado y sí lo tuviera el servicio de farmacología clínica de la Unidad de Investigación clínica-CAIBER. El equipo investigador se quedaba pendiente de los resultados analíticos no ciegos para incluirlos en el CRD. En estas visitas también se realizaban los ECG de 12 derivaciones, se recogían constantes vitales, se cuantificaban los déficits motores, cognitivos, psiquiátricos y funcionales con las escalas correspondientes y se obtenían muestras para biomarcadores en suero. Todos los datos se recogieron en los CRDs.

- **Visita 3 (visita para analizar resultados).**

Visitas realizadas a las 12 semanas del inicio del estudio. Los pacientes habían completado el primer periodo de tratamiento. Habían estado expuestos durante 12 semanas a la medicación del estudio o al placebo. En estas visitas se recogieron los viales utilizados y se comprobó la buena administración de la medicación. Teóricamente, el paciente debía devolver 8 viales ya usados.

Estas visitas se dividieron en dos días para no agotar a los participantes.

En el primer día, se recogió la aparición de eventos adversos desde la última visita. También se recogió si habían habido cambios en la medicación concomitante. También se realizaron los pertinentes ECG de 12 derivaciones, se tomaron las constantes vitales, y se realizaron exploraciones físicas y neurológicas completas. Las exploraciones neurológicas específicas para cuantificar los déficits motores según la escala UHDRS, fueron videofilmadas si los pacientes habían dado sus consentimientos. También se les realizaron las correspondientes escalas para valorar los déficits psiquiátricos, cognitivos y funcionales. Todos los datos se recogieron en los CRDs.

El segundo día, se recogieron las muestras de sangre para determinaciones de hematología y bioquímica, y muestras de orina para la determinación de cannabinoides, que eran procesadas de manera especial para mantener el ciego del equipo investigador. De nuevo, el equipo investigador se quedaba pendiente de los resultados para comprobar que no hubiera alteraciones significativas. En los pacientes que hubieran otorgado el consentimiento correspondiente, se les realizó la punción lumbar para obtener muestras de LCR, que se enviaron a analizar al laboratorio y se recogieron muestras para biomarcadores. En los pacientes que hubieran dado el consentimiento correspondiente, también se les realizó la biopsia de piel para cultivar fibroblastos. Posteriormente

permanecieron al menos 2 horas en reposo vigilado en la Unidad de Ensayos Clínicos y después se le recomendó reposo durante 24 horas e hidratación.

El mismo día que se recogieron las muestras de sangre y piel, en el laboratorio, se cultivaron los fibroblastos y se aislaron los linfocitos de sangre periférica.

Tras esta visita, los pacientes se fueron a casa sin medicación, para realizar el periodo de lavado.

- **Visita 4 (visita de inicio del segundo periodo de tratamiento).**

Visitas realizadas tras las 4 semanas de lavado, en la semana 16 del ensayo clínico. Se recogieron los acontecimientos adversos o cambios en la medicación concomitante tras la retirada de la medicación del primer periodo. Se tomaron las constantes vitales, se realizaron las exploraciones físicas y neurológicas y se recogieron muestras de sangre para las determinaciones de hematología y bioquímica y para los biomarcadores en suero. También se recogieron muestras de orina para las determinaciones de cannabinoides para objetivar el correcto lavado, como siempre de forma ciega para el equipo investigador.

En esas visitas, se inició el segundo periodo de tratamiento, por lo que se les proporcionó a los pacientes una caja con 6 viales que se llevaban a casa en sus neveras portátiles con los bloques de hielo. Se les recordó a los pacientes el modo de administración y la pauta ascendente.

- **Visita 5 (visita de seguridad).**

Visita realizada a las 4 semanas del inicio del segundo periodo de tratamiento, correspondiente a la semana 20 del estudio. Los pacientes debían estar con dosis máximas toleradas y se comprobaba que la administración y posología fuera correcta. Se registró la medicación que el paciente devolvía (en teoría cuatro viales usados) y se comprobó que tuvieran dos viales por empezar, que debían traer conservando el frío en la nevera portátil con bloque de hielo. Si todo era correcto, se les administró la segunda caja con seis viales más con medicación. En total, debían llevarse ocho viales sin usar.

En estas visitas se recogió la aparición de acontecimientos adversos desde la visita previa. También se recogieron los cambios en la medicación concomitante. Se les tomaron nuevas muestras de sangre para hematología y bioquímica y para biomarcadores en suero. Se les tomaron las muestras de orina para determinar cannabinoides en orina, que se analizaron de forma ciega para el equipo investigador, el cual quedaba pendiente del resultado de las pruebas no ciegas para corroborar que no hubiera alteraciones significativas. Se realizaron los correspondientes ECG de 12 derivaciones y las correspondientes exploraciones físicas y neurológicas. Se cuantificaron los déficits motores, cognitivos, psiquiátricos y funcionales según las escalas pertinentes. Se recogieron todos los datos en los CRDs.

- **Visita 6 (visita para analizar resultados).**

Las visitas 6 se realizaban tras 12 semanas con la medicación del segundo periodo del tratamiento, correspondiente a la semana 28 del estudio. Los pacientes ya habían terminado con toda la medicación del estudio. Se comprobaba que la medicación hubiera sido administrada de forma correcta. Teóricamente debían devolver los ocho viales que faltaban usados, los cuales fueron registrados.



Estas visitas, de nuevo se dividieron en 2 días para la comodidad de los participantes.

En el primer día se investigó la aparición de acontecimientos adversos desde el inicio de la medicación. También se recogieron los posibles cambios en la medicación concomitante. Se realizaron los ECG de 12 derivaciones, se recogieron las constantes vitales y se realizaron las exploraciones físicas y neurológicas. Las exploraciones neurológicas correspondientes a analizar los déficits motores según las escala mUHDRS fueron de nuevo videofilmadas en los pacientes que habían dado su consentimiento.

En el segundo día, se realizaron las tomas de muestras de sangre para determinaciones bioquímicas y hematológicas y para los biomarcadores en suero. De estas muestras, en el laboratorio, se aislaron los linfocitos periféricos. También se recogieron las muestras de orina con la determinación de cannabinoides para monitorizar adherencia al tratamiento, de forma ciega para el equipo investigador. A los pacientes que habían firmado el correspondiente consentimiento informado, se les realizó la punción lumbar para obtener muestras de líquido cefalorraquídeo. De él se enviaron muestras al laboratorio y se obtuvieron muestras para los biomarcadores. También se realizó la biopsia de piel a los pacientes que habían firmado el correspondiente consentimiento. Las muestras de piel se bajaron en la hora siguiente al laboratorio para cultivar los fibroblastos.

Los pacientes permanecieron por lo menos 2 horas en observación vigilada en la Unidad de Ensayos Clínicos y después se marcharon con la recomendación de reposo durante 24 horas e hidratación abundante. Los pacientes ya no recibirían más medicación en este estudio.

- **Visita 7 (visita final).**

Fueron las últimas visitas del estudio, correspondientes a la semana 32 desde el inicio. También fueron visitas de seguridad, pero sobre todo, fueron las visitas finales. Estas visitas se realizaron en todos los pacientes, incluidos los que abandonaron el estudio de forma prematura. Los pacientes habían estado durante 4 semanas sin la medicación del estudio.

En estas visitas se recogieron los acontecimientos adversos y los posibles cambios de la medicación concomitante desde la retirada de la medicación del estudio. Se les realizaron las últimas tomas de sangre para determinaciones hematológicas y bioquímicas y para los biomarcadores en suero. Se les tomaron muestras de orina para determinar cannabinoides, de forma que se pudiera corroborar el lavado de la medicación del estudio, de nuevo, de forma ciega para el equipo investigador. Se realizaron los últimos ECG de 12 derivaciones y se realizaron las exploraciones físicas y neurológicas. Finalmente se cuantificaron los déficits motores, cognitivos, psiquiátricos y funcionales según las escalas correspondientes.

Tras estas visitas, se dio por concluida la participación de los pacientes en el ensayo clínico.

2) Esquema de trabajo.

A continuación se expone, de forma esquemática, el diseño llevado a cabo para el desarrollo del ensayo clínico.

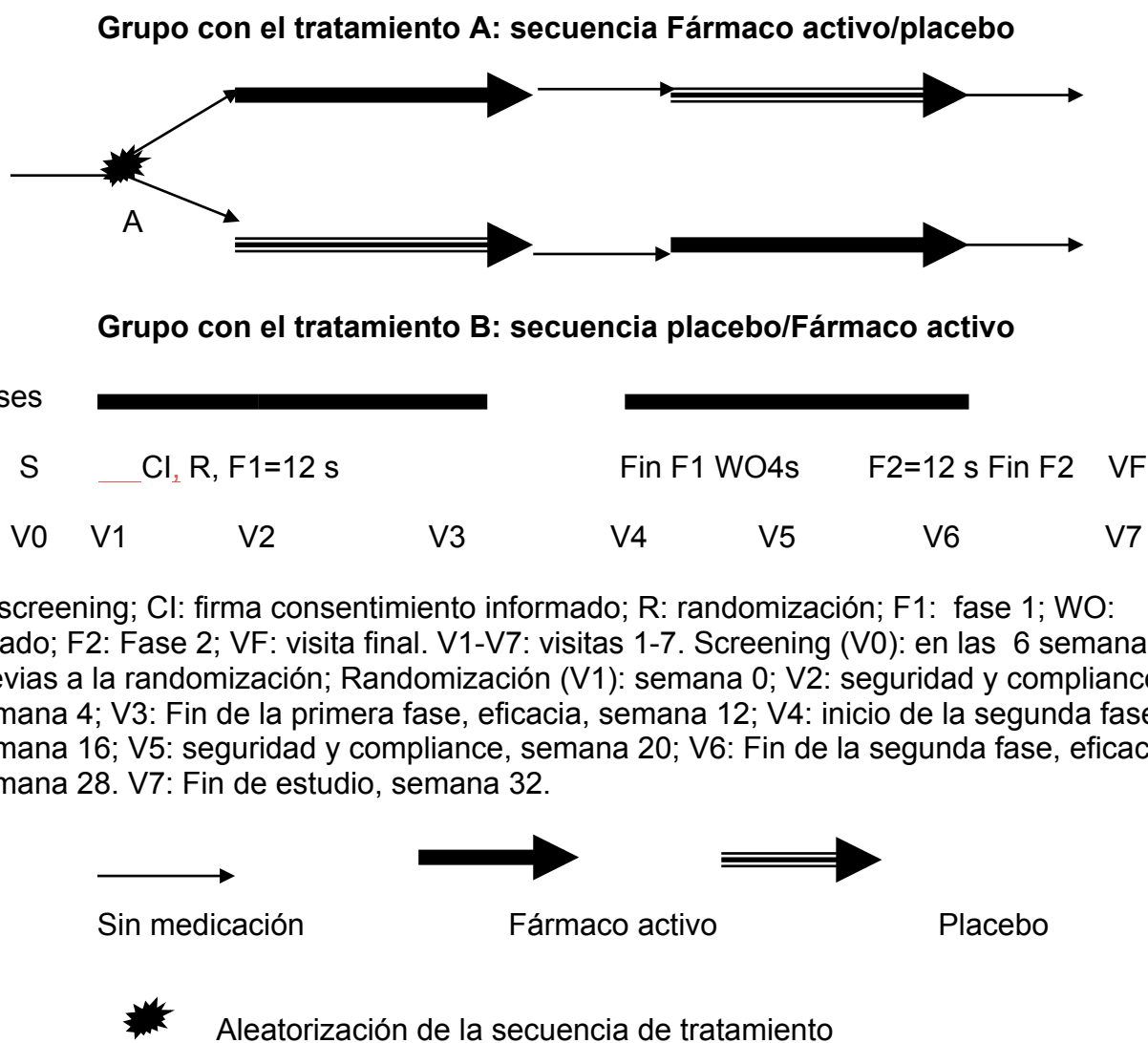


Figura III-2. Esquema del diseño para el desarrollo del ensayo clínico.

En la tabla III-1 se presenta el esquema de trabajo realizado en cada una de las visitas del estudio.

Fase	Screening	Fase 1			Fase 2			Final
Visita	V0	V1	V2	V3	V4	V5	V6	V7
Semana		0	4	12	16	20	28	32
<b>Consentimiento informado</b>	+							
<b>Administración del tratamiento</b>		+	+		+	+		
<b>Efectos adversos</b>		+	+	+	+	+	+	+
<b>EKG</b>	+		+	+		+	+	+
<b>Analítica rutina</b>	+		+	+		+	+	+
<b>LCR**</b>				+			+	
<b>Biopsia de piel**</b>				+			+	
<b>Biomarcadores en sangre</b>	+		+	+	+	+	+	+
<b>Escalas clínicas (solo en pacientes sintomáticos)*</b>	+		+	+	+	+	+	+

\*escala unificada de UHDRS tanto motora, como cognitiva, conductual y funcional.

Los tiempos se miden en semanas después de la visita anterior.

Los pacientes recibirán en una fase de 6 semanas fármaco activo (FA) o placebo (PL). LCR: líquido céfalo-raquídeo

\*\* Optativo. Realizar sólo en aquellos pacientes que hayan firmado el correspondiente consentimiento informado.

**Tabla III-1. Esquema de trabajo de las distintas visitas de los ensayos clínicos.**

## **7. EVALUACIÓN DE LA SEGURIDAD Y EFICACIA.**

### **1) Descripción de los métodos para valoración de la seguridad.**

Los parámetros para evaluar la seguridad de la medicación del estudio fueron los siguientes:

- Ausencia de deterioro en las escalas clínicas de las alteraciones motoras, cognitivas, conductuales y funcionales de las subescalas de la UHDRS al comparar el final de los dos periodos de tratamiento con las visitas basales, es decir, comparando la visita 3 con la visita 1 y la visita 6 con la visita 4.
- Ausencia de un aumento significativo de los efectos secundarios o acontecimientos adversos durante la exposición a la medicación del estudio respecto al placebo.

### **2) Descripción de los métodos para valoración de la eficacia.**

Los parámetros para evaluar la eficacia de la medicación del estudio fueron los siguientes:

- Cambios en los resultados de las escalas clínicas que evalúan las alteraciones motoras, cognitivas, conductuales y funcionales de las subescalas de la UHDRS.
- Cambios en los biomarcadores analizados en LCR en nuestro laboratorio.

Además, a pesar de que no forma parte de la presente tesis, la eficacia también será evaluada mediante el análisis en otros laboratorios del grupo:

- Cambios en los niveles de los biomarcadores en suero y líquido cefalorraquídeo: niveles de BDNF, citoquinas y proteínas pro-apoptóticas.
- Cambios en la expresión génica, en la resistencia a neurotóxicos y agregados de huntingtina en los fibroblastos.

## **8. SEGURIDAD.**

### **1) Definiciones.**

#### **1. Acontecimiento adverso (AA).**

Cualquier incidencia perjudicial para la salud en un paciente o sujeto de ensayo clínico tratado con un medicamento, aunque no tenga necesariamente relación causal con dicho tratamiento. Un AA puede ser, por tanto, cualquier signo desfavorable y no intencionado (incluyendo un hallazgo anormal de laboratorio), síntoma o enfermedad temporalmente asociada con el uso de un medicamento en investigación, esté o no relacionado con dicho medicamento.

#### **2. Reacción adversa (RA).**

Es toda reacción nociva y no intencionada a un medicamento en investigación independientemente de la dosis administrada. En este caso existe una sospecha de relación causal entre el medicamento en investigación y el AA.

### **3. Acontecimiento adverso grave (AAG) y reacción adversa grave (RAG).**

Cualquier acontecimiento adverso o reacción adversa que, a cualquier dosis: provoque la muerte, amenace la vida del sujeto, requiera la hospitalización del paciente o prolongue una hospitalización existente, provoque invalidez o incapacidad permanente o importante, o dé lugar a una anomalía o malformación congénita.

A efectos de su notificación, se hubieran tratado también como graves aquellas sospechas de acontecimiento adverso o reacción adversa que se hubieran considerado importantes desde el punto de vista médico, aunque no hubieran cumplido los criterios anteriores, incluyendo los acontecimientos médicos importantes que hubieran requerido una intervención para evitar que se produzca una de las consecuencias anteriormente descritas. Así mismo, se hubieran notificado como graves todas las sospechas de transmisión de un agente infeccioso a través de un medicamento.

### **4. Reacción adversa inesperada (RAM).**

Cualquier reacción adversa cuya naturaleza, intensidad o consecuencias no se correspondan con la información de referencia para el medicamento (en este caso la ficha técnica, ya que es un medicamento comercializado para otra patología).

#### **2) Información mínima a especificar.**

El equipo investigador realizó un seguimiento de los posibles acontecimientos adversos que hubieran podido surgir a lo largo del estudio, recogiendo el momento de aparición, su duración, intensidad, curso y desenlace, a fin de realizar una evaluación de la relación de causalidad entre el acontecimiento adverso y el medicamento.

La recogida de los acontecimientos adversos se realizó mediante una pregunta genérica del tipo: ¿Ha notado algo desde la toma de la medicación?, o la notificación espontánea del paciente.

### **3) Parámetros de seguridad.**

La seguridad de la medicación se valoró con la monitorización en cada visita de los siguientes parámetros:

1. Alteraciones subjetivas, manifestadas espontáneamente por los pacientes o tras la pregunta genérica del médico. De modo específico, teniendo en cuenta los datos conocidos de efectos adversos subjetivos en otros ensayos clínicos con Sativex®, se valoró la presencia de las reacciones adversas notificadas con mayor frecuencia durante las primeras cuatro semanas de exposición. Éstas fueron mareos (presentes principalmente durante el período de ajuste de la dosis inicial) y fatiga. Estas reacciones son normalmente de carácter leve a moderado y remiten en pocos días, incluso si se continúa con el tratamiento. Cuando se utilizó la pauta de ajuste de la dosis recomendada, la incidencia de mareos y fatiga en las primeras cuatro semanas fue mucho menor. Existe riesgo de que aumente la incidencia de caídas en pacientes con reducción de la espasticidad y cuya fuerza muscular es insuficiente para mantener la postura o la marcha. Además de un mayor riesgo de sufrir caídas, las reacciones adversas de Sativex® sobre el SNC podrían afectar a diversos aspectos de la seguridad personal, como por ejemplo en la preparación de comidas y bebidas calientes.



2. Datos anormales en la exploración física (fiebre, frecuencia cardíaca, frecuencia respiratoria, tensión arterial, exantema).

3. Electrocardiograma.

#### 4) Evaluación de la intensidad de los acontecimiento adversos.

El investigador realizó una evaluación de la intensidad de cada AA según los siguientes criterios:

- **AA Leve:** Aquel que no causa limitación en las actividades cotidianas.
- **AA Moderado:** Aquel que causa alguna limitación en la realización de las actividades cotidianas.
- **AA Severo:** Aquel que impide la realización de las actividades cotidianas.

#### 5) Evaluación de la causalidad de los acontecimientos adversos.

El investigador tuvo la obligación de establecer, basándose en su juicio clínico, la relación de causalidad entre el medicamento en investigación y la aparición de AA. Además debió consultar el Manual del Investigador (en este caso, la ficha técnica del medicamento en investigación).

Los acontecimientos adversos se clasificaron en base a su relación de causalidad con el fármaco, de acuerdo con el Algoritmo de Karch y Lasagna (1977), como:

- **Definitiva:** Existe secuencia temporal razonable entre la administración del fármaco y la aparición del acontecimiento adverso, dicho acontecimiento coincide con las reacciones adversas descritas para el fármaco, mejora con la supresión del mismo y reaparece tras su readministración.
- **Probable:** Existe secuencia temporal razonable entre la administración del fármaco y la aparición del acontecimiento adverso, dicho acontecimiento coincide con las reacciones adversas descritas para el fármaco y no puede ser explicado por otras alternativas.
- **Posible:** Existe secuencia temporal razonable entre la administración del fármaco y la aparición del acontecimiento adverso, dicho acontecimiento coincide con las reacciones adversas descritas para el fármaco pero puede ser explicado por causas alternativas.
- **Condicional o Improbable:** Existe secuencia temporal razonable entre la administración del fármaco y la aparición del acontecimiento adverso, dicho acontecimiento no coincide con las reacciones adversas descritas para el fármaco y puede ser explicado por causas alternativas.
- **No Relacionada:** No existe secuencia temporal razonable entre la administración del fármaco y la aparición del acontecimiento adverso, dicho acontecimiento no coincide con las reacciones adversas descritas para el fármaco y puede ser explicado por causas alternativas.

A efectos de notificación expeditiva se consideraron como relacionado las categorías: definitiva, probable y posible del algoritmo de Karch y Lasagna (1977) y como no relacionado la categoría condicional o improbable de dicho algoritmo.

En el caso de que el investigador desconociera la causalidad, a efectos de notificación, el acontecimiento adverso se consideró relacionado con la medicación en investigación.

#### **6) Evaluación de la gravedad de los acontecimientos adversos.**

El acontecimiento adverso se clasificó también en base a su gravedad. En general se hubieran considerado **acontecimientos adversos graves (AAG)** todos aquellos AA que hubieran cumplido alguno de los siguientes criterios:

- Que cause el fallecimiento del participante.
- Que amenace la vida del paciente.
- Que requiera hospitalización o la prolongación de una hospitalización ya existente.
- Que cause invalidez o incapacidad permanente o significativa.
- Que ponga en evidencia una anomalía o malformación congénita.

- Un acontecimiento médico importante, entendiéndose como tal todo acontecimiento que precise de un tratamiento intensivo urgente para evitar uno de los desenlaces anteriormente mencionados.

### **7) Evaluación de la esperabilidad de los acontecimientos adversos.**

Se consideró **acontecimiento adverso inesperado** aquella experiencia no descrita (en naturaleza, gravedad o frecuencia) en el documento de referencia del medicamento en investigación.

### **8) Procedimiento de notificación de acontecimientos adversos.**

Todos los acontecimientos adversos se recogieron en el CRD de cada sujeto, independientemente de la relación causal con el tratamiento.

La aparición de cualquier sospecha de acontecimiento adverso grave e inesperado y posiblemente relacionado con el fármaco (reacción adversa), hubiera sido comunicada inmediatamente por teléfono al monitor del estudio a la mayor brevedad posible. Antes de los tres días siguientes al informe telefónico se hubiera enviado una confirmación por escrito, pormenorizada y adecuadamente evaluada del suceso al promotor, siguiendo el modelo recogido en el formulario CIOMS.

La comunicación inicial hubiera estado seguida de comunicaciones escritas pormenorizadas.

El investigador hubiera realizado el seguimiento del acontecimiento adverso hasta la resolución, vuelta a la situación basal o hasta la estabilización en caso de una afectación permanente.

En las comunicaciones iniciales y en las de seguimiento, se hubieran identificado los sujetos del ensayo mediante un número de código específico para cada uno de ellos.

El promotor mantuvo un registro detallado de todos los acontecimientos adversos que le fueron comunicados por los investigadores. Estos registros se presentarán a la AEMPS y al CEIC cuando éstos así lo soliciten.

El periodo de notificación comprendió desde la firma del consentimiento informado hasta 28 días después de la última toma del medicamento. Pasado este periodo, si el investigador tuviera conocimiento de algún acontecimiento adverso grave relacionado con la medicación del estudio, debe ponerlo en conocimiento del promotor inmediatamente.

#### **9) Procedimiento de notificación de acontecimientos adversos graves e inesperados.**

El promotor hubiera notificado a la AEMPS, Área de Ensayos Clínicos de la Subdirección General de Medicamentos de Uso Humano, al CEIC del Hospital Ramón y Cajal y al órgano competente de la Comunidad Autónoma de Madrid todas las sospechas de reacciones adversas graves y a la vez inesperadas asociadas a los medicamentos en investigación según lo establecido en la normativa vigente.

El plazo máximo de notificación hubiera sido de 15 días, excepto cuando la sospecha de reacción adversa grave e inesperada hubiera ocasionado la muerte del sujeto, o puesto en peligro su vida, que hubiera sido comunicada en los 7 días naturales después de su conocimiento, pudiendo completar la información en los 8 días siguientes.

#### **10) Plan de seguimiento.**

Cuando apareció un AA en un paciente del estudio, independientemente del tipo que fuera: esperado, inesperado, grave e inesperado, etc. Éste se registró convenientemente en el CRD y se mantuvo al paciente en seguimiento hasta que el

acontecimiento se consideró resuelto. Incluso si perduró más allá del día de la última visita programada en el protocolo.

## 9. PLAN ESTADÍSTICO.

Al tratarse de un ensayo clínico cruzado, por lo que los pacientes recibieron los dos tratamientos, Sativex® y placebo, la comparabilidad estuvo asegurada.

### 1) Cálculo del tamaño muestral.

Tal y como se ha explicado previamente, reescalando las variables de los biomarcadores para que las medias fueran 100 y asumiendo que la media después del tratamiento fuera de 85 con una desviación típica de la diferencia de 20, lo que correspondía a un tamaño del efecto de 0,75, con un nivel alfa= 0,05 y potencia del 90%, el número de pacientes reclutados debía ser 21, asumiendo un 10% de pérdidas, el tamaño muestral propuesto fue de 24 pacientes.

### 2) Métodos estadísticos.

El análisis de los cambios que se produjeron en las escalas clínicas y en los parámetros biológicos se realizó mediante comparación de los valores encontrados durante la fase de tratamiento activo y la fase de placebo. Los resultados de las variables paramétricas se dieron como media  $\pm$  desviación estándar. La comparación se realizó mediante la t pareada. El nivel de significación exigido fue  $p < 0,05$ .

El análisis estadístico de los efectos adversos se realizó mediante comparación por chi cuadrado de estos parámetros durante el tratamiento con producto activo y con placebo. Los resultados se dieron en tablas de frecuencia.

### **3) Plan de análisis.**

Se realizó en primer lugar un análisis descriptivo de las características sociodemográficas y clínicas basales (visita 1) de los pacientes incluidos en el estudio, mediante medidas de tendencia central y distribución de porcentajes para variables cuantitativas y cualitativas, respectivamente. Además, se compararon las características basales de los dos grupos de tratamiento mediante pruebas t de Student o U de Mann-Whitney en el caso de variables continuas normales y no normales, respectivamente, y de chi cuadrado para las variables cualitativas.

En segundo lugar se llevó a cabo un análisis del efecto secuencia y el efecto periodo. Si éstos no hubieran resultado significativos se evaluaría el efecto del tratamiento con todos los datos del estudio. Si por el contrario, se hubieran demostrado cambios en las distintas escalas estudiadas producidos por la secuencia o el periodo en la que se recibieron las intervenciones, se compararían únicamente los resultados del primer periodo.

La variable principal del estudio fueron los déficits motores, cognitivos, psiquiátricos y funcionales. La comparación de la respuesta entre los diferentes grupos de tratamiento se llevó a cabo mediante t de Student o prueba de Wilcoxon pareadas en función de la distribución de las variables respectivas, aplicando la corrección de Bonferroni para comparaciones múltiples.

Siguiendo las indicaciones del protocolo, en el análisis se incluyeron únicamente los pacientes que hubieran completado las dos fases del tratamiento (fármaco activo y placebo).

#### **4) Criterios para la finalización del ensayo.**

El estudio hubiera finalizado si durante el mismo hubieran aparecido efectos adversos graves que excedieran la evolución esperada en una cohorte de esta naturaleza en la EH. Al tratarse de un estudio de corta duración no se realizó ningún estudio estadístico intermedio.

#### **5) Pérdida de datos.**

Al tratarse de un estudio en dos fases, en el que cada paciente es objeto de tratamiento con fármaco activo y placebo, no se utilizaron los datos de los pacientes que no completaron el estudio.

#### **6) Desviaciones del plan estadístico.**

El análisis estadístico se realizó de acuerdo a lo previsto en el protocolo del estudio.

#### **7) Selección de sujetos para el análisis.**

Se utilizaron en el análisis los sujetos que completaron las dos fases, placebo y fármaco activo, del tratamiento.



## 10. CONSIDERACIONES PRÁCTICAS Y ÉTICAS.

### 1) Acceso a los datos. Documentos fuente.

Todos los datos recogidos para la realización del estudio, tanto para la elaboración de su historia clínica, como para el resto de documentos del estudio, quedaron archivados en soporte papel. Las historias clínicas se archivaron según normativa o procedimientos establecidos en el centro.

Los datos recogidos para el estudio estuvieron identificados mediante un código y sólo el investigador principal y colaboradores pudieron relacionar dichos datos con el paciente y con su historia clínica.

Los datos fueron incluidos en una base de datos que sigue la Ley 15/1999 de Protección de Datos de Carácter Personal. Así mismo, la transmisión de datos se hizo con las medidas de seguridad adecuadas en cumplimiento de dicha ley y del R.D. 994/99. Sólo aquellos datos de la historia clínica que estaban relacionados con el estudio han sido objeto de comprobación. Esta comprobación se hizo, en la medida de lo posible, en presencia del investigador principal o investigadores colaboradores, responsables de garantizar la confidencialidad de todos los datos de las historias clínicas pertenecientes a los sujetos participantes en el ensayo clínico.

El acceso a esta información quedó restringido al promotor, médicos del estudio y colaboradores, autoridades sanitarias (Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios), al Comité Ético de Investigación Clínica y personal autorizado por el promotor, cuando lo hubieran precisado para comprobar los datos y procedimientos del estudio, pero siempre manteniendo la confidencialidad de los mismos de acuerdo a la legislación vigente.

Tampoco se revelará la identidad del sujeto al publicar los resultados del estudio.

Los documentos fuentes son, por definición, los documentos, datos y registros originales. Los investigadores y el centro garantizan el acceso del promotor o su representante y del CEIC a los documentos originales.

Fueron considerados como datos fuentes de este ensayo: las historias clínicas de los pacientes, las determinaciones generales de laboratorio (hematología y bioquímica), las determinaciones específicas de laboratorio (cannabinoides en orina). También todos los documentos en los que se recogieron las valoraciones neurológicas y neuropsicológicas. Se utilizó un CRD en formato papel, en el que se incorporaron todos estos datos, junto a los resultados de las escalas UHDRS en las sucesivas visitas, los acontecimientos adversos y los parámetros de los biomarcadores. Dichos datos fueron verificados, desde el inicio hasta la finalización del estudio, por el monitor autorizado por el promotor.

### **2) Archivos de la documentación.**

Todos los datos se conservarán íntegros en papel durante 15 años tras la finalización del estudio, en el correspondiente Archivo del Investigador (según RD 223/2004 de ensayos clínicos y Normas de Buena Práctica Clínica).

Este archivo contiene los siguientes elementos:

- Aprobación por el CEIC del protocolo y de las hojas de consentimiento informado, con el listado de miembros que lo componen.
- Aprobación de la AEMPS.
- Contrato firmado.

- Conformidad de la Dirección del Centro.
- Copia del impreso de los consentimientos informados por escrito, y del protocolo aprobado con todas las enmiendas.
- Toda correspondencia relativa al estudio con el promotor durante el transcurso del ensayo.
- Toda correspondencia con el CEIC.
- Aceptación firmada del protocolo.
- *Curriculum Vitae* del investigador principal y de los otros investigadores que forman parte del equipo investigador.
- Registro de firmas de los miembros del equipo investigador.
- Comunicaciones de los eventos adversos graves.
- Contrato entre el promotor y el equipo investigador.
- Lista de identidad de los pacientes.
- Copias de los CRDs.

La documentación fue archivada siguiendo la legislación vigente y los procedimientos normalizados de trabajo del servicio de Neurología.

### **3) Control y garantía de calidad.**

#### **1. Visitas de monitorización.**

Durante el estudio se realizaron: 1 visita de inicio, 2 visitas de monitorización y 1 visita de cierre, para asegurar que se estaban siguiendo todos los aspectos del protocolo. Se revisaron los documentos fuentes para verificar la información registrada en los CRDs.

Documentación y aspectos del estudio que pudieron ser revisados: archivo del investigador, medicación del estudio, la historia clínica de los sujetos, la correcta obtención del consentimiento informado, los CRDs y los documentos fuentes asociados. El investigador principal y el equipo investigador, estuvieron disponibles durante las visitas de supervisión.

#### **2. Auditorías por Autoridades Sanitarias.**

Este estudio podría ser inspeccionado por las autoridades sanitarias, Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios. Si una autoridad sanitaria se pone en contacto con el centro de estudio para una inspección, deberá informarse inmediatamente al promotor. El investigador y el centro, deberán garantizar a los auditores el acceso a todos los documentos del estudio para la garantía de calidad.

#### **4) Ética y legislación. Declaración de Helsinki.**

##### **1. Normas generales y particulares para los investigadores.**

Los investigadores se atuvieron estrictamente a lo dispuesto en el protocolo, cumplimentando totalmente las hojas de recogida de datos, que se enviaron a su debido tiempo al promotor.

El ensayo se llevó a cabo de acuerdo a las recomendaciones para ensayos clínicos y evaluación de fármacos en el hombre, que figuran en la **Declaración de Helsinki** (apéndice F), revisada en Tokio, Venecia, Hong Kong, Sudáfrica y Edimburgo (2000) y en la actual Legislación Española en materia de ensayos clínicos.

##### **2. Consentimiento informado.**

Todos los sujetos participantes, antes de iniciar el estudio, fueron informados y dieron su consentimiento por escrito. Las hojas de los consentimientos informados están disponibles en los apéndices S, T, U y V. Al sujeto se le entregó una copia de esta hoja de información para que se la llevara consigo.

##### **3. Dispositivos de seguridad y confidencialidad.**

La información difundida y obtenida por la puesta en marcha del presente estudio fue considerada confidencial y fue tratada en todo momento como tal. Los sujetos del estudio fueron identificados sólo con su código de sujeto en el estudio. Tanto los investigadores responsables del ensayo clínico, como los representantes del promotor o de las Autoridades Sanitarias, tuvieron acceso a la información registrada a lo largo del estudio. En la publicación de los resultados del estudio no se revela la identidad de los sujetos participantes.

#### **4. Seguro.**

La Fundación para la Investigación Biomédica del Hospital Ramón y Cajal dispuso de una póliza de responsabilidad civil por seguro, ajustado a Real Decreto 223/2004 (apéndice G), que hubiera proporcionado la **compensación e indemnización** a los sujetos participantes en caso de menoscabo de su salud o de lesiones que hubieran podido producirse.

Además esta póliza cubrió las responsabilidades del promotor, del equipo investigador y del hospital Ramón y Cajal.

#### **5. Declaración de Helsinki (apéndice F).**

## IV. RESULTADOS

#### IV. RESULTADOS.

##### 1. MUESTRA.

###### 1) Número de pacientes.

Se seleccionaron 191 pacientes de nuestra base de datos, formada por casi 400 pacientes con EH.

El equipo investigador se puso en contacto telefónico con todos ellos, ofreciendo la posibilidad de participar en el ensayo clínico. En total se reclutaron 27 pacientes (desde SAT-001 hasta SAT-027), uno de los cuales (SAT-025) cumplía los criterios de inclusión en el límite y presentó gran dificultad para la extracción de sangre, por lo que finalmente decidió declinar su consentimiento informado. Como todavía era periodo de reclutamiento, se pudo incluir un paciente en su lugar.

Así pues, se aleatorizaron 26 pacientes (de SAT-101 hasta SAT-126), siendo asignados 13 pacientes a cada grupo. Los dos grupos difirieron en la secuencia en la que recibieron Sativex® o placebo. Así, según la figura III-1, el grupo de tratamiento A recibió en primer lugar Sativex® (secuencia AB), mientras que el grupo B recibió en primer lugar placebo (secuencia BA). Para facilitar la lectura durante el apartado de resultados, en vez de secuencia AB se utiliza SP (Sativex®-placebo) y en vez de secuencia BA se utiliza PS (placebo-Sativex®). Tras la firma del consentimiento informado y la aleatorización, pero antes del inicio de la medicación del estudio o el placebo (entre la visita 0 y la visita 1), uno de los pacientes (SAT-115) presentó un cuadro de colestiasis que requirió intervención quirúrgica en los siguientes meses. Motivo por el cual, se le recomendó abandonar el estudio. Por tanto, en la primera fase del ensayo, 12 pacientes recibieron Sativex® y 13 pacientes recibieron placebo.

Durante la realización de la visita 3, que era el final del primer periodo de tratamiento, uno de los pacientes (SAT-111) decidió interrumpir su participación por la



ausencia de mejoría subjetiva en ese primer periodo. A pesar de desconocer si pertenecía al grupo de tratamiento o de placebo, abandonó el estudio en esa visita. Cuatro semanas después se citó al paciente para realizar la visita final.

En total, 24 pacientes completaron las dos fases del ensayo clínico.

Con el fin de realizar un análisis por intención de tratar, se incluyó en el análisis a los 25 pacientes que recibieron medicación, considerando al paciente que abandonó el estudio como “no respondedor”. Se definió la falta de respuesta como la permanencia de la puntuación basal en todas las visitas del ensayo.

2) Organigrama del estudio.

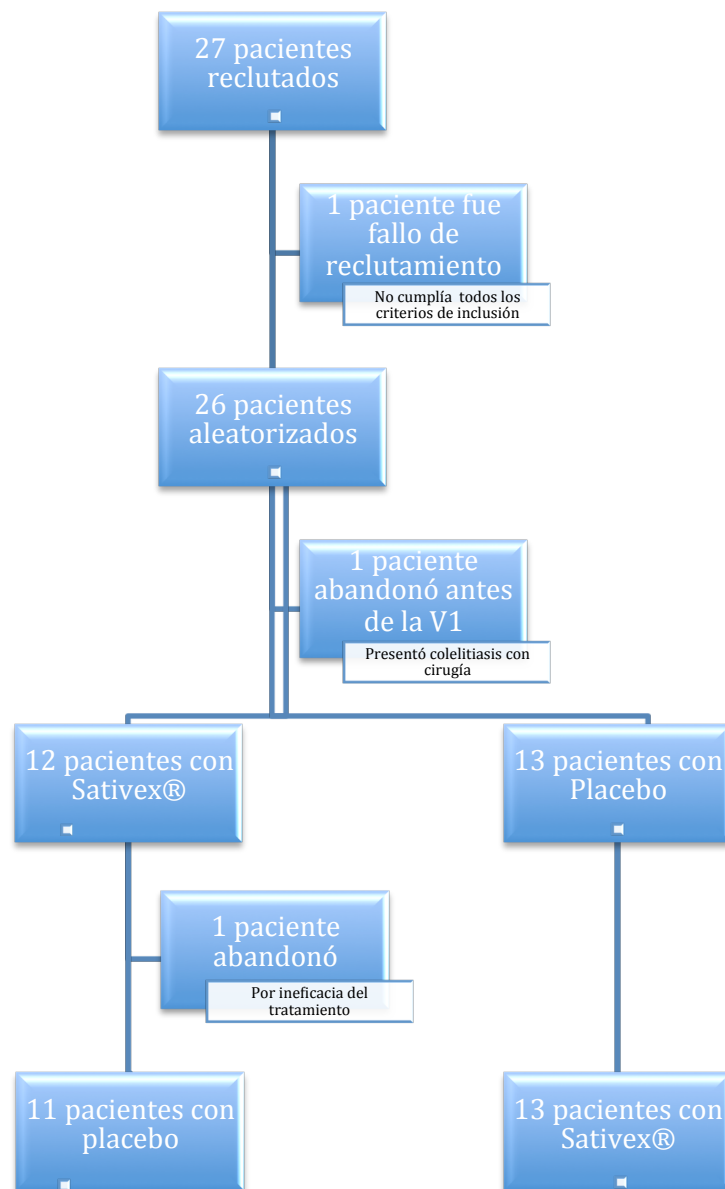


Figura IV-1. Organigrama del estudio, en el que se incluyen los pacientes reclutados, aleatorizados y expuestos a cada una de los periodos del estudio. También se incluyen los pacientes que abandonaron el estudio y el motivo.

### 3) Tiempos del ensayo.

En agosto y parte de septiembre del 2011 el equipo investigador seleccionó, de la base de datos comentada, 191 pacientes. A estos pacientes se les llamó telefónicamente y fueron citados en la consulta la gran mayoría. En la consulta se les explicó el ensayo clínico, a la vez que se corroboró si cumplían los criterios de inclusión y ninguno de exclusión.

La visita de inicio se realizó el 29 de septiembre del 2011 y se incluyeron los pacientes a partir del 3 de octubre del 2012. Para facilitar la dinámica del estudio, se procuró realizar las visitas de todos los pacientes de manera muy consecutiva para evitar que coincidieran dos visitas diferentes en la misma semana. Así pues, cada semana se citaban 8 pacientes, de forma que en 3 semanas se habían completado las visitas de todos los pacientes. Se cumplieron estrictamente los tiempos estipulados por el protocolo, a excepción del periodo comprendido entre las visitas 1 y 2. Teóricamente, la visita 2, que era de seguridad, se debía llevar a cabo a las 4 semanas de la visita 1, que era la visita de aleatorización e inicio del tratamiento. Sin embargo, coincidieron las fechas de los primeros pacientes en una semana con muchas festividades. Así que se decidió retrasar la visita de todos los pacientes 1 semana. Se realizó la enmienda del protocolo pertinente. Durante el resto del ensayo se respetaron estrictamente los plazos del protocolo.

Entre finales de diciembre del 2011 y principios de enero del 2012, se finalizó el primer periodo del ensayo, tras lo cual hubo 4 semanas de lavado. En febrero se inició el segundo periodo, que acabó entre finales de mayo y principios de junio del 2012. El 8 de junio tuvo lugar la visita final del último paciente del ensayo. Sin embargo, no se pudo cerrar el estudio por un AAG. Como se comentará más adelante, entre la visita 6 y la visita 7 (que era la visita final), una de las participantes del estudio (SAT-121) dejó de cumplir, por error, las medidas de anticoncepción recomendadas (pensó que al no tomar

la medicación ya estaba libre de riesgo). Así pues, se quedó embarazada, como se pudo comprobar en la prueba de embarazo realizada en la visita 7. Este hecho nos obligó a mantener un contacto telefónico continuo con la paciente y su cuidador, hasta el nacimiento en febrero del 2013.

#### **4) Colaboración de los pacientes.**

Durante todo el desarrollo del estudio, la colaboración de los pacientes y sus familiares fue absoluta. Todos los pacientes cumplieron exquisitamente con todas las citas programadas y permitieron la realización de todas las pruebas requeridas, a excepción del paciente que decidió abandonar el estudio en la visita 3 (SAT-111). Todos los pacientes permitieron, y firmaron los correspondientes consentimientos informados, que se les realizaran las punciones lumbares, las biopsias de piel y fueran videofilmados. A pesar de haber firmado el consentimiento informado, el equipo investigador decidió no realizar la punción lumbar, a una paciente (SAT-124), debido a un gran tatuaje situado en la zona correspondiente a la punción lumbar. Sólo un paciente (SAT-120) se negó a la segunda punción lumbar en la visita 6, debido a una importante cefalea postpunción tras la primera punción lumbar en la visita 3.

## 2. ANÁLISIS BASAL DE LAS CARACTERÍSTICAS SOCIODEMOGRÁFICAS Y CLÍNICAS.

Se hizo un análisis descriptivo de las características sociodemográficas y clínicas en la visita basal (visita 1). Para hacer una descripción de los pacientes participantes en el estudio, se decidió analizar las siguientes variables, distinguiendo si eran continuas o categóricas:

- Variables continuas:
  - Edad en el momento de participar en el ensayo.
  - Edad de inicio de los síntomas.
  - Tiempo de evolución desde el diagnóstico.
  - Índice de masa corporal (IMC).
  - Número de repeticiones CAG en el alelo de mayor tamaño.
  - Puntuaciones en las diferentes escalas de la UHDRS.
  - Puntuaciones en el inventario NPI.
  - Puntuaciones en la escala de depresión-ansiedad HADS.

- Fluidez verbal y categorial.
  
- Stroop de interferencia.
  
- Variables categóricas:
  - Sexo.
  
  - Presencia de antecedentes familiares conocidos.
  
  - Etnia.
  
  - Tratamientos sintomáticos previos.

Se comprobó si las variables continuas cumplían criterios de normalidad mediante el test de Kolmogorov-Smirnov. Se describió el total de la muestra, utilizando medidas de tendencia central y de dispersión para variables continuas, media ( $m$ ) y desviación estándar (DE), y distribución de porcentajes para las variables categóricas.

La descripción de las características sociodemográficas se muestran en las tablas IV-1 y IV-2 y en los gráficos del IV-1 al IV-7.

RESULTADOS

Variable	Total (n=25)	Secuencia tratamiento SP (n=12)	Secuencia tratamiento PS (n=13)	Valor P
<b>Variables continuas: media (DE)</b>				
Edad basal (años)	47,6 (12,4)	49,2 (11,4)	46,1 (13,6)	0,556
Edad de inicio síntomas (años)	41,0 (10,5)	40,7 (9,4)	41,3 (11,8)	0,898
Tiempo de evolución (años)	6,6 (4,3)	8,4 (4,7)	4,8 (3,1)	0,034
Tiempo desde el diagnóstico (años)	4,2 (3,9)	5,25 (5,0)	3,3 (2,1)	0,216
Peso (kg)	61,8 (11,2)	59,7 (8,7)	64 (13,2)	0,337
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	22,0 (3,4)	21,9 (2,9)	22,2 (4,1)	0,831
Nº de repeticiones CAG en alelo mayor	45,7 (3,7)	44,9 (3,4)	46,4 (3,9)	0,334

Tabla IV-1. Características sociodemográficas de variables continuas.

Variable	Total (n=25)	Secuencia tratamiento SP (n=12)	Secuencia tratamiento PS (n=13)	Valor P
<b>Variables categóricas: n (%)</b>				
<b>Sexo:</b>				0,821
Varones	14 (56,0)	7 (58,3)	7 (53,8)	
Mujeres	11 (44,0)	5 (41,67)	6 (46,15)	
<b>Antecedentes familiares:</b>				0,273
No	5 (20,0)	4 (33,3)	1 (7,7)	
Padre	8 (32,0)	3 (25,0)	5 (38,5)	
Madre	12 (48,0)	6 (38,5)	7 (53,8)	
<b>Etnia:</b>				0,327
Caucásico	24 (96,0)	12 (100)	12 (92,3)	
Latinoamericano	1 (4,0)	0	1 (7,7)	
<b>Medicación sintomática:</b>				
Neurolépticos	6 (24,0)	2 (16,7)	4 (30,8)	0,409
Tetrabenazina	6 (24,0)	4 (33,3)	2 (15,4)	0,294
Amantadina	1 (4,0)	1 (8,3)	0	0,288
Antidepresivos	5 (20,0)	3 (25,0)	2 (15,4)	0,548
Benzodiazepinas	15 (60,0)	8 (66,7)	7 (53,8)	0,513

Tabla IV-2. Características sociodemográficas de variables categóricas.

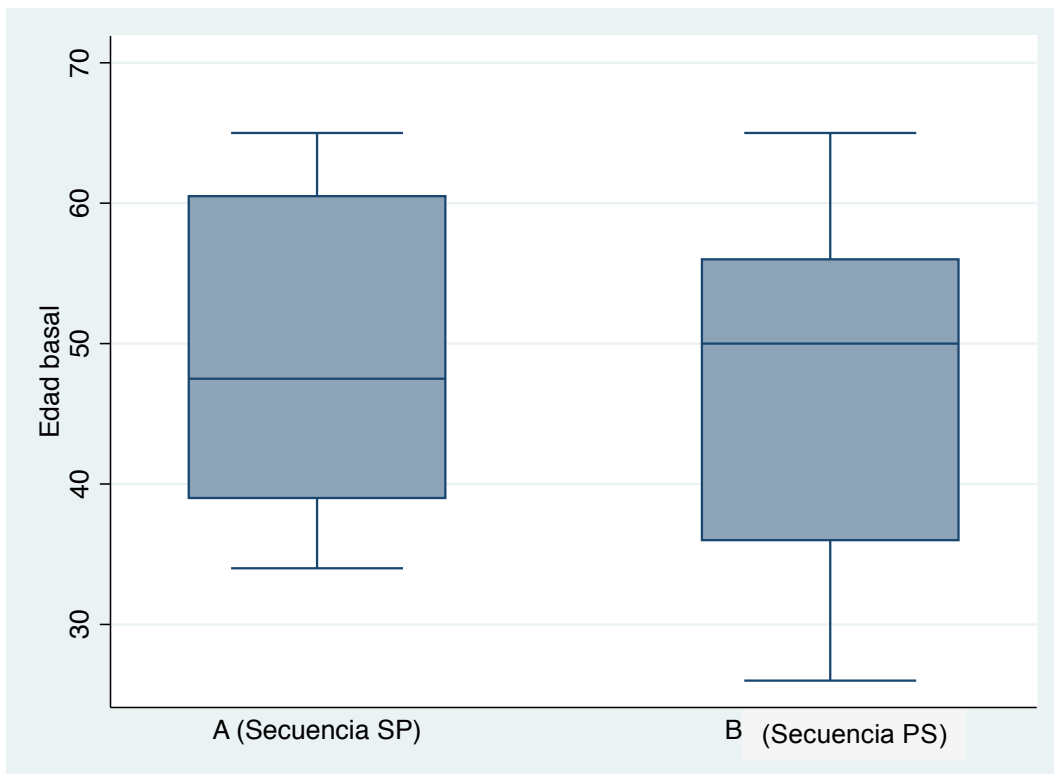


Gráfico IV-1. Edad basal en ambos grupos.

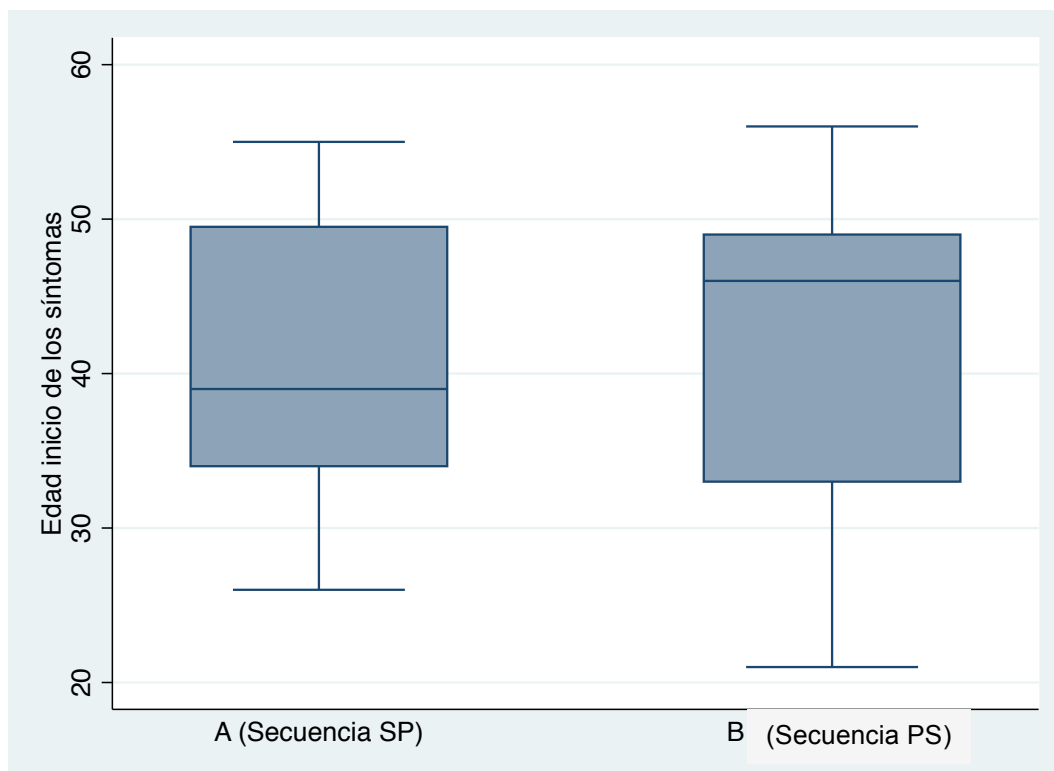


Gráfico IV-2. Edad de inicio de los síntomas en ambos grupos.



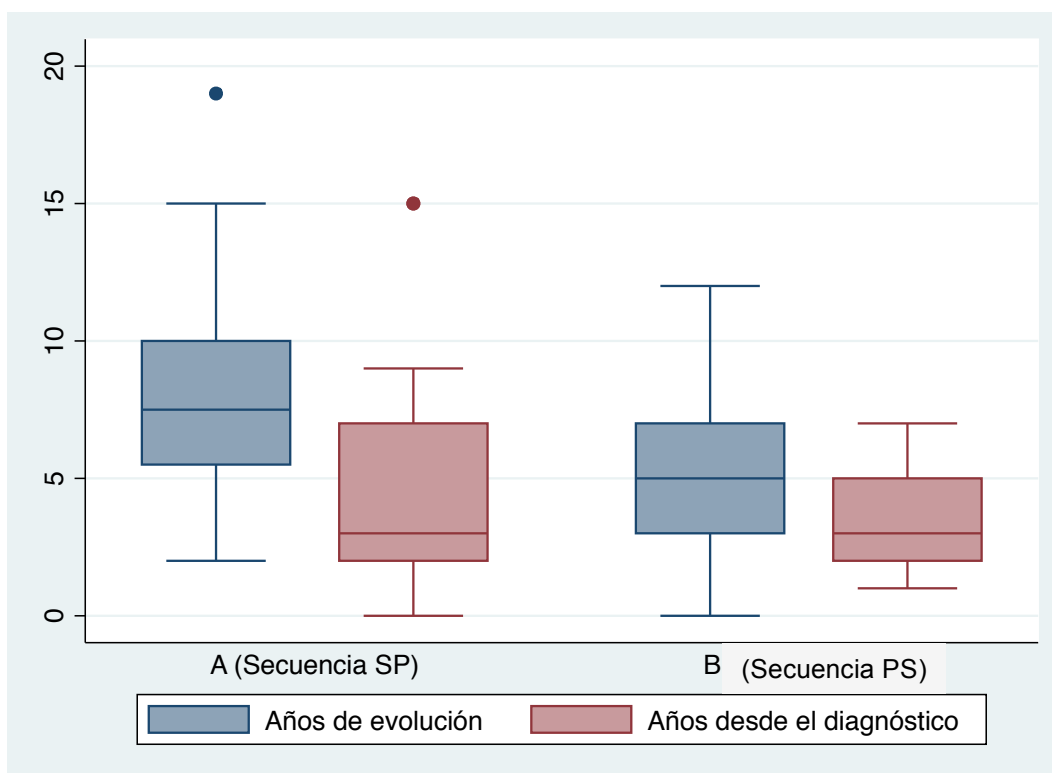


Gráfico IV-3. Tiempo de evolución y tiempo desde el diagnóstico.

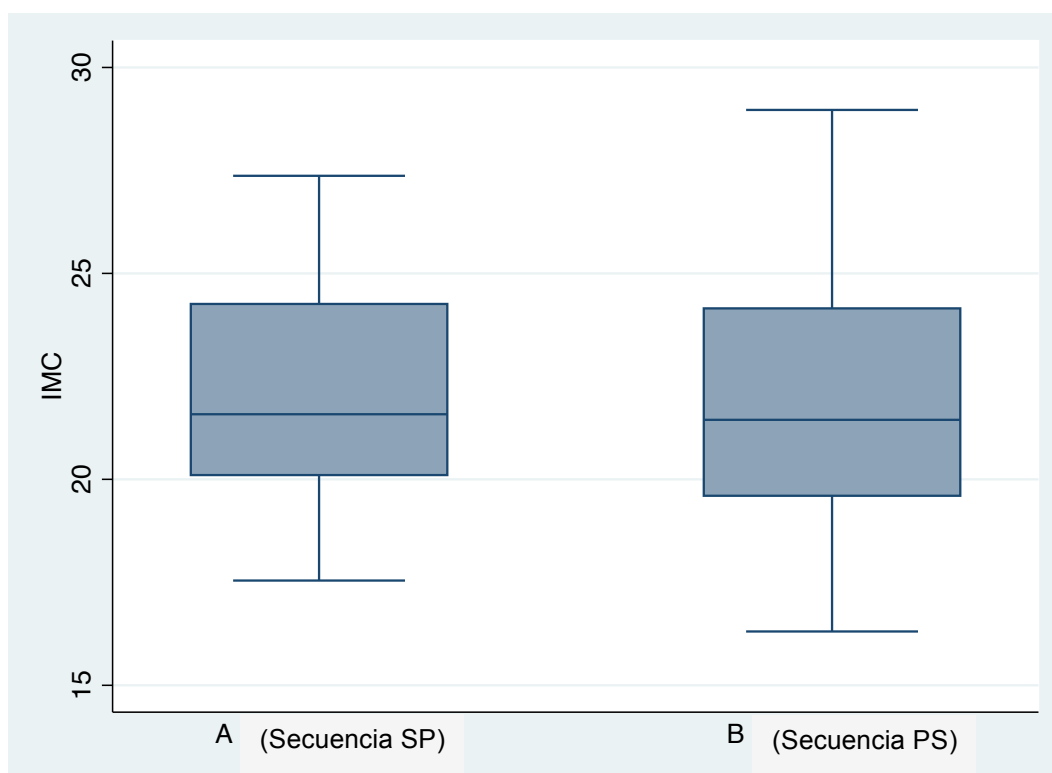


Gráfico IV-4. IMC en la visita basal.

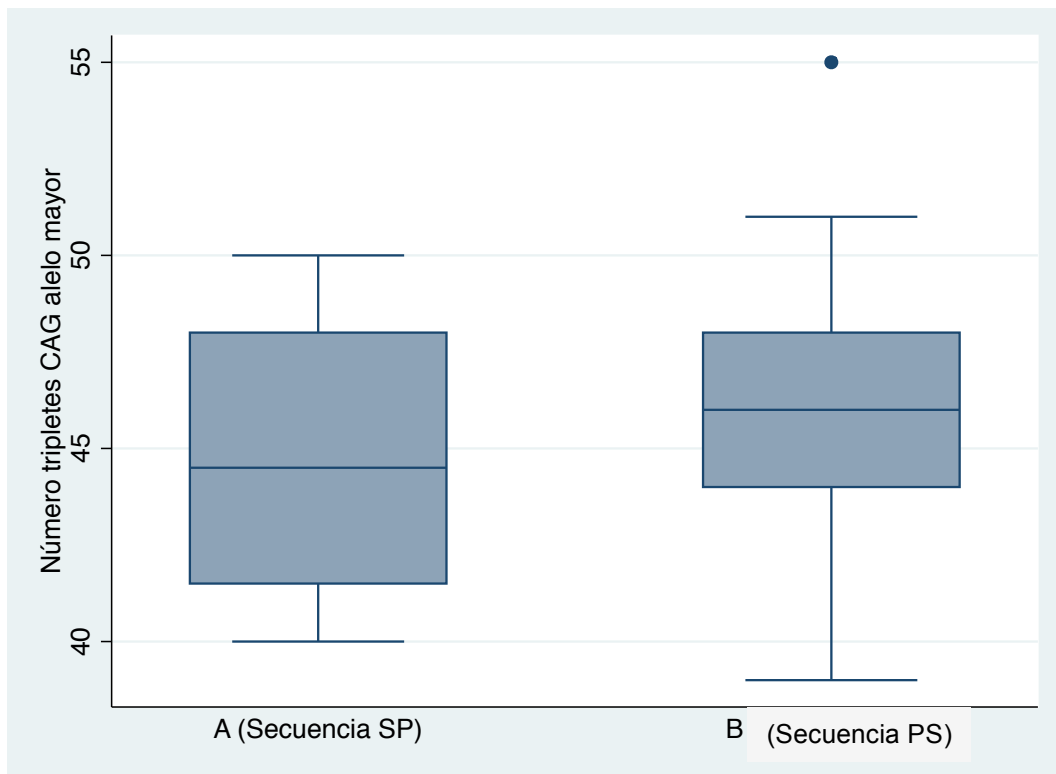


Gráfico IV-5. Número de repeticiones CAG del alelo mayor.

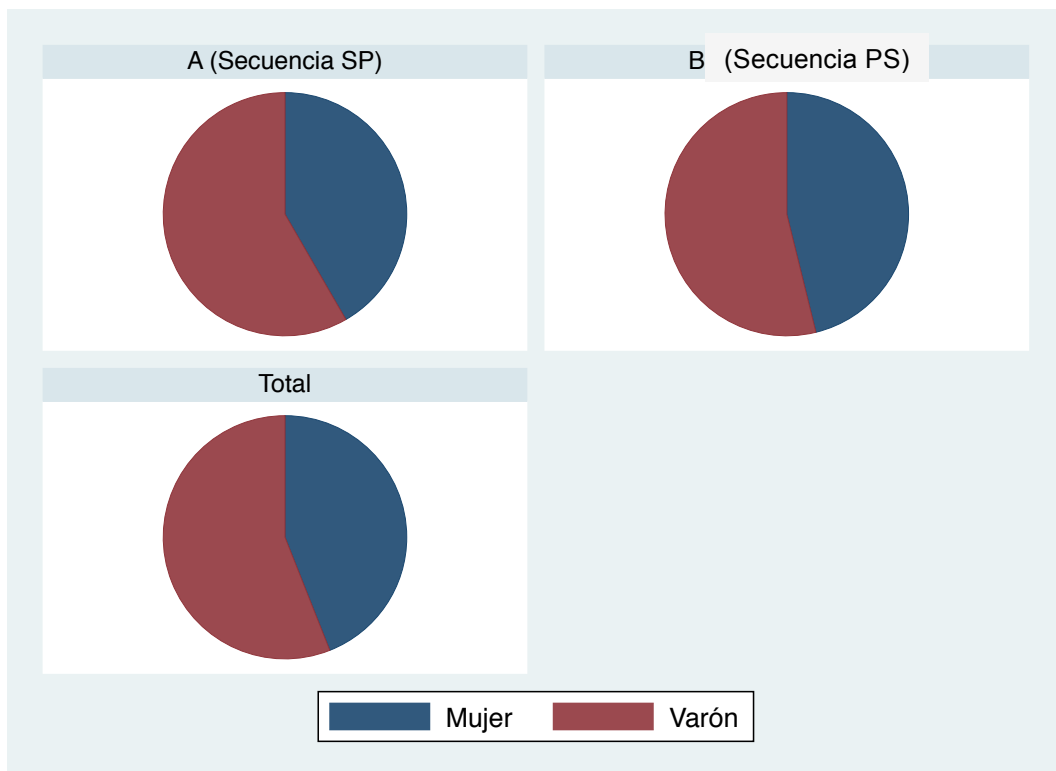


Gráfico IV-6. Distribución del sexo.

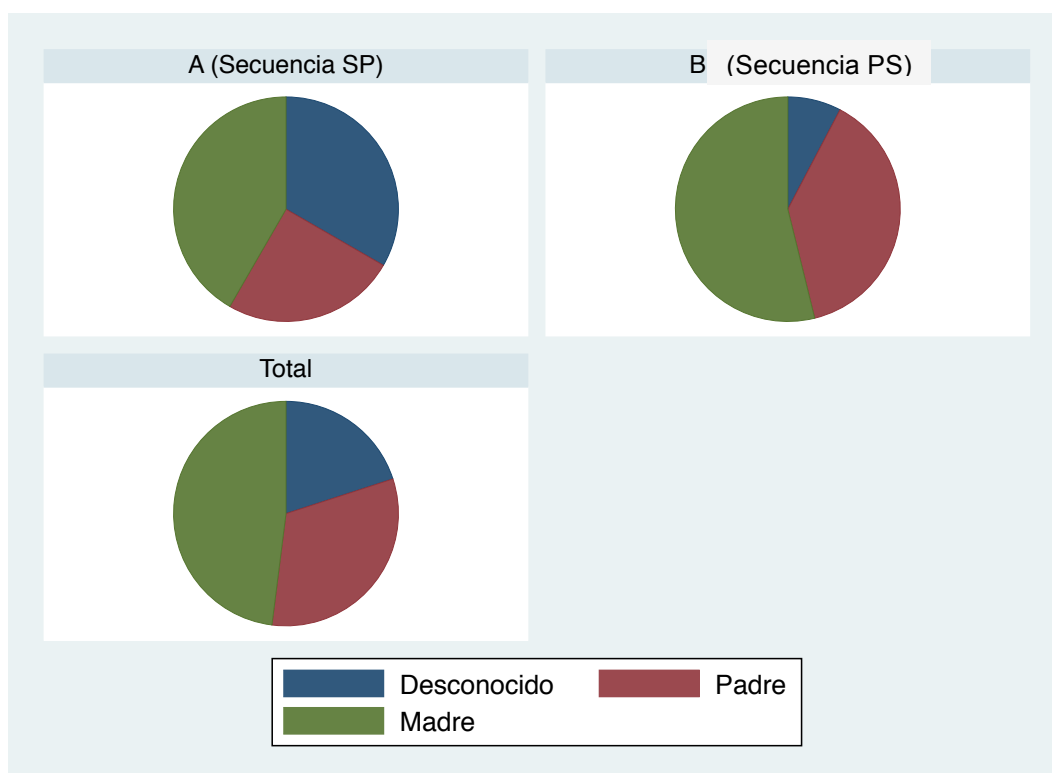


Gráfico IV-6. Antecedentes familiares de progenitores afectos.

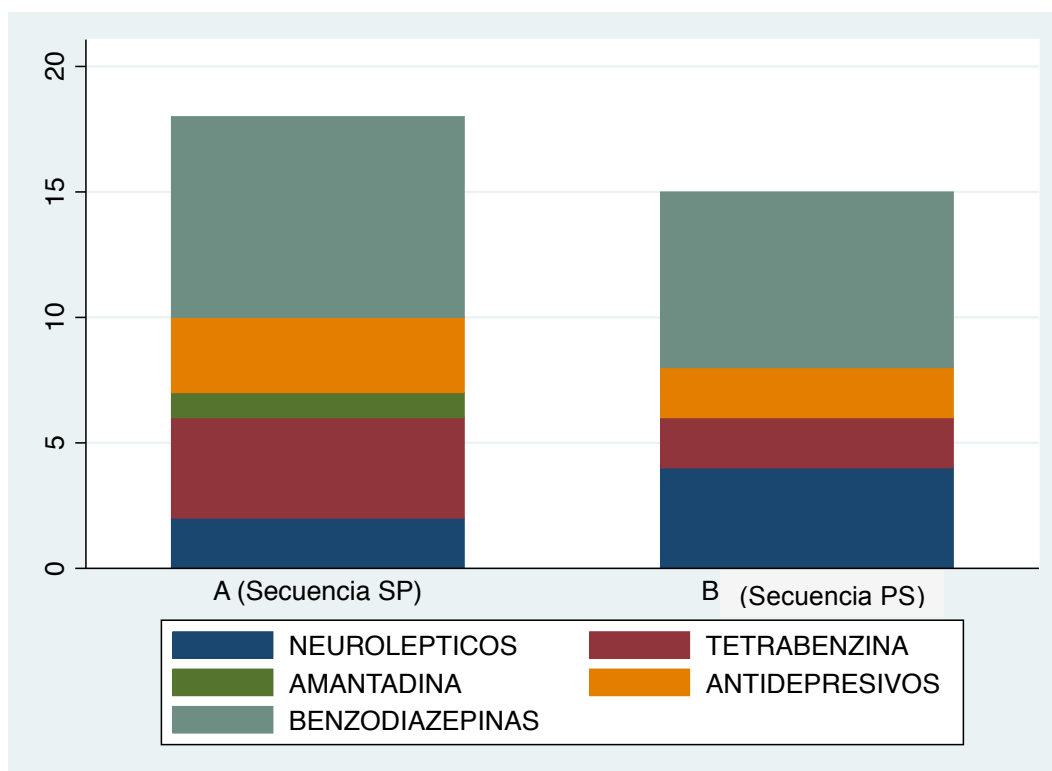


Gráfico IV-7. Medicación concomitante.

En la muestra había un mayor número de varones, exactamente el 56% de varones y el 44% de mujeres. La edad media de los pacientes en el momento de participar en el ensayo fue de 47,6 (DE: 12,4) años y el rango de edad de 26 a 65 años. La edad media de inicio de los síntomas fue de 41 (DE: 10,5) años. El tiempo de evolución desde el inicio de los síntomas fue de 6,6 (DE: 4,3) años y desde el diagnóstico de 4,2 (DE: 3,9) años. El número de repeticiones CAG medio del alelo de mayor tamaño en los pacientes participantes en el ensayo clínico fue casi de 46. El paciente con el número de repeticiones CAG más bajo fue de 39 y el de mayor número de repeticiones CAG fue de 55. No hubo diferencias estadísticamente significativas entre el grupo que empezó con la medicación y el grupo que empezó con el placebo.

Por otra parte, la gran mayoría (80%) tenían antecedentes familiares conocidos de EH. Casi todos los pacientes estaban recibiendo tratamiento sintomático, entre los que predominaban las benzodiacepinas (60% de los pacientes participantes). La utilización de neurolépticos, tetrabenazina o amantadina era minoritaria y no hubo diferencias significativas entre ambos grupos. Las medicaciones concomitantes se mantuvieron constantes durante todo el ensayo.

En cuanto a las características clínicas basales de la muestra, las variables utilizadas fueron todos los parámetros de la escala UHDRS y el inventario NPI en la visita 1. Dentro la UHDRS se incluyó la mUHDRS total y cada uno de sus parámetros motores descritos, el componente cognitivo (fluidez verbal y stroop interferencia), el componente psiquiátrico (cUHDRS y cuestionario de depresión-ansiedad HADS) y el componente funcional (fUHDRS). Se comprobó que estas variables no siguieron una distribución normal, por lo que se describieron mediante la mediana (me) y el rango intercuartílico (P25-P75). La puntuación mediana de la mUHDRS del total de la muestra fue de 25,5 (18,5;32) puntos (tabla IV-3).

Se estudiaron posibles diferencias entre los dos grupos tanto en la visita 1 como en la visita 4 (que era la visita basal tras el lavado del primer periodo). Los resultados demostraron algunas diferencias entre ambos grupos, en algunos componentes motores de la escala mUHDRS. Así, en la visita 1, el grupo con secuencia de tratamiento BA, al que le correspondió placebo en la primera fase del ensayo, presentó puntuaciones más bajas en estas escalas. Estas diferencias alcanzaron valores de significación estadística en el caso de los movimientos oculares (7 versus 4,  $p=0,013$ ) y en la escala mUHDRS total (32 versus 20,  $p=0,004$ ). Los valores para la distonía máxima estuvieron en el límite de la significación estadística (2 versus 1,  $p=0,048$ ). La puntuación obtenida en el resto de componentes evaluados no fue significativamente diferente entre ambos grupos, excepto para el Stroop de interferencia, que mostró un valor más bajo para el grupo con secuencia de tratamiento AB, que le correspondió medicación activa en la primera fase del estudio (18 versus 28,  $p=0,045$ ). En la visita 4 hubo diferencias significativas para los movimientos oculares (6,5 versus 2,  $p=0,013$ ), mUHDRS total (33,5 versus 22,  $p=0,003$ ) y en la escala de depresión HADS (14 versus 10,  $p=0,006$ ) y en el inventario NPI (12 versus 7;  $p=0,023$ ). En todos los casos, las puntuaciones más desfavorables correspondieron al grupo que tomó Sativex® en el primer periodo y placebo en el segundo (tablas IV-3 y IV-4).

RESULTADOS

Variable	Total (n=25)	Secuencia tratamiento SP (n=12)	Secuencia tratamiento PS (n=13)	Valor <i>P</i>
<b>Visita 1: Mediana (P25;P75)</b>				
<b>mUHDRS:</b>				
Movimientos oculares	5,5 (2,0; 7,5)	7 (6;9)	4 (2;5)	<b>0,013</b>
Distonía máxima	1 (1;2)	2 (1;3)	1 (1;1)	<b>0,048</b>
Corea máxima	7,5 (5;8,5)	8 (6;9)	5 (4;8)	0,070
Resto motor	11,5 (9,5;15)	13 (11;19)	11 (9;12)	0,059
<b>Total</b>	<b>25,5 (18,5;32)</b>	<b>32 (26;40)</b>	<b>20 (18;25)</b>	<b>0,004</b>
<b>Componente cognitivo:</b>				
Fluidez verbal	19 (9,5;27)	10 (8;27)	21 (15;27)	0,258
Stroop interferencia	26 (16,5;32)	18 (12;28)	28 (20;32)	<b>0,045</b>
<b>Componente psiquiátrico:</b>				
cUHDRS	15 (11,5;17,5)	15 (14;16)	15 (10;19)	0,976
Escala depresión HADS	10 (6,5;16,5)	13 (6;20)	9 (7;14)	0,323
<b>Componente funcional:</b>				
fUHDRS	18,5 (16;24,5)	16 (13;25)	20 (18;24)	0,308
<b>Inventario NPI</b>	<b>10 (6;15)</b>	<b>10 (8;17)</b>	<b>10 (6;11)</b>	<b>0,322</b>

Tabla IV-3. Características motoras, cognitivas y psiquiátricas en la visita basal de la primera fase del ensayo (visita 1).

Variable	Total (n=25)	Secuencia tratamiento SP (n=11)	Secuencia tratamiento PS (n=13)	Valor <i>P</i>
<b>Visita 4: Mediana (P25;P75)</b>				
<b>mUHDRS:</b>				
Movimientos oculares	4 (2;4)	6,5 (3,5;9)	2 (2;4)	<b>0,015</b>
Distonía máxima	1 (1;3)	2,5 (1;3)	1 (1;2)	0,077
Corea máxima	8 (4;10)	9,5 (6;11,5)	7 (4;8)	0,059
Resto motor	12 (8;16)	14 (8,5;21)	10 (8;13)	0,113
<b>Total</b>	<b>24 (22;36)</b>	<b>33,5(23,5;40)</b>	<b>22 (18;24)</b>	<b>0,003</b>
<b>Componente cognitivo:</b>				
Fluidez verbal	17 (11;28)	13 (10;22)	20 (11;29)	0,400
Stroop interferencia	26 (18;30)	21 (12;27)	29 (22;32)	0,074
<b>Componente psiquiátrico:</b>				
cUHDRS	16 (10,5;21)	17 (8;27)	16 (15;18)	0,338
Escala depresión HADS	12 (8;14,5)	14 (12;20)	10 (7;12)	<b>0,006</b>
<b>Componente funcional:</b>				
fUHDRS	17,5 (15;22,5)	16 (13;20)	21 (17;23)	0,130
<b>NPI</b>	<b>8,5 (5;13)</b>	<b>12 (8;19)</b>	<b>7 (4;10)</b>	<b>0,023</b>

Tabla IV-4. Características motoras, cognitivas y psiquiátricas en la visita basal de la segunda fase del ensayo (visita 4).

### 3. ANÁLISIS DEL CUMPLIMIENTO TERAPÉUTICO.

El grado de cumplimiento del tratamiento fue evaluado mediante la comprobación de la utilización de los envases devueltos y el análisis de cannabis en orina de los pacientes. En el 95,8% de los casos, los datos han estado acorde con lo esperado, es decir, los pacientes que tomaban medicación, tenían cannabis positivo en orina y los pacientes que tomaban placebo, negativo, en cada una de las fases del estudio.

Las excepciones han sido las siguientes:

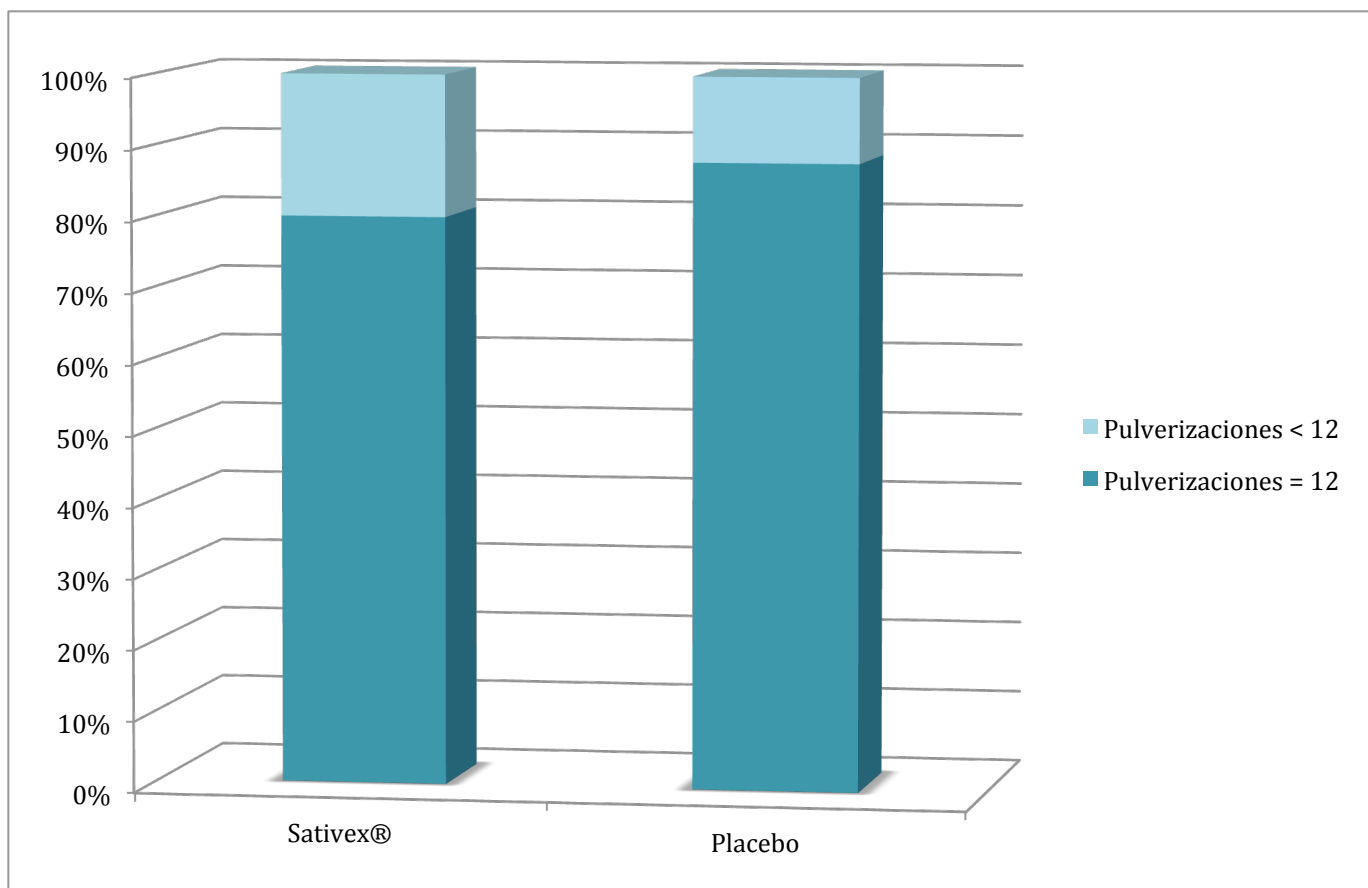
- El paciente SAT-113, que recibió tratamiento activo en la primera fase del estudio, presentó niveles positivos de cannabis en orina tras el periodo de lavado (visita 4). El comité de seguridad no ciego, contactó con el paciente, que aseguró que había realizado correctamente el periodo de lavado y negaba el consumo de tóxicos. La determinación se hizo negativa en la siguiente visita, es decir, 4 semanas después de tratamiento con placebo.
- El paciente SAT-124, que recibió placebo durante la primera fase del ensayo y tratamiento activo en la segunda, presentó niveles indetectables de cannabis en orina en la visita de seguridad tras 4 semanas con el tratamiento activo (visita 5). De nuevo, el comité de seguridad contactó con el paciente que, por mala tolerancia al fármaco, no había podido realizar la pauta ascendente correctamente. Se le insistió en la importancia del cumplimiento terapéutico y, en la siguiente visita, los niveles de cannabis en orina fueron positivos.

- En cuanto a los pacientes SAT-118 y SAT-120, que recibieron tratamiento activo en la primera fase y placebo en la segunda, en la visita basal de la segunda fase del estudio tras el lavado (visita 4), por error, se omitió la determinación de cannabis en orina. Sin embargo, en la siguiente visita, ambos pacientes presentaron los correspondientes niveles indetectables de cannabis en orina.

#### 4. ANÁLISIS DE LA TOLERABILIDAD DE LA MEDICACIÓN.

La gran mayoría de pacientes 18/25 (72%) toleraron las dosis máximas de 12 pulverizaciones al día con ambas intervenciones. Así, la media del número de pulverizaciones en el primer periodo fue de 11,76 y en el segundo de 11,29. No hubo apenas diferencias entre la tolerabilidad del tratamiento activo y del placebo, ya que 20 (80%) de los pacientes toleraron las 12 pulverizaciones al día de Sativex® y 22 (88%) toleraron las 12 pulverizaciones de placebo (gráfico 8). Utilizando el test de McNemar para datos pareados, se confirma la ausencia de diferencia estadística ( $p=0,414$ ) (gráfico IV-8).





**Gráfico IV-8. Número de pulverizaciones con Sativex® y con placebo.**

Sólo dos pacientes precisaron disminuir la dosis por debajo de 10 pulverizaciones, en concreto, la paciente SAT-124 sólo toleró 3 pulverizaciones al día durante el periodo con tratamiento activo, y el paciente SAT-112 sólo toleró 8 pulverizaciones al día. Curiosamente estos dos pacientes son los únicos que llevaban menos de 1 año desde el diagnóstico de la enfermedad.

Otros dos pacientes tuvieron que disminuir el número de pulverizaciones a 10 al día durante el periodo con Sativex®. Estos pacientes tenían en común que la EH era de larga evolución y había un claro deterioro cognitivo. El SAT-101 tuvo que disminuir la dosis por insomnio y la SAT-106 por mareo ortostático.

## 5. ANÁLISIS DE LOS ACONTECIMIENTOS ADVERSOS.

Durante el ensayo clínico hubo dos AAG no relacionados. Ambos eventos sucedieron en la misma paciente (SAT-121) y ambos fueron en el periodo de tratamiento con placebo. Esta paciente recibió tratamiento activo en el primer periodo. Uno de los AAG fue una anemia microcítica que precisó transfusión de sangre, entre la visita 4 y la visita 5. La anemia se atribuyó a un sangrado gastrointestinal, producido por el abuso de la toma de antiinflamatorios en relación a sus cefaleas habituales. El segundo AAG fue el embarazo de la paciente, entre la visita 6 y la visita 7, que fue objetivado en el test de embarazo realizado en esa visita. El embarazo cursó sin incidencias. El niño nació en la 38 sem + 5 diagnosticado de crecimiento intrauterino retrasado disarmónico. Al nacer presentó buen estado general y un peso de 2,240 Kg. Además se objetivó ectasia pielocalicial del riñón derecho en grado II. Sin embargo, teniendo en cuenta que la paciente no se encontraba en tratamiento activo en el periodo previo a embarazarse, no se consideró este acontecimiento relacionado con el medicamento en investigación, sino que se relacionó con la enfermedad de base de la paciente. Ambos AAG fueron notificados tal y como se especificó en el protocolo del estudio. Se realizó el seguimiento del AAG hasta la resolución o estabilización en ambos casos.

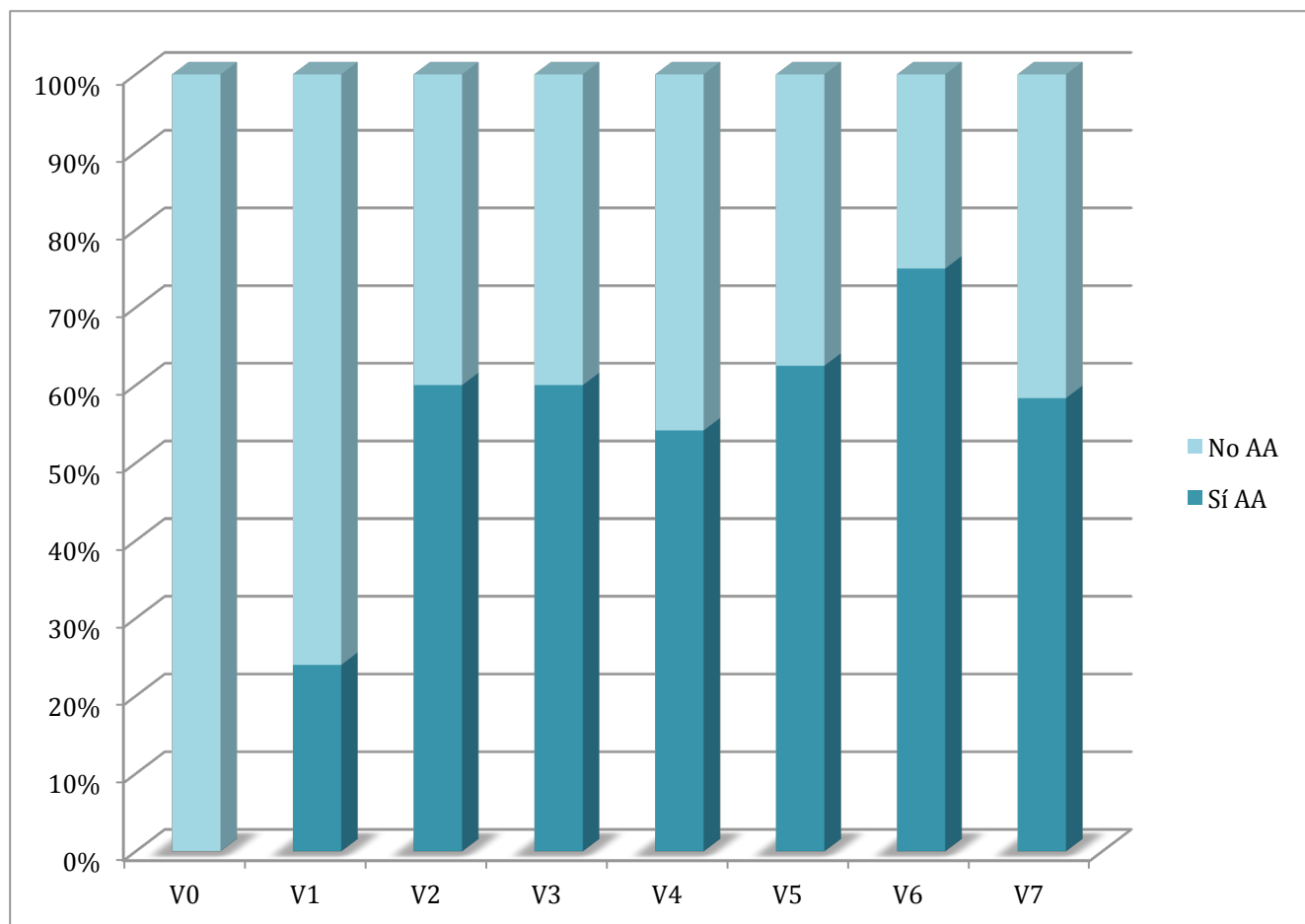
No hubo otro AAG, aunque en otro paciente (SAT-118), en la visita 6, al realizarse la punción lumbar, se objetivó una meningitis linfocitaria asintomática. Este paciente también había recibido medicación en el primer periodo, estando con placebo cuando se detectó el evento adverso.

El resto de AA fueron considerados leves.

Todos los pacientes, en algún momento del estudio, presentaron algún AA. La mayoría 20 (80%) tuvieron AA en más de una visita, e incluso, 4 pacientes (16%) tuvieron AA en 6 de las 8 visitas del estudio.

Si lo evaluamos por visitas, en todas menos en V0 hubo AA, con un porcentaje similar entre V2 y V7. El máximo número de AA se registraron en V6 donde hubo 18 AA (75%) (gráfico IV-9).

El AA más frecuente en todas las visitas, fue el catarro de vías altas, ya que 15 de los 25 pacientes (60%) lo padecieron en algún momento del estudio. En segundo lugar estuvo la cefalea, con 13 pacientes (52%), de los cuales 2 pacientes (8%) se quejaron de este AA en más de 3 visitas. De ansiedad se quejaron 11 pacientes (44%). Con menos frecuencia aparecieron diarrea (28%), somnolencia (24%), dolores osteomusculares (20%), alteraciones conductuales leves (20%), vómitos (20%), infecciones locales (20%), fiebre (16%), insomnio (16%), dificultad para la concentración (16%), mareo (12%) y rinitis alérgica (12%). Hubo dos pacientes que presentaron una quemadura leve (8%). Los AA que aparecieron en 1 sólo paciente (4%) fueron anorexia, irritabilidad, estreñimiento, sed y manchas en los dientes.



**Gráfico IV-9. Frecuencia de AA por visita del estudio.**

En cuanto a la frecuencia de AA dependiendo del periodo del estudio, es decir, si aparecieron con Sativex® o con placebo, se utilizó el test de McNemar para datos pareados. Además, también se analizaron los AA ocurridos en los periodos sin tratamiento, es decir, los periodos de lavado de ambas fases del estudio y el periodo entre el screening y la aleatorización. Sólo hubo diferencias significativas en los AA de mareo y dificultad de concentración, que fueron más frecuentes durante el periodo con tratamiento activo. Sin embargo, al ser comparaciones múltiples, utilizando la corrección de Bonferroni, se pierde la significación estadística, ya que el valor  $p$  debería ser menor de

## RESULTADOS

0,0038. En la tabla IV-5 están los AA más destacados en cada uno de los grupos y el nivel de significación estadística.

Acontecimiento Adverso	Sativex®	Placebo	No tratamiento	Valor P
<b>n (%)</b>				
<b>Ansiedad</b>	6/25 (24)	3/24 (12,5)	5/25 (20)	0,479
<b>Sueño</b>	5/25 (20)	1/24 (4,17)	3/25 (12)	0,102
<b>Mareo</b>	4/25 (16)	0/24 (0)	2/25 (8)	<b>0,045</b>
<b>Dificultad de concentración</b>	4/25 (16)	0/24 (0)	1/25 (0)	<b>0,045</b>
<b>Insomnio</b>	2/25 (8)	1/24 (4,17)	3/25 (12)	0,564
<b>Alteración de la conducta</b>	1/25 (4)	3/24 (12,5)	3/25 (12)	0,317
<b>Fiebre</b>	1/25 (4)	2/24 (8,33)	2/25 (8)	0,564
<b>Infección local</b>	4/25 (16)	1/24 (4,17)	1/25 (4)	0,317
<b>Catarro vías altas</b>	7/25 (28)	8/24 (33)	9/25 (36)	0,317
<b>Diarrea</b>	6/25 (24)	3/24 (12,5)	1/25 (4)	0,414
<b>Vómitos</b>	3/25 (12)	0/24 (0)	3/25 (12)	0,083
<b>Cefalea</b>	4/25 (16)	4/24 (16,67)	9/25 (36)	1
<b>Dolor osteomuscular</b>	2/25 (8)	2/24 (18,33)	5/25 (20)	1

Tabla IV-5. Número y frecuencia de AA ocurridos en cada uno de los periodos del estudio.

En el gráficos IV-10, están representados estos valores en barras, de forma que se evidencia la proporcionalidad en el porcentaje de eventos adversos en cada uno de los periodos del ensayo.

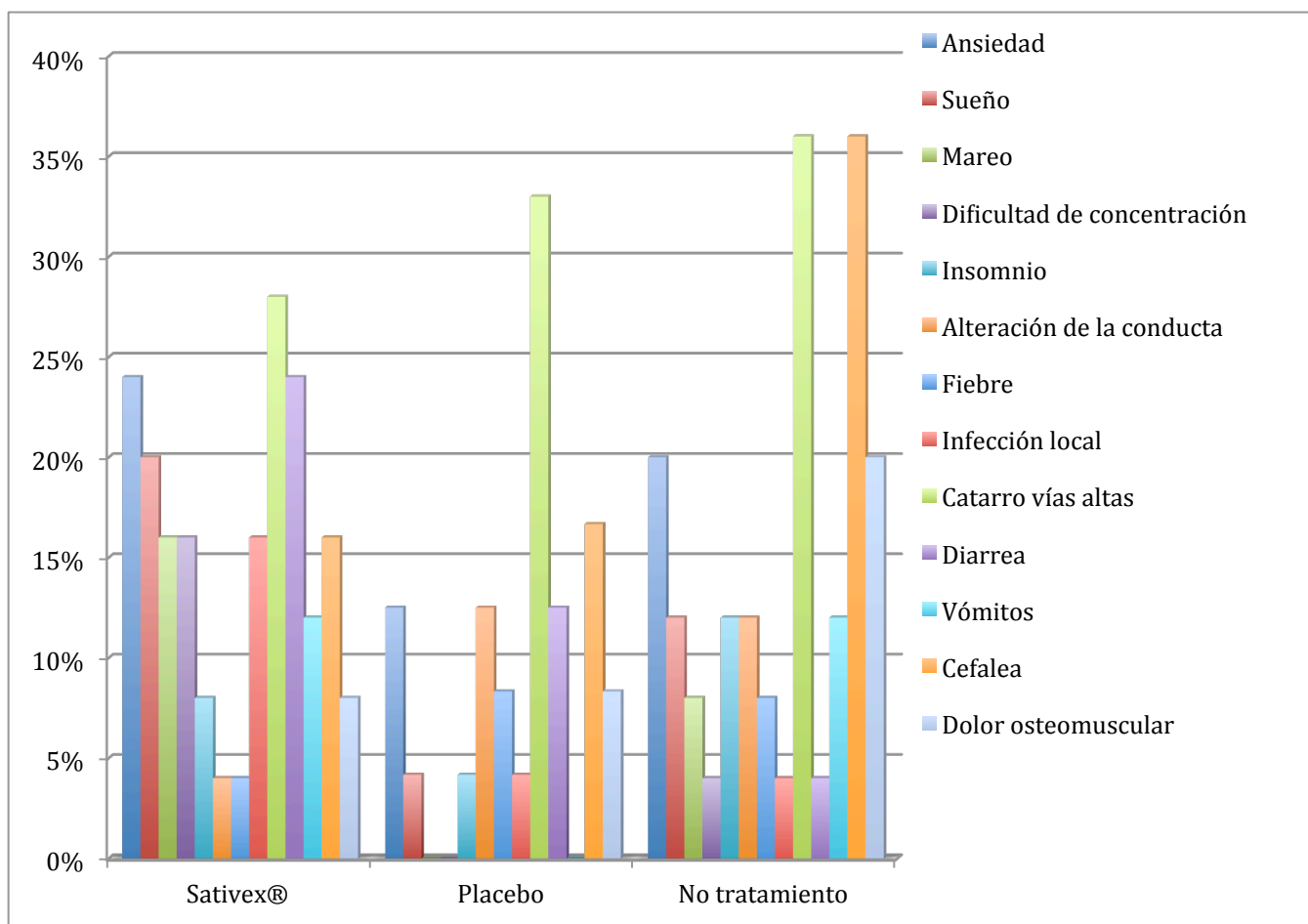


Gráfico IV-10. Porcentaje de AA en cada uno de los periodos del estudio.

## 6. ANÁLISIS DE LOS TRES TIPOS DE EFECTOS: PERIODO, SECUENCIA Y TRATAMIENTO.

Al ser un ensayo clínico de diseño cruzado, se evaluaron los tres tipos de efectos:

### 1) Análisis del efecto periodo.

Cada paciente se observa en dos periodos distintos, por lo que es importante determinar si ha existido algún cambio entre el primer periodo y el segundo. Un ejemplo de este efecto podrían ser cambios en la enfermedad independientes del tratamiento.

Para este análisis, según el esquema de la figura III-1 del apartado de Material y métodos, se compararon las respuestas del primer periodo A1 + B1, es decir, los cambios

en las puntuaciones entre la visita 1 y 3, frente al segundo periodo B1 + A2, es decir, el cambio entre la visita 4 y 6, para ambos grupos de tratamiento.

Puesto que las diferencias en las puntuaciones de la mayoría de las escalas, no tienen una distribución normal, se calcularon los valores mediana y rango intercuartílico, aunque también se presentan como media y desviación estándar, realizándose las comparaciones mediante pruebas no paramétricas como la U de Man-Whitney.

En la tabla IV-6, se presentan los resultados, que expresan el cambio o diferencia entre las puntuaciones motoras en las visitas descritas. En la tabla IV-7, se presentan el cambio o diferencia en las puntuaciones de las escalas cognitivas, psiquiátricas y funcionales.

Variable	N	Media (DE)	Mediana (P25;P75)	Valor P
<b>Diferencia entre puntuaciones de las visitas correspondientes</b>				
<b>mUHDRS</b>				
<b>Movimientos oculares</b>				0,058
<b>A1 + B1</b>	25	0,68 (1,5)	0 (0;2)	
<b>A2 + B2</b>	25	-0,32 (1,6)	0 (-1;0)	
<b>Distonía máxima</b>				0,143
<b>A1 + B1</b>	25	-0,08 (0,9)	0 (0;0)	
<b>A2 + B2</b>	25	-0,68 (1,7)	0 (-1;0)	
<b>Corea máxima</b>				0,852
<b>A1 + B1</b>	25	0,36 (2,4)	0 (-1;2)	
<b>A2 + B2</b>	25	0,28 (2,1)	1 (-1;2)	
<b>Resto motor</b>				0,135
<b>A1 + B1</b>	25	1,2 (3,1)	1 (-1;3)	
<b>A2 + B2</b>	25	-0,08 (2,9)	0 (-1;2)	
<b>Total</b>				0,153
<b>A1 + B1</b>	25	2,16 (5,1)	1 (-2;5)	
<b>A2 + B2</b>	25	-0,80 (6,2)	0 (-6;3)	

Tabla IV-6. Análisis del efecto periodo en las escalas motoras.

RESULTADOS

Variable	N	Media (DE)	Mediana (P25;P75)	Valor P
<b>Diferencia entre puntuaciones de las visitas correspondientes</b>				
<b>Componente cognitivo:</b>				
<b>Fluidez verbal</b>				
A1 + B1	25	-0,1 (7,1)	0 (-4;4)	0,992
A2 + B2	25	0,04 (5,1)	0 (-1;3)	
<b>Fluidez categorial</b>				
A1 + B1	24	12,6 (4,8)	12 (9,5;15,5)	0,102
A2 + B2	23	10,6 (4,9)	10 (6;16)	
<b>Stroop interferencia</b>				
A1 + B1	25	1,2 (5,6)	2 (-2;4)	0,984
A2 + B2	24	1,1 (6,1)	2,5 (-3,5; 5)	
<b>Componente psiquiátrico:</b>				
<b>cUHDRS</b>				
A1 + B1	25	0,1 (7,3)	0 (-2;1)	0,333
A2 + B2	25	-2,8 (6,3)	-1 (-7;2)	
<b>Escala depresión HADS</b>				
A1 + B1	24	-0,2 (5,2)	-1 (-3;2)	0,266
A2 + B2	26	-2 (3,3)	-1 (-3;0)	
<b>Componente funcional:</b>				
<b>fUHDRS</b>				
A1 + B1	25	2,9 (11,6)	0 (0;1)	0,501
A2 + B2	25	0,2 (0,9)	0 (0,0)	
<b>Inventario NPI:</b>				
A1 + B1	25	0,6 (4,7)	0 (-1;3)	0,171
A2 + B2	25	-1,4 (4,6)	0 (-4;1)	
<b>Cuestionario de salud global (Goldberg):</b>				
A1 + B1	25	0,9 (2,1)	0 (0;2)	<b>0,024</b>
A2 + B2	25	-0,9 (2,9)	0 (-2;0)	
<b>Escala DRS (Mattis):</b>				
A1 + B1	24	114,9 (13,1)	113 (107;125)	0,613
A2 + B2	24	116,3 (16,3)	121 (103;129)	

Tabla IV-7. Análisis del efecto periodo en las escalas cognitivas, psiquiátricas y funcionales.

Tal y como se aprecia en la tabla, en el componente motor no se apreciaron diferencias entre ambos grupos comparados, descartando así influencia del efecto periodo en los resultados (tabla IV-6).



En la evaluación del posible efecto periodo en los déficits cognitivos, psiquiátricos o funcionales, es preciso tener en cuenta que para la fluidez categorial y para la escala DRS-2 (Mattis), no se recogió la información basal. Por consiguiente, no se han podido evaluar diferencias respecto a los valores basales, sino únicamente las puntuaciones obtenidas en las semanas de valoración de la respuesta, es decir, la visita 3 para el primer periodo y la visita 6 para el segundo periodo. Los resultados tampoco mostraron diferencias entre las respuestas en ambos periodos de tratamiento, salvo para el cuestionario de salud global Goldberg. Sin embargo, de nuevo, al ser comparaciones múltiples, con la corrección de Bonferroni se pierde la significación estadística (tabla IV-7).

## **2) Análisis del efecto secuencia.**

En este análisis se intenta averiguar si la secuencia en la que se recibieron las intervenciones pudo afectar a los resultados. Se describe como una interacción entre el propio tratamiento y el efecto periodo. Así, un efecto secuencia podría ser el hecho de que la respuesta del segundo periodo estuviera influida por el tratamiento recibido en el primer periodo, quedando un efecto residual.

Según el esquema de la figura III-1, para analizar este efecto, se compararon A1 + B2 frente a B1 + A2. Si hubiéramos encontrado diferencias entre estos grupos, confirmando el efecto secuencia, sólo se hubieran tenido en cuenta los resultados del primer periodo.

Los resultados de estas comparaciones están presentados en la tabla IV-8 para el componente motor y en la tabla IV-9 para los componentes cognitivos, psiquiátricos y funcional. De nuevo, al no tener distribución normal las escalas, se dan los valores de mediana y rango intercuartílico y se realizaron las comparaciones con pruebas no paramétricas. También se presentan los resultados como media y desviación estándar.

Variable	N	Media (DE)	Mediana (P25;P75)	Valor P
<b>Diferencia entre puntuaciones de las visitas correspondientes</b>				
<b>mUHDRS:</b>				
<b>Movimientos oculares</b>				0,696
<b>A1 + B2</b>	24	0,33 (1,6)	0 (0;1)	
<b>B1 + A2</b>	26	0,04 (1,7)	0 (-1;2)	
<b>Distonia máxima</b>				0,815
<b>A1 + B2</b>	24	-0,33 (1,2)	0 (-1;0)	
<b>B1 + A2</b>	26	-0,42 (1,6)	0 (-1;0)	
<b>Corea máxima</b>				0,438
<b>A1 + B2</b>	24	0,62 (1,7)	1 (0;2)	
<b>B1 + A2</b>	26	0,04 (2,6)	0 (-1;2)	
<b>Resto motor</b>				0,725
<b>A1 + B2</b>	24	0,50 (3,1)	0 (-1;3)	
<b>B1 + A2</b>	26	0,61 (3,1)	1 (-1;2)	
<b>Total</b>				0,977
<b>A1 + B2</b>	24	1,12 (5,1)	0,5 (-3;3)	
<b>B1 + A2</b>	26	0,27 (6,5)	1 (-2;5)	

Tabla IV-8. Análisis del efecto secuencia en las escalas motoras.

RESULTADOS

Variable	N	Media (DE)	Mediana (P25;P75)	Valor P
<b>Diferencia entre puntuaciones de las visitas correspondientes</b>				
<b>Componente cognitivo:</b>				
<b>Fluidez verbal</b>				
A1 + B2	24	0,6 (6,7)	0,5 (-3;5,5)	0,376
B1 + A2	26	-0,6 (5,6)	0 (-4;-3)	
<b>Fluidez categorial</b>				
A1 + B2	21	11,0 (5,0)	10 (7;15)	0,373
B1 + A2	26	12,1 (4,8)	12 (9;16)	
<b>Stroop interferencia</b>				
A1 + B2	24	1,3 (5,9)	1,5 (-2;4)	0,802
B1 + A2	25	1,0 (5,7)	3,0 (-3;6)	
<b>Componente psiquiátrico:</b>				
<b>cUHDRS</b>				
A1 + B2	24	-2,2 (6,2)	-1 (-5;05)	0,531
B1 + A2	26	-0,6 (7,6)	0 (-6;2)	
<b>Escala depresión HADS</b>				
A1 + B2	24	-1,7 (2,9)	-1 (-3,5;0)	0,513
B1 + A2	26	-0,5 (5,4)	-1 (-3;1)	
<b>Componente funcional:</b>				
<b>fUHDRS</b>				
A1 + B2	24	2,6 (11,8)	0 (0;0,5)	0,501
B1 + A2	26	0,5 (1,2)	0 (0;1)	
<b>NPI</b>				
A1 + B2	24	-0,1 (3,8)	0 (-1;2)	0,762
B1 + A2	26	-0,6 (5,5)	0,5 (-3;1)	
<b>Cuestionario de salud global (Goldberg):</b>				
A1 + B2	24	0,7 (1,8)	0 (0;1,5)	<b>0,035</b>
B1 + A2	26	-0,7 (3,1)	0 (-2;0)	
<b>Escala DRS (Mattis):</b>				
A1 + B2	22	112,3 (16,5)	112 (100;125)	0,175
B1 + A2	26	118,4 (12,5)	123 (110;130)	

Tabla IV-9. Análisis del efecto secuencia en las escalas cognitivas, psiquiátricas y funcionales.

En el componente motor, no se revelaron diferencias significativas entre los dos grupos. Estos resultados confirmaron que la secuencia en la que se recibieron las intervenciones, no afectó a los cambios observados en cada uno de los componentes de la escala motora de la UHDRS (tabla IV-8).

La evaluación de los déficits cognitivos, psiquiátricos y funcionales, se realizó con las mismas consideraciones que la del efecto periodo. Sólo hubo diferencias significativas para el cuestionario de salud global Goldberg que, de nuevo, deja de ser significativo con la corrección de Bonferroni. El análisis del efecto secuencia en estos déficits, no mostró cambios en las escalas evaluadas debidos a la secuencia de recepción de las intervenciones del ensayo (tabla IV-9).

### **3) Análisis del efecto tratamiento.**

Una vez descartado el efecto periodo y el efecto secuencia, se pudieron utilizar los datos de los dos periodos para el análisis del efecto tratamiento.

Este análisis es el más lógico, ya que consiste en comparar los resultados obtenidos por el tratamiento activo en los dos periodos del ensayo con los obtenidos por el placebo en los dos periodos respectivos. Así, según la figura III-1, se comparó A1 + A2 frente a B1 + B2.

De nuevo, se presentan los datos como media y desviación estándar y mediana y rango intercuartílico. En este caso, al ser un análisis de datos pareados, se utilizó el test de Wilcoxon para datos pareados.

En las tablas IV-10 y IV-11, se presentan los resultados, que expresan el cambio o diferencia entre las puntuaciones entre la visita 1 y 3 para el primer periodo y la visita 4 y 6 para el segundo periodo.

Variable	N	Media (DE)	Mediana (P25;P75)	Valor P
<b>Diferencia entre puntuaciones de las visitas correspondientes</b>				
<b>mUHDRS:</b>				
<b>Movimientos oculares</b>				0,238
<b>A1 + A2</b>	25	0 (1,9)	0 (0;0)	
<b>B1 + B2</b>	25	0,4 (1,3)	0 (0;2)	
<b>Distonia máxima</b>				1,000
<b>A1 + A2</b>	25	-0,4 (1,6)	0 (0;0)	
<b>B1 + B2</b>	25	-0,4 (1,2)	0 (-1;0)	
<b>Corea máxima</b>				0,405
<b>A1 + A2</b>	25	0 (2,2)	0 (-1;1)	
<b>B1 + B2</b>	25	0,6 (2,3)	1 (0;2)	
<b>Resto motor</b>				0,678
<b>A1 + A2</b>	25	-0,2 (3,4)	0 (-3;2)	
<b>B1 + B2</b>	25	1,4 (2,6)	1 (0;2)	
<b>Total</b>				0,286
<b>A1 + A2</b>	25	-0,6 (6,4)	0 (-3;3)	
<b>B1 + B2</b>	25	2,0 (5,0)	2 (-1;5)	

Tabla IV-10. Análisis del efecto tratamiento en las escalas motoras.

RESULTADOS

Variable	N	Media (DE)	Mediana (P25;P75)	Valor P
<b>Diferencia entre puntuaciones de las visitas correspondientes</b>				
<b>Componente cognitivo:</b>				
<b>Fluidez verbal</b>				
<b>A1 + A2</b>	25	0,6 (5,6)	1 (-1;4)	0,405
<b>B1 + B2</b>	25	-0,7 (6,6)	-1 (-7;2)	
<b>Fluidez categorial</b>				
<b>A1 + A2</b>	24	11,7 (4,8)	10 (;16)	0,824
<b>B1 + B2</b>	23	11,6 (5,1)	12 (8;15)	
<b>Stroop interferencia</b>				
<b>A1 + A2</b>	24	1,6 (6,2)	2 (-2;5)	0,824
<b>B1 + B2</b>	25	0,7 (5,5)	2 (-2;4)	
<b>Componente psiquiátrico:</b>				
<b>cUHDRS</b>				
<b>A1 + A2</b>	25	-2,6 (5,6)	-1 (-7;0)	1,000
<b>B1 + B2</b>	25	-0,1 (8,0)	0 (-4;2)	
<b>Escala depresión HADS</b>				
<b>A1 + A2</b>	25	-2 (3,5)	-2 (-3;0)	0,405
<b>B1 + B2</b>	25	-0,2 (5,1)	0 (-2;1)	
<b>Componente funcional:</b>				
<b>fUHDRS</b>				
<b>A1 + A2</b>	25	2,8 (11,6)	0 (0;1)	0,581
<b>B1 + B2</b>	25	0,3 (1,2)	0 (0;1)	
<b>Inventario NPI:</b>				
<b>A1 + A2</b>	25	-2,6 (5,6)	-1 (-7;0)	0,134
<b>B1 + B2</b>	25	-0,1 (7,9)	0 (-4;2)	

Tabla IV-11. Análisis del efecto del tratamiento en las escalas cognitivas, psiquiátricas y funcionales.

Tal y como se aprecia en las tablas, en lo que se refiere a las escalas motoras, no se pudo demostrar diferencia entre ambos grupos para cada uno sus componentes, mostrando ausencia de efecto del tratamiento (tabla IV-10).

Del mismo modo, no se observó efecto del tratamiento en las escalas cognitivas, psiquiátricas y funcionales (tabla IV-11).

## 7. VIDEOFILMACIÓN DE LOS PACIENTES.

Durante la visita basal (visita 1), la visita final del primer periodo (visita 3) y la visita final del segundo periodo (Visita 6), se videofilmaron las exploraciones neurológicas en las que se evaluaba la escala mUHDRS.

En el disco adjunto, se presentan todas las siguientes videofilmaciones:

- a. SAT-101: visita basal, visita 3 y visita 6.
- b. SAT-102: visita basal, visita 3 y visita 6.
- c. SAT-103: visita basal, visita 3 y visita 6.
- d. SAT-104: visita basal, visita 3 y visita 6.
- e. SAT-105: visita basal, visita 3 y visita 6.
- f. SAT-106: visita basal, visita 3 y visita 6.
- g. SAT-107: visita basal, visita 3 y visita 6.
- h. SAT-108: visita basal, visita 3 y visita 6.
- i. SAT-109: visita basal, visita 3 y visita 6.
- j. SAT-110: visita basal, visita 3 y visita 6.

- k. SAT-111: visita basal.
  
- l. SAT-112: visita basal, visita 3 y visita 6.
  
- m. SAT-113: visita basal, visita 3 y visita 6.
  
- n. SAT-114: visita basal, visita 3 y visita 6.
  
- o. SAT-115: visita basal.
  
- p. SAT-116: visita basal, visita 3 y visita 6.
  
- q. SAT-117: visita basal, visita 3 y visita 6.
  
- r. SAT-118: visita basal, visita 3 y visita 6.
  
- s. SAT-119: visita basal, visita 3 y visita 6.
  
- t. SAT-120: visita basal, visita 3 y visita 6.
  
- u. SAT-121: visita basal, visita 3 y visita 6.
  
- v. SAT-122: visita basal, visita 3 y visita 6.
  
- w. SAT-123: visita basal, visita 3 y visita 6.



- x. SAT-124: visita basal, visita 3 y visita 6.
  
- y. SAT-125: visita basal, visita 3 y visita 6.
  
- z. SAT-126: visita basal, visita 3 y visita 6.

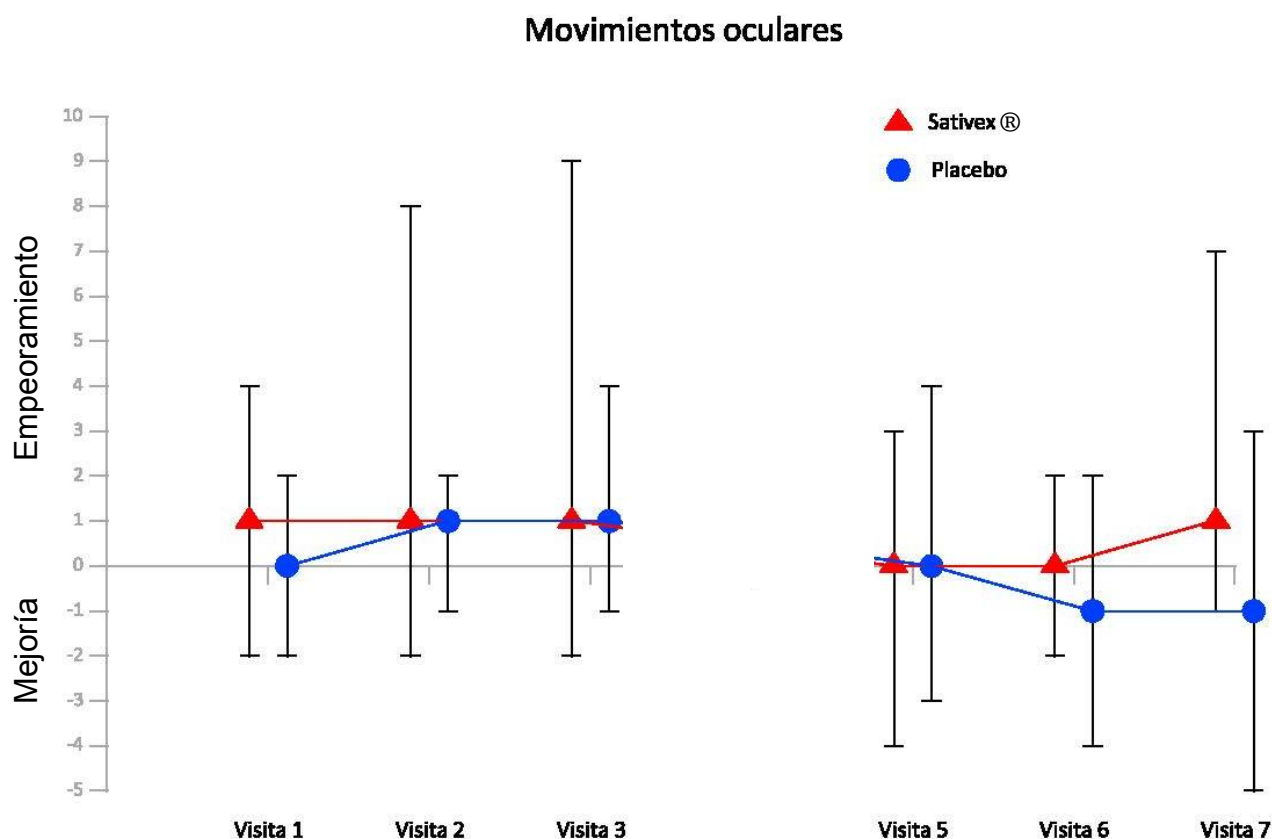
## **8. EVOLUCIÓN DE LAS VALORACIONES DE LOS TRASTORNOS MOTORES**

Se analizó la evolución de las puntuaciones de cada uno de los componentes de la escala motora mUHDRS. Para ello, se calcularon los valores mínimos, máximo y medio de la diferencia de puntuación entre la visita 0 hasta la visita 3 para el primer periodo, y entre la visita 4 hasta la visita 7 para el segundo periodo. Además, para cada uno de los componentes de la mUHDRS, se calcularon los valores medios, junto a la desviación estándar, de las puntuaciones basales, a las 4 semanas y a las 12 semanas de ambos tratamientos, independientemente del orden en el que se recibieron.

**1) Movimientos oculares.**

En cuanto a los movimientos oculares de la escala mUHDRS, apenas se objetivaron cambios entre el grupo que recibió medicación activa o placebo en el primer periodo del ensayo. En el segundo periodo, se apreció incluso un discreto empeoramiento del grupo tratado con Sativex®, que no es estadísticamente significativo (gráfico IV-11).

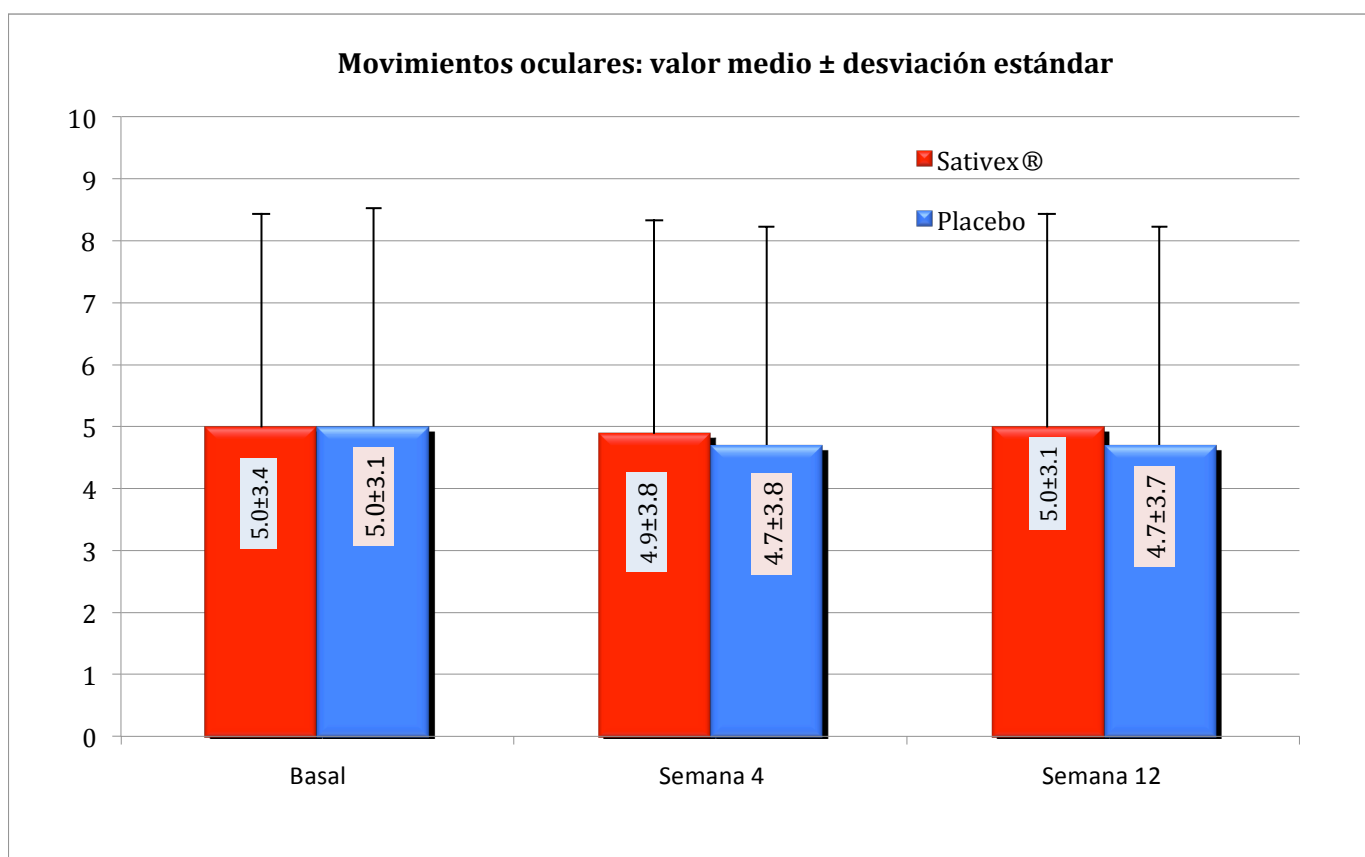
En el gráfico IV-11, se representan los valores mínimos, máximo y medio de la diferencia en los movimientos oculares entre la visita 0 y cada una de las visitas del primer periodo del estudio y entre la visita 4 (visita basal tras el lavado) y el resto de visitas del segundo periodo del estudio.



**Gráfico IV-11. Cambios de los movimientos oculares en cada una de las visitas respecto a la visita 0 para el primer periodo y respecto a la visita 4 para el segundo periodo.**

En el gráfico IV-12 se representan los valores medios junto a su desviación estándar en las visitas basales, en las visitas de seguridad a las 4 semanas del inicio del tratamiento y al acabar la medicación a las 12 semanas desde el inicio del tratamiento, para cada una de las intervenciones.

También se puede apreciar ausencia absoluta de mejoría en la puntuación de la escala, que es igual a la puntuación basal para Sativex® e incluso hay discreta mejoría con placebo de forma no significativa ( $p=0,238$ ).



**Gráfico IV-12. Evolución de la puntuaciones de los movimientos oculares.**

## 2) Distonía máxima.

En la distonía máxima no se objetivó ninguna variación con ninguna de las intervenciones en el primer periodo. En el segundo periodo sí se pudo apreciar una discreta mejoría para las dos intervenciones, que no se mantuvo para el tratamiento con Sativex®, volviendo a la situación basal.

En el gráfico IV-13 se representan las diferencias respecto a las visitas basales en cada una de las visitas del primer y segundo periodo.

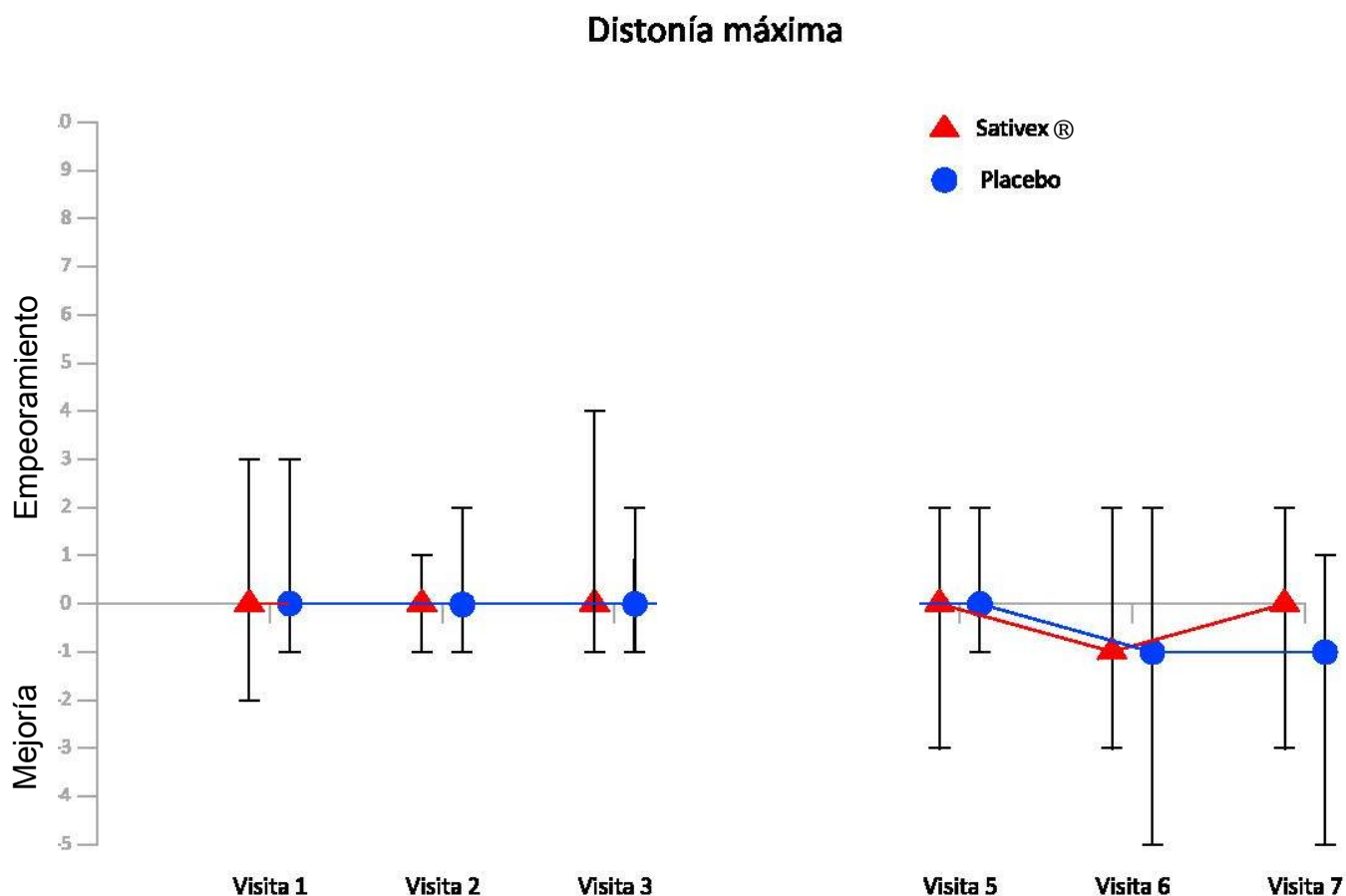
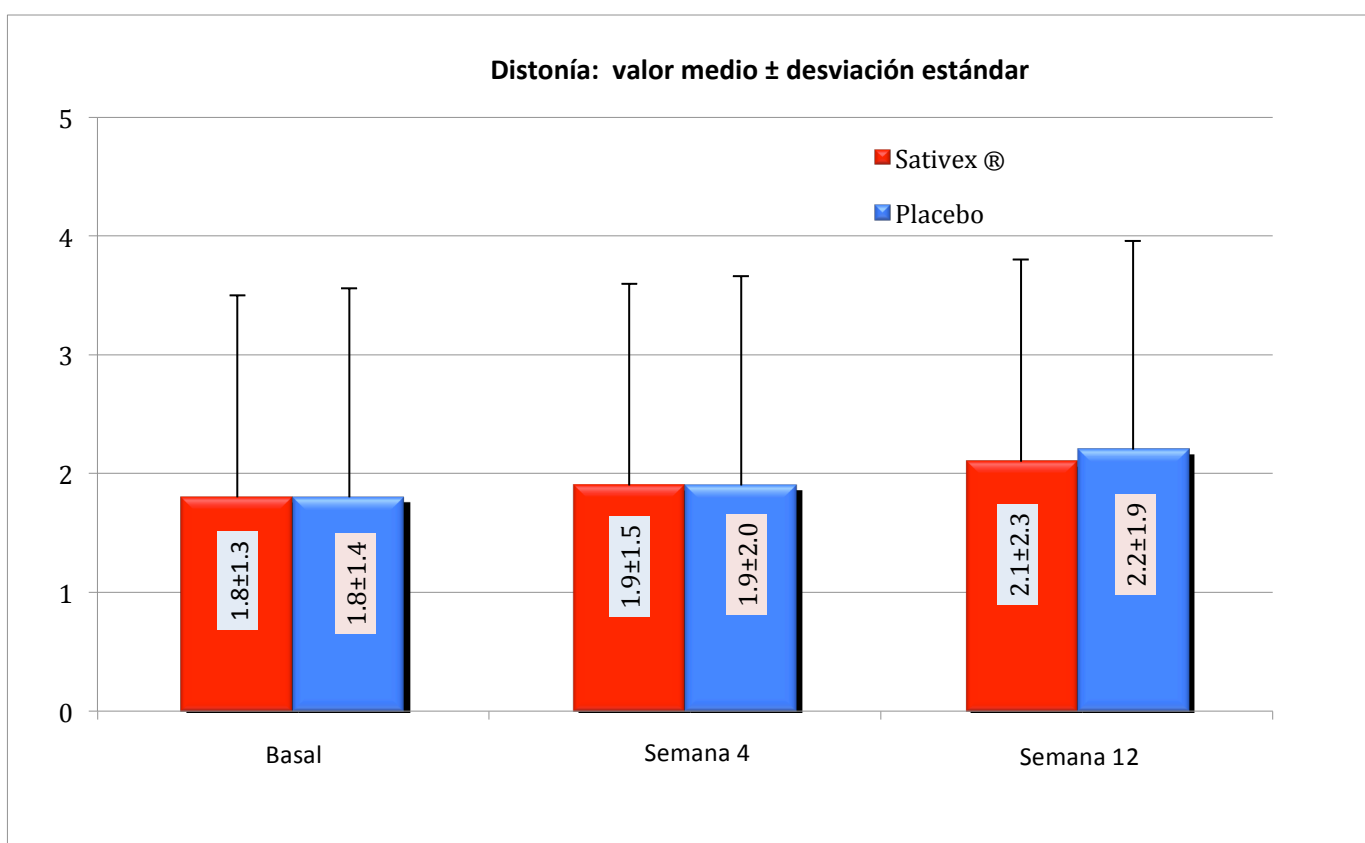


Gráfico IV-13. Cambios de la distonía máxima en cada una de las visitas respecto a la visita 0 para el primer periodo y respecto a la visita 4 para el segundo periodo.

En el gráfico IV-14, se representa el valor medio y su desviación estándar de la puntuación de la distonía máxima en la visita basal, a las 4 semanas del inicio del tratamiento y a las 12 semanas del inicio del tratamiento. Se objetiva un discreto empeoramiento en los dos grupos en este apartado de la escala mUHDRS, un poco mayor para el placebo, que no es significativo ( $p=1,0$ ).

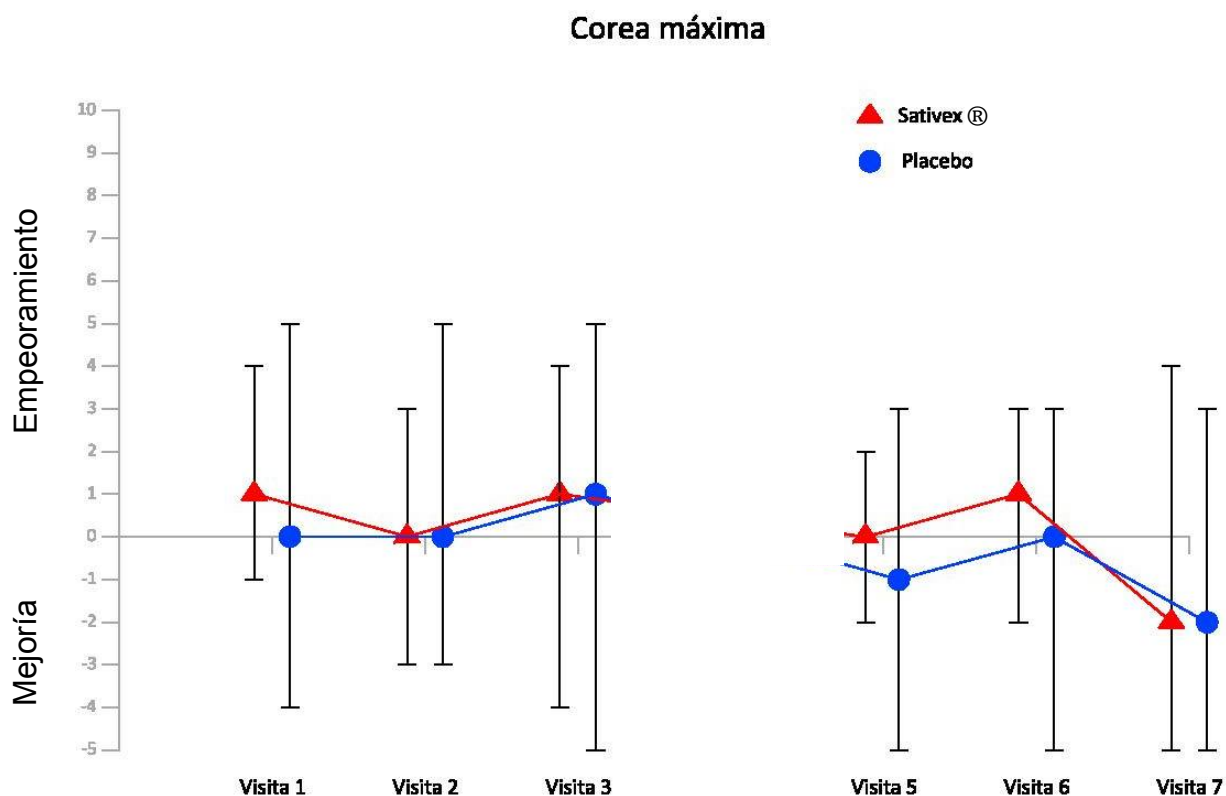


**Gráfico IV-14. Evolución de las puntuaciones de la distonía máxima.**

### 3) Corea máxima.

En la evaluación del corea se objetivó mayor variabilidad, habiendo mejorías y empeoramientos, tanto con Sativex® como con placebo, en las distintas visitas. En el cómputo general, tras el primer periodo no hubo cambios en el grupo con Sativex® y hubo un discreto empeoramiento con el placebo. En el segundo periodo se objetivó una discreta mejoría con ambas intervenciones que no fue significativa (gráfico IV-15).

En el gráfico IV-15 se representa la variación de la corea respecto a la visita basal en cada una de las visitas de cada fase del ensayo.



**Gráfico IV-15.** Cambios de la corea máxima en cada una de las visitas respecto a la visita 0 para el primer periodo y respecto a la visita 4 para el segundo periodo.

## RESULTADOS

De nuevo, el gráfico IV-16 representa los valores medios y sus desviaciones estándar de la puntuación de la corea dentro de la mUHDRS. En este caso se observó un empeoramiento inicial a las 4 semanas para la intervención con Sativex®, que finalmente se corrigió volviendo al valor basal. En la intervención con placebo, se objetivó una discreta mejoría tanto en la semana 4 como en la semana 12. Tampoco hubo diferencias significativas ( $p=0,405$ )

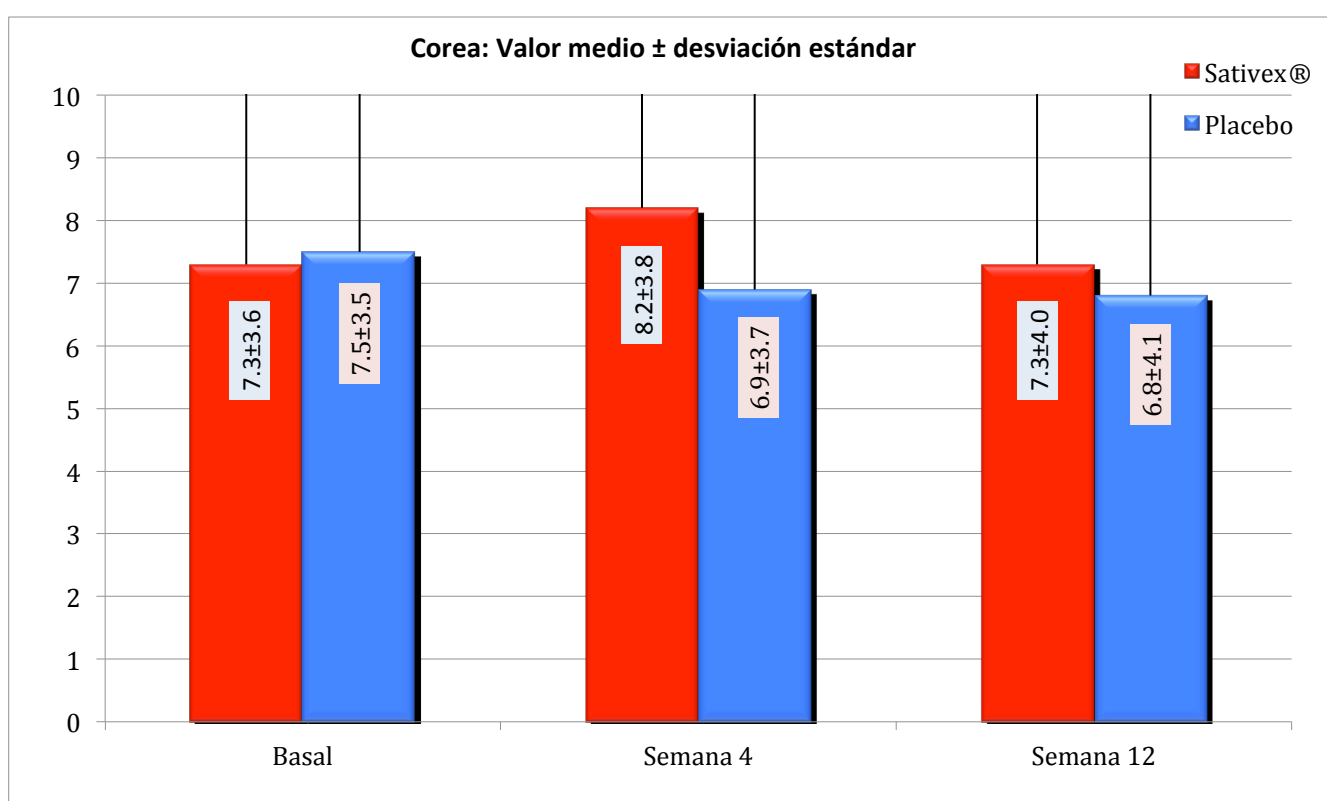
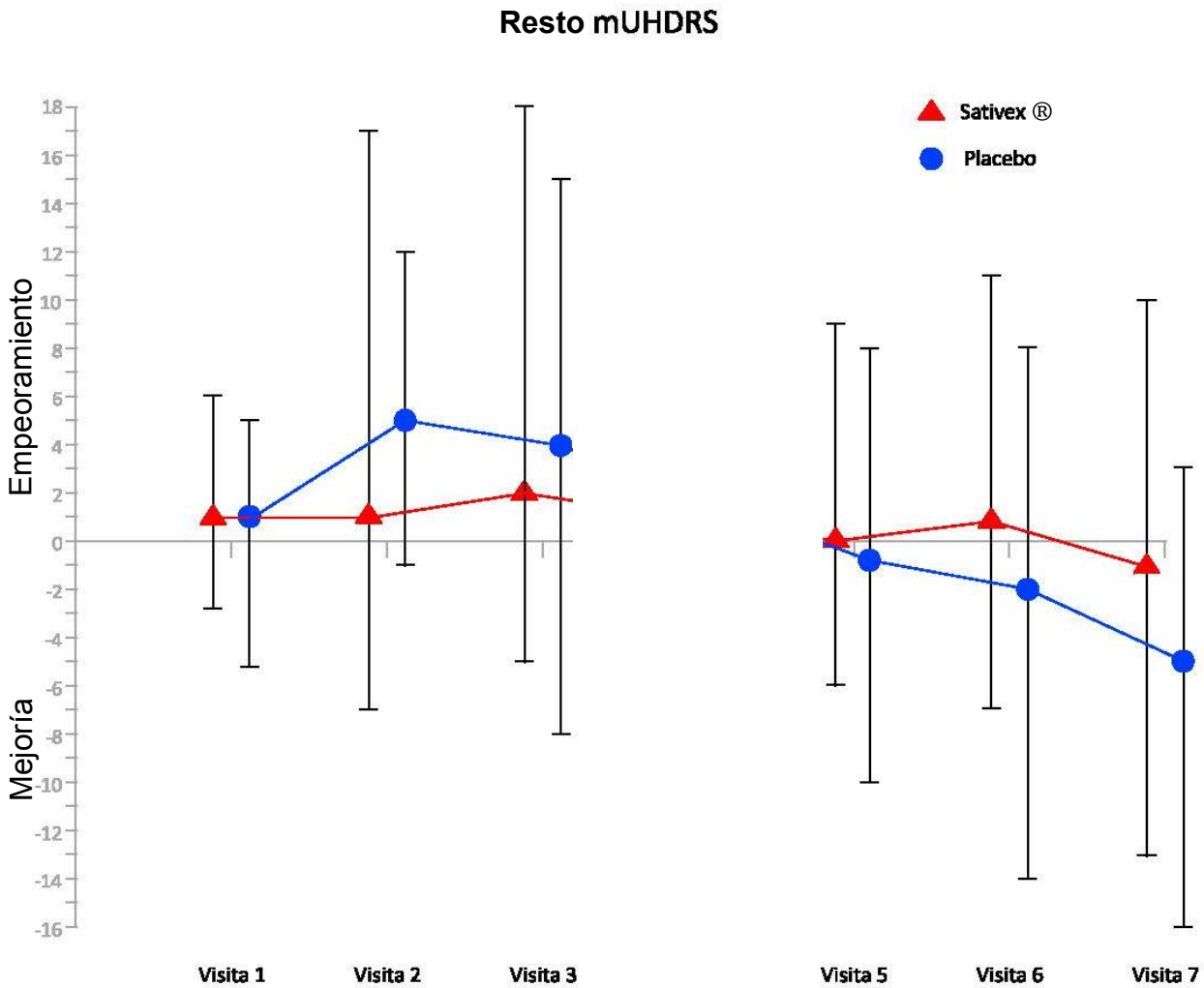


Gráfico IV-16. Evolución de las puntuaciones de la corea máxima.

**4) Resto de la mUHDRS**

El resto de parámetros de la mUHDRS, evalúa alteraciones muy diferentes que se dan en un valor total para simplificar. Por este motivo, la variabilidad es muy grande.

Como se puede observar en el gráfico IV-17, se produjo una mayor variación con la intervención con placebo que con la intervención con Sativex®. Así, en la intervención con placebo hubo un empeoramiento en el primer periodo y una mejoría en el segundo periodo. En la intervención con Sativex®, pasó algo parecido, pero con valores menores, tanto en el empeoramiento en el primer periodo como en la mejoría del segundo periodo.



**Gráfico IV-17. Cambios en el resto de parámetros de la mUHDRS en cada una de las visitas respecto a la visita 0 para el primer periodo y respecto a la visita 4 para el segundo periodo.**



## RESULTADOS

En el gráfico IV-18 están representados los valores medios y sus desviaciones estándar, objetivándose ausencia de cambio con Sativex® y una discreta mejoría de las escalas no significativas ( $p=0,678$ ) con el placebo.

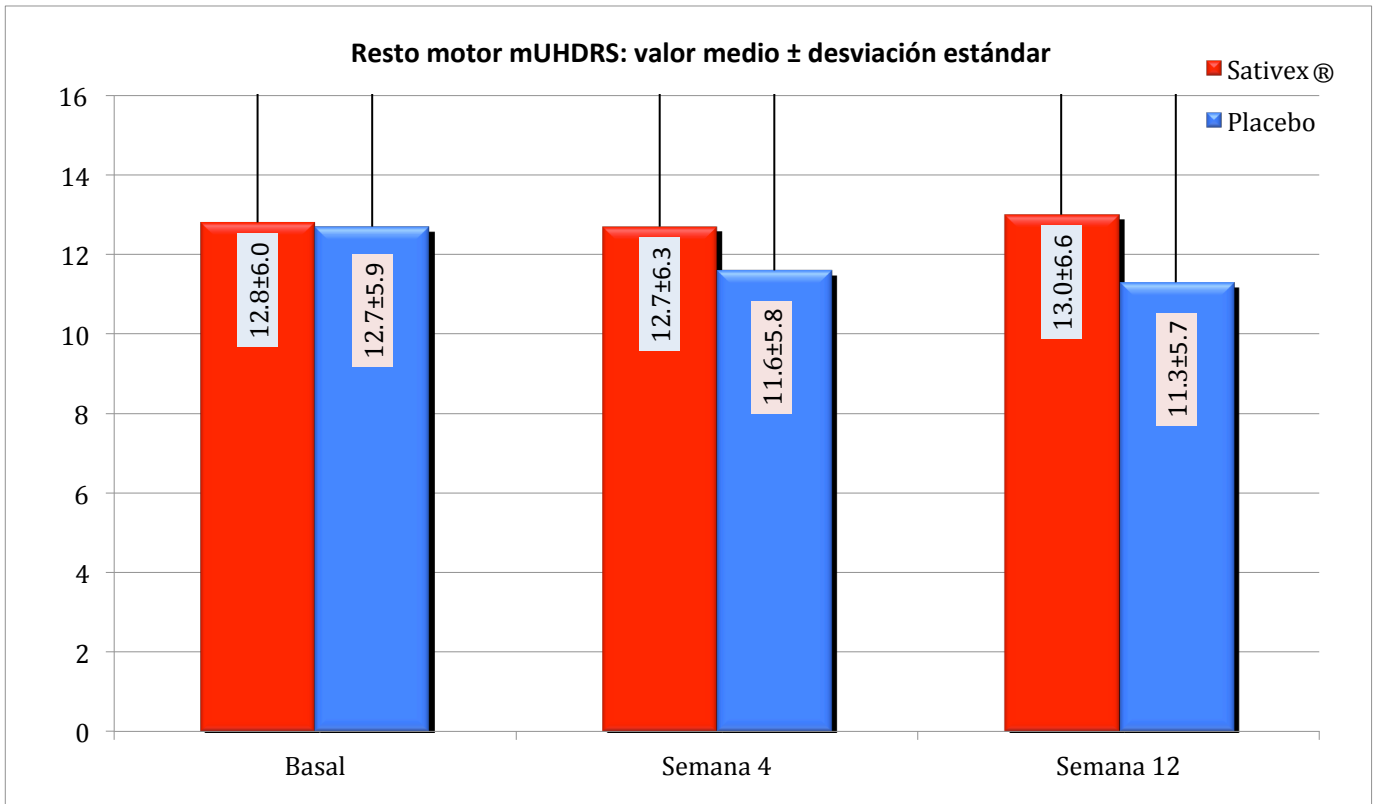
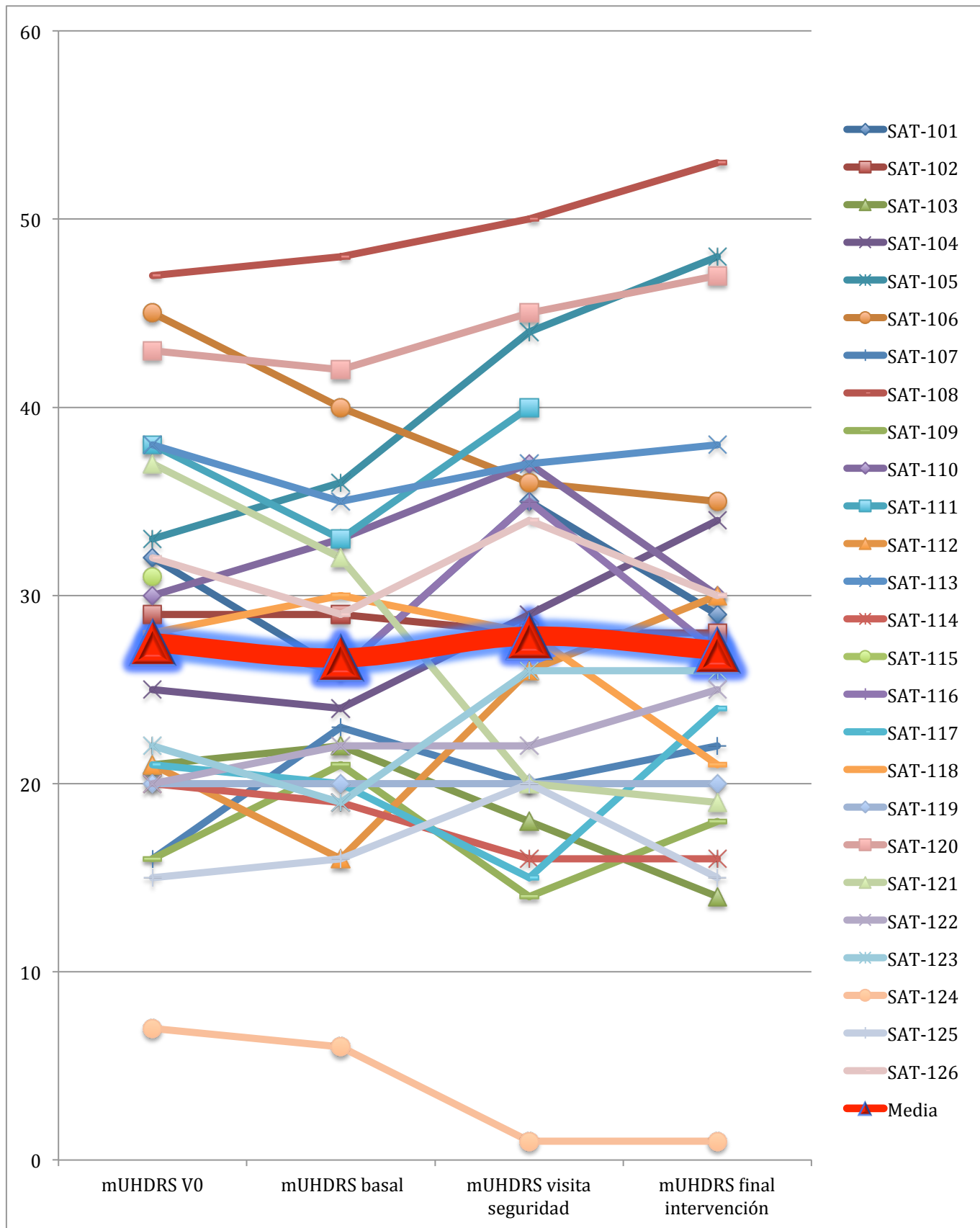


Gráfico IV-18. Evolución de las puntuaciones del resto de parámetros de la mUHDRS.

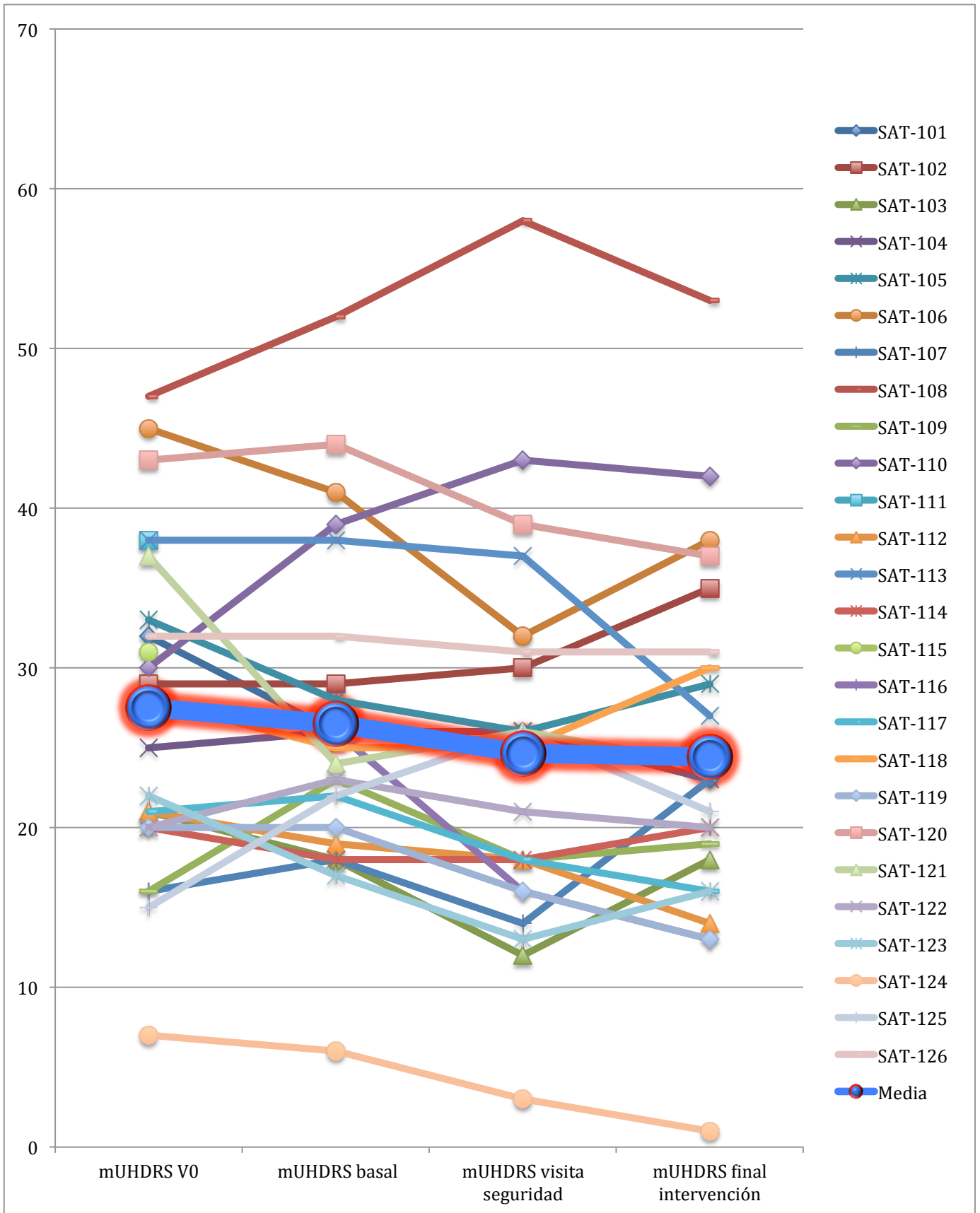
### 5) mUHDRS total

Para la evaluación de la escala completa del componente motor de la UHDRS, se ha considerado más representativo exponer la evolución de la escala para cada uno de los pacientes participantes en el ensayo, según la intervención con tratamiento activo o placebo, independientemente del periodo del ensayo.

Así, en el gráfico IV-19 se representan las puntuaciones de la mUHDRS en la visita 0 y sus variaciones a lo largo de las visitas basales, las visitas de seguridad a las 4 semanas y la visitas al final de la intervención a las 12 semanas, para cada uno de los pacientes, en lo que se refiere a la intervención con el tratamiento activo. La media de estas puntuaciones se representa con una línea de mayor grosor. En el gráfico IV-20 se representa lo mismo, pero para la intervención con placebo.



**Gráfico IV-19. Evolución de la mUHDRS total para cada paciente en las visitas en las que habían estado tomando tratamiento activo.**



**Gráfico IV-20. Evolución de la mUHDRS total para cada paciente en las visitas en las que habían estado tomando placebo.**

## RESULTADOS

Como se aprecia en los gráficos, existió una gran variabilidad en cada una de las visitas para la mUHDRS, sin objetivarse una clara tendencia con ninguna de las dos intervenciones.

Finalmente, en el gráfico IV-21, se ha representado el valor medio y su desviación estándar de la mUHDRS, observándose en este caso una discreta mejoría con el placebo que no es significativa ( $p=0,286$ ), sin haber apenas variación con el tratamiento activo con Sativex®.

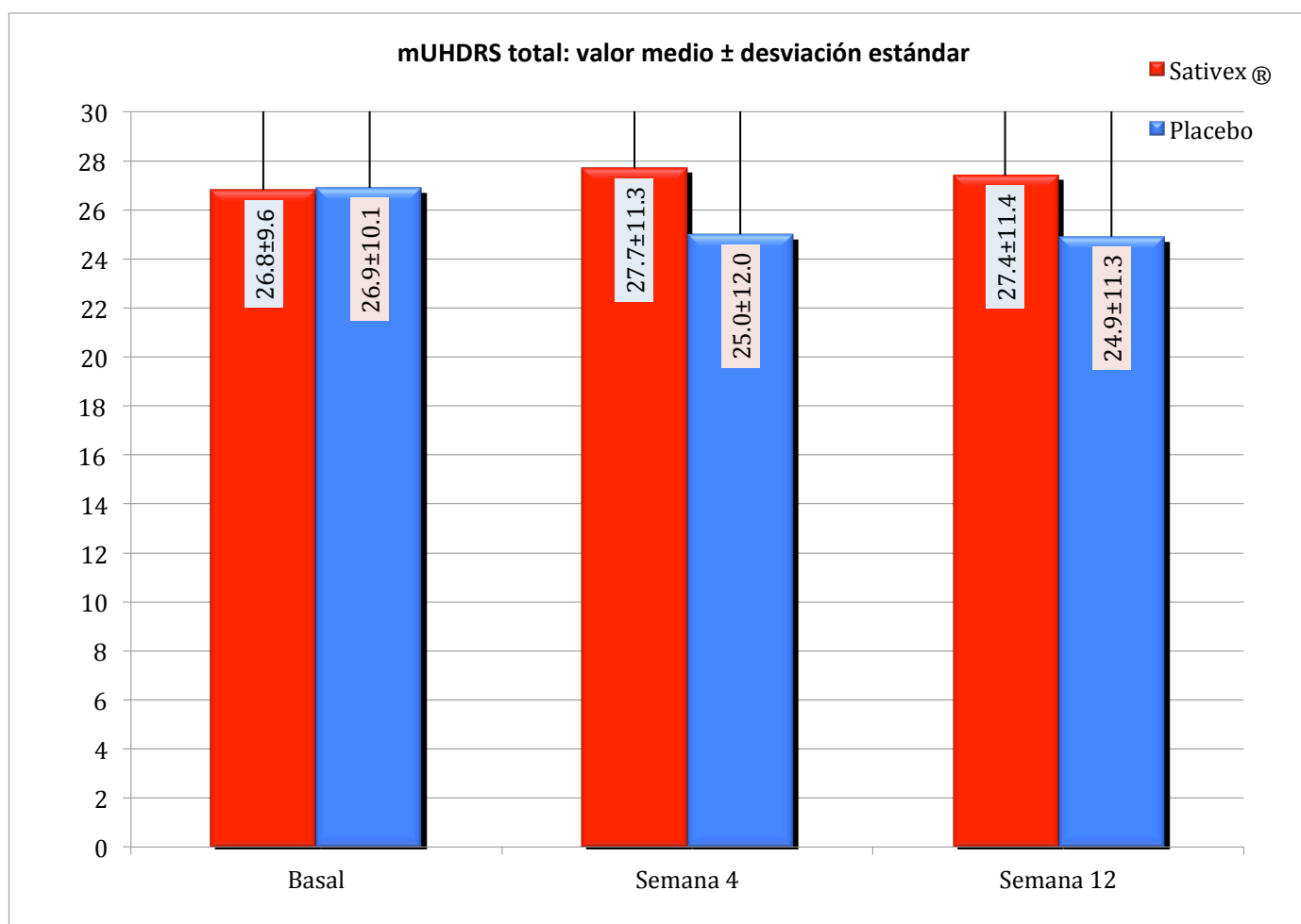


Gráfico IV-21. Evolución de las puntuaciones de la mUHDRS total.

## **9. EVOLUCIÓN DE LAS PUNTUACIONES COGNITIVAS, CONDUCTUALES Y FUNCIONALES.**

Para simplificar la exposición de los datos, en la valoración de la situación cognitiva, conductual y funcional de los pacientes del ensayo, sólo se ha representado la gráfica de los test o escalas incluidos en el protocolo del ensayo clínico y en los que se tenían al menos datos basales y tras ambas intervenciones. Así, en los gráficos se dan los valores medios y sus desviaciones estándar en la visita basal, a las 4 semanas y al finalizar la intervención a las 12 semanas. Para aquellos test o escalas que no se pasaban en la visita de seguridad a las 4 semanas, sólo están representadas las medias y desviaciones estándar basales y a las 12 semanas.

### 1) Test de colores y palabras de Stroop

De las tres partes del test neuropsicológico Stroop, se han considerado como más significativos las variaciones en el Stroop de interferencia. Este test no se pasaba a los pacientes en las visitas de seguridad (gráfico IV-22).

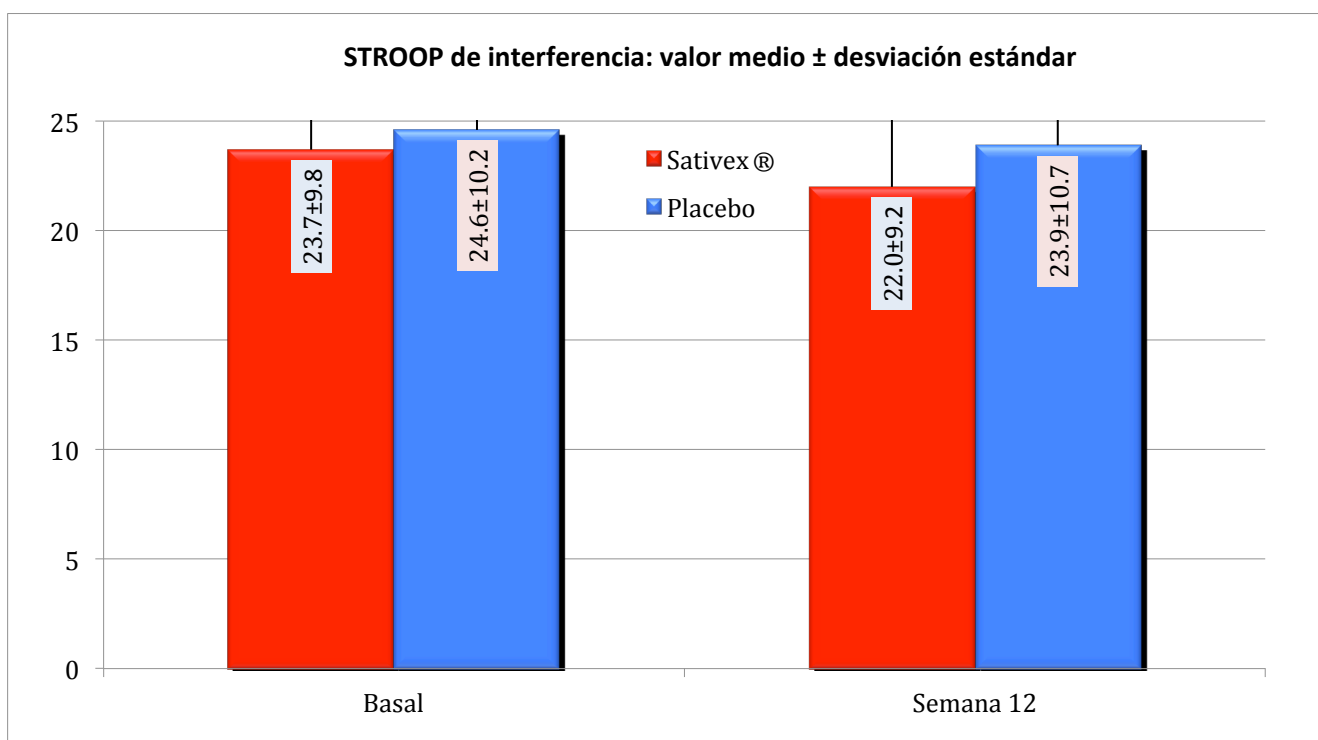


Gráfico IV-22. Evolución del resultado del test de Stroop de interferencia.

Se objetivó un muy discreto empeoramiento con ambas intervenciones para el test Stroop de interferencia, que no fue significativo ( $p=0,824$ ).

## 2) Test de Fluidez Verbal (versión FAS).

Los resultados que evalúan la fluidez verbal, se obtienen mediante la suma de todas las palabras dichas por el paciente para cada una de las letras “F”, “A” y “S”. Por tanto, el resultado del test en los pacientes con EH está muy por debajo de la media de la población sana que es de 20 palabras, puesto que el resultado dado es la suma de las tres partes, de media no llegaron a decir 7 palabras para cada una de las letras. En el gráfico IV-23 se representa la media y la desviación estándar de esta evaluación, tanto basal como tras ambas intervenciones.

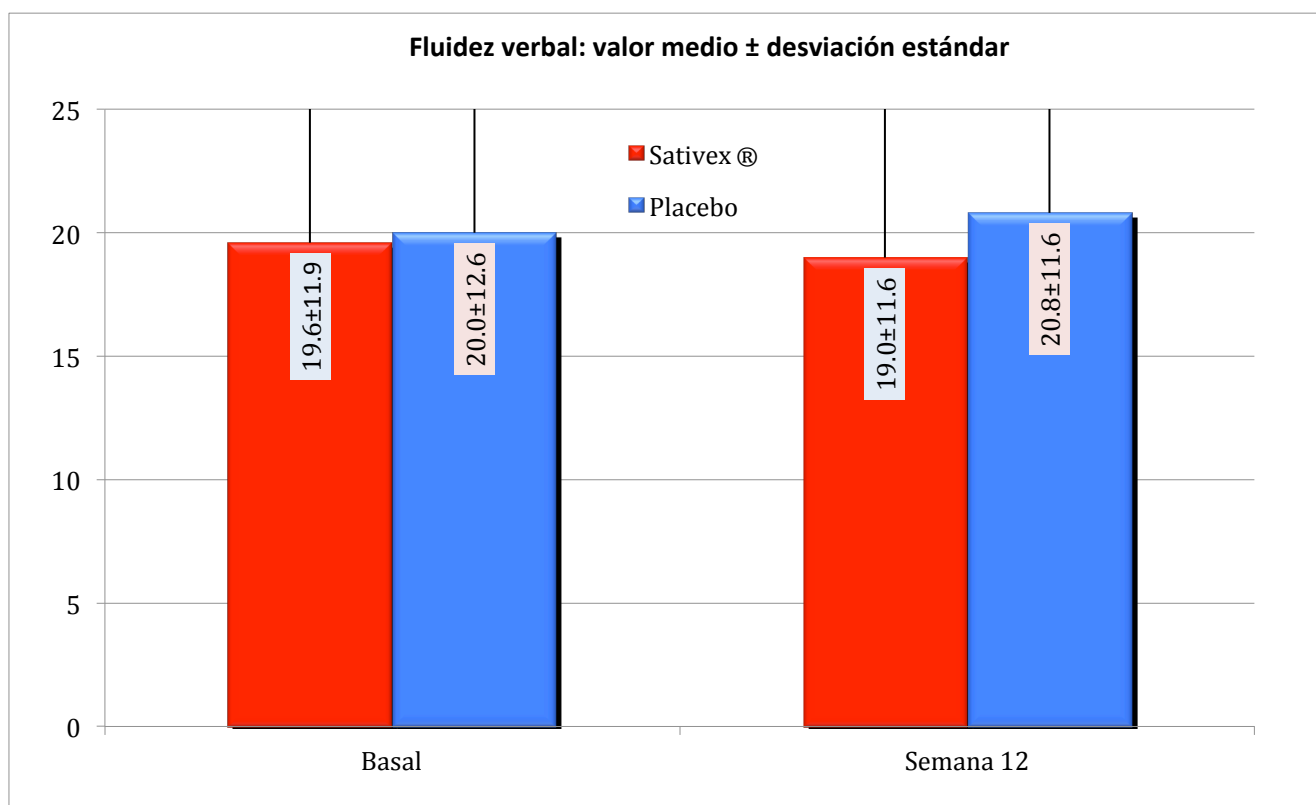


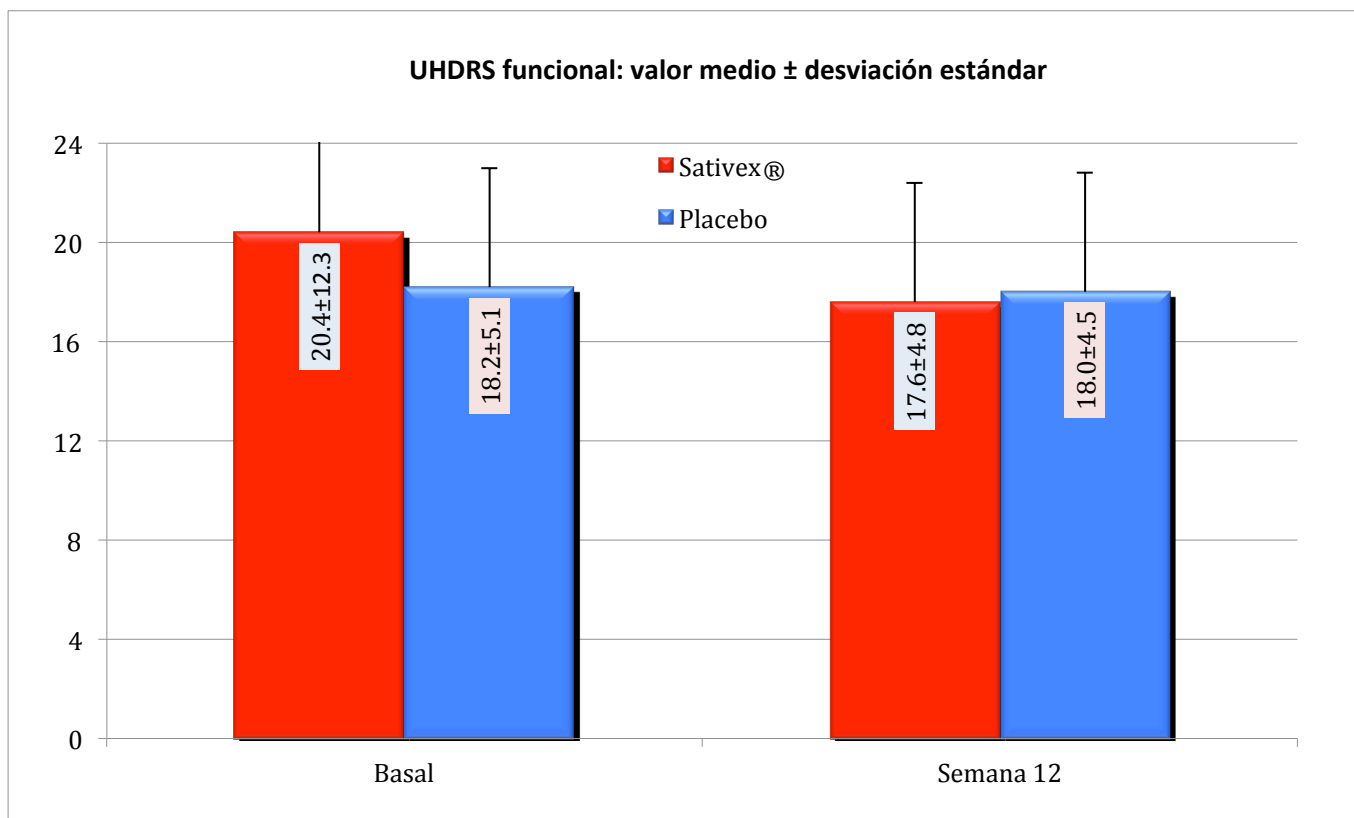
Gráfico IV-23. Evolución de la evaluación de la fluidez verbal con el test FAS.

En este caso, se apreció un muy discreto deterioro con la intervención con Sativex® y una muy discreta mejoría con la intervención con placebo. En ningún caso resultó significativo ( $p= 0,405$ ).



### 3) Subescala funcional de la UHDRS (fUHDRS)

La funcionalidad de los pacientes participantes en el ensayo se evaluó utilizando la fUHDRS. En el gráfico IV-24 se representa el valor medio y la desviación estándar en situación basal y tras el tratamiento para cada una de las intervenciones.



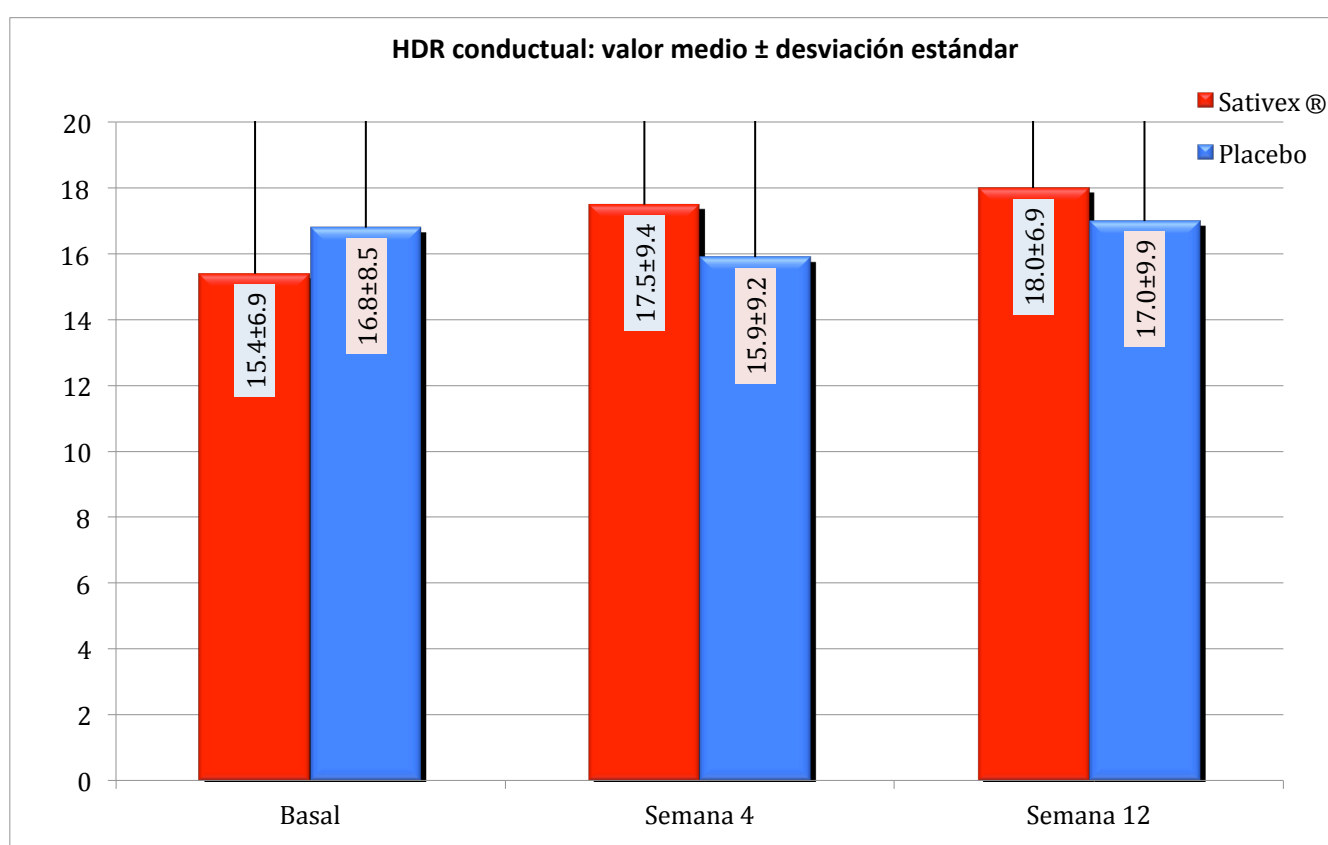
**Gráfico IV- 24. Evolución de la funcionalidad con la escala fUHDRS.**

Según nuestros resultados, los pacientes al recibir la intervención con Sativex® partían de una mejor situación funcional que, tras las 12 semanas con el tratamiento, empeoró hasta casi tres puntos, aunque esto no fue significativo ( $p= 0,581$ ). Al recibir la intervención con placebo, partían de una peor situación personal y, tras la intervención, apenas se modificó.

#### 4) Subescala conductual de la UHDRS (cUHDRS)

La evaluación conductual de los pacientes participantes, se evaluó en parte con la cUHDRS. Esta escala fue pasada en la visita basal, a las 4 semanas y al finalizar las intervenciones a las 12 semanas.

En el gráfico IV-25 se representan los valores medios y las desviaciones estándar de estas escalas.



**Gráfico IV- 25. Evolución de la conducta medida por la cUHDRS.**

Tal y como se representa en el gráfico, hubo una discreta mayor alteración conductual basal cuando la intervención fue con placebo, que se mantuvo apenas sin cambios. En la visita basal de la intervención con Sativex®, las alteraciones conductuales eran menores, pero al finalizar la intervención eran mayores incluso que al finalizar la intervención con placebo. Sin embargo, ninguno de estos valores llegó a ser significativo ( $p= 1,0$ ).

### 5) Inventario neuropsiquiátrico (NPI).

El inventario NPI aporta información sobre la situación psiquiátrica de los pacientes. Este inventario también se pasó en la visita basal, en la de seguridad a las 4 semanas del inicio de la intervención y tras finalizar las 12 semanas de la intervención.

En el gráfico IV-26 se representa la evolución de los valores medios y sus desviaciones estándar de este inventario para cada una de las intervenciones.

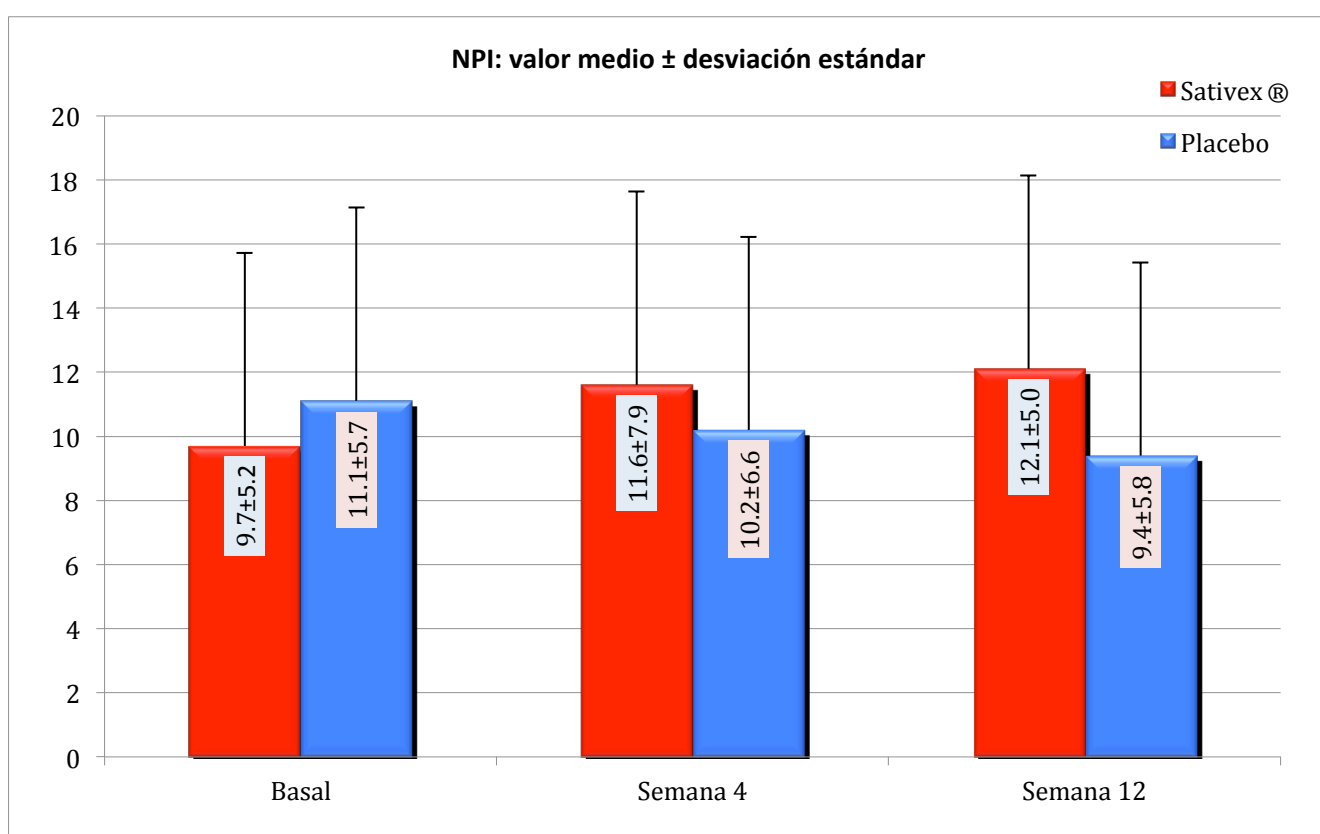


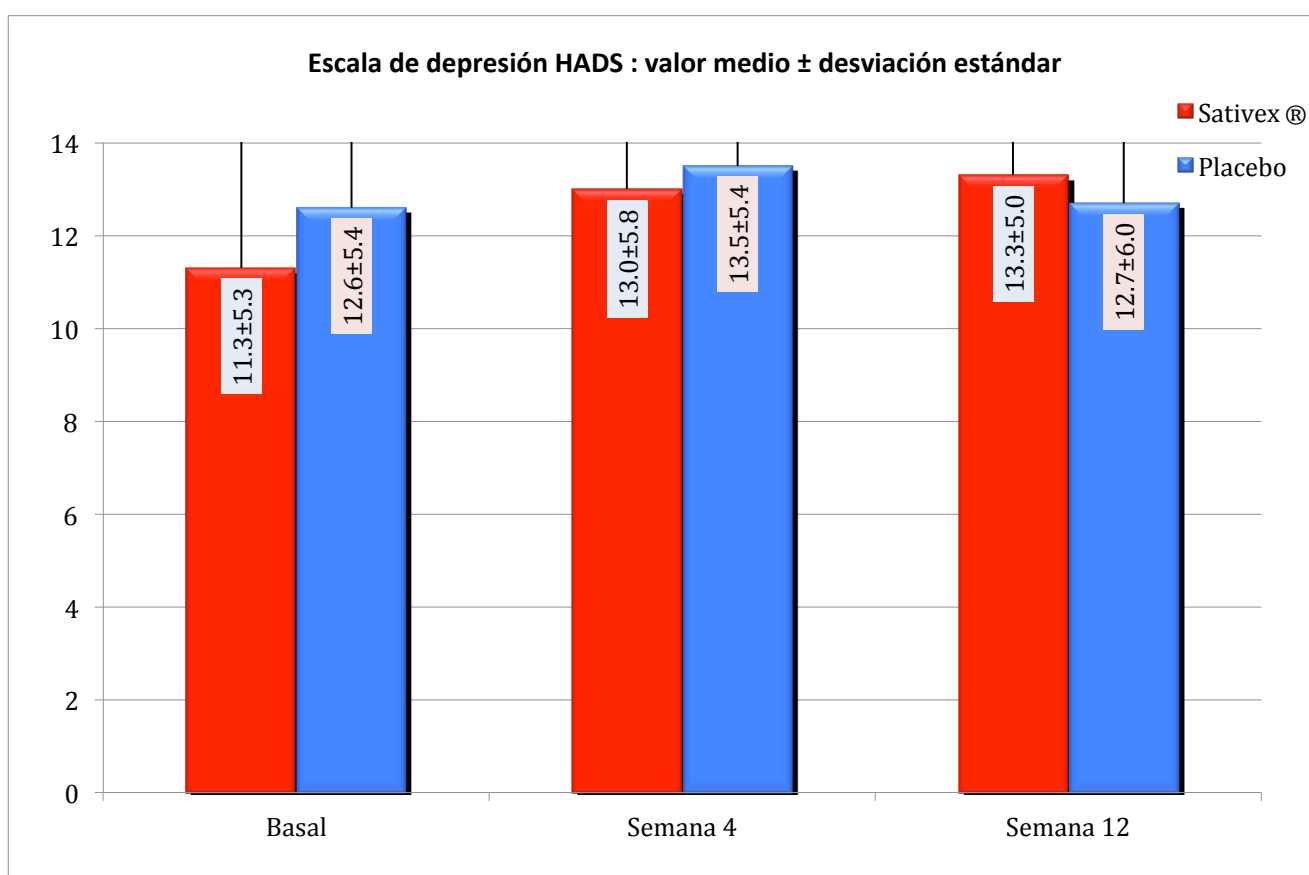
Gráfico IV-26. Evolución de la situación psiquiátrica de los pacientes mediante el inventario NPI.

De nuevo, las alteraciones psiquiátricas partían de unos valores más bajos al inicio de la intervención con Sativex® que con placebo. Ya desde la semana 4, se objetivó un deterioro de casi 2 puntos para la intervención con Sativex®, que aún aumentó un poco al finalizar la intervención. Al inicio de la intervención con placebo, los valores eran un poco más altos y mejoraron al finalizar. Tampoco hubo diferencias significativas ( $p=0,134$ ).

### 6) Cuestionario de depresión-ansiedad (HADS)

El nivel de ansiedad y depresión fue evaluada mediante el cuestionario HADS en nuestros pacientes, en las visitas basales, en las visitas de seguridad y en las visitas tras 12 semanas con la intervención.

En el gráfico IV-27 se presentan los valores medios y las desviaciones estándar de las puntuaciones de los pacientes en esta escala en las visitas descritas.



**Gráfico IV-27. Evolución de la escala HADS para valorar la ansiedad y la depresión.**

Podemos apreciar de nuevo un discreto empeoramiento en la puntuación de esta escala tras la intervención con Sativex® y la práctica ausencia de modificación de esta escala tras la intervención con placebo. Tampoco la diferencia fue estadísticamente significativa ( $p=0,405$ ).

## 10. ANÁLISIS DE LOS BIOMARCADORES.

Dentro de los biomarcadores realizados en nuestro laboratorio, presentamos los resultados de los metabolitos de monomanías en el LCR y las proteínas involucradas en neurodegeneración en LCR.

### 1) Metabolitos de monoaminas en el LCR.

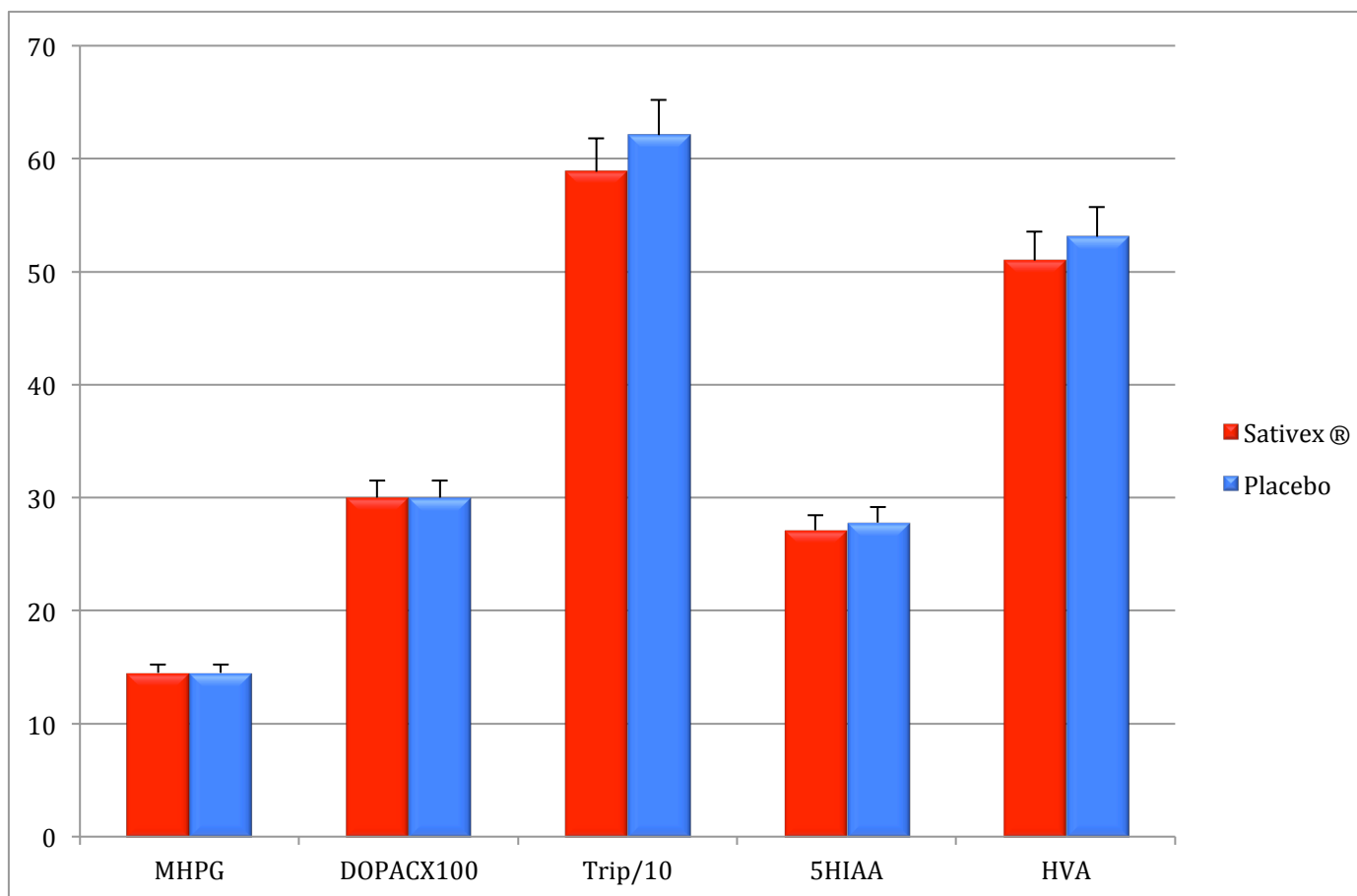
Al analizar los metabolitos de monoaminas del LCR de los pacientes tras la intervención con Sativex® y tras la intervención con placebo, no objetivamos cambios en ninguno de los metabolitos analizados: MHPG, DOPAC, Trip, 5HIAA y HVA.

Proteínas en LCR	Con tratamiento activo (Sativex®) (n=23)	Sin tratamiento activo (Placebo) (n=22)	Valor P
<b>Variables continuas: media (DE); mínimo-máximo</b>			
<b>MHPG (ng/ml)</b>	14,5 (3,7); 7,18-25	14.5 (3.9); 7,55-22,32	0,992
<b>DOPACx100 (ng/ml x 100)</b>	0,3 (0,1)x100; 0,16-0,63	0.3 (0,2)x100; 0,12-0,81	0,876
<b>Trip/10 (ng/ml/10)</b>	588,6 (186,7)/10; 300-1052	621,0 (233,2)/10; 363-1233	0,618
<b>5HIAA (ng/ml)</b>	27,1 (9,3) 10,21-42,06	27,8 (9,3) 8,36-44,85	0,804
<b>HVA (ng/ml)</b>	51,0 (19,1) 9,81-98,56	53,1 (22,1) 17,87-99,69	0,732

Tabla IV-12. Valores de los metabolitos de las monoaminas en el LCR.

En la tabla IV-12 se presentan los valores obtenidos de los metabolitos de las monoaminas en el LCR tras exposición a Sativex® y a placebo. Se da el valor de la

media, la desviación estándar, el mínimo y el máximo. En el gráfico IV-28, se representan los niveles de estas monoaminas tras ambas intervenciones. Los valores se expresan en ng/ml para todos los valores, salvo para DOPAC que se expresa en ng/ml x 100 y para el triptófano que se expresa en ng/ml/10, de forma que se puedan representar en un mismo gráfico.



**Gráfico IV-28. Niveles de los metabolitos de monoaminas en el LCR al final de las dos intervenciones.**

Tal y como se aprecia en la tabla y en el gráfico, no hemos objetivado cambios en estos metabolitos entre la intervención con Sativex® y con placebo.

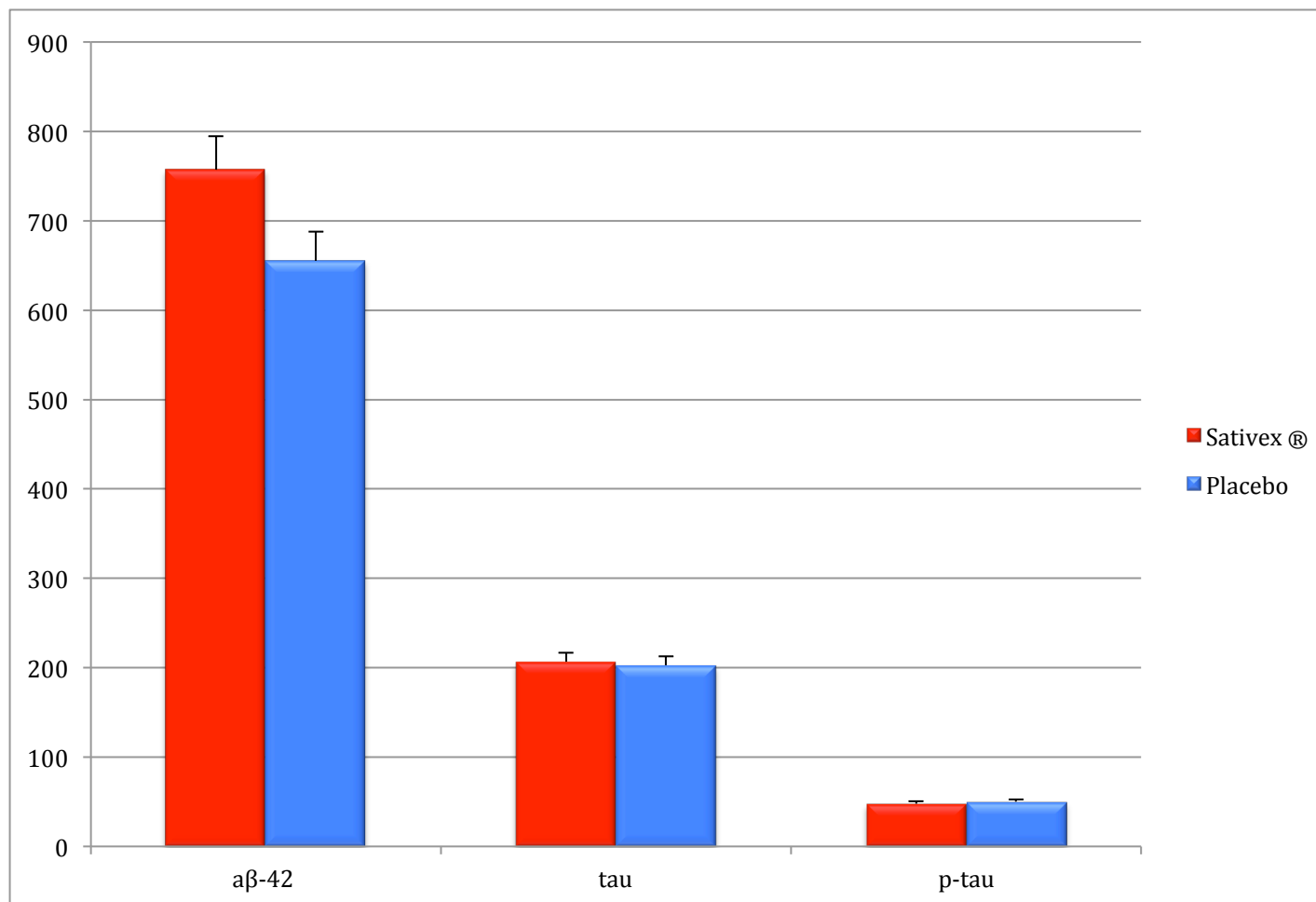
**2) Proteínas involucradas en la neurodegeneración en el LCR.**

Las proteínas analizadas en nuestro laboratorio, han sido los niveles del péptido aβ-42, los niveles de la proteína tau y p-tau.

Proteínas en LCR	Con tratamiento activo (Sativex®) (n=23)	Sin tratamiento activo (Placebo) (n=22)	Valor P
<b>Variables continuas: media (DE); mínimo-máximo</b>			
<b>aβ-42 (pg/ml)</b>	757,1 (318,9); 289-1574	655,3 (275,9) 150-1170	0,258
<b>tau (pg/ml)</b>	206,4 (91,3) 85-508	202,4 (76,0) 77-376	0,876
<b>p-tau (pg/ml)</b>	47,9 (14,9) 25-100	50,2 (15,6) 23-94	0,627

Tabla IV-13. Valores de las proteínas involucradas en neurodegeneración en el LCR.

En la tabla IV-13 se presentan los valores medios con la desviación estándar junto al valor mínimo y máximo. En el gráfico IV-29, están representados estos niveles tras la punción lumbar realizada al finalizar la intervención con Sativex® y con placebo. Los valores se expresan en pg/ml.



**Gráfico IV- 29. Niveles de aβ-42, tau y p-tau en el LCR tras estar expuestos a Sativex y a placebo.**

En nuestro estudio, los niveles de tau y p-tau no se modificaron tras el tratamiento con Sativex® respecto a la exposición al placebo.

Por el contrario, los niveles de aβ-42, se vieron aumentados en un 13,5% en los pacientes expuestos a Sativex®, respecto a los valores obtenidos en los mismos pacientes tras la exposición al placebo, aunque este resultado no llegó a ser estadísticamente significativo probablemente por el pequeño número de muestras ( $p=0,258$ ).



## V. DISCUSIÓN

## V. DISCUSIÓN.

### 1. IMPORTANCIA DE LA INVESTIGACIÓN CLÍNICA EN LA EH.

La investigación clínica en la EH es fundamental por varios motivos:

En primer lugar, porque es una enfermedad de mal pronóstico, hereditaria con un gran estigma social, con una prevalencia de casi 10 pacientes por cada 100.000 habitantes en países occidentales. Además, se calcula que la frecuencia del gen mutado en la población es 2,5-3 veces superior (26). Se trata de una enfermedad muy incapacitante que afecta a personas en la edad media de la vida, llevando a la muerte a los pacientes en unos 20 años, por lo que se estima que el impacto económico es alto.

En segundo lugar, porque la EH es el prototipo de enfermedad por expansión inestable de tripletes de ADN. Así, ha abierto muchas líneas de trabajo sobre el papel que desempeñan determinadas proteínas y fragmentos de proteínas en la función celular cerebral.

En tercer lugar, porque la EH es un paradigma de enfermedades neurodegenerativas para la investigación con modelos animales. Se trata de una enfermedad producida por alteración de proteínas, debido a una única mutación muy bien conocida y caracterizada, en la que además la gravedad depende en gran parte del tamaño de la mutación. Así, es una enfermedad en la que disponemos de modelos animales que reproducen las variables clínicas, temporales y patológicas. Los modelos animales permiten realizar modelos experimentales para averiguar posibles mecanismos que participan en la patología, así como identificar dianas terapéuticas o comprobar el efecto de potenciales tratamientos. La investigación traslacional, debería aplicar los hallazgos de la investigación preclínica en la investigación clínica.

Además, por último, también se debe destacar que, en gran medida por su patrón de herencia, los pacientes con EH están especialmente motivados para participar en la investigación, ya que los beneficios pueden repercutir en sus familiares directos.

De esta forma, parece plausible que los avances en el descubrimiento de la fisiopatología y del tratamiento de las enfermedades neurodegenerativas puedan partir de los descubrimientos realizados en la EH. Otras enfermedades neurodegenerativas mucho más frecuentes, como la enfermedad de Alzheimer o la enfermedad de Parkinson, tal vez, se puedan beneficiar algún día de la investigación llevada a cabo en la EH.

## **2. COMPLEJIDAD DE LA INVESTIGACIÓN CLÍNICA EN LA EH.**

El desarrollo de nuevos tratamientos neuroprotectores para la EH, requiere las siguientes condiciones (411):

- a. La identificación y validación de las dianas moleculares para la intervención terapéutica.
- b. La disponibilidad de componentes que actúen sobre estas dianas con características de seguridad y farmacocinéticas adecuadas.
- c. Medidas sensibles de progresión para utilizar en los ensayos clínicos.

Los cannabinoides, y en concreto Sativex®, tras la revisión bibliográfica realizada en la introducción, podemos afirmar que cumplen las dos primeras condiciones, aunque la seguridad es el objetivo principal del presente ensayo clínico. Tal vez, la tercera

condición, sea lo más complicado y puede que justifique, en parte, los fracasos de todos los ensayos realizados hasta ahora que intentan demostrar neuroprotección en la EH.

Además, los pacientes con EH se caracterizan por una gran variabilidad en su sintomatología, dependiente en muchas ocasiones de factores imposibles de controlar en un ensayo clínico. Así, el estado anímico, las expectativas del ensayo clínico, la medicación concomitante o los acontecimientos adversos no relacionados con la medicación del estudio, como los catarros, la fiebre o la diarrea, producen importantes cambios en la evaluación clínica de los pacientes. En nuestro ensayo, esto ha quedado claramente reflejado en la importante diferencia observada entre la visita 0 y la visita 1 del estudio. Entre estas dos visitas no hubo ningún tipo de intervención, ni con medicación ni con placebo. Sin embargo se observaron importantes diferencias en la mayoría de los pacientes en las diferentes escalas de evaluación clínica. Por ejemplo, la mUHDRS total pasó de una mediana de 26,5 (P25;75: 20;32) puntos en la visita 0 a 25,5 (P25;P75: 18,5;32) en la visita 1.

Las escalas de evaluación de la progresión de la EH tienen varias limitaciones. Además, existe un efecto placebo no desdeñable. Este efecto placebo, que puede durar 12 o más semanas, ha sido observado en varios ensayos clínicos, incluyendo el de la pridopina (189). Por último, la gravedad clínica no siempre se correlaciona con el estadio neuropatológico. Todo esto hace que la investigación clínica en la EH sea especialmente compleja.

### 1) Limitaciones de las escalas de evaluación de la EH

La principal herramienta de la que disponemos para la evaluación clínica de la EH es la UHDRS. Esta escala, fue desarrollada en la década de los 90 para medir, de forma estandarizada, los síntomas de la EH, agrupados en cuatro ámbitos: motor, cognitivo, conductual y funcional (397).

La UHDRS se ha convertido en la herramienta estándar para la evaluación de la EH en los ensayos clínicos. Sin embargo, tiene una serie de limitaciones, como la potencial divergencia de las dimensiones de los síntomas, tanto entre las propias dimensiones, como entre los ítems dentro de la propia dimensión, la poca sensibilidad para detectar cambios en ciertos ítems o la falta de linealidad entre las subescalas (412). Estas limitaciones han favorecido el intento, en los ensayos clínicos, de identificar nuevas medidas de la evolución de la EH que, muchas veces, son simplificaciones de la propia escala, como es el caso de la “modified motos score” (mMS) en el ensayo MermaiHD (189).

Recientemente se ha publicado un análisis clinicométrico de la tasa de cambios de la UHDRS en estadios tempranos de la EH. Se ha observado progresión lineal en la puntuación motora y para la evaluación funcional. Sin embargo, hubo poca evidencia de progresión de la evaluación de la conducta y parcial en la evaluación cognitiva. Además observan que los diferentes dominios e ítems, tienen diferentes tasas de evolución en los estadios tempranos de la EH (411).

En nuestro ensayo clínico, hemos evaluado todas las subescalas de la UHDRS. En la subescala motora, se ha decidido analizar 4 parámetros: movimientos oculares, distonía máxima, corea máxima y el resto de ítems motores, con el fin de intentar evitar algunas de las limitaciones de la UHDRS, y para aumentar la sensibilidad para detectar cambios en nuestros pacientes.

## 2) Efecto placebo en la EH.

Aunque hay poco publicado sobre el efecto placebo en la EH, el hecho de que éste tenga relación con la activación de los circuitos de recompensa por la modulación de la dopamina de la vía nigroestriatal, mesolímbica, mesocortical y circuitos de motivación (413), lleva a pensar que, en una enfermedad en la que está implicada la dopamina, el efecto placebo podría tener implicaciones en los resultados de los ensayos clínicos.

En una reciente publicación, en la que se analiza de forma sistemática el efecto placebo en la EH, se encontró que la conducta es la dimensión en la que más aparece este fenómeno, sobre todo en pacientes no deprimidos con mejor estado funcional. Además, el efecto placebo se mantuvo en el tiempo, en muchos pacientes persistió al menos durante 36 meses. No se encontró efecto placebo significativo en las dimensiones cognitivas, funcionales o motoras. Sin embargo, cuando se analizaron los ítems de la subescala motora por separado, algunos parecían más sensibles al efecto placebo que otros ítems, como los movimientos oculares, la distonía o la marcha (414).

En nuestro estudio, al analizar los resultados de las variaciones en las escalas clínicas tras la intervención con Sativex® o placebo, se objetiva un claro efecto placebo. Tal y como se podrá observar en el apartado 7, en el que se analiza de forma individual la respuesta de cada participante en el estudio, el efecto placebo es especialmente importante en algunos pacientes, repercutiendo probablemente en los resultados obtenidos.

### **3) Falta de correlación entre la gravedad clínica y el estadio neuropatológico.**

Para el presente ensayo clínico se procuró seleccionar pacientes en fase inicial de la enfermedad. Se definió como fase inicial de la EH, a la que ocurre durante los 10 primeros años desde el inicio del diagnóstico clínico, realizado por la presencia de signos motores inequívocos de alteración patológica. El objetivo de esta selección fue intentar unificar las características basales de los pacientes y, sobre todo, probar la medicación en pacientes con mayor capacidad de responder a la misma, por la supuesta preservación de los receptores CB1 en los estadios iniciales de la enfermedad.

La mUHDRS de los pacientes participantes, en la visita basal, debía puntuar entre 5 puntos de mínimo y 50 puntos de máximo. Sin embargo, el intervalo pudo ser excesivamente amplio, sobre todo teniendo en cuenta que no siempre hay una clara correlación entre la gravedad clínica y el estadio neuropatológico. En un estudio cuyo objetivo era evaluar si el grado de carga patológica en la EH, según la estadificación de Vonsattel (123), correspondía a la gravedad del fenotipo clínico, los resultados mostraron que la carga patológica no siempre se correlaciona con la gravedad clínica, medida por la capacidad funcional. Así hubo pacientes con gran discapacidad y hallazgos neuropatológicos leves y pacientes con leve afectación funcional y una gran carga neuropatológica (415).

Esta falta de correlación clínico-patológica dificulta mucho la selección de pacientes candidatos para probar posibles tratamientos en la investigación clínica de la EH.

### 3. TOLERABILIDAD DE LOS CANNABINOIDES EN LA EH.

Según la ficha técnica y la literatura publicada, Sativex® parece ser un fármaco bien tolerado (416). La dosis máxima según la ficha técnica es de 12 pulverizaciones al día, sin embargo la dosis media en ensayos clínicos con pacientes con esclerosis múltiple es de ocho pulverizaciones al día (417). En la experiencia clínica habitual con pacientes que padecen espasticidad por esclerosis múltiple, la media es muy similar, a pesar de utilizar una correcta pauta ascendente. El principal motivo que obliga a disminuir la dosis de Sativex® es la aparición de mareo como AA leve (418).

En nuestro estudio, la media de pulverizaciones durante el periodo con Sativex® fue de once, con un 80% de pacientes que toleraron dosis máximas de 12 pulverizaciones al día. Es posible que los pacientes con EH tengan una especial tolerancia al Sativex®, tal vez por la disminución progresiva de los receptores CB1 que tiene lugar en esta enfermedad (345). A medida que dejan de funcionar o desaparecen los receptores CB1, el efecto sobre el sistema nervioso central es menor. Si esto fuera así, a medida que progresa la enfermedad, la tolerabilidad podría ser mayor, aunque tal vez la eficacia también podría ser menor de forma proporcional. De hecho, los dos pacientes que no toleraron dosis mayores de 10 pulverizaciones al día, se les había hecho el diagnóstico de EH en el año previo, con una corta evolución de la enfermedad. Harían falta más estudios para verificar esta hipótesis.



#### 4. SEGURIDAD DE LOS CANNABINOIDES EN LA EH.

El objetivo principal del ensayo era demostrar que los cannabinoides, utilizando la fórmula comercial de Sativex®, administrado en pacientes con EH durante 12 semanas, es seguro. Para ello, uno de los principales parámetros a evaluar fue la ausencia de la aparición de mayor número de AAG durante el periodo con medicación activa respecto al periodo con placebo. También se han analizado los AA leves. El segundo parámetro para evaluar la seguridad de los cannabinoides en la EH, fue analizar si durante los periodos de tratamiento con el componente activo, las escalas clínicas de los pacientes (mUHDRS motora, escalas cognitivas, cUHDRS y fUHDRS) no tenían un deterioro estadísticamente significativo, respecto al periodo de tratamiento con placebo ni cumplían la definición de empeoramiento clínicamente relevante. Se definió como empeoramiento clínicamente relevante un cambio de 3 o más puntos en la subescala completa mUHDRS, un cambio de 10 o más puntos en las escalas cognitivas, un cambio de 3 o más puntos en la subescala cUHDRS o un cambio de 2 o más puntos en la subescala fUHDRS, evaluadas en las visitas de seguridad y final de cada periodo de tratamiento.

Respecto a los AA, en un análisis sistemático de los estudios publicados sobre la seguridad del  $\Delta^9$ -THC o CBD de administración oral o a través de la mucosa oral, no se observaron frecuencias significativamente mayores de AAG, en comparación con los grupos controles. Sin embargo sí hubo un aumento de la incidencia de AA leves, en la mayoría de los casos, relacionados con la afectación del SNC, sobre todo, mareo (418). En un análisis de todos los datos de los estudios controlados con placebo, sobre la seguridad del Sativex®, se observó una mayor incidencia de mareo, somnolencia, desorientación, dificultad de concentración y alteración del equilibrio en el grupo tratado comparado con el placebo (416). También por el modo de administración, se han descrito AA locales como sequedad de boca, parestesias en la mucosa oral, alteración del gusto y

decoloración de los dientes (416). Otros AA descritos, generalmente leves, son fatiga, náuseas, infecciones de la vía urinaria, somnolencia y cefalea (416). En un estudio a largo plazo, de hasta 814 días, los AA observados con mayor frecuencia fueron dolor en la región oral (20,4%), mareos (17%), diarrea (17%) y náuseas (15%) (419). En este estudio, se observó que la incidencia de AAG aumentó ligeramente durante el tratamiento (4,6% en el grupo activo y 3,2% en el grupo placebo). Además se observaron cuatro AA consistentes en alteraciones psiquiátricas graves, dos pacientes con ideación suicida, otro con desorientación y uno con ideación paranoide (419). No hay datos significativos publicados respecto al rango terapéutico de Sativex®, dependencia de la dosis de los AA o del riesgo de la sobredosis.

Los efectos psicotrópicos de los CBs consumidos de modo recreativo, tales como euforia, desarrollo de tolerancia, abstinencia, inducción de psicosis o depresión, preocupan en el uso a largo plazo de Sativex®, al igual que los déficits cognitivos como la dificultad para el aprendizaje verbal. Esto es especialmente preocupantes en una enfermedad como la EH, en la que existe un importante componentes psiquiátrico y cognitivo en su sintomatología. La mayoría de estudios publicados sobre el efecto de los CBs en la cognición de la esclerosis múltiple, no han encontrado clara influencia (420). En un metaanálisis de todas las publicaciones sobre Sativex®, la adicción y los acontecimientos adversos psicoactivos resultaron ser mínimos. Se observó la aparición de euforia y depresión sólo en un 2,2% y en un 2,9% respectivamente. No se verificó ningún caso de síndrome de abstinencia de cannabis ni se desarrolló tolerancia (421). Además, es importante destacar que los efectos psicotrópicos de los CBs, se atribuyen sobre todo al  $\Delta$ 9-THC. Sin embargo, Sativex® contiene ambos cannabinoides,  $\Delta$ 9-THC y CBD en proporciones equivalentes. El CBD, providencialmente, es capaz de atenuar los posibles efectos adversos asociados al uso crónico de  $\Delta$ 9-THC (232), como las alteraciones

psicóticas. Aun así, en un estudio abierto cuyo objetivo fue monitorizar la seguridad de los CBs usados en la espasticidad de la esclerosis múltiple a largo plazo, encontraron que el 46% de los pacientes tratados presentaron síntomas como fatiga, inestabilidad emocional o sueños vividos en el plazo de 2 semanas tras la retirada brusca de la medicación (419). En total, las notificaciones de psicosis (3 casos) y alucinaciones (11 casos) con Sativex® han sido relativamente raras y los síntomas remitieron tras la interrupción o disminución de la dosis (416). Sin embargo, en una enfermedad como la EH, las precauciones deben ser extremas.

En nuestro estudio, los dos únicos AAG, que fueron notificados, aparecieron durante el periodo con placebo, sin ninguna causalidad. Ambos ocurrieron en la misma paciente SAT-121, ya descritos en un apartado previo. **No hubo ningún AAG consistente en alteraciones psiquiátricas ni durante el uso del tratamiento activo ni tras su retirada brusca.**

Hubo dos AA significativamente más frecuentes en el periodo con medicación activa comparado con el periodo con placebo, similar a lo descrito en la literatura, fue mareo y dificultad de concentración. Ambos AA aparecieron en un 16% de los pacientes durante el tratamiento y no hubo ningún caso durante el periodo de placebo. El resto de AA aparecieron con una frecuencia similar en el periodo con placebo, e incluso en los periodos sin tratamiento.

En cuanto a los cambios en la escalas de valoración clínica, como se expone en el apartado de resultados, **no se cumplió la definición de empeoramiento en ninguna de las escalas a excepción de la fUHDRS, pero sin diferencia estadística con el placebo.** Así, en la mUHDRS total, se pasó de una puntuación de  $26,8 \pm 9,6$  en la visita basal a  $27,7 \pm 11,3$  en la visita de seguridad y  $27,4 \pm 11,4$  en la visita final del periodo con tratamiento activo. Por tanto, hubo una diferencia media de  $-0,6$  (DE: 6,4) puntos entre la

visita basal y la visita final del periodo de tratamiento activo, que no fue estadísticamente diferente al periodo con placebo ( $p=0,286$ ) ni cumplió la definición de empeoramiento. Entre las escalas cognitivas, el test de Stroop de interferencia pasó de  $23,7\pm 9,8$  a  $22,0\pm 9,2$  puntos y el test de fluidez verbal FAS pasó de  $19,6\pm 11,9$  a  $19,0\pm 11,6$  puntos, de nuevo sin diferencia estadística con el placebo ( $p=0,824$  y  $p=0,405$  respectivamente), ni se cumplió la definición de empeoramiento clínicamente relevante. La cUHDRS pasó de  $15,4\pm 6,9$  puntos en la visita basal a  $17,5\pm 9,4$  puntos en la visita de seguridad y a  $18,0\pm 6,9$  puntos en la visita final tras el tratamiento con Sativex®, con una diferencia de  $-2,6$  (DE:  $5,6$ ) puntos que tampoco fue estadísticamente diferente al placebo ( $p=1,0$ ) ni cumplió la definición de empeoramiento. En las otras escalas psiquiátricas como el inventario NPI o la escala de ansiedad-depresión HADS, tampoco encontramos diferencias relevantes ni estadísticamente significativas. Por fin, en cuanto a la funcionalidad, evaluada por la fUHDRS, se pasó de  $20,4\pm 12,3$  en la visita basal a  $17,6\pm 4,8$  en la visita final tras el periodo con tratamiento activo, con una diferencia media a favor del Sativex® de  $2,8$  (DE:  $11,6$ ) puntos, que sí fue superior a la definición de empeoramiento clínicamente relevante que era de 2 puntos, pero no hubo diferencias estadísticas con el placebo ( $p=0,581$ ).

**Tras el exhaustivo análisis de los acontecimientos adversos ocurridos en el ensayo clínico y tras analizar las diferencias entre las escalas clínicas realizadas, podemos concluir que los cannabinoides, a las dosis utilizadas y durante el tiempo utilizado, son seguros en la EH, cumpliéndose el objetivo principal del ensayo clínico.**

## 5. INFLUENCIA DE LAS DIFERENCIAS HALLADAS EN LAS CARACTERÍSTICAS BASALES.

Durante el análisis de las características basales, tras la aleatorización de la secuencia de administración de Sativex® o placebo, de los participantes en el estudio, se observaron diferencias entre los dos grupos tanto en la visita 1 como en la visita 4 (que era la visita basal tras el lavado del primer periodo). En la visita 1, el grupo con secuencia de tratamiento AB, que le correspondió Sativex® en el primer periodo del ensayo, presentó peor situación en la mayoría de las escalas de valoración clínica, en comparación con el grupo con secuencia BA, que le correspondió placebo en el primer periodo. Así, los resultados demostraron diferencias en algunos componentes motores de la escala mUHDRS. Estas diferencias alcanzaron valores de significación estadística en el caso de los movimientos oculares (7 versus 4,  $p=0,013$ ) y en la escala mUHDRS total (32 versus 20,  $p=0,004$ ). Los valores para la distonía máxima estuvieron en el límite de la significación estadística (2 versus 1,  $p=0,048$ ). Estas diferencias, que podrían introducir un error de sesgo en un estudio paralelo, tienen un impacto mucho menor sobre el resultado en un ensayo cruzado. La puntuación obtenida en el resto de componentes evaluados no fue significativamente diferente entre ambos grupos, excepto para el Stroop de interferencia, que mostró un valor más bajo para el grupo con secuencia de tratamiento AB (18 versus 28,  $p=0,045$ ). En la visita 4 hubo diferencias significativas para los movimientos oculares (6,5 versus 2,  $p=0,013$ ), mUHDRS total (33,5 versus 22,  $p=0,003$ ) y en la escala de depresión HADS (14 versus 10,  $p=0,006$ ) y en el inventario NPI (12 versus 7;  $p=0,023$ ).

En todos los casos, las puntuaciones más desfavorables correspondieron al grupo que tomó Sativex® en el primer periodo y placebo en el segundo. Estas diferencias basales encontradas en algunas de las escalas evaluadas, obliga a mantener cierta

cautela en la interpretación de los resultados por una posible aleatorización inicial incompleta. El azar ha hecho que Sativex® estuviera en una situación de clara desventaja para intentar demostrar eficacia, basándonos en la valoración de estas escalas clínicas. En un ensayo clínico cruzado como el nuestro, las expectativas de los pacientes y del equipo investigador, juegan un papel importante en la variación de las puntuaciones de las escalas clínicas, especialmente en el primer periodo. Si los pacientes que recibieron Sativex® en el primer periodo estaban clínicamente más graves, fue especialmente complicado para el fármaco a estudio intentar compensar esa diferencia. En el segundo periodo, aunque la situación se invierte, las expectativas de los pacientes ante el fracaso del primer periodo, repercute claramente en las puntuaciones de estas escalas clínicas. Además, en el tiempo durante el cual se llevó a cabo el estudio, pudo haber una progresión de la enfermedad, especialmente variable en los pacientes que partían de una situación más grave.

El hecho de que las puntuaciones de los pacientes del grupo que recibió secuencia de tratamiento AB sean desfavorables en comparación al grupo que recibió la secuencia BA, sugiere que la aleatorización no fue del todo correcta y limita la validez interna de los resultados.

## 6. EFICACIA DE LOS CANNABINOIDES EN LOS SÍNTOMAS DE LA EH.

El objetivo secundario del ensayo clínico era demostrar eficacia, mediante la mejoría en las escalas de evaluación clínica. **Los resultados del análisis demuestran ausencia de cambios entre los grupos de tratamiento activo o placebo.**

Si analizamos individualmente cada una de estas escalas clínicas, vemos que, aunque sin diferencias significativas, la tendencia es incluso a mejorar más con el placebo que con el fármaco activo. Debemos tener cautela a la hora de interpretar estos resultados, en gran parte, por el problema comentado en el punto anterior respecto a la alteración en la aleatorización de la secuencia de administración del fármaco. Además, es importante tener en cuenta la presumible progresión de la propia enfermedad durante el tiempo que duró el ensayo clínico, que suele ser más rápida en los pacientes clínicamente más graves.

Dentro de la escala de valoración motora, la mUHDRS total, se objetiva una discreta progresión en el periodo con Sativex®, ya que pasa de  $26,8 \pm 9,6$  en la visita basal, a  $27,7 \pm 11,3$  en la visita de seguridad y a  $27,4 \pm 11,4$  en la visita tras las 12 semanas con el tratamiento activo. Sin embargo, en el periodo con placebo, se aprecia una mejoría, partiendo de una puntuación de  $26,9 \pm 10,1$  en la visita basal,  $25,0 \pm 12,0$  en la visita de seguridad y  $24,9 \pm 11,3$  en la visita tras la 12 semanas. Ya se ha comentado la importancia del efecto placebo en la EH. A la hora de analizar cada una de las partes en las que se ha analizado la escala, vemos que la progresión más importante, aunque prácticamente imperceptible, ha sido en la distonía máxima, con un empeoramiento 0,4 (DE: 1,6) puntos y en el conjunto del resto de parámetros de la mUHDRS, que ha empeorado 0,2 (DE: 2,6) puntos. Sin embargo, la variación con el placebo ha sido más importante, aunque también prácticamente imperceptible, en los movimientos oculares, con una mejoría de 0,4 (DE:

1,3) puntos y en la corea máxima con una mejoría de 0,6 (DE: 2,3) puntos. El efecto placebo ha sido más importante en los parámetros motores más variables.

En lo que se refiere a los tests neuropsicológicos, la situación ha sido parecida, aunque en estas escalas, las diferencias en las visitas basales han sido más importantes entre los dos grupos.

Dentro de los tests que evaluaban la función cognitiva, se incluyeron el test de Stroop de interferencia, la fluencia verbal y la fluencia categorial. A nivel cognitivo, sólo se objetivaron diferencias no significativas con el test de fluencia verbal, a favor del placebo. En el test de Stroop de interferencia, en el que se valora la resistencia a la interferencia, la cual depende de muchos factores como la capacidad de atención, concentración e inhibición de respuesta, la puntuación basal del grupo con tratamiento activo fue de  $23,7 \pm 9,8$  y con placebo  $24,6 \pm 10,2$ , tras la intervención, con tratamiento empeoró a  $22,0 \pm 9,2$  y con placebo también empeoró a  $23,9 \pm 10,7$ . Las diferencias no fueron significativas ( $p=0,824$ ). En el test de fluidez verbal, que se obtiene con la suma de todas las palabras nombradas por el paciente en 1 minuto, diciendo palabras que empiezan por una letra preestablecida “F”, “A” y “S”, se objetivó un deterioro de 0,6 (DE: 5,6) puntos con Sativex® y una mejoría de 0,7 (DE: 6,6) puntos con el placebo, sin ser una diferencia estadísticamente significativa ( $p=0,405$ ). En el test de fluidez categorial, consistente en nombrar el mayor número de palabras de una categoría determinada, en este caso la categoría “animales”, no se recogió la información basal, por lo que no se puede dar el resultado como una diferencia, sino como el total de animales nombrados en 1 minuto. No hubo diferencias entre ambos periodos ( $p=0,824$ ), ya que en el periodo con tratamiento nombraron una media de 11,8 (DE: 4,8) animales y en el periodo con placebo una media de 11,6 (DE: 5,1).



Para la evaluación de la situación psiquiátrica de los pacientes del estudio, se utilizó la subescala cUHDRS y la escala de ansiedad-depresión HADS. Además, el inventario NPI también aporta información sobre la situación psiquiátrica. A nivel psiquiátrico se objetivó un mayor deterioro con Sativex® en todas las escalas. La subescala cHUDRS, que evalúa la frecuencia y la gravedad de los síntomas relacionados con el afecto, el contenido del pensamiento y el estilo para afrontarlo, con mayor puntuación en relación a la mayor afectación psiquiátrica, presentó una importante diferencia en la visita basal de ambas intervenciones. Así, en la visita basal del periodo con Sativex® la puntuación era menor, de  $15,4 \pm 6,9$  puntos, que en la visita basal del periodo con placebo, que era de  $16,8 \pm 8,5$  puntos. Tras ambas intervenciones, hubo empeoramiento, pero fue mayor en el periodo con tratamiento activo, ya que hubo un empeoramiento de 2,6 (DE: 5,6) puntos, mientras que en el periodo con placebo, el empeoramiento fue de 0,1 (DE: 8,0) puntos, aunque de nuevo, sin diferencia significativa ( $p=1,0$ ). En cuanto a la escala de ansiedad-depresión HADS, que detecta trastornos afectivos (a mayor puntuación representa mayores niveles de ansiedad y depresión), también mostró clara variación en la visita basal de ambos periodos, siendo  $11,3 \pm 5,3$  en el periodo con Sativex® y  $12,6 \pm 5,4$  en el periodo con placebo. En ambos periodos se objetivó deterioro de esta escala, pero de nuevo fue mayor en el periodo con tratamiento activo, ya que empeoró 2 (DE:3,5) puntos, mientras que con el placebo sólo empeoró 0,2 (DE:5,1) puntos, sin ser una diferencia significativa entre ambos periodos ( $p=0,405$ ). El inventario NPI, que evalúa las manifestaciones neuropsiquiátricas más frecuentes en las demencias y determina, también, su frecuencia e intensidad (a mayor puntuación mayores alteraciones neuropsiquiátricas), de nuevo muestra una importante diferencia en la visita basal de ambos periodos, siendo de  $9,7 \pm 5,2$  en el periodo con Sativex® y  $11,1 \pm 5,7$  en el periodo con placebo. Tras la intervención con medicación activa, empeora

hasta  $12,1 \pm 5,0$  puntos y con placebo mejora hasta  $9,4 \pm 5,8$  puntos, de nuevo sin diferencia significativa ( $p=0,134$ ).

Por último, el test para evaluar la situación funcional de los pacientes del estudio, fue la subescala fUHDRS. En esta escala se objetivó un claro empeoramiento de la funcionalidad con el Sativex®, que incluso fue clínicamente relevante, aunque no estadísticamente significativo. El objetivo de esta escala es evaluar la independencia de los pacientes y su capacidad para realizar las actividades de la vida diaria (a mayor puntuación mayor independencia funcional). En la visita basal del periodo con medicación activa, la puntuación fue de  $20,4 \pm 12,3$ , mayor que en la visita basal del periodo con placebo, que fue de  $18,2 \pm 5,1$  puntos. Tras la intervención con Sativex®, la escala empeoró 2,8 (DE: 11,6) puntos, hasta  $17,6 \pm 5,8$  puntos. Tras la intervención con placebo, la escala también empeoró, pero sólo 0,3 (DE: 1,2) puntos, quedando en  $18,0 \pm 4,5$  puntos, mejor que tras la intervención con Sativex®, a pesar de haber partido de una peor situación basal.

**Los resultados de nuestro estudio son rotundos, en cuanto al fracaso en el objetivo secundario, ya que no se aprecia ninguna mejoría en las escalas clínicas para evaluar los síntomas motores, ni cognitivos, ni psiquiátricos ni en la evaluación de la situación funcional. Siempre teniendo en cuenta la limitación de la alteración de la aleatorización.**

La falta de eficacia no es sorprendente en un estudio que incluye sólo 24 pacientes. Los datos experimentales obtenidos en animales de laboratorio, sugieren un efecto de los cannabinoides en la EH. Nuevos estudios deben organizarse cambiando el número de pacientes, la duración del ensayo y la dosis de medicación. En relación a esta última variable, lo más razonable sería mantener la dosis de  $\Delta 9$ -THC, que es el compuesto con más propiedades psicométricas y aumentar la dosis de CBD, que por su efecto en

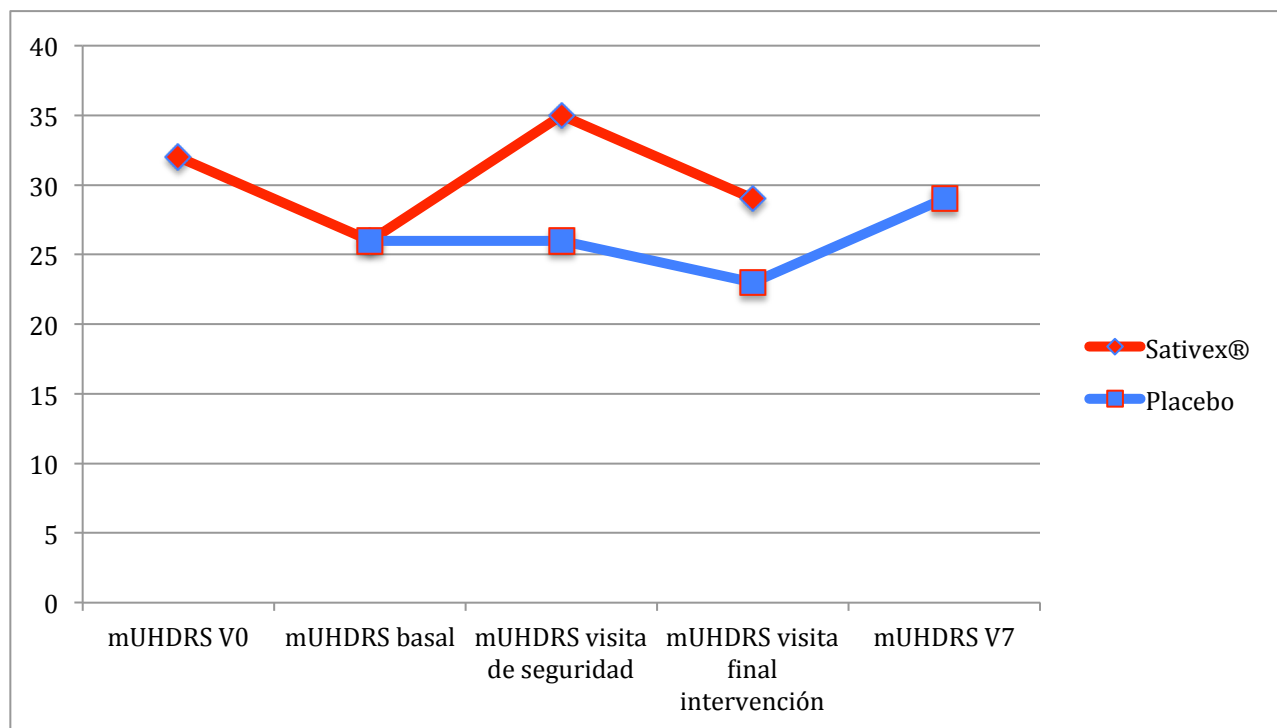
receptores CB2, tiene un mayor efecto antiinflamatorio. Aunque, como veremos más adelante, existen opiniones contrarias a esta sugerencia.

## **7. ANÁLISIS INDIVIDUAL DE LOS PACIENTES PARTICIPANTES.**

Al tratarse de un ensayo clínico realizado en 25 pacientes, creemos que tal vez, el análisis individual de cada paciente, puede aportar más información y aclarar algunos aspectos, en lo que se refiere a la respuesta de los pacientes al tratamiento con Sativex®. Este análisis se ha decidido incluir en el apartado de discusión y no en el de resultados, porque muchos de los comentarios son apreciaciones subjetivas del paciente o del equipo investigador en cada una de las visitas, incluyendo posibles causas o justificaciones a los cambios observados.

### **a. SAT-101:**

El primer paciente incluido en el ensayo, llevaba muchos años con la enfermedad, con muchos síntomas motores y psiquiátricos. Empezó el primer periodo del estudio tomando tratamiento activo, y en el segundo placebo. Durante el tratamiento con Sativex®, no toleró dosis mayores de 10 pulverizaciones al día, ya que le producía insomnio. El paciente refirió empeoramiento en ese periodo, aunque también coincidió con una importante gastroenteritis el día de la visita de seguridad (visita 2). En el segundo periodo, con placebo, toleró la dosis de 12 pulverizaciones al día.



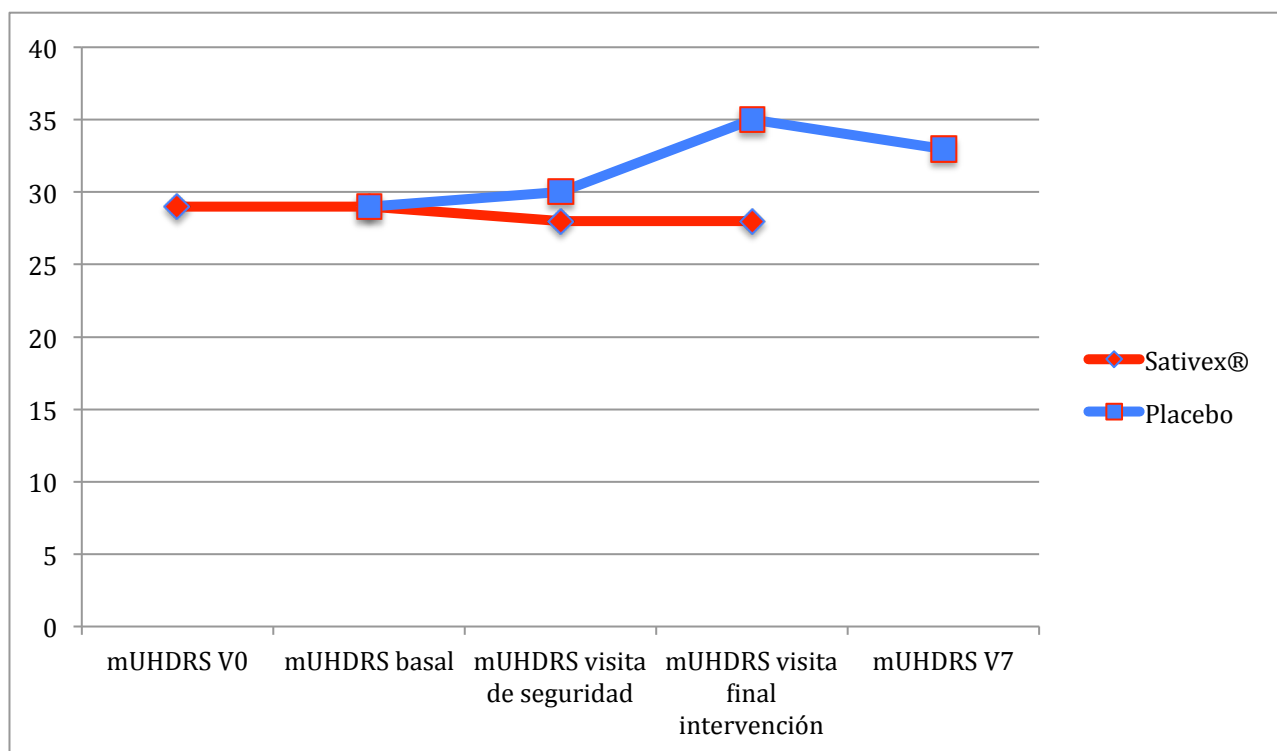
**Gráfico V-1. Evolución de la mUHDRS en el paciente SAT-101.**

En el gráfico, se representa la evolución de la mUHDRS total en ese paciente. Se objetiva una discreta mejoría sin intervención entre la visita 0 y la visita basal, que puntúa igual en ambos periodos. Durante el periodo con Sativex® se objetiva un claro empeoramiento en la visita de seguridad, coincidiendo con la gastroenteritis, que mejora un poco en la visita final. Durante el periodo con placebo apenas se aprecian cambios, aunque hay una discreta mejoría al final de la intervención, pero coincidió con una infiltración de toxina botulínica a nivel cervical, en la visita de seguridad, que ya se infiltraba previo al inicio del ensayo.

El paciente presentó discreta mejoría subjetiva del estado de ánimo y de su ansiedad en ambos periodos, refiriendo mejoría del sueño durante el periodo con placebo, que pasó de dormir 5 horas seguidas a 9 horas.

b. **SAT-102:**

El segundo paciente incluido en el estudio llevaba menos tiempo de evolución, con síntomas sobre todo motores, con predominio del corea. Desde un punto de vista psiquiátrico y cognitivo estaba poco afectado. También recibió la medicación activa en el primer periodo. En ambas intervenciones, toleró dosis máximas de 12 pulverizaciones al día. En el cómputo general, el paciente refirió discreta mejoría, y sobre todo estabilidad del cuadro en el primer periodo, con claro empeoramiento en el segundo periodo, con placebo, en probable relación a la progresión de su enfermedad.



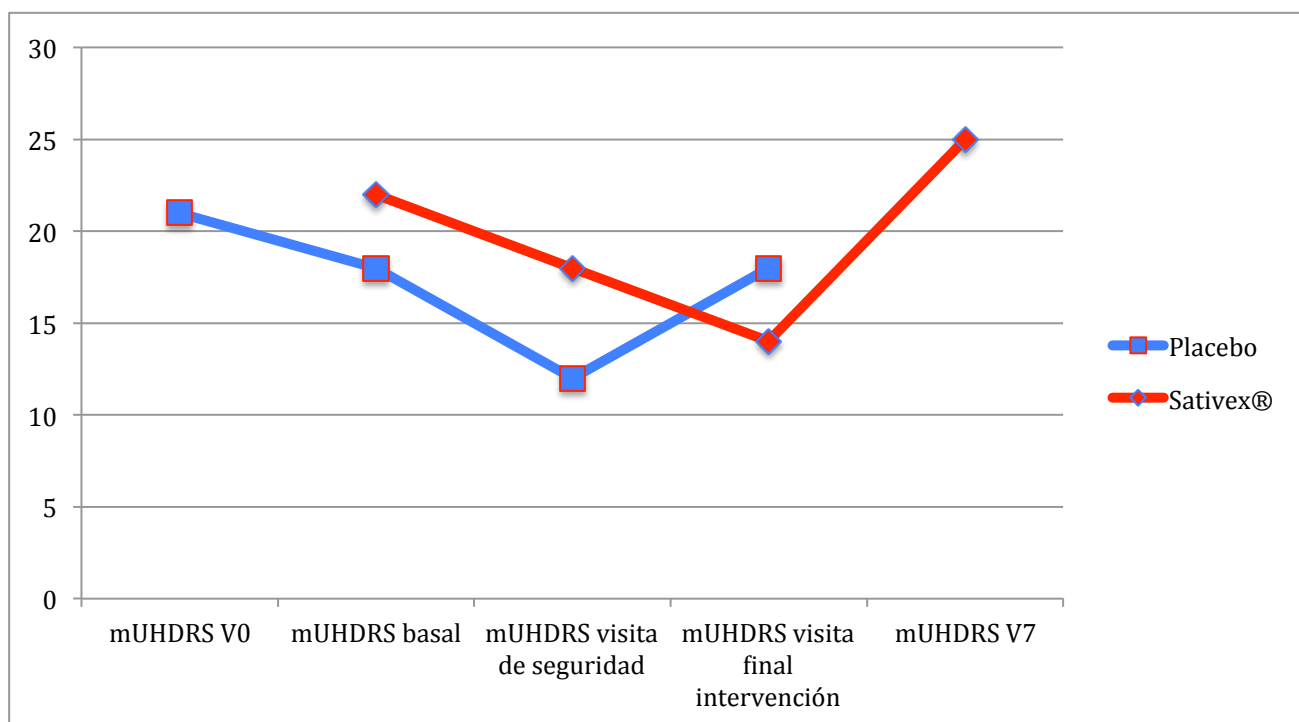
**Gráfico V-2. Evolución de la mUHDRS en el paciente SAT-102.**

En el gráfico se aprecia la discreta mejoría con Sativex® y el empeoramiento con el placebo en 3 meses. Además, tras la retirada de la medicación activa, el paciente refirió empeoramiento leve de la ansiedad y peor calidad del sueño, con 2 despertares por

noche. Tal vez se pueda tratar de una mejoría con la medicación, no apreciada en el primer periodo, pero sí en el segundo, al retirar el fármaco activo. También podría tratarse de un empeoramiento por abstinencia tras la retirada de la medicación activa.

c. **SAT-103:**

La tercera paciente fue una mujer también con poco tiempo de evolución de la enfermedad, con predominio del corea entre los síntomas motores y poca afectación psiquiátrica y cognitiva. Esta paciente recibió placebo en el primer periodo y tratamiento activo en el segundo periodo. También toleró dosis máximas de 12 pulverizaciones al día con ambas intervenciones. En este caso, la paciente presentó una gran mejoría inicial con el placebo, que se objetivó en la visita de seguridad. El efecto duró hasta 6 semanas, pero después volvió casi a su situación basal. Sin embargo con el tratamiento con Sativex® también presentó mejoría, que mantuvo hasta el final del tratamiento, empeorando al retirar el mismo.



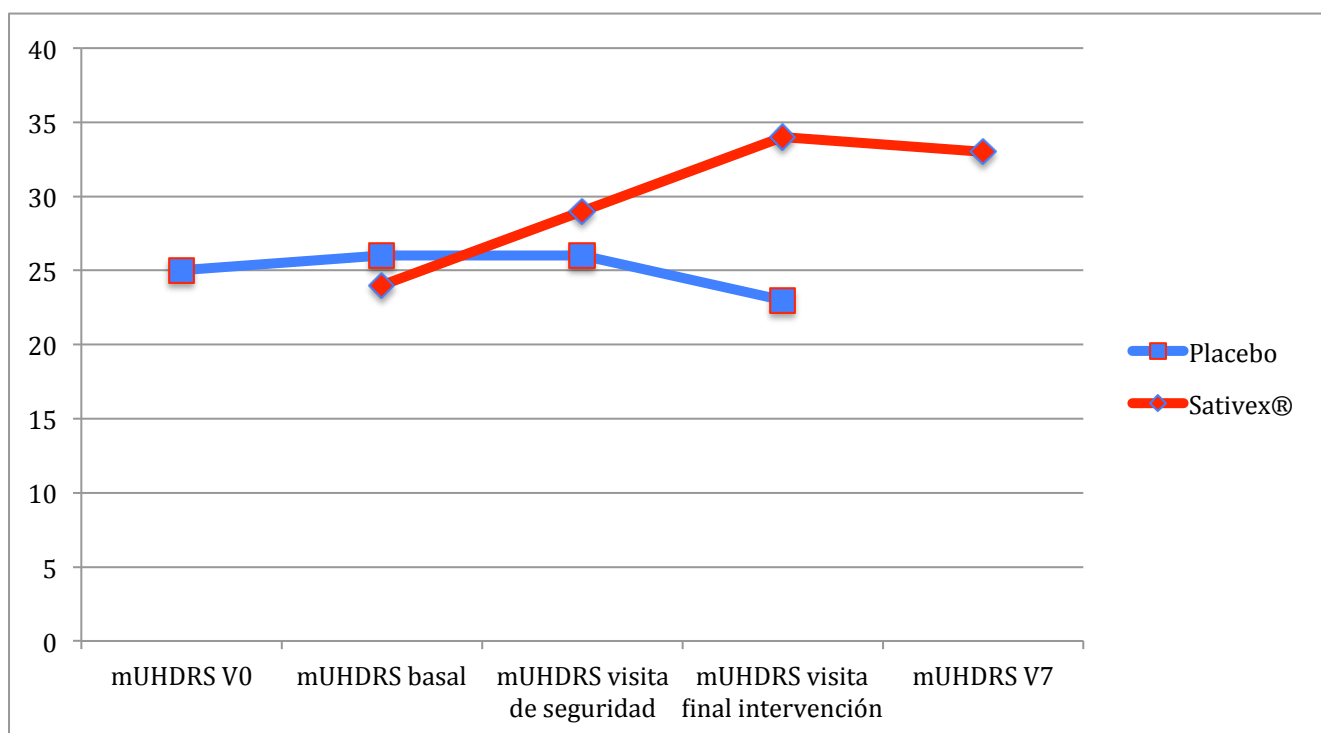
**Gráfico V-3. Evolución de la mUHDRS en la paciente SAT-103.**

En el gráfico se aprecia claramente la mejoría inicial en la mUHDRS con placebo que no se mantiene al cabo de 12 semanas. Este hecho es compatible con el conocido efecto placebo. Con el tratamiento con Sativex®, la mejoría persiste las 12 semanas, con claro empeoramiento al retirar la medicación, como se aprecia en la visita 7.

También presentó clara mejoría subjetiva en el segundo periodo de la ansiedad, de estado de ánimo y del sueño, que no presentó en el primer periodo.

d. **SAT-104:**

Éste es el único participante del ensayo que presentaba la variante juvenil de la EH. En el momento en el que inició su participación, el paciente estaba presentando una rápida progresión de sus síntomas motores, con claro predominio del parkinsonismo y deterioro cognitivo. También toleró dosis máximas de ambas intervenciones terapéuticas. En este caso, el primer periodo correspondió al placebo y el segundo al tratamiento con Sativex®. Con el placebo se mantuvo estable, incluso presentó una discreta mejoría. En el periodo con Sativex® hubo un claro empeoramiento general.



**Gráfico V-4. Evolución de la mUHDRS en el paciente SAT-104.**

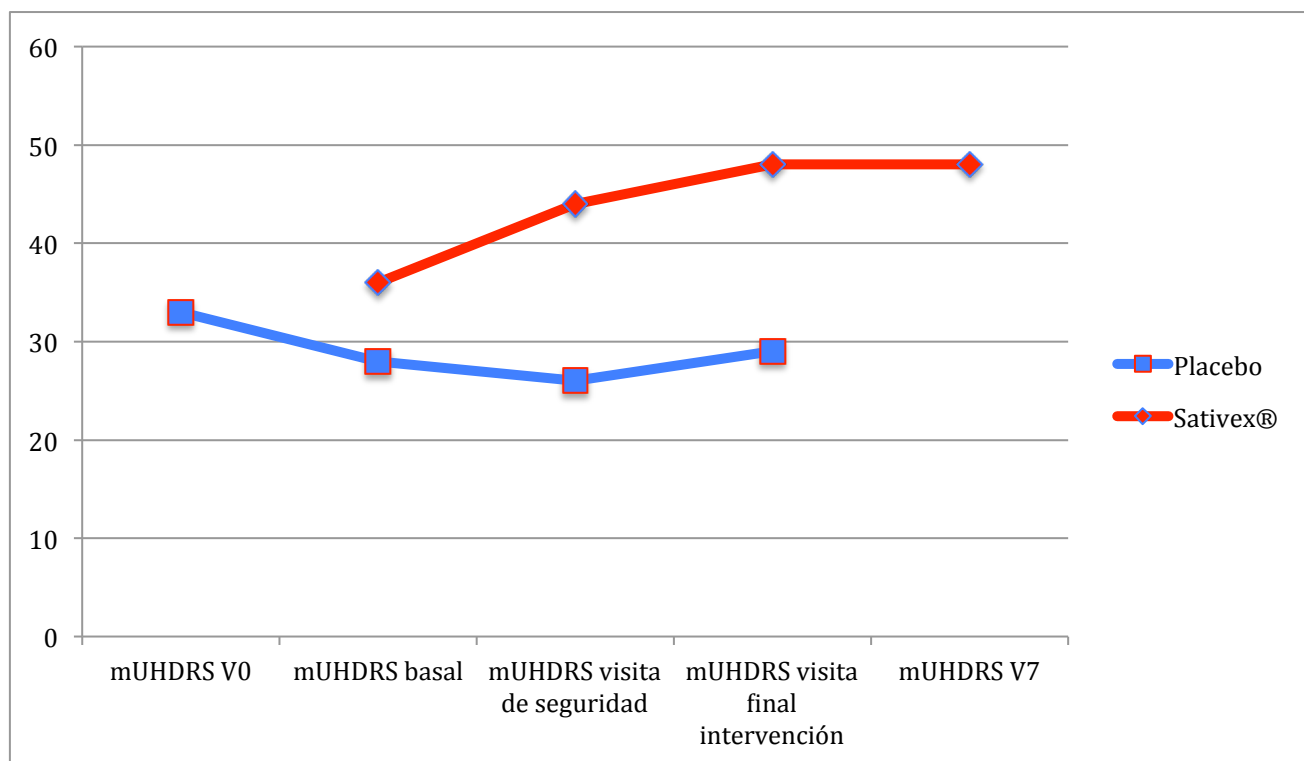
En el gráfico se representa la evolución de la mUHDRS, apreciando la discreta mejoría con placebo y el deterioro con el tratamiento activo. Al retirar el tratamiento activo, el deterioro persistió y, en visitas posteriores, el empeoramiento fue evidente y muy rápido.



También en la segunda fase hubo deterioro a nivel psiquiátrico con mayor ansiedad, mayor apatía y peor sueño. Desde un punto de vista cognitivo también se objetivó un claro deterioro en los tests neuropsicológicos.

**e. SAT-105:**

Esta paciente también presentaba sintomatología avanzada de la EH, con predominio del parkinsonismo a nivel motor y clara afectación cognitiva. Recibió placebo en el primer periodo y Sativex® en el segundo. Toleró dosis máximas en ambas fases. No se apreciaron cambios claros en el primer periodo, sin embargo sí hubo una clara progresión en el segundo periodo, coincidiendo con la toma de Sativex®.



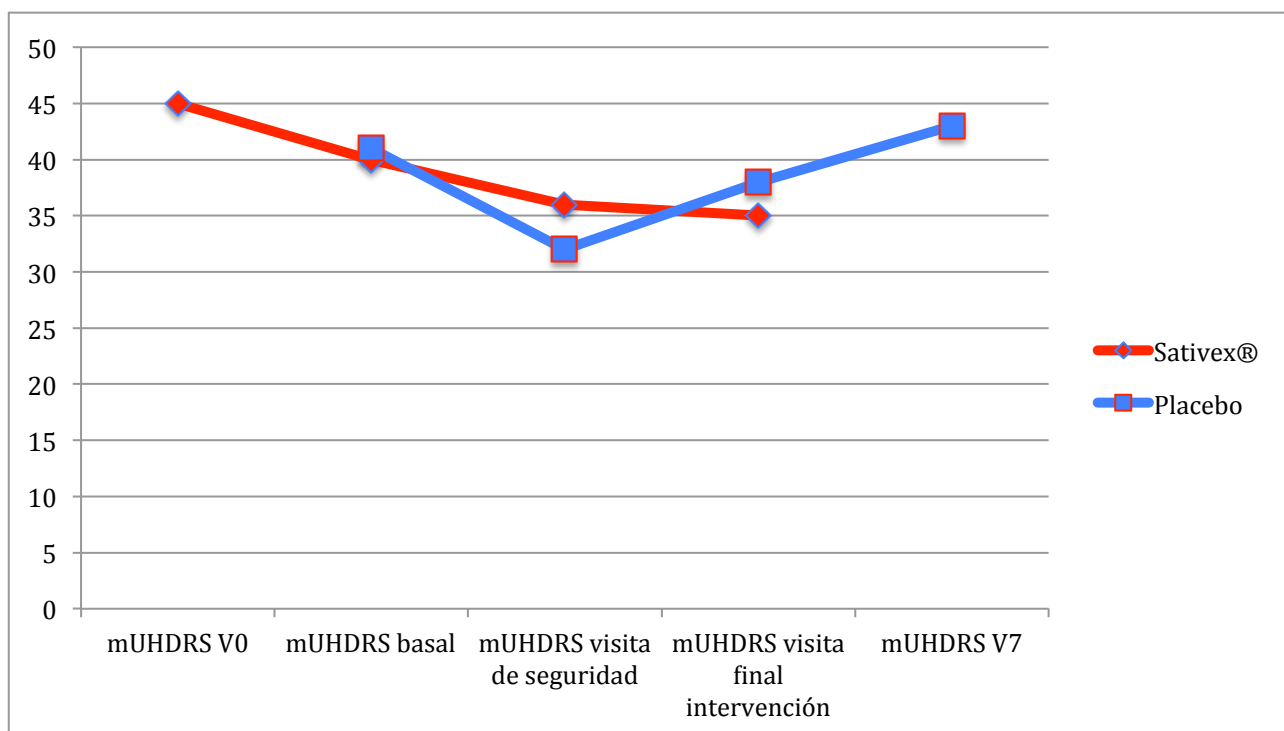
**Gráfico V-5. Evolución de la mUHDRS en la paciente SAT-105.**

En el gráfico se aprecia el comportamiento de la escala mUHDRS, con discreta mejoría en el periodo con placebo y claro deterioro motor en el periodo con Sativex®.

También a nivel psiquiátrico se apreció la progresión, con mayor apatía, incluso aumento de la agresividad y deterioro cognitivo.

f. **SAT-106:**

Se trataba de una mujer en edad avanzada con muchos años de evolución de su enfermedad. En su sintomatología predominaba el deterioro cognitivo y la inestabilidad para la marcha. Esta paciente recibió Sativex® en el primer periodo y placebo en el segundo. No toleró dosis mayores de 10 pulverizaciones al día con la medicación activa por mareos ortostáticos, que se resolvieron al bajar a esa dosis. Con el placebo sí toleró las dosis máximas de 12 pulverizaciones al día. En el cómputo general, se apreció mejoría en el primer periodo del ensayo y progresión de su enfermedad en el segundo.



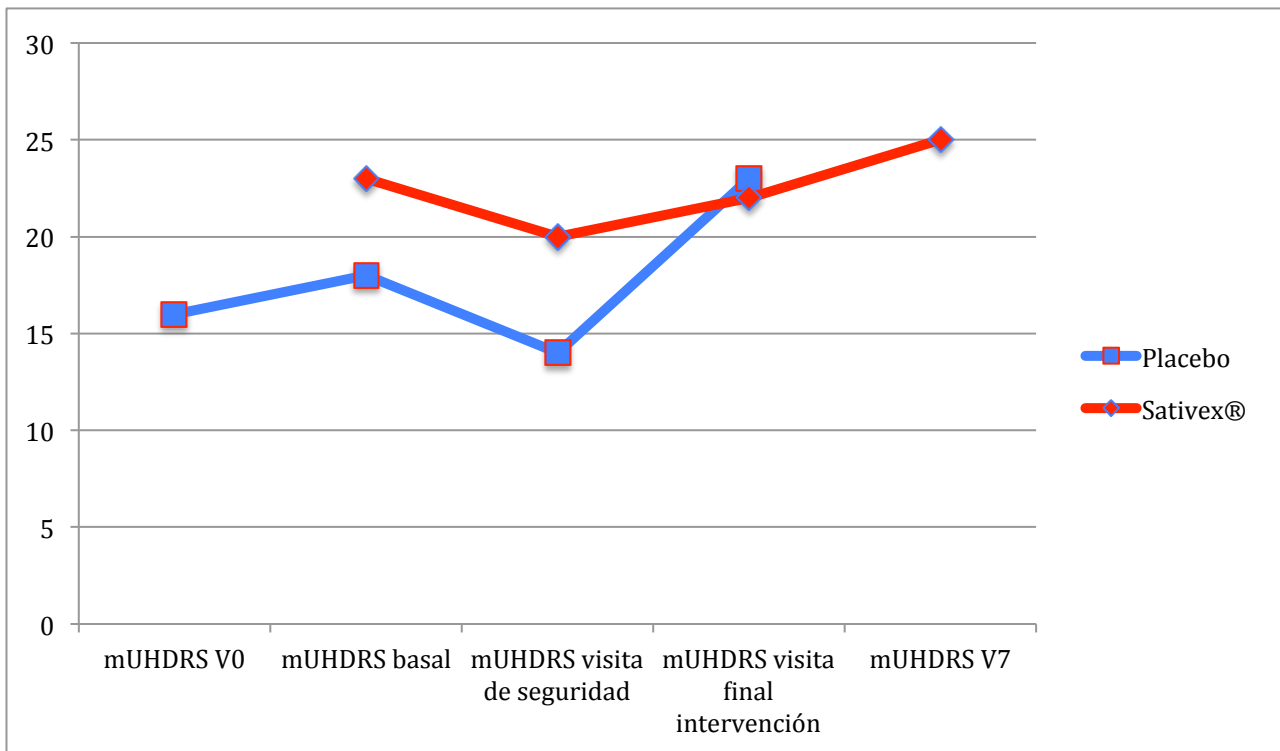
**Gráfico V-6. Evolución de la mUHDRS en la paciente SAT-106.**

En el gráfico, se aprecia el comportamiento de la mUHDRS, representativo de los cambios generales. Hubo mejoría de la escala en el primer periodo con Sativex®, que empeoró en el periodo de lavado. En la fase de placebo hubo una mejoría inicial, que no persistió a las 12 semanas, evidenciándose la progresión de la enfermedad incluso tras la retirada de la medicación, en la visita final del estudio.

No se apreciaron cambios en la ansiedad ni a nivel cognitivo en los tests neuropsicológicos, aunque sí refirió discreta mejoría en la calidad del sueño y mejor humor con el tratamiento activo.

**g. SAT-107:**

También era un paciente de edad avanzada, con muchos años de evolución de su enfermedad. Sin embargo, este paciente presentaba prácticamente una variante senil o tardía, porque predominaba claramente los síntomas motores con corea, estando prácticamente intacto desde un punto de vista cognitivo y psiquiátrico. Este paciente recibió placebo en el primer periodo y Sativex® en el segundo. Toleró dosis máximas con 12 pulverizaciones al día en ambos periodos.



**Gráfico V-7. Evolución de la mUHDRS en la paciente SAT-107.**

De nuevo, se pudo apreciar un efecto placebo al inicio del primer periodo, que no se mantuvo al final del mismo, incluso con empeoramiento del cómputo general. En el segundo periodo con Sativex® hubo mayor estabilidad, con incluso discreta mejoría, que empeoró en la visita final tras la retirada de la medicación.

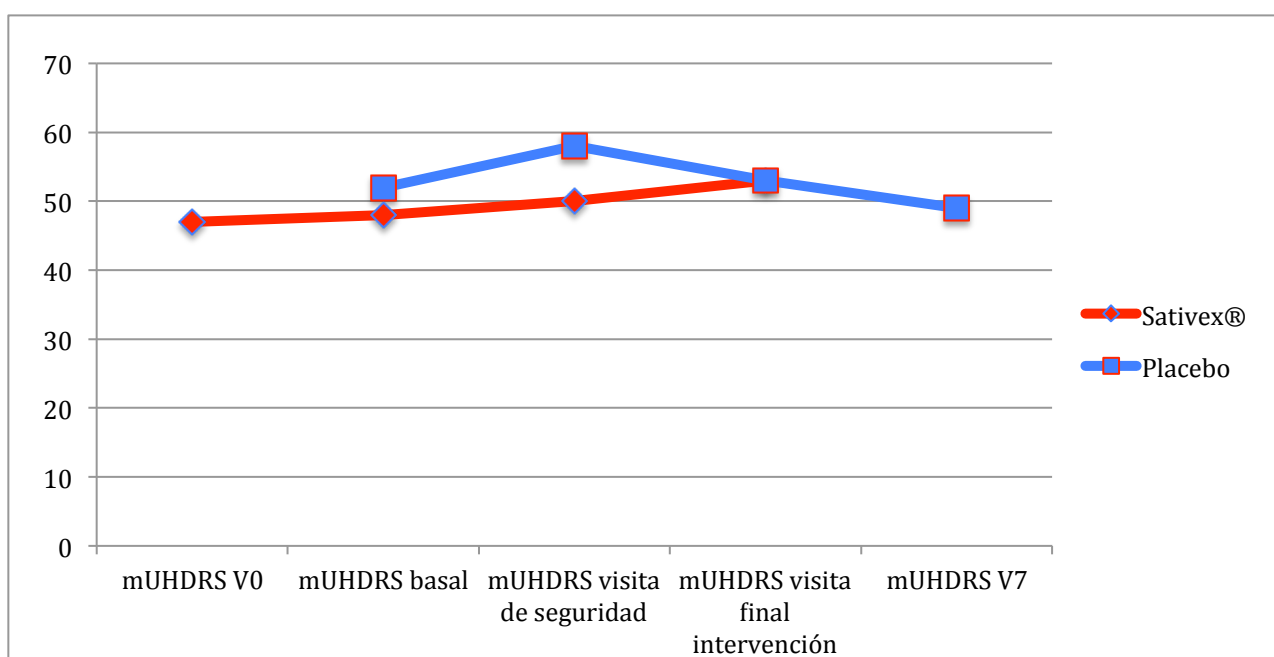
En el gráfico se representa el comportamiento de las alteraciones motoras, con la mejoría inicial con el placebo pero con claro empeoramiento al final de ese periodo y la estabilidad y discreta mejoría con Sativex®, que empeora en V7 tras la retirada de la medicación.

Desde un punto de vista cognitivo y psiquiátrico, apenas se apreciaron cambios, aunque el paciente sí refería mejor calidad de sueño en el periodo con medicación activa.

**h. SAT-108:**

Se trataba de una paciente mujer en edad media de la vida, con una evolución de unos 5 años, pero con grave progresión. Presentaba importante e incapacitante corea y alteraciones psiquiátricas y cognitivas muy evidentes. Fue la paciente participante del ensayo con el estadio más avanzado de la enfermedad. Recibió Sativex® en el primer periodo y placebo en el segundo. En ambos periodos toleró la dosis máxima de 12 pulverizaciones al día. Apenas se notaron cambios en ninguno de los aspectos evaluados con ninguna de las dos intervenciones.

En el gráfico, se aprecia el poco cambio en las dos fases del estudio en la escala motora. Tampoco hubo cambios evidentes desde el punto vista cognitivo o psiquiátrico. Incluso, se aprecia una discreta mejoría tras la retirada del placebo entre la visita 6 y la visita 7. La progresión en los siguientes meses fue más evidente, precisando suplementos por desnutrición y con una grave alteración psiquiátrica-conductual, que hizo prácticamente imposible su manejo en casa, precisando ser ingresada en una residencia.

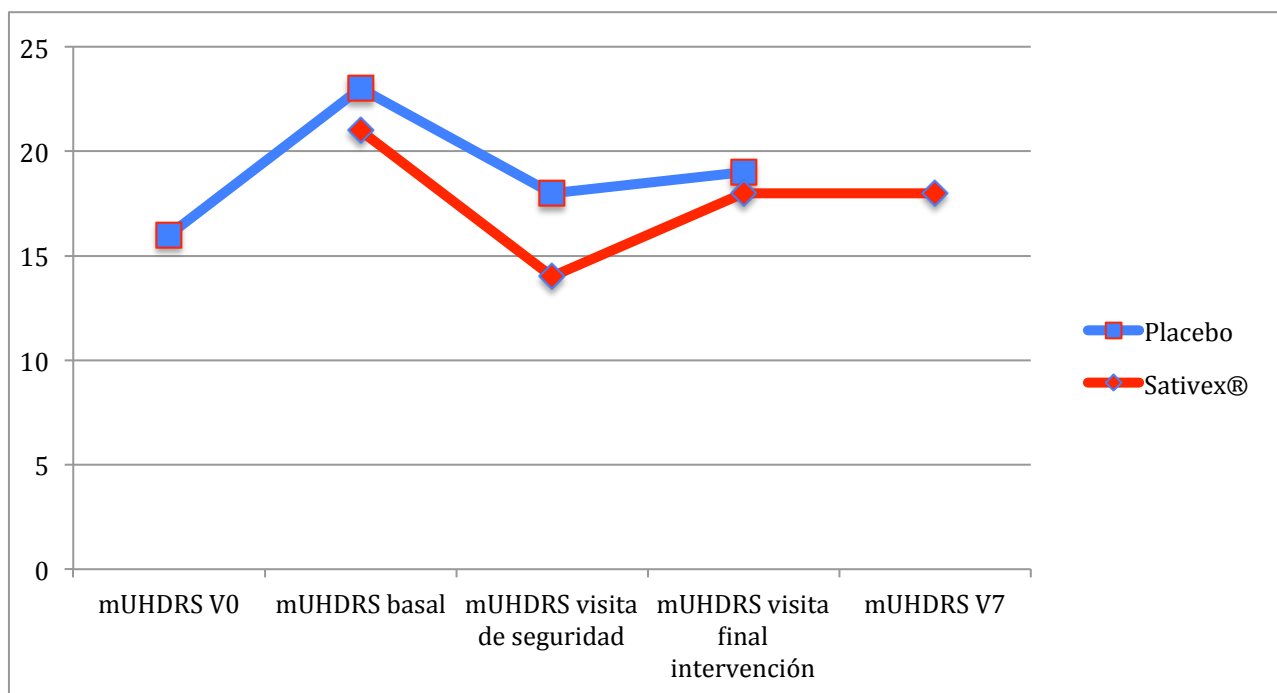


**Gráfico V-8. Evolución de la mUHDRS en la paciente SAT-108.**

i. **SAT-109:**

Paciente varón, también en la edad media de la vida, pero con una EH de evolución leve, con poca afectación motora, psiquiátrica o cognitiva. Recibió placebo en el primer periodo del estudio y Sativex® en el segundo. Toleró las dosis máximas de pulverizaciones al día en ambas fases. En el cómputo general, este paciente presentó una discreta mejoría al inicio de ambas intervenciones, pero que se hizo más persistente con el tratamiento activo. Sobre todo, en lo que se refiere a la mejoría de la ansiedad y la calidad del sueño.

En el gráfico, se presenta la evolución de la escala motora. Se objetiva un empeoramiento evidente entre la visita 0 y la visita basal de ambas intervenciones. Esta variación sólo se puede justificar por la variabilidad propia de la enfermedad, ya que no hubo ninguna intervención entre esas dos fases ni ningún evento adverso.



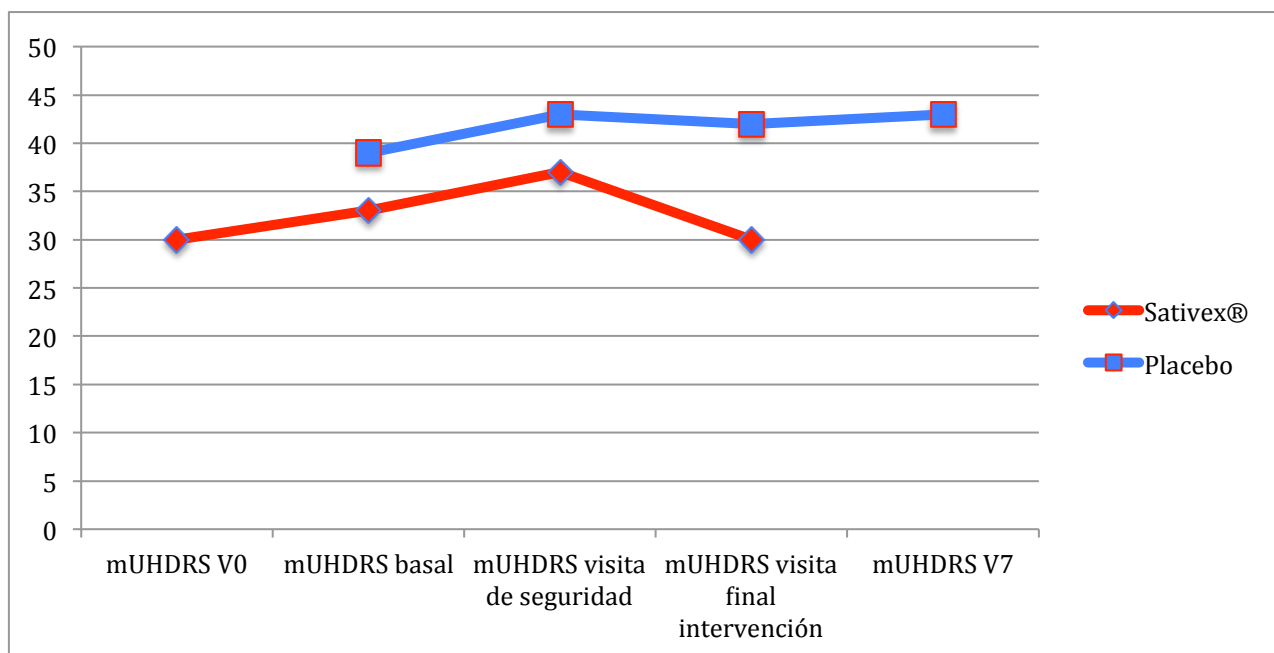
**Gráfico V-9. Evolución de la mUHDRS en el paciente SAT-109.**

Tras el inicio del placebo, se objetiva mejoría en la escala, pero que no se mantiene al final del periodo y empeora claramente al inicio del segundo periodo. Con Sativex® la mejoría inicial es todavía más pronunciada. Tampoco se mantiene, pero el empeoramiento es menor al final del periodo, y se mantiene en la visita final.

Los cambios a nivel psiquiátrico, con menor ansiedad, mejor humor y mejor calidad del sueño, fueron más evidentes con el tratamiento activo respecto al placebo, que los cambios motores.

j. **SAT-110:**

Paciente varón, con una edad un poco más avanzada. En su sintomatología predominaba la afectación motora con corea, pero también eran evidentes las alteraciones cognitivas y psiquiátricas. Recibió Sativex® en el primer periodo y placebo en el segundo. Toleró las dosis máximas de 12 pulverizaciones al día con ambas intervenciones. Presentó mejoría con el tratamiento activo y empeoramiento con el placebo, sobre todo en lo que se refiere a la ansiedad y al estado de ánimo.



**Gráfico V-10. Evolución de la mUHDRS en el paciente SAT-110.**

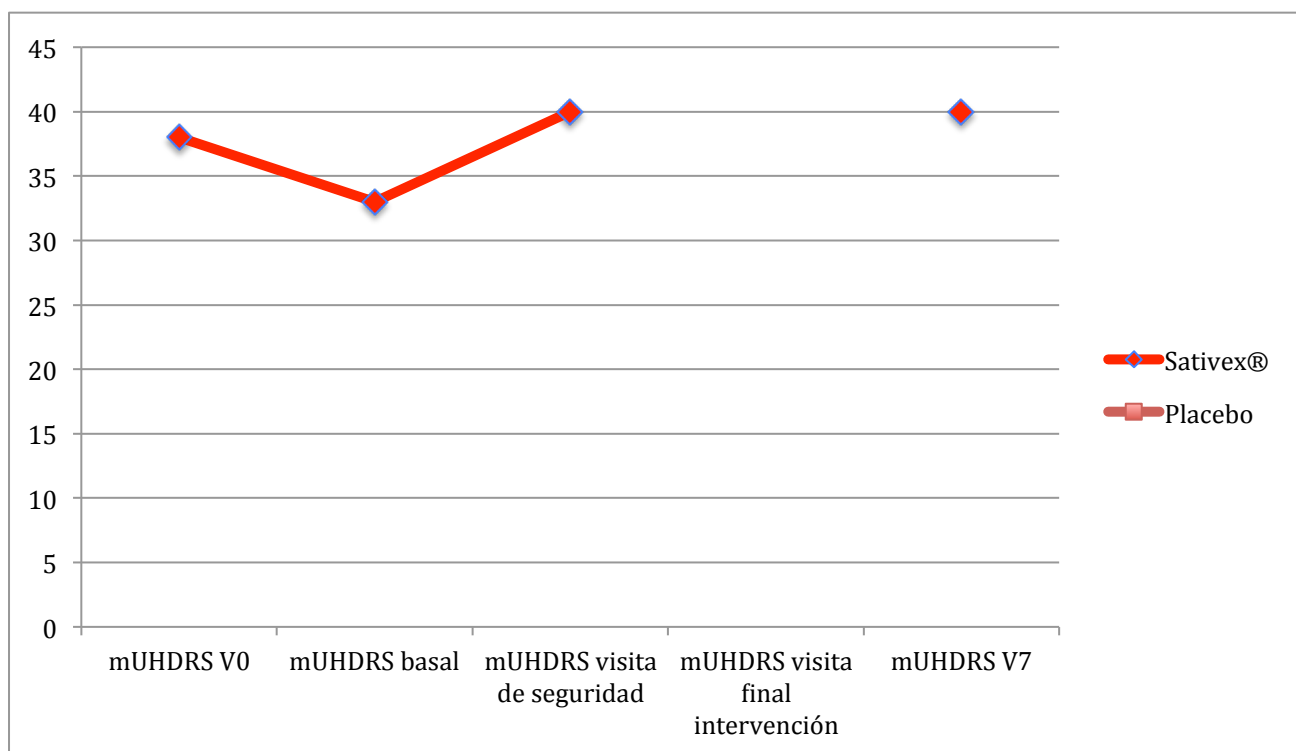
En el gráfico, se aprecia la mejoría de la escala motora con Sativex®, sobre todo al final del primer periodo, pero la mejoría se pierde cuando inicia el tratamiento con placebo, permaneciendo estable posteriormente. Subjetivamente, el paciente refirió clara mejoría con Sativex® respecto al placebo.

**k. SAT-111:**

Éste fue el paciente que decidió retirar su consentimiento informado en la visita 3, por lo que sólo disponemos de sus evaluaciones en la visita 0, en la basal del primer periodo, en la de seguridad del primer periodo y la visita final del estudio, que se hizo 4 semanas después de la retirada de su consentimiento informado. Este paciente era de edad avanzada, con bastantes años de evolución de su enfermedad, aunque el diagnóstico era reciente. Recibió tratamiento con Sativex® durante su participación en el ensayo. No presentó claros eventos adversos ni empeoramiento de su sintomatología con



la medicación. El motivo por el que decidió retirarse del estudio fue por la ausencia de mejoría y el deseo de no ser sometido a las evaluaciones pertinentes del ensayo.



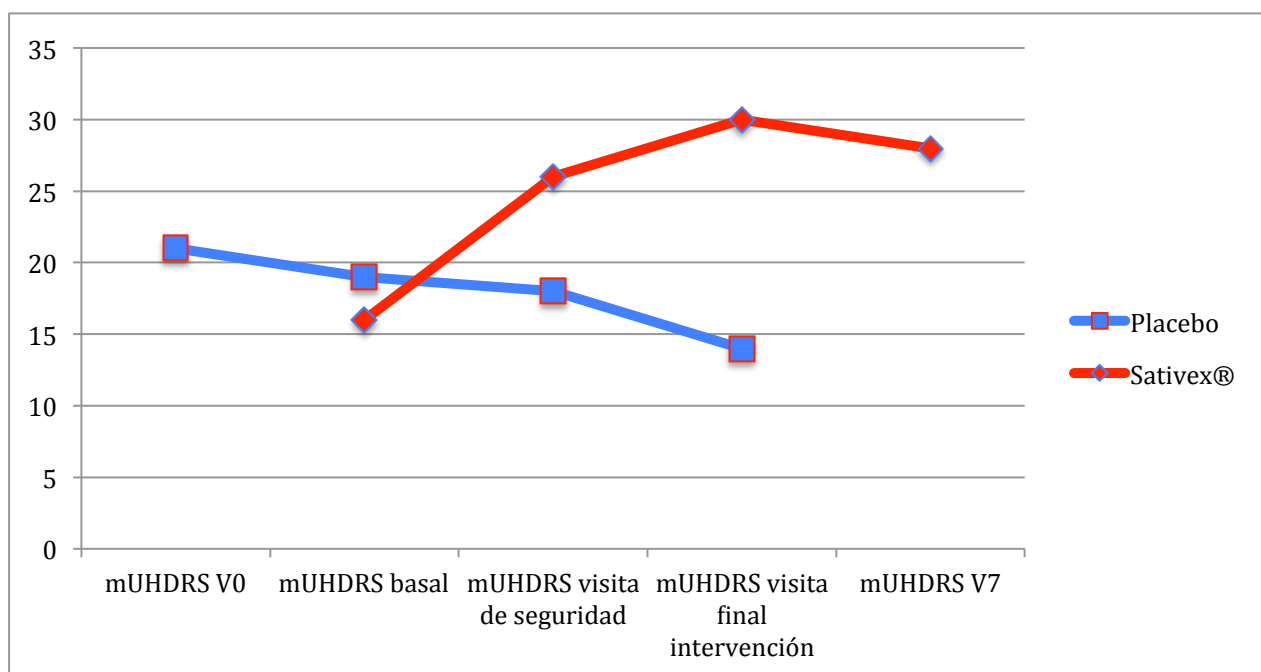
**Gráfico V-11. Evolución de la mUHDRS en el paciente SAT-111.**

En el gráfico está representada su evolución desde un punto de vista motor. Se objetiva un discreto empeoramiento en la visita de seguridad, que persiste en la visita final del estudio. No fue posible realizar los tests neuropsicológicos, por lo que la información aportada por este paciente es escasa.

**I. SAT-112:**

Este participante estaba en la edad media de la vida. Llevaba pocos años de evolución con sintomatología de EH, y había sido diagnosticado el año anterior. En su sintomatología, predominaban las alteraciones motoras en forma de corea, aunque también había un importante componente psiquiátrico con ansiedad y depresión. La

afectación cognitiva era escasa. Recibió placebo en el primer periodo del estudio y Sativex® en el segundo. No pudo tolerar dosis mayores de 8 pulverizaciones al día cuando recibió Sativex®, pero sí con placebo, que llegó a 12. En el cómputo general de todas las evaluaciones realizadas, este paciente refirió una discreta mejoría con placebo y un claro deterioro con Sativex®.



**Gráfico V-12. Evolución de la mUHDRS en el paciente SAT-112.**

Tal y como se aprecia en el gráfico, en su evolución de la escala motora, se aprecia una tendencia a la mejoría con el placebo, que incluso persiste hasta el final del primer periodo. Sin embargo, con la medicación activa presenta un claro deterioro, que persiste hasta que se le retira la medicación entre la visita 6 y la visita 7.

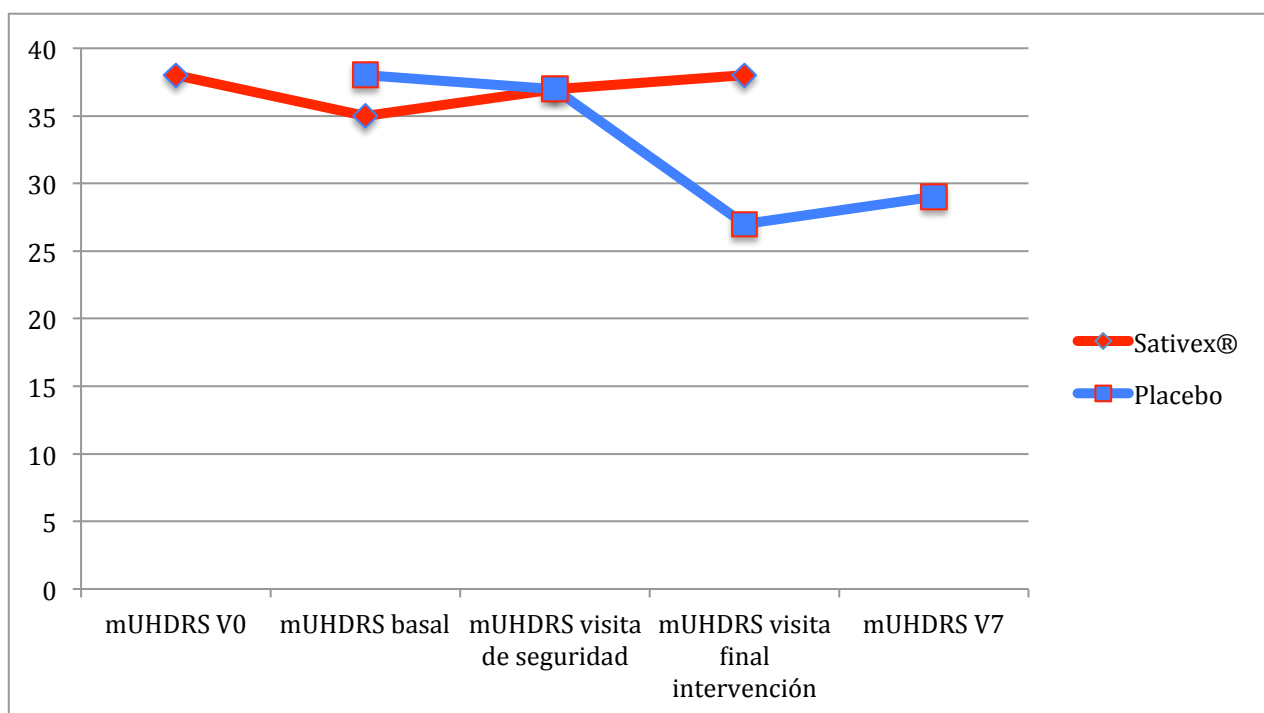
Desde el punto de vista psiquiátrico, ocurrió algo parecido, con claro deterioro de la ansiedad y la depresión con el tratamiento activo. Cognitivamente los cambios fueron escasos.

m. **SAT-113:**

Paciente mujer de edad avanzada y con muchos años de evolución de la enfermedad. Entre sus síntomas motores predominaba el parkinsonismo con una marcada hipomimia. Recibió Sativex® en el primer periodo y placebo en el segundo. Toleró dosis máximas en ambas intervenciones.

Apenas presentó cambios con la medicación activa, aunque cabe resaltar clara mejoría de la hipomimia, con mucha mejor expresión facial, que se mantuvo incluso después de retirar la medicación activa. Con el placebo sí presento mejoría, tanto desde un punto de vista motor como psiquiátrico, con mejor estado de ánimo.

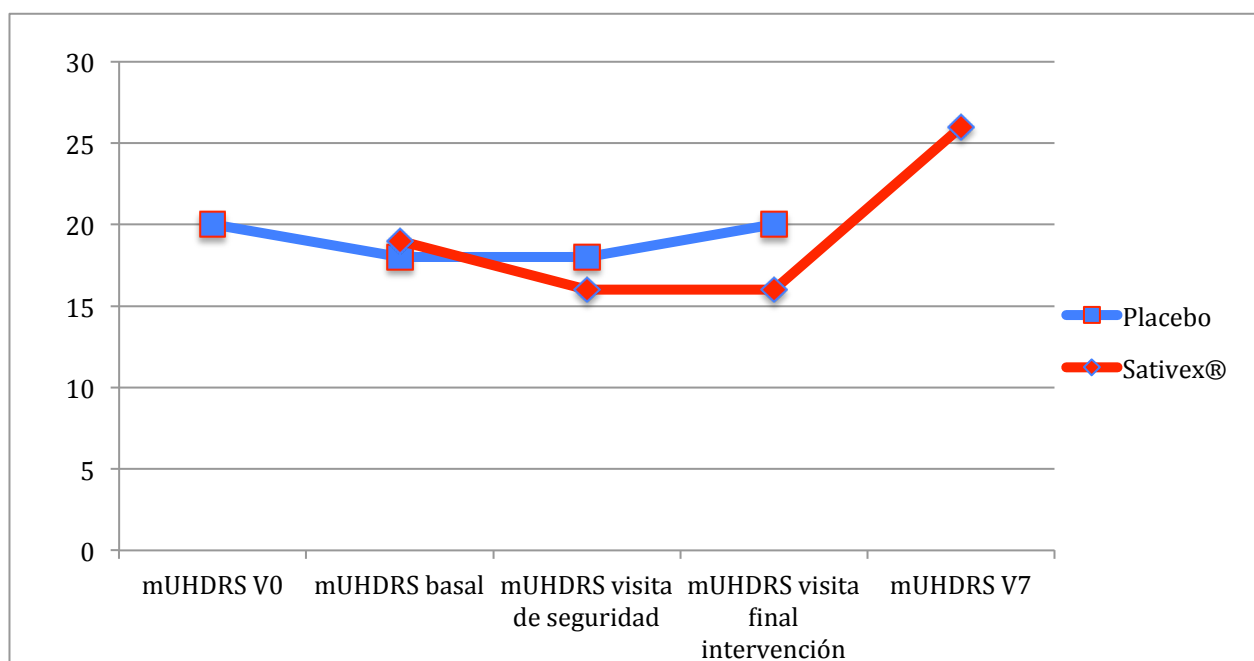
En el gráfico se aprecian los discretos cambios en la escala motora con ambas intervenciones.



**Gráfico V-13. Evolución de la mUHDRS en la paciente SAT-113.**

n. **SAT-114:**

Paciente en edad media de la vida, con pocos años de evolución y poca repercusión funcional de su sintomatología. Había un predominio de alteraciones psiquiátricas con ansiedad y comportamiento agresivo ocasional. Este paciente recibió placebo en el primer periodo y Sativex® en el segundo. Curiosamente, no toleró dosis mayores de 10 pulverizaciones al día con placebo, según decía por aumento de la ansiedad con dosis mayores. No hubo cambios de ningún tipo, incluso discreto empeoramiento de la ansiedad con el placebo. Sin embargo sí refirió clara mejoría en el periodo con Sativex®, con menos ansiedad, menor agresividad, mejor calidad del sueño y mejor ánimo.



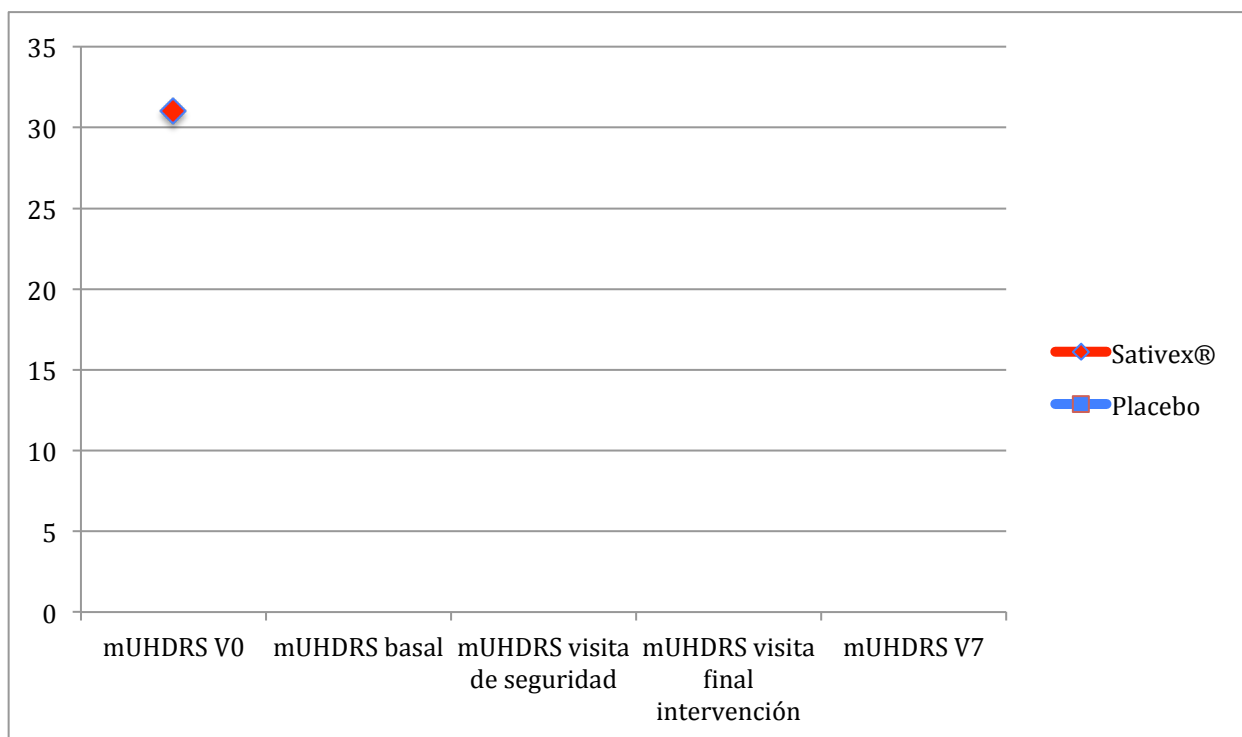
**Gráfico V-14. Evolución de la mUHDRS en el paciente SAT-114.**

En el gráfico también se aprecia la mejoría en la escala motora, con un claro empeoramiento al retirar la medicación, entre la visita 6 y 7. Tal vez se pueda tratar de un

empeoramiento transitorio por la pérdida de la mejoría previa o incluso un posible síndrome de abstinencia. Al retirar la medicación claramente empeoró su ansiedad.

**o. SAT-115:**

Este paciente fue retirado del estudio entre la visita 0 y la visita 1. El motivo fue que, antes de la aleatorización, el paciente sufrió un cólico biliar por colelitiasis, que le iba a obligar a una cirugía en los siguientes meses. Sólo tenemos recogidas las valoraciones de la visita 0, por lo que la información para el ensayo aportada por este paciente es nula. Este paciente pudo ser sustituido por otro paciente, ya que su pérdida fue antes de la aleatorización.



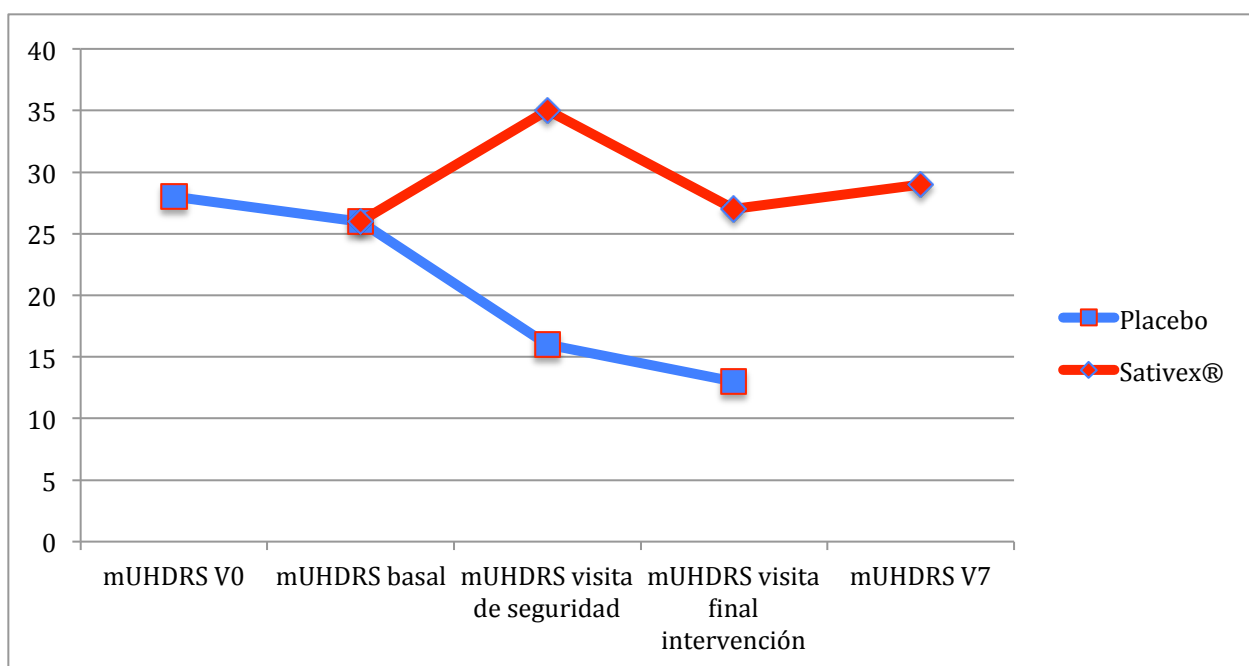
**Gráfico V-15. Evaluación de la mUHDRS en la visita 0 del paciente SAT-115.**

p. **SAT-116:**

Paciente mujer, que estaba en el límite superior de edad para entrar en el estudio. Presentaba una larga evolución, con una sintomatología en la que predominaban los síntomas motores con corea y un claro componente ansioso-depresivo con grave afectación funcional. Cognitivamente estaba bien.

Esta paciente presentó una espectacular mejoría en el primer periodo del estudio. Curiosamente, fue por efecto placebo, ya que recibió tratamiento con placebo en el primer periodo y Sativex® en el segundo. En ambos periodos toleró dosis máximas de 12 pulverizaciones al día. La mejoría con el placebo se hizo evidente en todos los aspectos, con espectacular mejoría motora y, sobre todo, psiquiátrica, con mejor humor, menor ansiedad, mejoría en el sueño.

En el gráfico, se aprecia una mejoría de hasta 13 puntos en la escala mUHDRS con el placebo. La mejoría se perdió al retirar el placebo. Durante el periodo con Sativex® hubo un discreto empeoramiento inicial y posterior vuelta a su situación basal.



**Gráfico V-16. Evolución de la mUHDRS en la paciente SAT-116.**

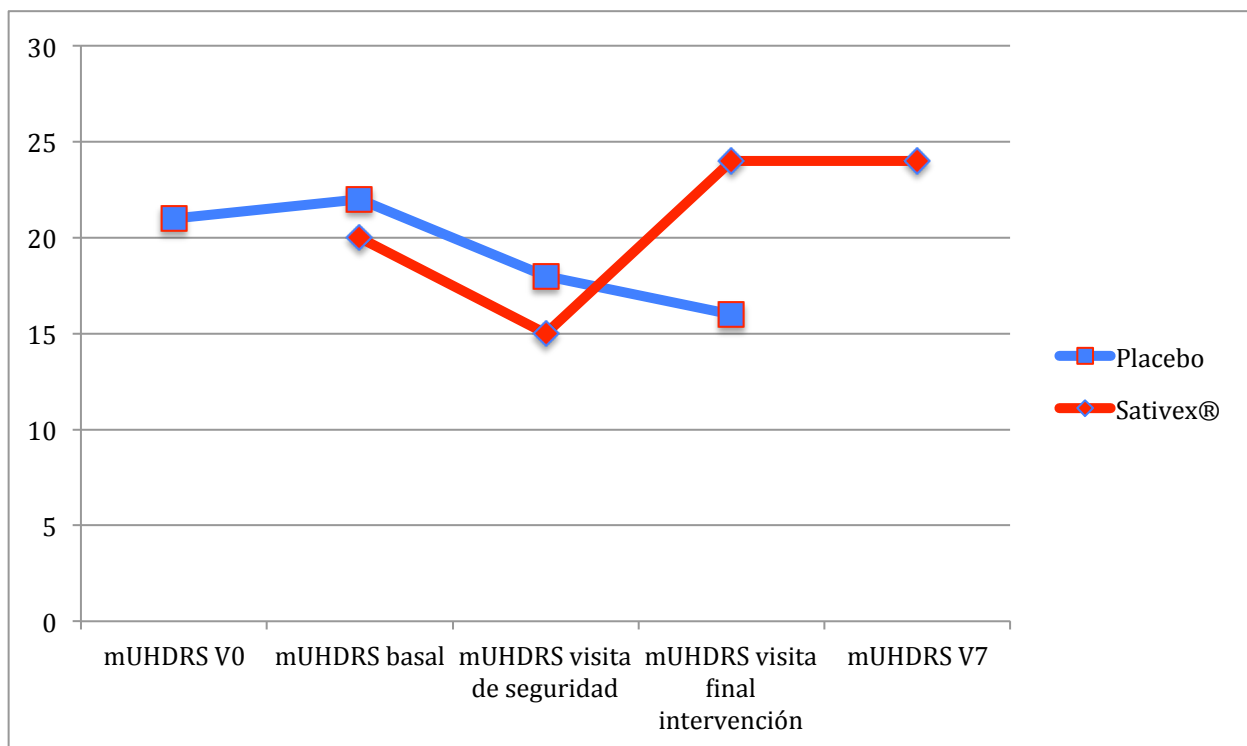
Aquí, es importante resaltar la importante influencia que ha podido ejercer el efecto placebo en esta paciente, para el cómputo general del beneficio del placebo en el ensayo.

q. **SAT-117:**

Esta participante estaba en la edad media de la vida. También llevaba varios años de evolución de su enfermedad. En ella predominaba una gran labilidad emocional y conducta esotérica, con obsesiva fijación por temas religiosos budistas. Recibió placebo en el primer periodo del estudio y Sativex® en el segundo. En ambos periodos toleró dosis máximas.

Presentó mejoría en general con el tratamiento con placebo. Mejoró en las escalas motoras y en las que evaluaron la ansiedad y la depresión. También el marido refirió un comportamiento menos obsesivo. En el segundo periodo, con Sativex®, también presentó una mejoría inicial, pero no se mantuvo. En la visita final de la intervención hubo un claro empeoramiento motor, de la ansiedad y de la depresión.

En el gráfico, se observan los cambios descritos en las escalas motoras, que son equivalentes a los observados en las otras áreas.



**Gráfico V-17. Evolución de la mUHDRS en la paciente SAT-117.**

**r. SAT-118:**

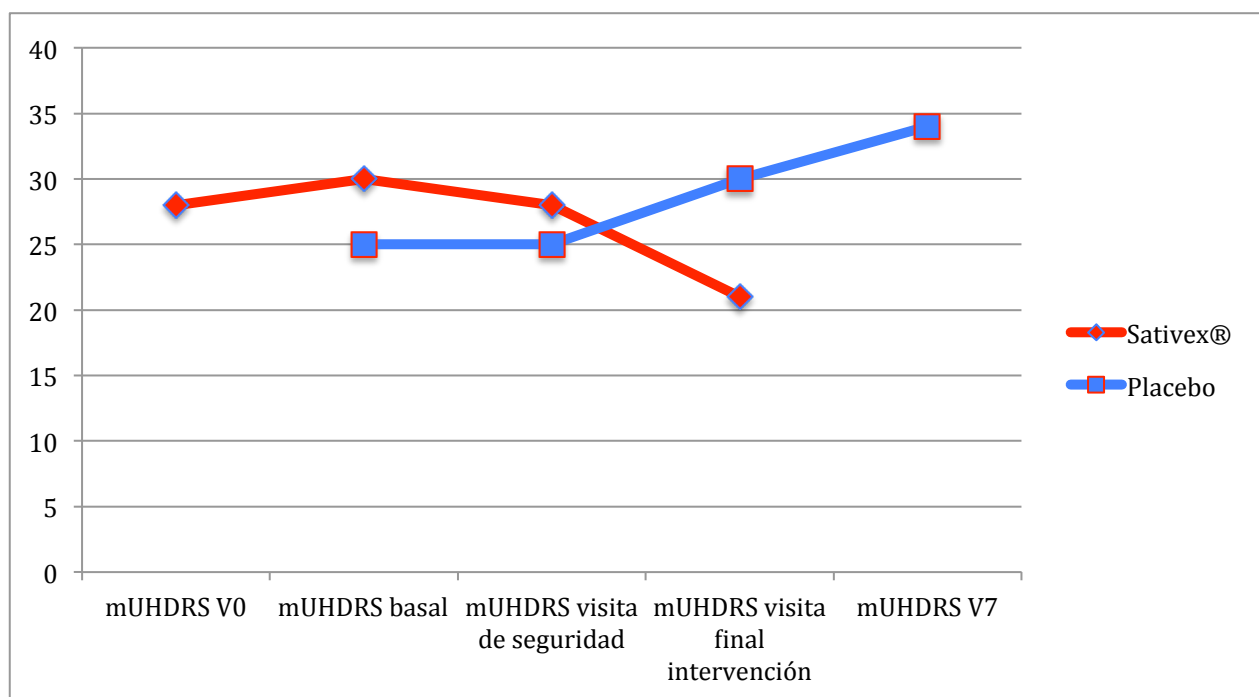
Se trataba de un paciente de edad media, con pocos años de evolución de su enfermedad. Predominaban los síntomas motores, aunque también padecía ansiedad y depresión leve. Recibió Sativex® en la primera fase del estudio y placebo en la segunda. Toleró dosis máximas en ambos periodos del estudio.

Presentó discreta mejoría en la visita inicial, que se hizo más evidente en la visita final tras la intervención con Sativex®. Mejoró en todos los aspectos, desde el punto de vista motor, pero también en la ansiedad, el ánimo y la apatía. También mejoró mucho la calidad del sueño. En el segundo periodo con placebo, perdió la mejoría obtenida en todos los aspectos descritos. Cabe destacar de este paciente que, en el segundo periodo, tomando placebo, se objetivó en el análisis de su LCR tras la punción lumbar de la visita 6, una linfocitosis compatible con una meningitis linfocitaria, que fue en todo momento



asintomática. El equipo investigador se puso en contacto con el paciente al detectar el resultado y fue reevaluado en la visita final del ensayo, sin objetivarse ningún síntoma de ese evento adverso, por lo que no se consideró de gravedad.

En el gráfico se aprecia el comportamiento en el ensayo del paciente en la escala motora, completamente equivalente al comportamiento de las evaluaciones psiquiátricas.



**Gráfico V-18. Evolución de la mUHDRS en el paciente SAT-118.**

**s. SAT-119:**

Paciente varón muy joven y con poco tiempo de evolución de su enfermedad. Por la edad de inicio, no era una variante juvenil, aunque clínicamente lo parecía. Predominaban los síntomas motores consistentes en parkinsonismo, con rigidez y ataxia para la marcha. También tenía ansiedad y depresión. El deterioro cognitivo era evidente, aunque todavía de grado leve. Este paciente empezó el ensayo con la fase de placebo y recibió Sativex® en la segunda fase. Toleró la dosis máxima en ambas fases.

Hubo mejoría en la fase de placebo bastante importante, con disminución de su puntuación en la escala motora (ver gráfico), menor ansiedad, menor depresión y mejor calidad del sueño. Perdió ese beneficio en el periodo de lavado entre ambas fases. Durante la fase con Sativex® no hubo apenas cambios en ninguno de sus síntomas, sin modificarse en absoluto la escala mUHDRS. Sin embargo, al retirar la mediación, entre las visitas 6 y 7, sí hubo un claro empeoramiento. Tal vez por la pérdida de una mejoría no bien evaluada por el posible efecto de abstinencia.

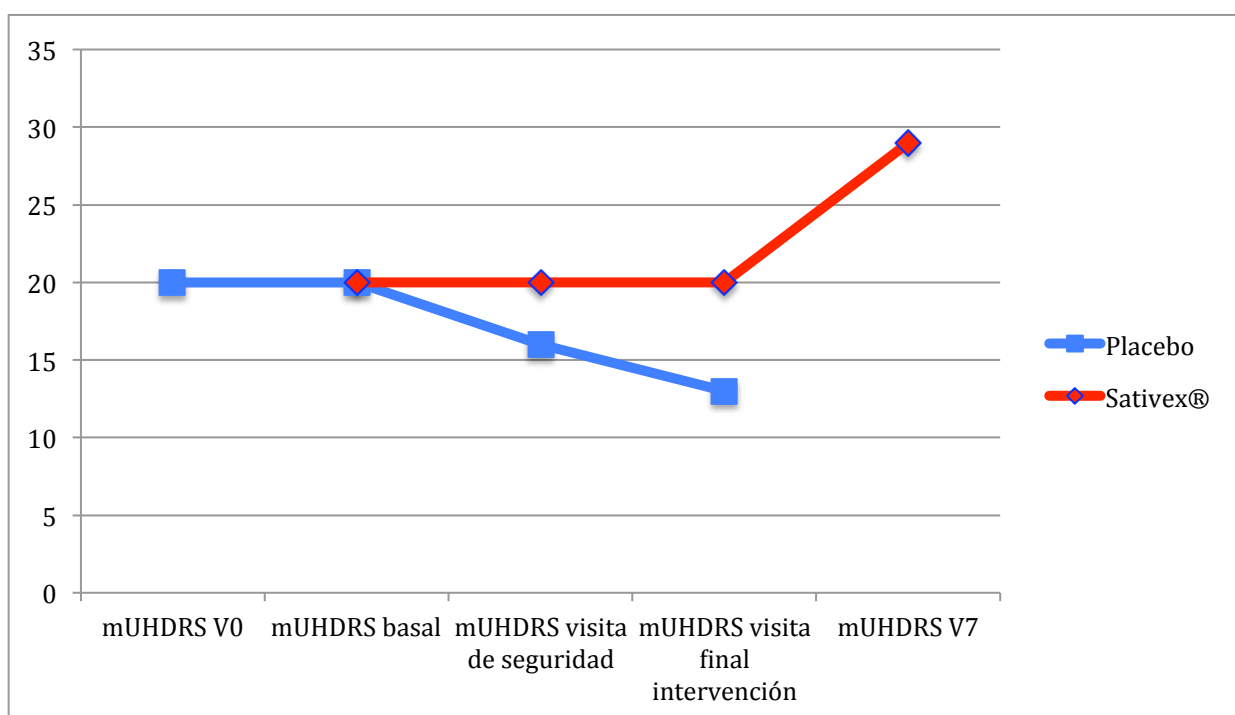


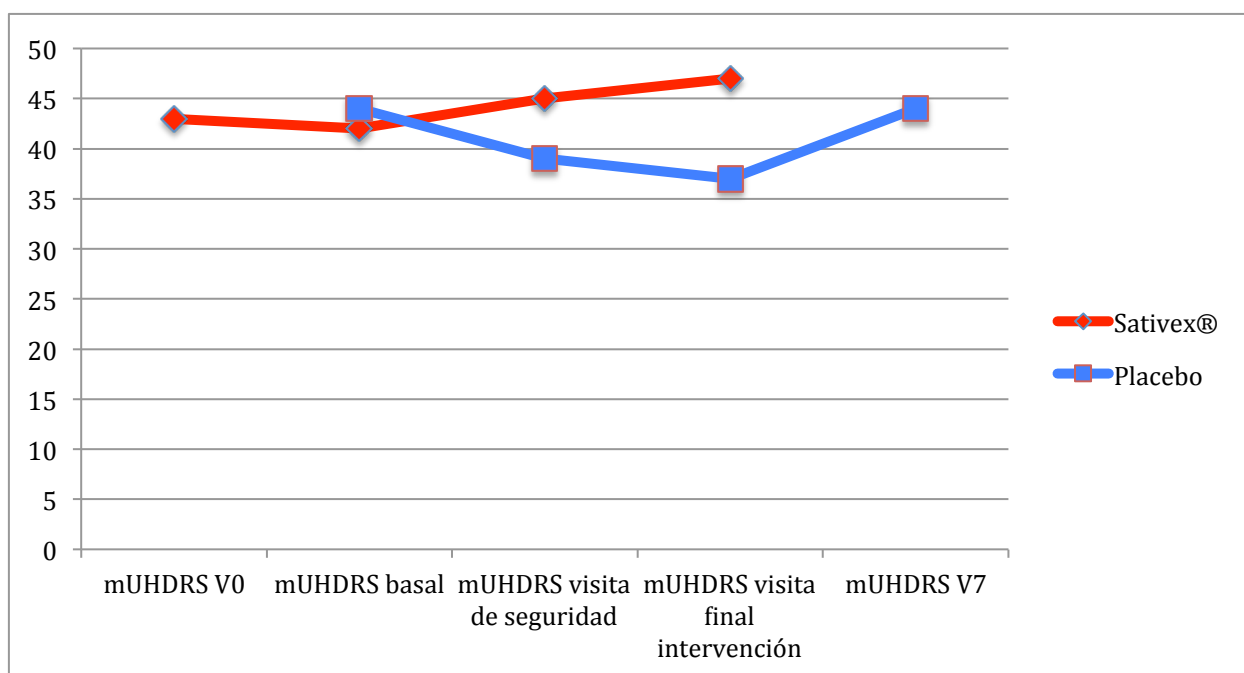
Gráfico V-19. Evolución de la mUHDRS en el paciente SAT-119.

t. **SAT-120:**

Este paciente estaba en la edad media de la vida y llevaba bastantes años de evolución de su enfermedad. También había afectación motora con gran parkinsonismo y ataxia, con alteraciones psiquiátricas importantes, entre ellas ansiedad y agresividad. Cognitivamente había un claro deterioro. Recibió medicación activa con Sativex® en el

primer periodo y placebo en el segundo. Toleró las dosis máximas de 12 pulverizaciones en ambos periodos. Sin embargo, fue el único paciente del ensayo en el que detectamos que se administraba mal la medicación. En la visita de seguridad, el equipo investigador detectó que devolvía los botes usados más llenos de lo habitual. Se le pidió que utilizara la medicación delante del equipo, observando que era incapaz de apretar lo suficiente el pulverizador como para recibir la dosis plena. A partir de ese momento, se le pidió a la madre que fuera ella quien administrara la medicación al paciente. La pérdida de medicación debió ser poca, ya que en el análisis de cannabis en orina no se detectó esa mala adherencia al tratamiento.

En el gráfico se observa que el paciente empeoró con el Sativex®, discretamente desde el punto de vista motor, pero sí hubo empeoramiento de la ansiedad y de la agresividad. Con el placebo, sin embargo, sí hubo una discreta mejoría en todos los aspectos evaluados.

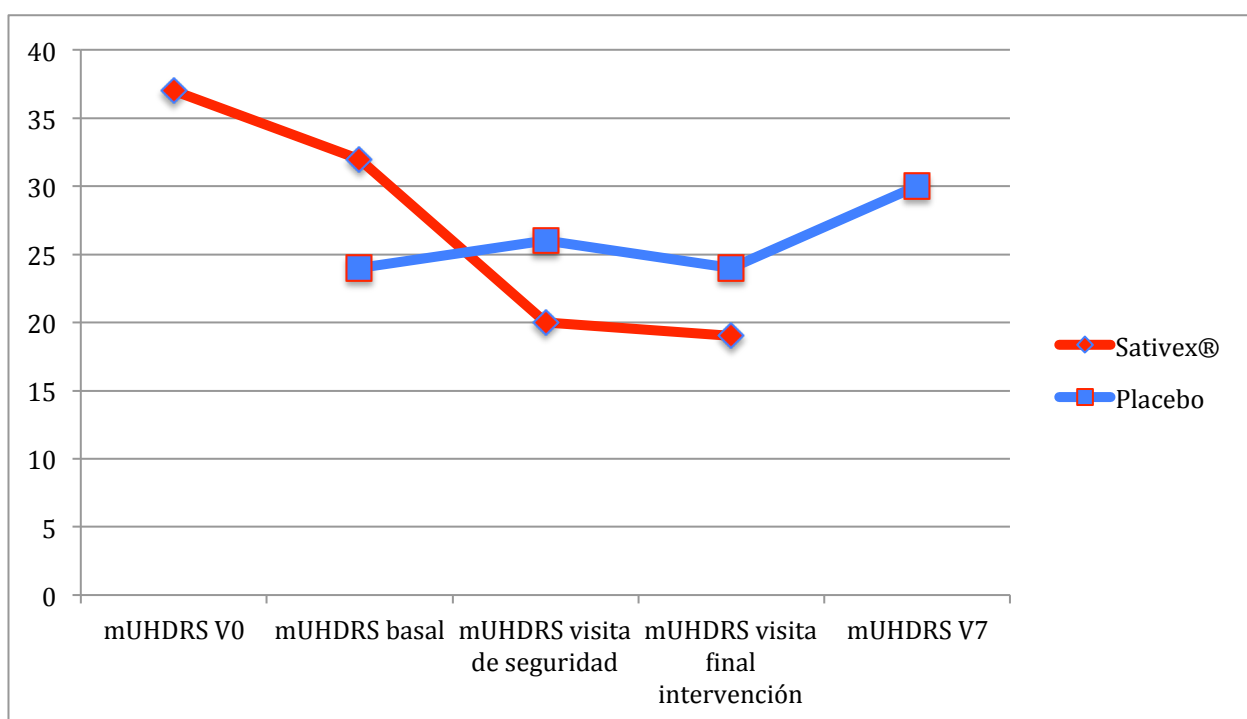


**Gráfico V-20. Evolución de la mUHDRS en el paciente SAT-120.**

u. **SAT-121:**

Se trataba de una mujer en la edad media de la vida. Había sido diagnosticada muchos años atrás, aunque los primeros síntomas habían aparecido unos años antes de entrar en el estudio. En ella predominaban los síntomas motores con corea, estando bastante bien desde el punto de vista cognitivo y psiquiátrico. Recibió Sativex® en el primer periodo del estudio y placebo en el segundo. Toleró dosis máximas en ambos periodos.

Esta paciente presentó los dos únicos eventos adversos graves del estudio, ambos en el periodo con placebo.



**Gráfico V-21. Evolución de la mUHDRS en la paciente SAT-121.**

Tal y como se muestra en el gráfico, la paciente presentó una clara mejoría general con Sativex®, sobre todo en la escala motora, pero también en las evaluaciones de ansiedad y depresión. Además, refería gran mejoría de sus cefaleas habituales

compatibles con migrañas, por lo que disminuyó mucho la toma de antiinflamatorios. En el segundo periodo del ensayo, al retirar la medicación, la paciente empeoró un poco, sin llegar a volver a su situación basal. Con el tiempo, pasados varios meses, sí se perdió esa mejoría. Los eventos adversos graves que presentó en el periodo de tratamiento con placebo fue una anemia microcítica en relación a un sangrado digestivo que se atribuyó al abuso del consumo de analgésicos tipo antiinflamatorios. Necesitó transfusión sanguínea entre la visita 5 y la visita 6. Según la paciente, al cambiar la medicación, perdió el beneficio de la disminución de la frecuencia de sus migrañas, que volvía a ser la habitual. Tras la transfusión y la modificación de su tratamiento analgésico para sus cefaleas, se estabilizó su hemoglobina, como se objetivó en la visita 7. El segundo evento adverso consistió en quedarse embarazada entre la visita 6 y la visita 7. A todos los pacientes del ensayo, se les instruyó en el uso de medidas anticonceptivas durante el ensayo. Por error, la paciente creyó que tras la visita 6, con la retirada de la medicación del segundo periodo del estudio, estaba libre de la posible influencia de la medicación en un supuesto embarazo. Así que dejó de utilizar las medidas anticonceptivas recomendadas. Esto obligó a retrasar el cierre del estudio hasta el nacimiento del niño.

v. **SAT-122:**

Se trataba de una paciente mujer, también en la edad media de la vida, hermana de la paciente SAT-121. Era un poco más joven que su hermana, pero llevaban prácticamente el mismo tiempo de evolución, con sintomatología en la que predominaba la depresión, la ansiedad y el deterioro cognitivo sobre los síntomas motores. Recibió Sativex® en el primer periodo y placebo en el segundo. Tuvo que bajar la dosis de medicación de dosis máximas a 10 pulverizaciones al día en el primer periodo, por

aumento de ansiedad general, junto a un episodio compatible con una crisis de ansiedad importante. En el segundo periodo, con placebo, sí toleró las dosis máximas.

No se apreciaron apenas cambios con Sativex® en ninguno de los aspectos evaluados. En el gráfico se observa la estabilidad de la escala motora, con incluso un discreto empeoramiento. A parte de la mayor ansiedad con Sativex®, no se apreciaron otros cambios a nivel psiquiátrico ni cognitivo. En el segundo periodo, con placebo, también hubo pocos cambios, pero se objetivó una discreta mejoría en la escala motora, así como en la ansiedad y la depresión, con menor apatía.

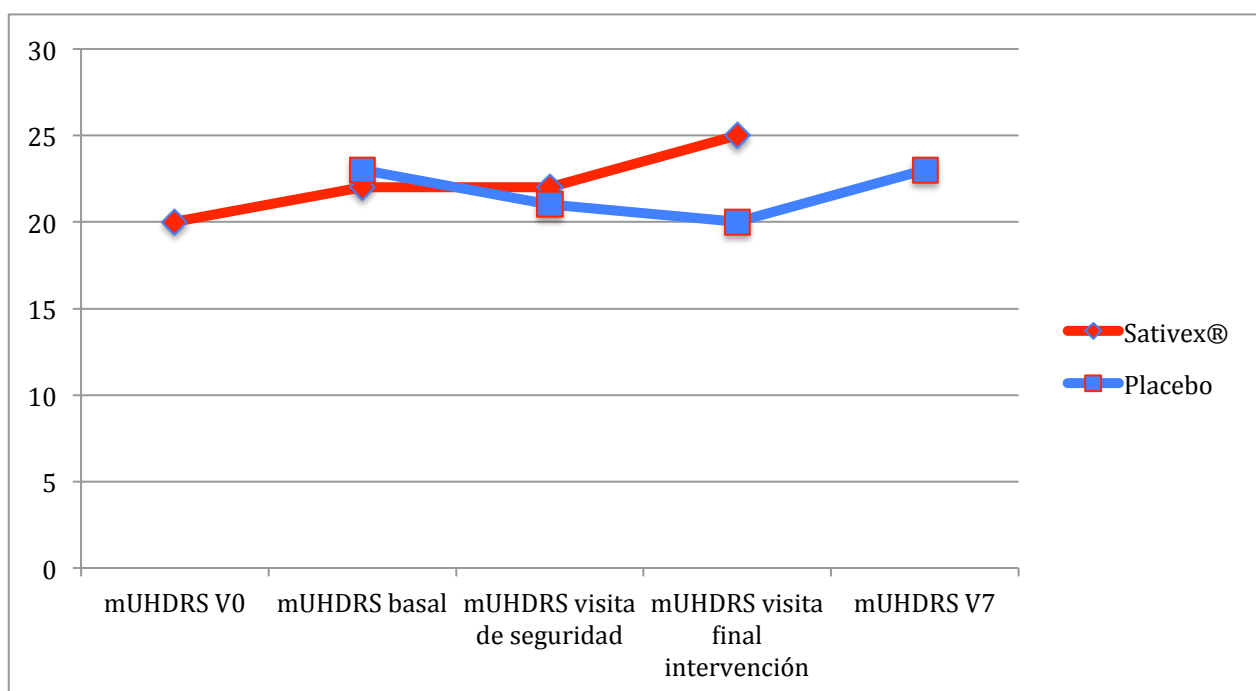


Gráfico V-22. Evolución de la mUHDRS en la paciente SAT-122.

w. **SAT-123:**

Fue el único paciente latinoamericano participante en el ensayo clínico. Se trataba de un varón de edad media, con varios años de evolución, en el que predominaba sintomatología psiquiátrica con gran depresión con apatía y ansiedad. Fue tratado con

placebo en el primer periodo y Sativex® en el segundo. Toleró dosis máximas de 12 pulverizaciones al día con ambas intervenciones.

El primer periodo, coincidió con la obtención de invalidez, que tuvo clara repercusión, ya que mejoró mucho su ansiedad, con menor depresión y mejor ánimo. En este caso, es muy probable que se beneficiara el efecto placebo, ya que tuvo una gran mejoría, que ya se observó incluso antes del inicio del placebo, entre la visita 0 y la visita 1. Con el efecto placebo, como se muestra en el gráfico, mejoró la escala motora, pero sobre todo mejoraron las escalas de evaluación de la sintomatología ansioso-depresiva. También mejoró el sueño. En el segundo periodo, con Sativex®, volvió a su situación basal e incluso hubo un discreto empeoramiento de la escala motora.

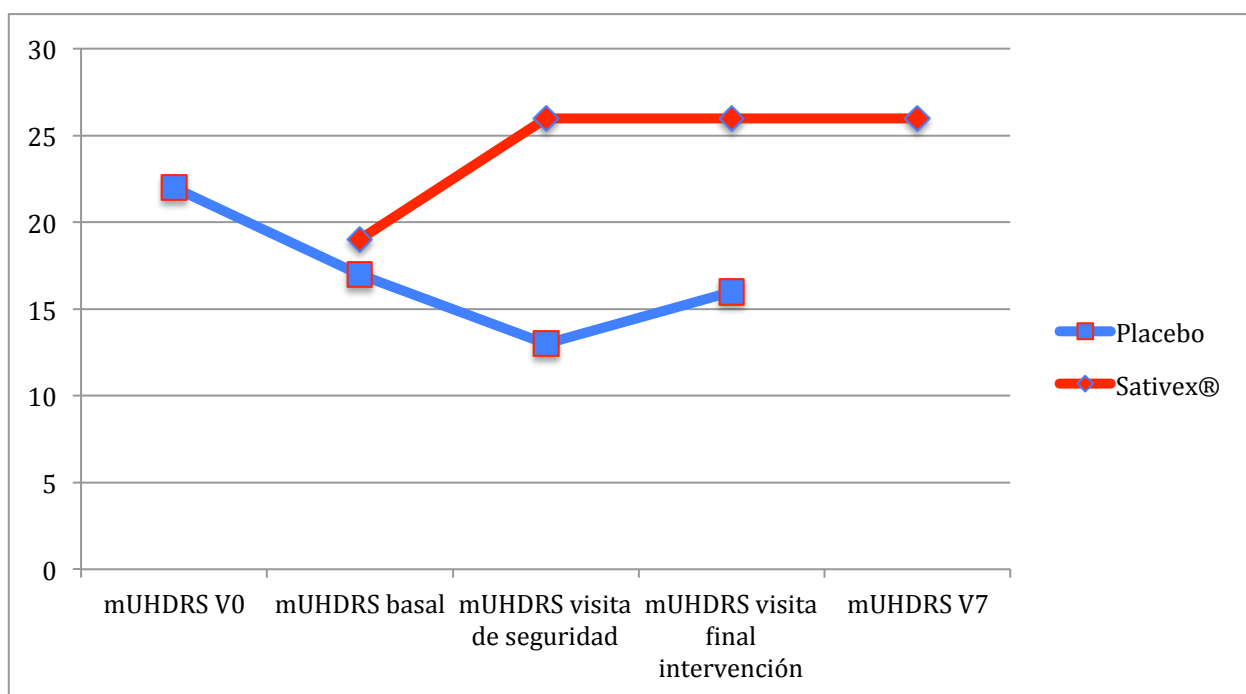


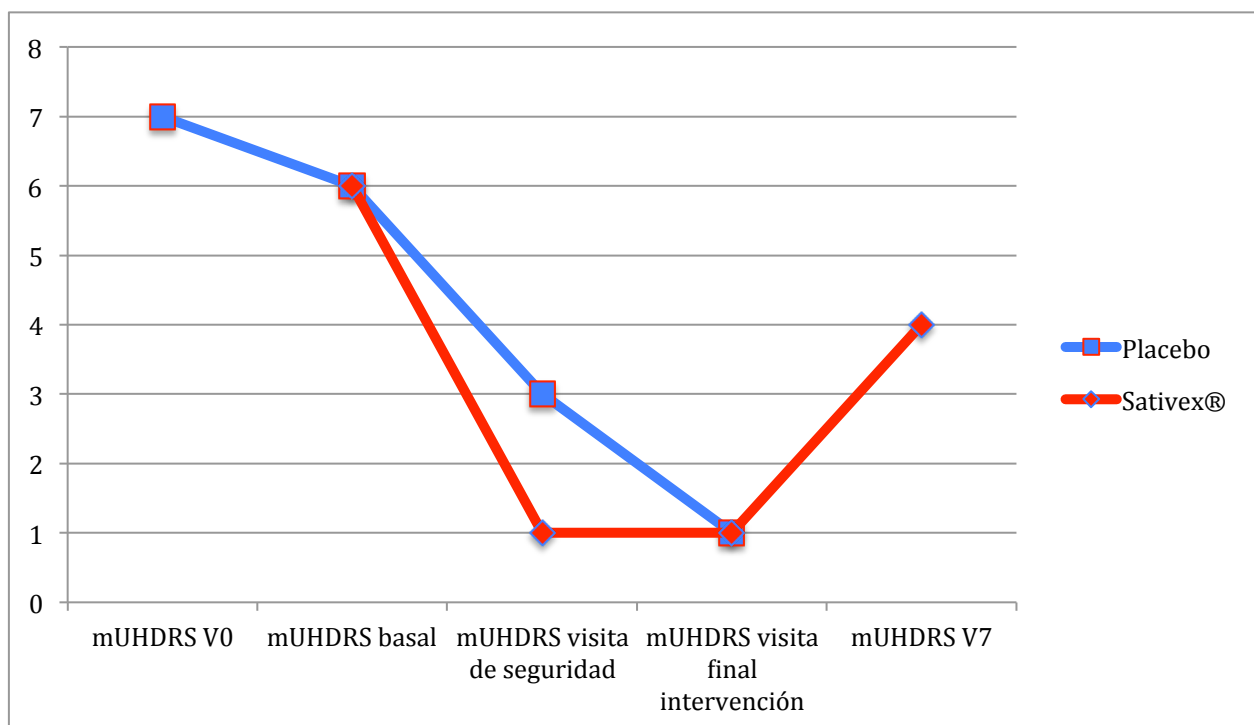
Gráfico V-23. Evolución de la mUHDRS en el paciente SAT-123.

x. **SAT-124:**

Esta paciente fue una de las más jóvenes en participar en el estudio y, desde luego, la que presentaba menor sintomatología y menor tiempo de evolución. En la visita

basal sólo puntuaba 7 puntos en la escala mUHDRS. Desde el punto de vista cognitivo y psiquiátrico estaba prácticamente intacta. Recibió placebo en la primera fase del estudio y Sativex® en la segunda. Pudo tolerar dosis máximas del placebo, pero tuvo verdaderas dificultades para tolerar la medicación, sobre todo por mareo y somnolencia. Así pues, sólo toleró hasta 3 pulverizaciones al día con Sativex®.

Presentó clara mejoría de la sintomatología motora con ambas intervenciones y regresó a su situación basal al retirar ambos tratamientos. Subjetivamente la paciente refería mayor mejoría en el primer periodo, por la ausencia de efectos secundarios. Aunque la disminución del corea y la mejoría de los movimientos oculares fue evidente con las dos intervenciones.

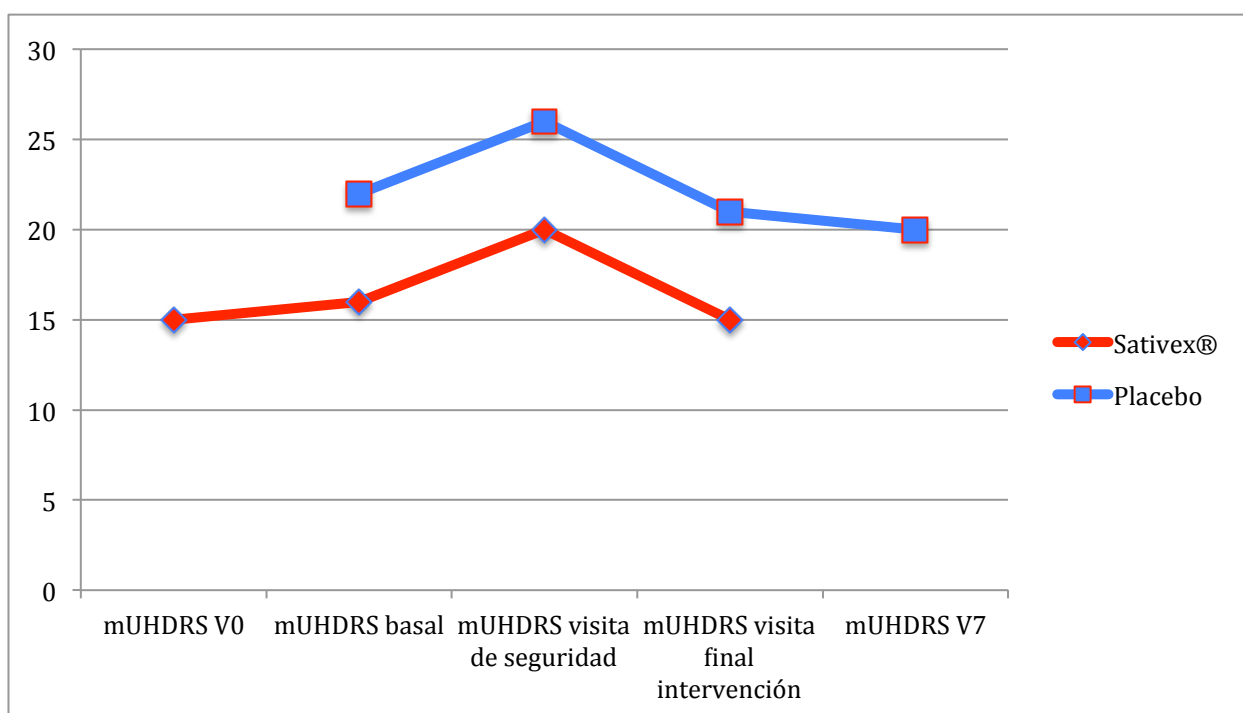


**Gráfico V-24. Evolución de la mUHDRS en la paciente SAT-124.**



y. **SAT-125:**

Este paciente también estaba en el límite superior de edad para participar en el ensayo clínico. El tiempo de evolución era largo, aunque la sintomatología presentada por el paciente era muy leve. Prácticamente sólo presentaba corea leve no incapacitante. Desde el punto de vista psiquiátrico, tenía leve apatía, ansiedad e insomnio. Cognitivamente estaba perfecto. Recibió Sativex® en el primer periodo del estudio y placebo en el segundo. Toleró las dosis máximas en ambos periodos.



**Gráfico V-25. Evolución de la mUHDRS en el paciente SAT-125.**

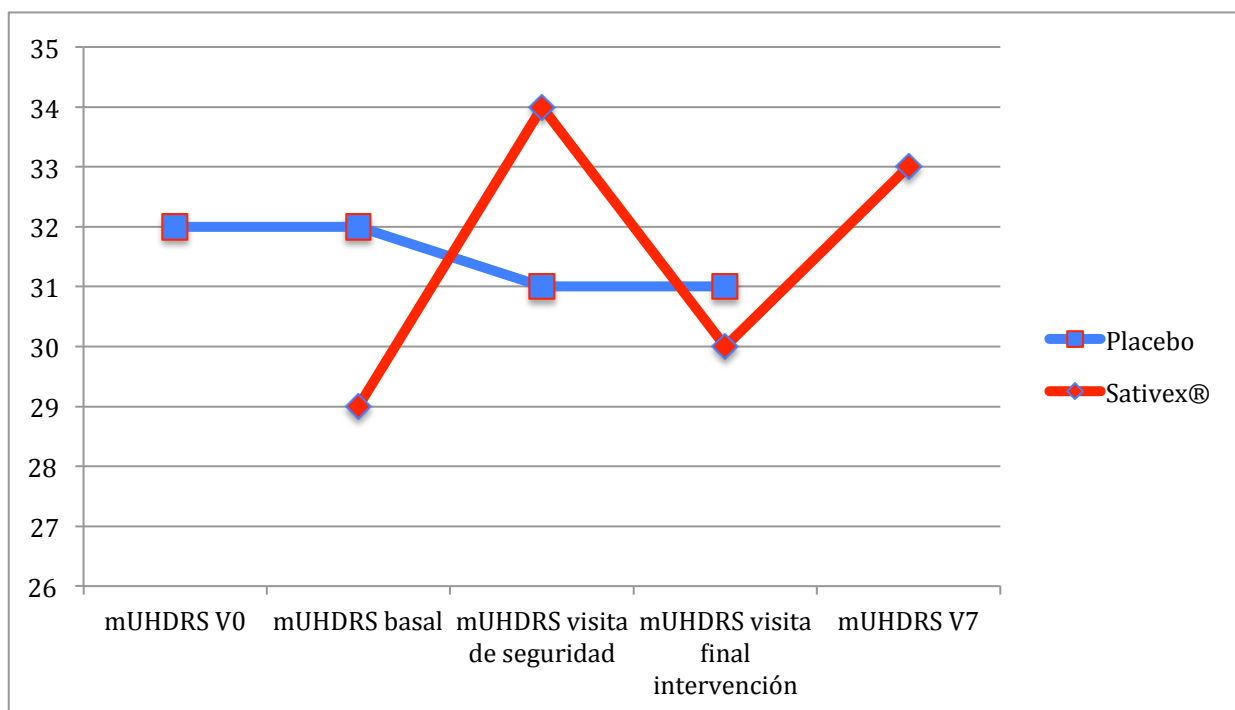
Como se ve en el gráfico, en la valoración motora, con las dos intervenciones hubo un discreto empeoramiento en la visita de seguridad, pero tras las 12 semanas, mejoró con las dos intervenciones. En cuanto a los síntomas psiquiátricos, mejoraron claramente con la medicación activa y no con el placebo. En el cómputo general, la mejoría fue evidente con el tratamiento con Sativex®. Empeoró claramente al retirar la medicación en

el periodo de lavado. Posteriormente, con el placebo, volvió a mejorar, sin llegar a la mejoría obtenida con la medicación activa.

**z. SAT-126:**

La última participante del estudio fue una mujer, también de edad avanzada, pero menos que el paciente anterior. El tiempo de evolución también era más corto, sin embargo, la enfermedad estaba en una situación más grave, tanto desde el punto de vista motor, donde predominaba distonía con bruxismo, como desde el punto de vista psiquiátrico y cognitivo. Presentaba gran ansiedad y depresión. Tenía un deterioro cognitivo evidente. Esta paciente recibió medicación activa con Sativex® en el primer periodo y placebo en el segundo. También toleró las dosis máximas de 12 pulverizaciones al día durante ambas intervenciones.

En el gráfico se puede observar la práctica ausencia de cambios en la evaluación motora al recibir placebo. Tampoco en los otros aspectos de la enfermedad hubo claros cambios en este periodo. En el segundo, con Sativex®, se partió de una situación basal mejor, ya que hubo mejoría en el periodo de lavado, probablemente en relación al ajuste del tratamiento para la distonía y el bruxismo. En la visita de seguridad del periodo con tratamiento activo hubo un claro empeoramiento, que tras las 12 semanas con medicación se compensó, volviendo prácticamente a su situación basal. Al retirar la medicación activa, hubo otro nuevo empeoramiento que se ha mantenido posteriormente en el tiempo. De nuevo puede ser por pérdida del beneficio obtenido por la medicación o por un posible síndrome de abstinencia.



**Gráfico V-26. Evolución de la mUHDRS en la paciente SAT-126.**

En general, tras el análisis individual de lo sucedido en cada participante del ensayo clínico, la impresión es que la mitad de los pacientes muestran discreto beneficio con el tratamiento y la otra mitad discreta mejoría con el placebo. En concreto, hay 12 pacientes que se consideran “respondedores” (SAT-102, SAT-103, SAT-106, SAT-107, SAT-109, SAT-110, SAT-114, SAT-118, SAT-121, SAT-124, SAT-125 y SAT-126) y 13 pacientes no “respondedores” (SAT-101, SAT-104, SAT-105, SAT-108, SAT-111, SAT-112, 1 SAT-13, SAT-116, SAT-117, SAT-119, SAT-120, 1 SAT-22 y SAT-123). Las características basales de estos dos grupos de pacientes, son muy parecidas, aunque destaca que los pacientes considerados “no respondedores” parten de una situación más grave de su enfermedad, ya que la mUHDRS en la visita 0 es 29 (DE: 29,8) para este grupo y 24,83 (DE: 10,61) para el grupo “respondedor”, sin llegar a ser una diferencia estadísticamente significativa ( $p=0,259$ ). También impresiona que el grupo “no

respondedor” parte de una peor situación cognitiva basal, como se puede apreciar en la diferencia del test de fluencia verbal FAS, que puntúa 20,75 (DE: 12,3) en el grupo “respondedor” y puntúa 16,23 (DE: 9,22) en el grupo “no respondedor”, sin ser, de nuevo, las diferencias significativas ( $p=0,341$ ). Así, no quedan muy claras las características comunes de los pacientes “respondedores” o “no respondedores”, aunque la impresión es que **la respuesta es menor en pacientes con la enfermedad más avanzada y con mayor afectación cognitiva.**

Esta hipótesis, sería concordante con la idea de que **Sativex® puede tener menos efecto en los pacientes con EH más grave, que tienen menos receptores CB1**, ya que se van perdiendo con la progresión de la enfermedad (345), como ya se ha observado también con la mayor tolerabilidad. Por supuesto, con los datos obtenidos con este ensayo clínico, no se pueden afirmar estas conclusiones.

Además, cabe destacar que la mejoría objetivada con el placebo en el apartado de resultados puede estar claramente influida por el efecto placebo importante de unos pocos pacientes, sobre todo del SAT-116.

#### **8. POSIBLE EFECTO NEUROPROTECTOR DE LOS CANNABINOIDES EN LA EH.**

El objetivo terciario del ensayo clínico, era sugerir un efecto neuroprotector mediante la modificación en los niveles de biomarcadores relacionados con la patogénesis de la enfermedad.

La gran mayoría de estos biomarcadores, llevados a cabo en otros laboratorios, no son objeto de análisis en la presente tesis doctoral. Sólo se han presentado los resultados de los biomarcadores analizados en nuestro laboratorio: los metabolitos de monoaminas en el LCR y las proteínas involucradas en neurodegeneración en el LCR.

En cuanto al análisis de los metabolitos de las monoaminas en LCR de los pacientes, no ha mostrado diferencias entre los niveles obtenidos al final del tratamiento con Sativex® con respecto a los encontrados al final del tratamiento con placebo. Estos datos sugieren que el tratamiento con Sativex®, con las dosis y los procedimientos utilizados, no modifica los niveles de monoaminas ni la neurotransmisión en estos sistemas neuronales.

De las proteínas involucradas en la neurodegeneración en el LCR, el tratamiento con Sativex® no modifica los niveles de tau ni de p-tau. Puesto que estas proteínas son fundamentalmente intraneuronales, la ausencia de cambios, indica que el tratamiento con Sativex® a las dosis y, según los protocolos utilizados, no modifica la velocidad con la que desaparecen las neuronas. Por el contrario, el tratamiento con Sativex® aumenta los niveles del péptido  $\alpha\beta$ -42 en un 13,5% con respecto a los valores obtenidos en los mismos pacientes durante el tratamiento con placebo, aunque esta diferencia no es estadísticamente significativa, probablemente debido al pequeño número de muestras. Puesto que los niveles del péptido  $\alpha\beta$ -42 en el LCR están en equilibrio con los niveles de péptido soluble en el cerebro, nuestros datos, sin descartar otras hipótesis, podrían sugerir un efecto solubilizante del péptido  $\alpha\beta$ -42. De hecho, un reciente trabajo publicado por nuestro grupo, muestra una disminución del depósito de amiloide en el hipocampo y la corteza cerebral de un modelo de ratón con taupatía, tratado con Sativex® (422).

Así pues, de una forma indirecta, con los pocos biomarcadores analizados, **sí se cumple el objetivo terciario de sugerir un posible efecto neuroprotector de los cannabinoides en la EH.**

## 9. LIMITACIONES DEL ESTUDIO.

El ensayo clínico realizado tiene varias limitaciones.

La primera es la ya mencionada alteración de la aleatorización, que no ha sido capaz de colocar en ambos grupos, con diferentes secuencias de tratamiento, pacientes comparables en lo que se refiere a la gravedad de las escalas clínicas. Esto ha podido tener una importante repercusión en el fracaso de demostrar el objetivo secundario del estudio.

En segundo lugar, el corto periodo de tratamiento de 3 meses y las dosis utilizadas con un máximo de 12 pulverizaciones al día, viendo la gran tolerabilidad de los pacientes, pueden haber sido insuficientes para intentar demostrar los objetivos del estudio.

Es posible que, la definición de fase inicial de la EH, la que ocurre durante los 10 primeros años desde el inicio del diagnóstico clínico, realizado por la presencia de signos motores inequívocos de alteración patológica, con un intervalo de puntuación de la mUHDRS entre 5 y 50 puntos, haya sido un margen demasiado amplio, vistos los resultados del análisis individual de cada paciente.

También el hecho de haber utilizado un diseño cruzado, a pesar de haber descartado el efecto periodo y el efecto secuencia, puede limitar la fuerza de las conclusiones. Por ejemplo, en el segundo periodo, las expectativas de los pacientes que no habían notado claros cambios en el primer periodo y tampoco notaban clara mejoría en el segundo periodo, pudo influir para tener peores resultados en las evaluaciones clínicas. Por el contrario, el efecto placebo pudo ser mayor en algunos pacientes que no notaron mejoría en el primer periodo y estaban especialmente motivados a mejorar en al menos uno de los dos periodos del estudio.

Otra limitación, es el hecho de que no se presenten los resultados del resto de biomarcadores analizados en otros laboratorios, que tal vez, puedan favorecer el objetivo terciario de sugerir un efecto neuroprotector de los cannabinoides en la EH.

Por último, el número de pacientes, a pesar de ser un ensayo clínico fase II de seguridad y de una enfermedad considerada de baja prevalencia, el número de 24 pacientes puede haber sido insuficiente para demostrar alguno de los objetivos del estudio.

#### **10. DISCREPANCIA EN EL EFECTO DE FÁRMACOS ENTRE MODELOS ANIMALES Y PACIENTES CON EH.**

La frustración y la decepción por el fracaso en la demostración del efecto neuroprotector de distintos tratamientos en las enfermedades neurodegenerativas, ha sido particularmente patente en la EH. Muchos prometedores tratamientos para la EH, con plausibilidad biológica y éxito en los estudios preclínicos, han fracasado en los estudios clínicos, sobre todo en los ensayos clínicos aleatorizados, doble ciegos y controlados con placebo. Muchos tratamientos han demostrado ser neuroprotectores en modelos experimentales bien establecidos de enfermedad de Parkinson, de EH y de enfermedades relacionadas, pero no han sido capaces de demostrar capacidad para cambiar el curso de la enfermedad en ensayos clínicos. En algunos casos, estas discrepancias podrían estar relacionadas con la diferente duración de la vida de los seres humanos respecto a los modelos animales, en otros casos, se podría deber a las diferencias en la arquitectura, la composición y la conectividad del cerebro humano. Sin embargo, también es posible que esta discrepancia se deba al hecho de que estos tratamientos se inician demasiado tarde en humanos o que los instrumentos utilizados para medir la neuroprotección clínica sean insuficientes (423). Ya se han comentado

algunos puntos que explican la complejidad de la investigación clínica en la EH. Actualmente están en marcha estudios observacionales colaborativos, como el estudio TRACK-HD que intentan proporcionar orientación sobre la progresión preclínica y en estadios iniciales de la EH y desarrollar indicadores más sensibles de neurodegeneración, para ser capaces de diseñar ensayos clínicos que puedan evaluar, de forma más eficaz, potenciales tratamientos neuroprotectores en la EH (424). Estos métodos deberían acelerar el proceso de encontrar tratamientos eficaces para la EH y otras enfermedades neurodegenerativas (425).

## **11. FUTURAS LÍNEAS DE INVESTIGACIÓN CLÍNICA CON CANNABINOIDES EN LA EH.**

La gran tolerabilidad y la seguridad del Sativex® en la EH, demostrada en este ensayo clínico, junto a toda la evidencia revisada sobre la posible utilidad de los CBs para la neuroprotección, debería animar a seguir investigando sobre el uso de los CBs para esta enfermedad. Tal vez, restringiendo la participación a pacientes en estadios iniciales de la enfermedad y sin deterioro cognitivo, incluso en pacientes todavía asintomáticos.

Es probable que parte de la causa del fracaso del objetivo secundario de demostrar eficacia en el ensayo clínico, se deba a la posible pérdida de efecto del Sativex® por la progresiva pérdida de los receptores CB1 característica de la EH. En este sentido, el futuro de la investigación con cannabinoides podría estar en un fármaco capaz de actuar sobre receptores que no desaparecen con la progresión de la enfermedad, como es el caso de los receptores TRPV1. Así pues, el compuesto ideal sería un compuesto híbrido con capacidad dual para activar los receptores CB1 y CB2 y los receptores TRPV1.

De cara a posibles estudios, habría que plantearse varias alternativas. Una de ellas sería aumentar la dosis de agonistas CB1 con objeto de compensar la pérdida de



receptores. Además, existen datos preclínicos en modelos de ratón de EH que apoyan la acción protectora del  $\Delta$ 9-THC o del CBD por separado, así como evidencias farmacológicas (no en modelos de EH pero sí en otros contextos) de que el CBD podría antagonizar algunos efectos digamos "neuroactivos" del  $\Delta$ 9-THC, sugiriendo que se puede producir cierta inhibición del efecto positivo del  $\Delta$ 9-THC por parte del CBD, lo cual se ha visto in vitro. Así pues, una alternativa sería variar la proporción de los cannabinoides, con más  $\Delta$ 9-THC y menos CBD.

La segunda, consistiría en aumentar la dosis de agonistas CB2, que median la respuesta inflamatoria. Los agonistas CB2 no deben presentar efectos psicotrópicos indeseables y su efecto farmacológico deber ser posible, teniendo en cuenta el mantenimiento de sus receptores. También, como ya se ha comentado, habría que considerar la utilización de hipotéticos compuestos capaces de actuar sobre los receptores TRPV1, que tampoco se degeneran con la evolución de la enfermedad.

También, a la vista de nuestros resultados y de las recientes publicaciones sobre el efecto de los CBs sobre el  $\beta$ -amiloide, se deberá evaluar con gran atención el efecto de los CBs en las enfermedades con patología amiloide.

## **12. PREGUNTAS Y RESPUESTAS RESPECTO A NUESTRO ENSAYO CLÍNICO.**

### **1) ¿Por qué hemos escogido un diseño cruzado?**

Los ensayos clínicos con diseño cruzado tienen unos determinados inconvenientes. En primer lugar duran más, con lo que el riesgo de retirada de pacientes es mayor. En segundo lugar, los resultados pueden estar alterados por el efecto secuencia o el efecto periodo, en cuyo caso, se hace necesario eliminar los resultados de

la segunda fase y limitarse a un análisis de la primera fase, con lo que se convierte, de facto, en un estudio en paralelo con la mitad de los pacientes incluidos.

Además, es posible que la vida media del fármaco sea larga y no se complete el efecto del periodo de lavado, o que, aunque éste se complete, los efectos farmacológicos persistan durante la segunda fase.

No tenemos indicios de haber incurrido en ninguno de estos problemas. En todo caso, nuestro estudio fue diseñado como un ensayo cruzado porque considerábamos ventajoso poder realizarlo: 1) en un centro único, que permite facilitar la realización y uniformar las evaluaciones; 2) con una muestra relativamente homogénea de pacientes, que evite la dispersión de los datos; y 3) en un tiempo corto. Estas condiciones se han cumplido ampliamente.

## **2) ¿Son las dosis utilizadas y el tiempo empleado los adecuados para conseguir los resultados pretendidos?**

A pesar de la inmensidad de los datos conseguidos, éste es un estudio exploratorio en fase II y su primer objetivo fue la seguridad.

Los CBs son compuestos psicotrópicos que median respuestas que modulan muchos aspectos conductuales y psicológicos. De ninguna manera queríamos realizar un estudio en el que el fármaco activo aumentara la tendencia al suicidio, elevada en la EH, o aumentara los síntomas de depresión, apatía, irritabilidad y otros presentes en esta enfermedad. Por esto se escogió una dosis relativamente baja y un tiempo de exposición al fármaco activo corto, que se utiliza cumpliendo criterios de seguridad y eficacia en pacientes con otras enfermedades neurológicas, como la espasticidad en la esclerosis múltiple.

La dosis utilizada ha sido, en general, bien tolerada y, de hecho, los efectos secundarios más importantes han ocurrido en pacientes con diagnóstico reciente de EH. Esto indica que los pacientes con EH desarrollan tolerancia al tratamiento cannabinoide, probablemente porque pierden receptores CB1 en fases tempranas de la enfermedad. Esta afirmación está de acuerdo con datos neuropatológicos que sugieren una pérdida de receptores CB1 en fases iniciales de la enfermedad y con datos experimentales en modelos animales que sugieren pérdida de sus receptores, antes de que empiecen los síntomas.

**3) Si pretendíamos hacer un estudio de neuroprotección por cannabinoides:**

**¿Por qué el periodo de tratamiento fue sólo de 12 semanas?**

Efectivamente, 12 semanas es un periodo de tiempo demasiado corto para estudiar neuroprotección. Pero nosotros no pretendíamos hacer un estudio de neuroprotección, sino un análisis exploratorio. Este análisis exploratorio nos debía permitir detectar tres elementos: 1) seguridad; 2) efectos sintomáticos; 3) algún biomarcador sugerente de neuroprotección. Lo primero se ha conseguido, lo segundo, a estas dosis y durante este tiempo, no. Respecto al tercer elemento, sólo se puede sugerir un indicio de neuroprotección en lo referente al depósito amiloideo.



## VI. CONCLUSIONES

## VI. CONCLUSIONES.

1. Se ha llevado a cabo un **ensayo clínico de acuerdo con las normas de buena práctica clínica**, tanto por el **cumplimiento de todas las normativas legales**, como por la **adherencia de los pacientes al tratamiento y a todos los requisitos del ensayo clínico**, como por la **calidad de los datos recogidos** y por la **cantidad de muestras biológicas obtenidas** que van a permitir avanzar en la **investigación de la EH**.
2. El **objetivo principal del ensayo clínico**, que fue **demostrar la seguridad de los cannabinoides en la EH**, **se ha cumplido**, con ausencia de AAG o empeoramiento de escalas clínicas de forma estadísticamente significativa y clínicamente relevante.
3. El **fracaso en el objetivo secundario del ensayo clínico es rotundo**, con **ausencia de mejoría en las escalas clínicas para evaluar los síntomas motores, cognitivos, psiquiátricos o de la situación funcional**.
4. El aumento de los niveles de péptido  $\beta$ -amiloide en LCR durante el tratamiento con Sativex®, sugiere un efecto solubilizante sobre este péptido y apoya el papel antiamiloidogénico de los CBs, descrito en otros estudios. Esto se puede considerar como un **indicio que sugiere un posible efecto neuroprotector de los CBs en la EH**, al menos en lo referente al depósito amiloideo, **cumpléndose el objetivo terciario del ensayo clínico**.

5. La **gran tolerabilidad de Sativex®** y la **ausencia de cambios clínicos en la sintomatología de la EH**, podrían estar en relación al uso del tratamiento cuando la enfermedad ya está muy avanzada, con **excesiva reducción de receptores CB1**. En este sentido, parece que el uso del fármaco en **estadios más iniciales y sin deterioro cognitivo**, podría mejorar los resultados. Por el mismo motivo, **la dosis y el tiempo de exposición al fármaco, parecen haber sido insuficientes**.
  
6. Una limitación de este ensayo clínico es la **incompleta aleatorización**, que **no ha sido capaz de distribuir de forma equitativa la gravedad clínica** de los pacientes, para cada secuencia de tratamiento. Sin embargo, no consideramos que este déficit tenga influencia sobre los resultados.
  
7. La seguridad de Sativex® en la EH, demostrada en este ensayo clínico, debe animar a llevar a cabo **otros ensayos con dosis mayores y mayor tiempo de exposición**.
  
8. Ante el posible fracaso del efecto de Sativex® por la progresiva disminución de los receptores CB1 en la EH, **el compuesto ideal, para futuros ensayos clínicos, sería un compuesto híbrido con capacidad dual para activar los receptores CB1 y CB2 y los receptores TRPV1**, que no desaparecen con la progresión de la EH. Tal vez también variando la proporción de los dos CBs. De igual manera, cabe pensar que **el posible efecto neuroprotector de los CBs en la EH sea máximo o esté limitado a las fases iniciales de la enfermedad**, cuando los receptores de CBs están preservados.

---

## CONCLUSIONES

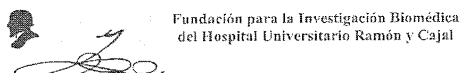
---



## VII. APÉNDICES

VII. APÉNDICES.

A. Contrato con el Hospital Ramón y Cajal.



**ACUERDO PARA LA REALIZACIÓN DEL ENSAYO CLÍNICO DE INVESTIGACIÓN INDEPENDIENTE:**  
**“Ensayo clínico en fase II sobre neuroprotección por cannabinoides en enfermedad de Huntington”.**

**PROMOTOR:** FUNDACIÓN PARA LA INVESTIGACIÓN BIOMÉDICA DEL HOSPITAL UNIVERSITARIO RAMÓN Y CAJAL.  
**INVESTIGADOR PRINCIPAL:** D. Justo García de Yébenes Prous  
**FINANCIACION:** MSPSI (Resolución de 31-01-2011)

*(Código de protocolo: SAT-HD, código en la Fundación: 220/10 – P2011/0035)*

En Madrid, a 21 de junio de 2011.

**REUNIDOS**

De una parte, **D. Javier Maldonado González**, con N.I.F. 378.887-P, actuando en nombre y representación de la **FUNDACIÓN PARA LA INVESTIGACIÓN BIOMÉDICA DEL HOSPITAL UNIVERSITARIO RAMÓN Y CAJAL** (en adelante, **FUNDACIÓN**), con domicilio social en Carretera de Colmenar Viejo, Km. 9,100 de Madrid (28034) y con C.I.F. nº G-83726984, autorizado al efecto, conforme a los poderes expedidos en Madrid, con fecha 11 de enero de 2011, ante el notario D. Pedro-José Bartolomé Fuentes, escriturado con el nº 58 de su protocolo. La **FUNDACIÓN** actúa a la vez como **PROMOTOR** y como **ENTIDAD GESTORA**.

**D. Javier Maldonado González** actúa asimismo en nombre y representación del Hospital Universitario Ramón y Cajal (en adelante, **HOSPITAL**), en virtud y de conformidad con los acuerdos entre la **FUNDACION** y el **HOSPITAL**.

Y de otra parte **D. Justo García de Yébenes Prous**, con N.I.F. nº 6185651P actuando en su propio nombre y derecho (en adelante, **INVESTIGADOR PRINCIPAL**), con domicilio, a efectos de notificaciones, en el Servicio de Neurología del **HOSPITAL** situado en Carretera de Colmenar Viejo, Km. 9,100 - 28034 Madrid y con C.I.F. nº Q-2877004-H.

Reconociéndose la capacidad mutua necesaria para obligarse libremente por el presente **ACUERDO**

**EXPONEN**

Ensayo Clínico nº: 220/10 – P: 2011/0035

264 J



Fundación para la Investigación Biomédica  
del Hospital Universitario Ramón y Cajal

Código de protocolo SAT-HD

Que el **INVESTIGADOR PRINCIPAL** es autor de la idea original y del **PROTOCOLO** de ejecución del **ENSAYO CLÍNICO** de investigación no comercial descrito en la ESTIPULACION primera.

Que el **PROMOTOR**, el **HOSPITAL** y el **INVESTIGADOR PRINCIPAL** (en adelante, las Partes) están interesados en la realización del **ENSAYO CLÍNICO**.

Que para regular su ejecución, las Partes formalizan el presente **ACUERDO** como manifestación de la convergencia de voluntades con la finalidad de que surta efectos jurídicos, bajo las siguientes

### ESTIPULACIONES

#### PRIMERA.- OBJETO

- 1.1. El objeto del presente **ACUERDO** es la realización del **ENSAYO** titulado: **“Ensayo clínico en fase II sobre neuroprotección por cannabinoides en enfermedad de Huntington”**, que se llevará a cabo fundamentalmente en las dependencias del **HOSPITAL** bajo la dirección y responsabilidad del Dr. García de Yébenes que actuará como **INVESTIGADOR PRINCIPAL**.
- 1.2. El **ENSAYO** se realizará de acuerdo con en el **PROTOCOLO** elaborado por el **INVESTIGADOR PRINCIPAL**, de igual versión y fecha que el informado y con dictamen favorable del CEIC de referencia del Hospital Universitario Ramón y Cajal, de fecha 19 de enero de 2011.

#### SEGUNDA.- INICIO Y DURACIÓN

- 2.1.- El **ENSAYO** no se iniciará bajo ningún concepto hasta que se haya emitido la preceptiva autorización de la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios (en adelante, **AEMPS**).
- 2.2.- La duración prevista del **ENSAYO** es de **20 meses**, plazo que se contará a partir de la obtención de la autorización de la **AEMPS** según lo indicado en el **PROTOCOLO**.
- 2.3.- La **AEMPS** ha aprobado la realización del **ENSAYO** con fecha 5 de Abril de 2011.

#### TERCERA.- NORMATIVA APLICABLE

- 3.1. Las Partes se comprometen, en todo momento, a respetar y dar cumplimiento a la legislación vigente aplicable, a la firma de este **ACUERDO** y durante su vigencia; así como a observar expresamente los principios y normas éticas, en particular, las siguientes:

Ensayo Clínico nº: 220/10

164 1

2



Fundación para la Investigación Biomédica  
del Hospital Universitario Ramón y Cajal

Código de protocolo SAT-HD

- 3.1.1. Ley 29/2006, de 26 de julio, de Garantías y Uso Racional de los Medicamentos y Productos Sanitarios
- 3.1.2. Real Decreto 223/2004, de 6 de febrero, por el que se regulan los ensayos clínicos con medicamentos (en adelante, **RD 223/2004**)
- 3.1.3. Decreto 39/1994, de 28 de abril, por el que se regulan las competencias en materia de ensayos clínicos con medicamentos en la Comunidad de Madrid.
- 3.1.4. Orden SCO 256/2007, de 5 de febrero, modificada por la Orden SCO 362/2008, de 4 de febrero, por la que se establecen los principios y directrices detalladas de buena práctica clínica y los requisitos para autorizar la fabricación o importación de medicamentos en investigación de uso humano.
- 3.2. Así mismo, en virtud del carácter de subvención pública de la financiación del **ENSAYO**, las partes, en cuanto pueda afectar a cada una, darán cumplimiento a lo previsto en las disposiciones:
  - 3.2.1. Ley 38/2003, de 17 de noviembre, General de Subvenciones, y su Reglamento General, RD 887/2006, de 21 de julio.
  - 3.2.2. Orden SAS 2039/2010, de 20 de julio, de bases reguladoras de las ayudas a la investigación clínica independiente, y Orden SAS 2377/2010, de 7 de septiembre, por las que se convocan las de 2010.

#### **CUARTA.- OBLIGACIONES DE LAS PARTES**

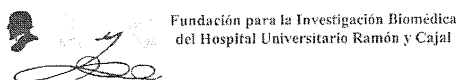
- 4.1. Las Partes comprometen la completa ejecución de las obligaciones previstas en el presente **ACUERDO**, según lo establecido en el mismo y en el **PROTOCOLO** del **ENSAYO**. Cada Parte cumplirá con las obligaciones que le son propias a tenor de la normativa señalada en EL punto tercero.
- 4.2. Las obligaciones y funciones previstas en el RD 223/2004 (de 6 de febrero, por el que se regulan los ensayos clínicos con medicamentos) para el **PROMOTOR** y para el **INVESTIGADOR**, serán ejercidas en este **ENSAYO** con arreglo a la siguiente distribución:
- 4.3. **CORRESPONDE al PROMOTOR** dar apoyo continuo al **INVESTIGADOR**, la gestión económica y administrativa del **ENSAYO**, y las responsabilidades singulares y las solidarias que le determina el RD 223/2004, excepto las que específicamente se indican en el apartado siguiente, que son asumidas y serán ejercidas por el **INVESTIGADOR**.

Ensayo Clínico nº: 220/10

JCY

l

3



Código de protocolo SAT-HD

4.4. **CORRESPONDEN al INVESTIGADOR** las responsabilidades singulares y las solidarias que le determina el RD 223/2004 y, de entre las asignadas al **PROMOTOR**, las que se relacionan a continuación, que el **INVESTIGADOR** asume y ejercerá bajo su responsabilidad:

4.4.1. La dirección del **ENSAYO** y la coordinación del equipo investigador y del personal, interno o externo de apoyo.

4.4.2. Establecer y mantener un sistema de garantías y control de calidad, con procedimientos normalizados de trabajo escritos, de forma que el **ENSAYO** sea realizado de acuerdo con el **PROTOCOLO** y con las normas de buena práctica clínica.

4.4.3. Proporcionar la información básica y clínica disponible del producto en investigación y actualizarla a lo largo del ensayo.

4.4.4. Comunicar al **PROMOTOR**, a las autoridades sanitarias, a otros investigadores (en su caso) y a los Comités Éticos de Investigación Clínica involucrados en el ensayo, cualquier información de importancia a la que tenga acceso durante el ensayo y las sospechas de reacciones adversas graves e inesperadas; según con lo establecido en los artículos 43 a 46 del RD 223/2004.

4.4.5. Realizar los informes anuales de seguimiento y seguridad, y el informe final del **ENSAYO**.

4.4.6. Mantener registros detallados de todos los acontecimientos relevantes o adversos que advierta o que le sean comunicados por los investigadores u otros agentes implicados en el ensayo. Estos registros se presentarán a la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios cuando ésta así lo solicite.

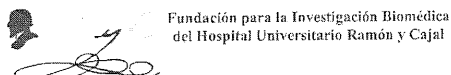
4.4.7. Disponer un punto de contacto donde los sujetos de la investigación puedan obtener información del **ENSAYO**.

4.4.8. Custodiar los códigos de identificación de los pacientes. Y archivarlos con toda la documentación del **ENSAYO**.

4.4.9. Publicar los resultados del **ENSAYO**.

4.5. Son **OBLIGACIONES COMUNES de las Partes**:

4.5.1. Colaborar en las visitas de seguimiento del **ENSAYO** que se realicen por parte de: (i) el **CEIC**, (ii) los monitores y auditores que actúen a instancias del **PROMOTOR** y (iii) las autoridades competentes, cuando realicen actuaciones de inspección. Estas visitas serán comunicadas con una antelación mínima de una semana salvo que exista acuerdo de otro plazo entre las partes. Durante la realización de dichas visitas de



Código de protocolo SAT-HD

seguimiento, monitorización y auditorías, se adoptarán las medidas de índole técnico u organizativo que garanticen el máximo respeto de la normativa sobre protección de datos de carácter personal.

4.5.2. Observar, cuantos intervengan en el **ENSAYO**, las normas de régimen interno del **HOSPITAL** y de la **FUNDACIÓN**, así como las indicaciones que sobre el su desarrollo realice el CEIC responsable del seguimiento.

4.5.3. No pactar, respecto al **ENSAYO**, acuerdos o términos ajenos, o que excepcionen, o que contravengan lo aquí pactado. A estos efectos, cada una de las partes manifiesta que a la fecha de este **ACUERDO** no mantienen ningún otro acuerdo o pacto, verbal o escrito, que lo contravenga; sin perjuicio de los contratos o convenios que, de común acuerdo, deban adoptarse con terceros para la ejecución material del **ENSAYO**.

En particular, las Partes aceptan que no podrán acordarse, ni pagarse, contraprestaciones -de cualquier tipo- a ninguno de los miembros del equipo investigador, ya sea por otra parte o por terceros, inmediatas o futuras; distintas de las que (en su caso) puedan estar previstas en la memoria económica de este **ACUERDO**. Se excluyen de esta prohibición los gastos necesarios para reuniones celebradas con la finalidad de organizar y supervisar la realización del **ENSAYO**, así como las que pretendan analizar o dar a conocer los resultados del mismo (presentaciones o publicaciones científicas).

4.5.4. Ajustarse en la ejecución del **ENSAYO**, en naturaleza, cuantía, forma y plazos, a lo establecido en la memoria económica descrita en el anexo I y a las condiciones de ejecución y justificación que haya establecido (en su caso) la entidad financiadora.

4.5.5. Conservar todos los documentos esenciales del **ENSAYO** durante el tiempo y en las condiciones establecidas en la legislación vigente.

#### QUINTA.- ASPECTOS ECONÓMICOS

- 5.1. Todos los aspectos económicos relacionados con el **ENSAYO** quedan reflejados en la Memoria Económica que acompaña a este **ACUERDO** como Anexo I.
- 5.2. El presupuesto del **ENSAYO** asciende a SETENTA Y SEIS MIL SETECIENTOS SETENTA EUROS (76.770 €). No es ampliable y será financiado a través de la subvención del Ministerio de Sanidad, Política Social e Igualdad, otorgada por Resolución de 31-01-2011.
- 5.3. El presupuesto del **ENSAYO** no contempla ninguna compensación para el equipo investigador.

#### SEXTA.- SEGURO Y RESPONSABILIDADES

Ensayo Clínico nº: 220/10

JGy

P

5



Fundación para la Investigación Biomédica  
del Hospital Universitario Ramón y Cajal

Código de protocolo SAT-HD

- 6.1. La **FUNDACIÓN**, como **PROMOTOR**, tiene suscrita una póliza de seguro de responsabilidad civil que cumple en todos sus aspectos lo establecido en el RD 223/2004. Dicha póliza ha sido concertada con la entidad aseguradora HDI HANNOVER Internacional S.A., con número de póliza 130/001/007419. Está al corriente de pago de la prima, y cubre al **PROMOTOR**, al **INVESTIGADOR PRINCIPAL** y sus colaboradores, y al **HOSPITAL**, por los daños y perjuicios que pudieran derivarse de la participación de los sujetos en el **ENSAYO** (se adjunta copia de la póliza o certificado de la misma).

**SÉPTIMA.- GARANTÍAS DE CONFIDENCIALIDAD Y PROTECCION DE DATOS DE CARÁCTER PERSONAL.**

- 7.1. **Las Partes** se comprometen a poner todos los medios a su alcance para garantizar la confidencialidad de la información facilitada para la realización del **ENSAYO** y obtenida durante su realización, así como la de los datos de carácter personal de los sujetos reclutados para el mismo, a fin de cumplir con todos los requisitos establecidos en la normativa vigente. Se exceptuará de este compromiso de confidencialidad aquella información que: (i) sea de dominio público, (ii) fuera conocida previamente por el **INVESTIGADOR PRINCIPAL** en el momento de ser revelada, o (iii) fuera obligatorio revelar por imperativo legal.
- 7.2. Todas las Partes, en la medida en que accedan y traten datos de carácter personal de los sujetos del **ENSAYO**, deberán tomar las medidas oportunas para protegerlos y evitar el acceso a los mismos por parte de terceros no autorizados. Las Partes quedan obligadas a la más estricta observancia de lo establecido en la Ley Orgánica de Protección de Datos Personales 15/1999 de 13 de Diciembre, la Ley 8/2001, de 13 de julio, de Protección de Datos de Carácter Personal en la Comunidad de Madrid y la Ley 41/2002, de 14 de noviembre, básica reguladora de la autonomía del paciente.

**OCTAVA.- MEDICAMENTOS EN INVESTIGACIÓN**

- 8.1. El **PROMOTOR** del **ENSAYO** no tiene posibilidad de suministrar de forma gratuita los medicamentos del **ENSAYO**, por lo que ha solicitado acogerse a las otras vías de suministro que establece el art. 35.3, apartado f, del RD 223/2004. En consecuencia, la compañía farmacéutica GW\_Pharma Ltd, propietaria del fármaco de investigación delta-9-tetrahidrocannabinol (THC) y cannabidiol (CBD) lo suministrará gratuitamente para la realización del **ENSAYO** mediante los acuerdos correspondientes que se anexan al presente.



Fundación para la Investigación Biomédica  
del Hospital Universitario Ramón y Cajal

Código de protocolo SAT-HD

- 8.2. El medicamento en investigación será suministrado a través del Servicio de Farmacia del **HOSPITAL**, dispensándose de manera controlada y de conformidad con las directrices del **PROTOCOLO**.
- 8.3. En todo caso, No se pondrá a disposición de los investigadores el medicamento en investigación hasta que no se cuente con el informe favorable del CEIC y la preceptiva autorización de la **AEMPS**.

#### **NOVENA.- MODIFICACIÓN, CANCELACIÓN O SUSPENSIÓN DEL ACUERDO.**

- 9.1. Cualquier modificación a lo previsto en este **ACUERDO** deberá realizarse por escrito, como adenda al mismo, firmado por **las Partes**. En todo caso, en la modificación se observará lo previsto en el artículo 25 del **RD 223/2004**.
- 9.2. El **ENSAYO** podrá ser terminado o suspendido por una de las Partes en cualquiera de las situaciones previstas en el artículo 26 del **RD 223/2004**, así como en los siguientes casos:
  - 9.2.1. Por incumplimiento o cumplimiento defectuoso de las obligaciones esenciales asumidas por alguna de las Partes.
  - 9.2.2. Por mutuo acuerdo entre las Partes, manifestado por escrito.
- 9.3. Las Partes garantizarán la seguridad de los sujetos en la finalización del **ENSAYO**, así como la continuidad del tratamiento y el cumplimiento de la normativa legal vigente en la materia.

#### **DÉCIMA.- RESULTADOS Y PUBLICACIONES**

- 10.1. Corresponden al **INVESTIGADOR**, en cuanto que es autor de la idea original, redactor del proyecto y ejecutor de la investigación clínica, los derechos morales de autoría intelectual que resulten.
- 10.2. El **PROMOTOR** es el titular de los datos, de los trabajos y de los resultados del **ENSAYO**. Si de los resultados se pudiesen deducir derechos susceptibles de explotación económica, estos pertenecerán al **PROMOTOR**, sin perjuicio de que puedan establecerse para su gestión los acuerdos específicos que mejor convengan a su naturaleza y alcance.
- 10.3. Corresponde al **INVESTIGADOR** publicar los resultados el **ENSAYO**. Todas las publicaciones y presentaciones de resultados (siempre que sea aplicable según las normas de publicación específicas de cada revista científica o congreso) deben hacer constar, además de los investigadores,





Fundación para la Investigación Biomédica  
del Hospital Universitario Ramón y Cajal

Código de protocolo SAT-HD

al HOSPITAL, al PROMOTOR y al organismo financiador de la investigación.

**UNDÉCIMA.- CONTROVERSIAS Y JURISDICCIÓN**

11.1. Este ACUERDO se suscribe de buena fe, bajo el más firme compromiso y responsabilidad en su cumplimiento. Las discrepancias que puedan surgir serán resueltas dialogadamente por las partes considerando primordialmente la salvaguarda de los sujetos incluidos en el ENSAYO y el interés general de las Instituciones implicadas en el mismo.

11.2. Las cuestiones litigiosas que puedan surgir serán resueltas por la jurisdicción competente de la Comunidad de Madrid.

Y en prueba de conformidad, las partes firman este acuerdo, por duplicado, en la fecha indicada *ut supra*.

Por el PROMOTOR y el HOSPITAL,



D. Javier Maldonado González

EL INVESTIGADOR PRINCIPAL,

Dr García de Yébenes Prous

---

**B. Aprobación de la Agencia Española de**

12. Abr. 2011 9:13		AEMPS SGMUH AREA ENS CLINICOS		Nº8479 P. 1	
				SUBDIRECCIÓN GENERAL DE MEDICAMENTOS DE USO HUMANO	
REFERENCIA: MUH/CLIN				FECHA: 05/04/2011	
ASUNTO: RESOLUCION DE AUTORIZACIÓN DE ENSAYO CLINICO					
DESTINATARIO:		Fundación I.Biomédica Hospital Ramón y Cajal Itziar de Pablo Ctra Colmenar Viejo km 9.100 28034 Madrid España			
Adjunto se remite la resolución sobre el ensayo clínico titulado " <b>Ensayo clínico en fase II sobre neuroprotección por cannabinoídes en enfermedad de Huntington</b> ", N° EudraCT "2010-024227-24".					
El promotor o solicitante nombrado por éste deberá remitir la información pertinente o solicitar autorización a la AEMPS- según proceda y de acuerdo con lo que establece el Real Decreto 223/2004, de las modificaciones relevantes a la documentación del ensayo, informes de seguimiento, sospechas de reacciones adversas graves e inesperadas, finalización del ensayo y demás circunstancias que establezca la legislación vigente.					
<b>y Productos Sanitarios</b>			<b>Medicamentos</b>		
<b>(AEMPS).</b>					
CORREO ELECTRONICO aecaem@aemps.es					
C/ CAMPEZO, 1 28022 MADRID TEL. 91 8225174 / 5215 FAX: 91 8225076					

12. Abr. 2011 9:14

AEMPS SGMUH AREA ENS CLINICOS

Nº8479 P. 2



DIRECCION DE LA  
AGENCIA ESPAÑOLA  
DE MEDICAMENTOS Y  
PRODUCTOS SANITARIOS

Fecha: 05/04/2011

Referencia: MUH/CLIN

## RESOLUCIÓN DE AUTORIZACIÓN DEL ENSAYO CLINICO Nº EudraCT 2010-024227-24

DESTINATARIO: **Fundación I.Biomédica Hospital Ramón y Cajal**  
**Itziar de Pablo**  
**Ctra Colmenar Viejo km 9.100**  
**28034 Madrid**  
**España**

Vista la solicitud formulada por **Fundación I.Biomédica Hospital Ramón y Cajal** para la realización del ensayo clínico número **EudraCT 2010-024227-24** titulado "**Ensayo clínico en fase II sobre neuroprotección por cannabinoideos en enfermedad de Huntington**", código de protocolo del promotor **SAT-HD**, cuyo promotor es **Fundación I.Biomédica Hospital Ramón y Cajal** se emite resolución a tenor de los siguientes

## ANTECEDENTES DE HECHO

**PRIMERO:** Con fecha 16/02/2011 presenta solicitud de autorización de ensayo clínico.

A estos antecedentes de hechos le son de aplicación los siguientes:

## FUNDAMENTOS DE DERECHO:

**Único.** Son de aplicación al presente procedimiento la Ley 30/1992, de 26 de noviembre, de Régimen Jurídico de las Administraciones Públicas y del Procedimiento Administrativo Común, modificada por la Ley 4/1999, de 13 de enero; la Ley 12/2000, de 29 de diciembre de medidas fiscales, administrativas y de orden social; Ley 29/2006, de 26 de julio, de Garantías y Uso Racional de Medicamentos y Productos Sanitarios; el Real Decreto 223/2004 de 6 de febrero, por el que se regulan los ensayos clínicos con medicamentos; el Real Decreto 520/1999, de 26 de marzo, por el que se aprueba el Estatuto de la Agencia Española del Medicamento, y demás normas aplicables.

Así, del expediente se deduce que se cumplen los requisitos establecidos para su autorización de acuerdo con el Artículo 22 del Real Decreto 223/2004.

MINISTERIO  
DE SANIDAD, POLÍTICA SOCIAL  
E IGUALDAD  
Agencia española de  
Medicamentos y Productos  
Sanitarios

1

12. Abr. 2011 9:14

AEMPS SGMUH AREA ENS CLINICOS

Nº8479 P. 3



DIRECCION DE LA  
AGENCIA ESPAÑOLA  
DE MEDICAMENTOS Y  
PRODUCTOS SANITARIOS

Por todo lo anteriormente expuesto la Directora de la Agencia de Medicamentos y Productos Sanitarios en el ejercicio de sus competencias **RESUELVE:**

1º.- **AUTORIZAR** la realización de este ensayo clínico número EudraCT 2010-024227-24,

Contra esta Resolución, que pone fin a la vía administrativa, puede interponerse potestativamente Recurso de Reposición ante el/la Director/a de la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios en el plazo de un mes, conforme a lo dispuesto en el artículo 116 de la Ley 30/1992, de 26 de noviembre, de Régimen Jurídico de las Administraciones públicas y del Procedimiento Administrativo Común, o interponerse Recurso Contencioso-Administrativo ante el Juzgado Central de lo Contencioso-Administrativo de Madrid, en el plazo de dos meses a contar desde el día siguiente a la recepción de la presente notificación, conforme a lo dispuesto en la Ley Reguladora de la Jurisdicción Contencioso-Administrativa de 13 de julio de 1998, y sin perjuicio de cualquier otro recurso que pudiera interponerse.

LA DIRECTORA DE LA AGENCIA ESPAÑOLA  
DE MEDICAMENTOS Y PRODUCTOS SANITARIOS



D.ª. Belén Crespo Sánchez-Eznarriaga

MINISTERIO  
DE SANIDAD, POLÍTICA SOCIAL  
E IGUALDAD  
Agencia española de  
Medicamentos y Productos  
Sanitarios

**C. Aprobación del Comité Ético de Investigación Clínica (CEIC).**



**INFORME DEL COMITÉ ETICO DE INVESTIGACION CLINICA**

Dra. **SONSOLES SANCHO GARCIA**, Presidenta del Comité Etico de Investigación Clínica del Hospital Universitario Ramón y Cajal.

**CERTIFICA**

Que el Comité Etico de Investigación Clínica ha evaluado la propuesta del Promotor: **FUNDACION PARA LA INVESTIGACION BIOMEDICA HOSPITAL UNIVERSITARIO RAMON Y CAJAL** para que sea realizado en este Hospital el Ensayo Clínico con código de Protocolo: **SAT-HD**, N° Eudract: **2010-024227-24** titulado:

**Ensayo clínico en fase II sobre neuroprotección por cannabinoides en enfermedad de Huntington.**

**Protocolo versión 01/diciembre/2010**

**Hoja de información al paciente y consentimiento informado V2 de 19 de enero de 2011**

Se cumplen los requisitos necesarios de idoneidad del Protocolo en relación con los objetivos del estudio y están justificados los riesgos y molestias previsibles para el sujeto.

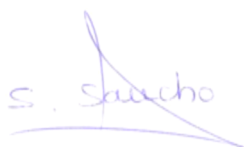
La capacidad del Investigador y los medios disponibles son apropiados para llevar a cabo el estudio.

Son adecuados el procedimiento previsto para obtener el consentimiento informado y la compensación prevista para los sujetos por daños que pudieran derivarse de su participación en el ensayo.

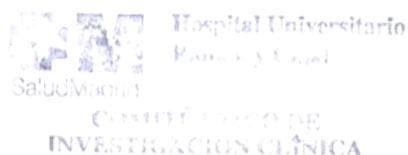
El alcance de las compensaciones económicas previstas no interfieren con el respeto a los postulados éticos.

Y que este Comité acepta que dicho ensayo Clínico sea realizado en este Hospital por el **Dr. Justo García de Yébenes** como investigador Principal.

Lo que firmo en Madrid a 20 de Enero de 2011



Fdo: Sonsoles Sancho García  
 Presidenta del CEIC





Hospital Universitario  
Ramón y Cajal  
Comité Ético de Investigación Clínica



Nº EUDRACT: 2010-024227-24

CÓDIGO: SAT-HD  
VERSIÓN: 01 de diciembre de 2010  
HIP/CI: versión 2 de 19 de enero de 2011  
TÍTULO:

**Ensayo clínico en fase II sobre neuroprotección por cannabinoides en enfermedad de Huntington**

PROMOTOR: FUNDACION PARA LA INVESTIGACION BIOMEDICA HOSPITAL UNIVERSITARIO RAMON Y CAJAL

Dra. Sonsoles Sancho García, Presidenta del Comité Ético (CEIC) de Investigación Clínica del HOSPITAL UNIVERSITARIO RAMÓN Y CAJAL,

HACE CONSTAR QUE:

1º En la reunión celebrada el día 29/Noviembre/2010 correspondiente al Acta nº 236, se evaluó el Estudio de referencia y decide su APROBACIÓN. (\* )

2º En dicha reunión se cumplieron los requisitos establecidos en la legislación vigente -Real Decreto 223/2004 y Decreto 39/94 de la Comunidad de Madrid - para que la decisión del citado CEIC sea válida.

3º El CEIC del Hospital Ramón y Cajal, tanto en su composición, como en sus PNTs cumple con las normas de BPC.

4º La composición del CEIC del Hospital Ramón y Cajal en la citada fecha, era la siguiente:

- Dra. Mª Jesús Blanchard Rodríguez (Hematología ).
- Dr. Ramón Colomer Bosch (Oncología MD Anderson ).
- Dr. Alejandro Del Río Busto ( Cardiología ).
- Dra. Itziar de Pablo López de Abechucó. (Farmacóloga Clínica).
- Dra. Guadalupe Fraile Rodríguez ( Medicina Interna / Ap. Respiratorio ).
- Dra. María de los Ángeles Gálvez Múgica. (Farmacóloga Clínica).
- Dr. José Manuel Garrido Jiménez (Cirugía Cardiovascular ).
- Dra. Mª Luisa García de Paredes ( Oncología Médica ).
- Dr. Guillermo García Ribas ( Neurología ).
- Dra. Elena Molina Martín ( Servicio de Farmacia Área 4 A. Primaria ).
- Dr. José Antonio Pérez Molina ( Medicina Tropical )
- Dra. Cristina Pueyo López. (Licenciada en Farmacia y Master de Bioética).
- D. Cristóbal Francisco Rodríguez Martín. (DUE Psiquiatría).
- Dña. Carmen Ruiz Ballesteros. (Licenciada en Derecho. No vinculada laboralmente al Hospital).
- D. Javier Sánchez Casajús (Licenciado en Económicas. No vinculado laboralmente al Hospital)
- Dra. Sonsoles Sancho García. (Oncología Radioterápica).
- Dr. José Luis San Millán López ( Genética Molecular ).
- Dra. Sonia Soto Díaz ( Médico de Familia, Atención Primaria ).
- Dr. Javier Zamora Romero. (Doctor en Biología, experto en Bioestadística).

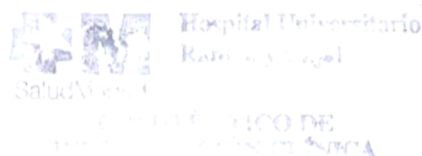
(\* ) Condicionado a la contratación de la póliza del seguro.

Para que conste donde proceda, y a petición del promotor,

Madrid 20 de Enero de 2011

S. Sancho

Fdo. Dra. Sonsoles Sancho García  
Presidenta del CEIC



Ctra. Colmenar, km. 9,100 - 28034 MADRID (Planta -2Dcha)  
Tlfº: 91 336 8322

E-maiL: ceic.hrc@salud.madrid.org

**D. Aprobación de la dirección del centro.**

 <p>SaludMadrid</p>	<p>Hospital Universitario Ramón y Cajal Comité Ético de Investigación Clínica</p>	 <p>Comunidad de Madrid</p>
--	---	--

**Conformidad de la Dirección del Centro**

Dra. **VICTORIA UREÑA VILARDELL**, Subdirectora Médico de Docencia e Investigación del Hospital "Ramón y Cajal" y vista la autorización del Comité Ético de Investigación Clínica del Hospital.

**CERTIFICA**

Que conoce la propuesta realizada por el Promotor: **FUNDACION INVESTIGACION BIOMEDICA HOSPITAL RAMON Y CAJAL** para que sea realizado en este Hospital el Ensayo Clínico con código de Protocolo: **SAT-HD**, N° Eudract: **2010-024227-24**, titulado:

**Ensayo clínico en fase II sobre neuroprotección por cannabinoides en enfermedad de Huntington**

**Protocolo versión 01/diciembre/2010**

**Hoja de información al paciente y consentimiento informado V2 de 19 de enero de 2011**

Y que será realizado por el **Dr. Justo García de Yébenes** como Investigador Principal.

Que está de acuerdo con el contrato firmado entre la Fundación para la Investigación Biomédica del Hospital Universitario Ramón y Cajal, el Promotor y el Investigador, en el que se especifican todos los aspectos económicos de este Ensayo Clínico.

Que acepta la realización de dicho Ensayo Clínico en este Hospital.

Lo que firma en Madrid a 24 de Enero de 2011.



Fdo. Dra. Victoria Ureña Vilardell



Hospital Universitario  
Ramón y Cajal  
SaludMadrid  
SUBDIRECCIÓN MÉDICA DE DOCENCIA,  
INVESTIGACIÓN Y CALIDAD  
Tfno.: 88335 - 0 Dcha.

E. Registro en la base de datos americana: [clinicaltrials.gov](http://clinicaltrials.gov).



Protocol Registration Receipt  
12/29/2011

Neuroprotection by Cannabinoids in Huntington's Disease

This study is ongoing, but not recruiting participants.

Sponsor:	Fundacion para la Investigacion Biomedica del Hospital Universitario Ramon y Cajal
Collaborators:	GW Pharmaceuticals Ltd.
Information provided by (Responsible Party):	Fundacion para la Investigacion Biomedica del Hospital Universitario Ramon y Cajal
ClinicalTrials.gov Identifier:	NCT01502046

► Purpose

Huntington's disease (HD) is a progressive neurodegenerative disorder, related to an abnormal expansion of CAG triplets in the huntingtin gene, characterized by motor, cognitive and behavioral abnormalities, without known effective symptomatic treatment and without known disease slowing strategy. The most severe neuropathological lesions observed in HD take place in the striatum, one brain area important in motor control and rich in cannabinoid receptors (CBR). CBR are subdivided in two classes: CB1R are located in neurons and play a role in neuronal function; CB2R in brain are located mostly in microglia and modulate neuroinflammation.

CBR disappear early in the course of HD, before there is a massive drop out of cells in the striatum. Cannabinoid transmission is also an early event in brains of animal models of HD. In R6/2 mice, which carry large CAG expansions and develop an early and severe HD phenotype the suppression of the CB1R gene further accelerate the development of a severe clinical syndrome and the characteristic brain inclusions and abnormalities of synaptic density. R6/2 treated mice treated with cannabinoids improve their clinical phenotype, their brain lesions, the synaptic density and the levels of BDNF, a neurotrophic factor which enhances survival and resistance of striatal neurons.

Preliminary studies of cannabinoids in patients with HD have shown that these compounds are safe in these patients. Those studies, however, did not show efficacy because 1) they were underpowered from the statistical point of view, 2) were performed with isolated pure cannabinoids, instead of the more physiological stimulation with a mixture of compounds, and 3) they did use insensitive clinical parameters instead of sensitive end points,



such as pathogenically important biomarkers.

The investigators propose a phase II trial with combination of cannabinoids with evaluation of safety, by the profile of adverse events, and efficacy, according to changes of important biomarkers

Condition	Intervention	Phase
Huntington's Disease	Drug: delta-9-tetrahydrocannabinol (THC) and cannabidiol (CBD) Drug: Placebo	Phase 2

Study Type: Interventional

Study Design: Treatment, Crossover Assignment, Double Blind (Subject, Investigator), Randomized, Safety Study

Official Title: A Double Blind, Randomized, Cross Over, Placebo Controlled Phase 2 Clinical Trial to Assess

Neuroprotection by Cannabinoids in Huntington's Disease

Further study details as provided by Fundacion para la Investigacion Biomedica del Hospital Universitario Ramon y Cajal:

Primary Outcome Measure:

- Serious Adverse Events reported [Time Frame: 8 months] [Designated as safety issue: No]
  - Changes in the UHDRs Score [Time Frame: On week 4 and 12 of each period] [Designated as safety issue: No]
- UHDRS scale scores from the following perspectives: motor, cognitive, psychiatric and functional.

Secondary Outcome Measures:

- Changes in the BDNF levels (Brain-derived Neurotrophic Factor), oxidative stress (due to mitochondrial dysfunction) and proinflammatory cytokines in plasma [Time Frame: Basal and on week 4 and 12 of each period] [Designated as safety issue: No]
- Changes in the BDNF levels (Brain-derived Neurotrophic Factor), oxidative stress (due to mitochondrial dysfunction) and proinflammatory cytokines in cerebrospinal fluid. [Time Frame: On week 12 of each period] [Designated as safety issue: No]

Enrollment: 25

Study Start Date: September 2011

Estimated Study Completion Date: June 2012

Estimated Primary Completion Date: June 2012

Arms	Assigned Interventions
Experimental: Sativex	Drug: delta-9-tetrahydrocannabinol (THC) and cannabidiol (CBD) Sativex 2.7 mg delta-9-tetrahydrocannabinol/2.5 mg cannabidiol Oromucosal Spray. One spray per day, up to a maximum of 12 sprays per day.

Arms	Assigned Interventions
Placebo Comparator: Placebo	Drug: Placebo Placebo, One spray per day, up to a maximum of 12 sprays per day.

► Eligibility

Ages Eligible for Study: 18 Years and older

Genders Eligible for Study: Both

Inclusion Criteria:

1. Patients with HD
2. Older than 18 years.
3. Able to understand the study, to attend the study visits and to provide informed consent.
4. Stable baseline medication for at least 6 weeks prior to randomization.
5. Score in the UHDRS-motor from 5 to 50.
6. Good cognitive status (MMSE > 25) at the screening visit, with no evidence of major depression, at the discretion of the attending physician, and no evidence of psychosis.
7. Not consumers of products derived from marijuana.

Exclusion Criteria:

1. Pregnant or lactating women.
2. History of drug addiction.
3. History of psychosis or with history of suicidal attempts.
4. Patients with diseases of the oral cavity that prevents the safe administration of the drug.
5. Patients in which drug administration is contraindicated according to the SmPC

► Contacts and Locations

Locations

Spain

Hospital Universitario Ramón y Cajal  
Madrid, Madrid, Spain, 28034

Investigators

Principal Investigator: Justo García de Yébenes

Hospital Universitario Ramón y Cajal

► More Information

Responsible Party: Fundación para la Investigación Biomedica del Hospital Universitario Ramon y Cajal

Study ID Numbers: SAT-HD  
2010-024227-24 [EudraCT Number]  
Health Authority: Spain: Spanish Agency of Medicines

## F. Declaración de Helsinki.

### DECLARACION DE HELSINKI DE LA ASOCIACION MEDICA MUNDIAL

Principios éticos para las investigaciones médicas en seres humanos

Adoptada por la

18ª Asamblea Médica Mundial, Helsinki, Finlandia, junio 1964

y enmendada por la

29ª Asamblea Médica Mundial, Tokio, Japón, octubre 1975

35ª Asamblea Médica Mundial, Venecia, Italia, octubre 1983

41ª Asamblea Médica Mundial, Hong Kong, septiembre 1989

48ª Asamblea General Somerset West, Sudáfrica, octubre 1996

52ª Asamblea General, Edimburgo, Escocia, octubre 2000

Nota de Clarificación del Párrafo 29, agregada por la Asamblea General de la AMM, Washington 2002

Nota de Clarificación del Párrafo 30, agregada por la Asamblea General de la AMM, Tokio 2004

59ª Asamblea General, Seúl, Corea, octubre 2008

## A. INTRODUCCION

1. La Asociación Médica Mundial (AMM) ha promulgado la Declaración de Helsinki como una propuesta de principios éticos para investigación médica en seres humanos, incluida la investigación del material humano y de información identificables.

La Declaración debe ser considerada como un todo y un párrafo no debe ser aplicado sin considerar todos los otros párrafos pertinentes.

2. Aunque la Declaración está destinada principalmente a los médicos, la AMM insta a otros participantes en la investigación médica en seres humanos a adoptar estos principios.

3. El deber del médico es promover y velar por la salud de los pacientes, incluidos los que participan en investigación médica. Los conocimientos y la conciencia del médico han de subordinarse al cumplimiento de ese deber.

4. La Declaración de Ginebra de la Asociación Médica Mundial vincula al médico con la fórmula "velar solícitamente y ante todo por la salud de mi paciente", y el Código Internacional de Ética Médica afirma que: "El médico debe considerar lo mejor para el paciente cuando preste atención médica".

5. El progreso de la medicina se basa en la investigación que, en último término, debe incluir estudios en seres humanos. Las poblaciones que están subrepresentadas en la investigación médica deben tener un acceso apropiado a la participación en la investigación.

6. En investigación médica en seres humanos, el bienestar de la persona que participa en la investigación debe tener siempre primacía sobre todos los otros intereses.

7. El propósito principal de la investigación médica en seres humanos es comprender las causas, evolución y efectos de las enfermedades y mejorar las intervenciones preventivas, diagnósticas y terapéuticas (métodos, procedimientos y tratamientos). Incluso, las mejores intervenciones actuales deben ser evaluadas continuamente a través de la investigación para que sean seguras, eficaces, efectivas, accesibles y de calidad.

8. En la práctica de la medicina y de la investigación médica, la mayoría de las intervenciones implican algunos riesgos y costos.

9. La investigación médica está sujeta a normas éticas que sirven para promover el respeto a todos los seres humanos y para proteger su salud y sus derechos individuales. Algunas poblaciones sometidas a la investigación son particularmente vulnerables y necesitan protección especial. Estas incluyen a los que no pueden otorgar o rechazar el consentimiento por sí mismos y a los que pueden ser vulnerables a coerción o influencia indebida.

10. Los médicos deben considerar las normas y estándares éticos, legales y jurídicos para la investigación en seres humanos en sus propios países, al igual que las normas y estándares internacionales vigentes. No se debe permitir que un requisito ético, legal o jurídico nacional o internacional disminuya o elimine cualquiera medida de protección para las personas que participan en la investigación establecida en esta Declaración.

#### B. PRINCIPIOS PARA TODA INVESTIGACION MEDICA

11. En la investigación médica, es deber del médico proteger la vida, la salud, la dignidad, la integridad, el derecho a la autodeterminación, la intimidad y la confidencialidad de la información personal de las personas que participan en investigación.

12. La investigación médica en seres humanos debe conformarse con los principios científicos generalmente aceptados y debe apoyarse en un profundo conocimiento de la bibliografía científica, en otras fuentes de información pertinentes, así como en experimentos de laboratorio correctamente realizados y en animales, cuando sea oportuno. Se debe cuidar también del bienestar de los animales utilizados en los experimentos.

13. Al realizar una investigación médica, hay que prestar atención adecuada a los factores que puedan dañar el medio ambiente.

14. El proyecto y el método de todo estudio en seres humanos debe describirse claramente en un protocolo de investigación. Este debe hacer referencia siempre a las consideraciones éticas que fueran del caso y debe indicar cómo se han considerado los principios enunciados en esta Declaración. El protocolo debe incluir información sobre financiamiento, patrocinadores, afiliaciones institucionales, otros posibles conflictos de interés e incentivos para las personas del estudio y estipulaciones para tratar o compensar a las personas que han sufrido daños como consecuencia de su participación en la investigación. El protocolo debe describir los arreglos para el acceso después del ensayo a intervenciones

identificadas como beneficiosas en el estudio o el acceso a otra atención o beneficios apropiadas.

15. El protocolo de la investigación debe enviarse, para consideración, comentario, consejo y aprobación, a un comité de ética de investigación antes de comenzar el estudio. Este comité debe ser independiente del investigador, del patrocinador o de cualquier otro tipo de influencia indebida. El comité debe considerar las leyes y reglamentos vigentes en el país donde se realiza la investigación, como también las normas internacionales vigentes, pero no se debe permitir que éstas disminuyan o eliminen ninguna de las protecciones para las personas que participan en la investigación establecidas en esta Declaración. El comité tiene el derecho de controlar los ensayos en curso. El investigador tiene la obligación de proporcionar información del control al comité, en especial sobre todo incidente adverso grave. No se debe hacer ningún cambio en el protocolo sin la consideración y aprobación del comité.

16. La investigación médica en seres humanos debe ser llevada a cabo sólo por personas con la formación y calificaciones científicas apropiadas. La investigación en pacientes o voluntarios sanos necesita la supervisión de un médico u otro profesional de la salud competente y calificado apropiadamente. La responsabilidad de la protección de las personas que toman parte en la investigación debe recaer siempre en un médico u otro profesional de la salud y nunca en los participantes en la investigación, aunque hayan otorgado su consentimiento.

17. La investigación médica en una población o comunidad con desventajas o vulnerable sólo se justifica si la investigación responde a las necesidades y prioridades de salud de esta población o comunidad y si existen posibilidades razonables de que la población o comunidad, sobre la que la investigación se realiza, podrá beneficiarse de sus resultados.

18. Todo proyecto de investigación médica en seres humanos debe ser precedido de una cuidadosa comparación de los riesgos y los costos para las personas y las comunidades que participan en la investigación, en comparación con los beneficios previsibles para ellos y para otras personas o comunidades afectadas por la enfermedad que se investiga.

19. Todo ensayo clínico debe ser inscrito en una base de datos disponible al público antes de aceptar a la primera persona.

20. Los médicos no deben participar en estudios de investigación en seres humanos a menos de que estén seguros de que los riesgos inherentes han sido adecuadamente evaluados y de que es posible hacerles frente de manera satisfactoria. Deben suspender inmediatamente el experimento en marcha si observan que los riesgos que implican son más importantes que los beneficios esperados o si existen pruebas concluyentes de resultados positivos o beneficiosos.

21. La investigación médica en seres humanos sólo debe realizarse cuando la importancia de su objetivo es mayor que el riesgo inherente y los costos para la persona que participa en la investigación.

22. La participación de personas competentes en la investigación médica debe ser voluntaria. Aunque puede ser apropiado consultar a familiares o líderes de la comunidad, ninguna persona competente debe ser incluida en un estudio, a menos que ella acepte libremente.

23. Deben tomarse toda clase de precauciones para resguardar la intimidad de la persona que participa en la investigación y la confidencialidad de su información personal y para reducir al mínimo las consecuencias de la investigación sobre su integridad física, mental y social.



24. En la investigación médica en seres humanos competentes, cada individuo potencial debe recibir información adecuada acerca de los objetivos, métodos, fuentes de financiamiento, posibles conflictos de intereses, afiliaciones institucionales del investigador, beneficios calculados, riesgos previsibles e incomodidades derivadas del experimento y todo otro aspecto pertinente de la investigación. La persona potencial debe ser informada del derecho de participar o no en la investigación y de retirar su consentimiento en cualquier momento, sin exponerse a represalias. Se debe prestar especial atención a las necesidades específicas de información de cada individuo potencial, como también a los métodos utilizados para entregar la información. Después de asegurarse de que el individuo ha comprendido la información, el médico u otra persona calificada apropiadamente debe pedir entonces, preferiblemente por escrito, el consentimiento informado y voluntario de la persona. Si el consentimiento no se puede otorgar por escrito, el proceso para lograrlo debe ser documentado y atestiguado formalmente.

25. Para la investigación médica en que se utilice material o datos humanos identificables, el médico debe pedir normalmente el consentimiento para la recolección, análisis, almacenamiento y reutilización. Podrá haber situaciones en las que será imposible o impracticable obtener el consentimiento para dicha investigación o podría ser una amenaza para su validez. En esta situación, la investigación sólo puede ser realizada después de ser considerada y aprobada por un comité de ética de investigación.

26. Al pedir el consentimiento informado para la participación en la investigación, el médico debe poner especial cuidado cuando el individuo potencial está vinculado con él por una relación de dependencia o si consiente bajo presión. En una situación así, el consentimiento informado debe ser pedido por una persona calificada adecuadamente y que nada tenga que ver con aquella relación.

27. Cuando el individuo potencial sea incapaz, el médico debe pedir el consentimiento informado del representante legal. Estas personas no deben ser incluidas en la investigación que no tenga posibilidades de beneficio para ellas, a menos que ésta tenga como objetivo promover la salud de la población representada por el individuo potencial y esta investigación no puede realizarse en personas competentes y la investigación implica sólo un riesgo y costo mínimos.

28. Si un individuo potencial que participa en la investigación considerado incompetente es capaz de dar su asentimiento a participar o no en la investigación, el médico debe pedirlo, además del consentimiento del representante legal. El desacuerdo del individuo potencial debe ser respetado.

29. La investigación en individuos que no son capaces física o mentalmente de otorgar consentimiento, por ejemplo los pacientes inconscientes, se puede realizar sólo si la condición física/mental que impide otorgar el consentimiento informado es una característica necesaria de la población investigada. En estas circunstancias, el médico debe pedir el consentimiento informado al representante legal. Si dicho representante no está disponible y si no se puede retrasar la investigación, el estudio puede llevarse a cabo sin consentimiento informado, siempre que las razones específicas para incluir a individuos con una enfermedad que no les permite otorgar consentimiento informado hayan sido estipuladas en el protocolo de la investigación y el estudio haya sido aprobado por un comité de ética de investigación. El consentimiento para mantenerse en la investigación debe obtenerse a la brevedad posible del individuo o de un representante legal.

30. Los autores, directores y editores todos tienen obligaciones éticas con respecto a la publicación de los resultados de su investigación. Los autores tienen el deber de tener a la disposición del público los resultados de su investigación en seres humanos y son

responsables de la integridad y exactitud de sus informes. Deben aceptar las normas éticas de entrega de información. Se deben publicar tanto los resultados negativos e inconclusos como los positivos o de lo contrario deben estar a la disposición del público. En la publicación se debe citar la fuente de financiamiento, afiliaciones institucionales y conflictos de intereses. Los informes sobre investigaciones que no se ciñan a los principios descritos en esta Declaración no deben ser aceptados para su publicación.

#### C. PRINCIPIOS APLICABLES CUANDO LA INVESTIGACION MEDICA SE COMBINA CON LA ATENCION MEDICA

31. El médico puede combinar la investigación médica con la atención médica, sólo en la medida en que tal investigación acredite un justificado valor potencial preventivo, diagnóstico o terapéutico y si el médico tiene buenas razones para creer que la participación en el estudio no afectará de manera adversa la salud de los pacientes que toman parte en la investigación.

32. Los posibles beneficios, riesgos, costos y eficacia de toda intervención nueva deben ser evaluados mediante su comparación con la mejor intervención probada existente, excepto en las siguientes circunstancias:

- El uso de un placebo, o ningún tratamiento, es aceptable en estudios para los que no hay una intervención probada existente.

- Cuando por razones metodológicas, científicas y apremiantes, el uso de un placebo es necesario para determinar la eficacia y la seguridad de una intervención que no implique un riesgo, efectos adversos graves o daño irreversible para los pacientes que reciben el placebo o ningún tratamiento. Se debe tener muchísimo cuidado para evitar abusar de esta opción.

33. Al final de la investigación, todos los pacientes que participan en el estudio tienen derecho a ser informados sobre sus resultados y compartir cualquier beneficio, por ejemplo,

acceso a intervenciones identificadas como beneficiosas en el estudio o a otra atención apropiada o beneficios.

34. El médico debe informar cabalmente al paciente los aspectos de la atención que tienen relación con la investigación. La negativa del paciente a participar en una investigación o su decisión de retirarse nunca debe perturbar la relación médico-paciente.

35. Cuando en la atención de un enfermo las intervenciones probadas han resultado ineficaces o no existen, el médico, después de pedir consejo de experto, con el consentimiento informado del paciente o de un representante legal autorizado, puede permitirse usar intervenciones no comprobadas, si, a su juicio, ello da alguna esperanza de salvar la vida, restituir la salud o aliviar el sufrimiento. Siempre que sea posible, tales intervenciones deben ser investigadas a fin de evaluar su seguridad y eficacia. En todos los casos, esa información nueva debe ser registrada y, cuando sea oportuno, puesta a disposición del público.

**G. Certificado del seguro.**



**CERTIFICADO**

La Compañía **HDI HANNOVER International (España), S.A.**, con domicilio social en Luchana, 23, 3ª, 28010 Madrid.

**CERTIFICA**

1. Que la **FUNDACIÓN PARA LA INVESTIGACIÓN BIOMÉDICA HOSPITAL UNIV. RAMON Y CAJAL**, con domicilio en Crtra. de Colmenar Viejo Km. 9,100 – 28049 Madrid, tiene contratada con dicha Sociedad la póliza de seguros N° **130/001/007419** con el fin de cubrir la Responsabilidad civil derivada del siguiente ensayo clínico:

- N° Protocolo: **SAT-HD**
- Título del Ensayo Clínico: **“Ensayo clínico en fase II sobre neuroprotección por cannabinoides en enfermedad de Huntington.”**

-Centro: **Hospital Ramón y Cajal**

-Investigador Principal: **Dr. Justo García de Yébenes**

2. La póliza mencionada cubre la Responsabilidad Civil que pueda derivarse por la realización del ensayo clínico antes mencionado conforme a lo establecido en el Real Decreto 223/2004 de 6 de Febrero, publicado en el B.O.E. con fecha 7 de febrero del mismo año, que la desarrolla, así como todos los daños y perjuicios que como consecuencia del mismo puedan resultar para la persona participante en el estudio.
3. El límite máximo por todas las prestaciones que venga obligado a satisfacer el Asegurador de acuerdo con las condiciones contractualmente pactadas asciende a € 3.000.000 por año, estableciéndose un sublímite en la suma asegurada de € 250.000 por cada sujeto sometido a ensayo.
4. Que se encuentra cubierta la totalidad de la duración del ensayo, previsto para el período 01.09.2011 – 15.05.2013, más 36 meses después de finalizado el mismo.

Y para que así conste y a petición del interesado, se expide el presente Certificado, en Madrid, a 23 de Agosto de 2011.

HDI HANNOVER INTERNATIONAL ESPAÑA, Seguros y Reaseguros, S.A. (Sociedad Unipersonal) inscrita en el R.M. de Madrid, tomo: 9.848. Libro: 0. Folio: 129. Sección 8. Hoja M-158031. Inscrición 1.ª Autorizada por O.M. de fecha 22-12-1995. Inscrita en el Registro de Entidades Aseguradoras N.º C-726. C.I.F. A81250243.

Med. M01

HDI HANNOVER INTERNATIONAL (ESPAÑA)  
SEGUROS Y REASEGUROS, S.A.  
Luchana, 23  
28010 MADRID

Tel. 91 444 20 00  
Fax 91 444 20 19  
E-mail hie@hdi.es



Banco Popular Español  
Cta. Cte.: 0216 1083 01 0600041206  
IBAN: ES84 0216 1083 0106 0004 1206  
SWIFT CODE: POHIESMM

H. Licencia de importación de estupefacientes.

ESTUPEFACIENTES

ORIGINAL PARA OBTENER  
PERMISO DE EXPORTACIÓN

1

 MINISTERIO DE SANIDAD, POLÍTICA SOCIAL E IGUALDAD  agencia española de medicamentos y productos sanitarios	Autorización IMPORTACIÓN Nº: <i>Import Authorization Nº:</i>		IE/524/2011/7
	ESPAÑA	Madrid,	19 julio 2011

En nombre del Gobierno de España, el Área de Estupefacientes de la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios, atendiendo a lo previsto en la legislación nacional y a los Convenios Internacionales sobre Estupefacientes (1961/72) autoriza la siguiente importación:

*On behalf of the Government of Spain, the Narcotics Division of National Agency for Medicines and Sanitary Products, in the meaning of the national legislation and the Single Convention on Narcotic Drugs (1961/72), hereby authorizes the following import.*



<b>Importador:</b> <i>Importer</i> SERVICIO DE FARMACIA.HOSPITAL RAMON Y CAJAL CTRA COLMENAR VIEJO KM 9,100 28034 MADRID ESPAÑA
<b>Exportador:</b> <i>Exporter</i> GW PHARM LIMITED BUILDING 740, KENT SCIENCE PARK, SITTINGBOURNE KENT ME9 8AG REINO UNIDO
<b>Nombre de la sustancia o preparado que lo contiene, forma farmacéutica y cantidad:</b> <i>Controlled substances and/or preparations, description and quantity</i> SATIVEX, sol. pulverización bucal 10 g/ vial 156 x 1 = 156 viales
<b>Cantidad de la sustancia estupefaciente en base anhidra :</b> <i>Anhydrous base content</i> Cannabis 1 kilogramos 560 gramos
<b>Condiciones especiales :</b> <i>Special conditions</i> AUTORIZACIÓN PARA INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA - VÁLIDA PARA UN SOLO DESPACHO Permit valid for one shipment only- Substance destined to scientific research

<b>Aduana :</b> <i>Customs</i> MADRID	<b>Fecha de caducidad :</b> <i>Expiry date</i> 19 enero 2012
---	--

 agencia española de medicamentos y productos sanitarios 27 JUL 2011 SUBDIRECCIÓN GENERAL DE INSPECCIÓN Y CONTROL DE MEDICAMENTOS SALIDA N.º 29069	 Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios Subdirección General de Inspección y Control de Medicamentos Área de Estupefacientes y Psicótropos Campezo, 1 Edificio 8, 28022 Madrid Tel: (00)-(34)-91-8225224 Fax: (00)-(34)-91-8225243 E-mail: mdelgado@aemps.es LA DIRECTORA (P.D. 28.05.2010) LA JEFA DE ÁREA DE ESTUPEFACIENTES Y PSICÓTROPOS  Enriqueta Tórrres Vinuesa
--	--

Original to be forwarded to exporter for presentation to competent authority in the country of export. Not to be used for customs clearance.

ESTUPEFACIENTES

		Autorización IMPORTACIÓN Nº: <i>Import Authorization Nº:</i>		IE/524/2011/7
		ESPAÑA	Madrid,	19 Julio 2011

En nombre del Gobierno de España, el Área de Estupefacientes de la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios, atendiendo a lo previsto en la legislación nacional y a los Convenios Internacionales sobre Estupefacientes (1961/72) autoriza la siguiente importación:

*On behalf of the Government of Spain, the Narcotics Division of National Agency for Medicines and Sanitary Products, in the meaning of the national legislation and the Single Convention on Narcotic Drugs (1961/72), hereby authorizes the following import.*

Importador: <i>Importer</i>	SERVICIO DE FARMACIA.HOSPITAL RAMON Y CAJAL CTRA COLMENAR VIEJO KM 9,100 28034 MADRID ESPAÑA
Exportador: <i>Exporter</i>	GW PHARM LIMITED BUILDING 740, KENT SCIENCE PARK, SITTINGBOURNE KENT ME9 8AG REINO UNIDO
Nombre de la sustancia o preparado que lo contiene, forma farmacéutica y cantidad: <i>Controlled substances and/or preparations, description and quantity</i>	
SATIVEX, sol. pulverización bucal 10 gl vial 156 x 1 = 156 viales	
Cantidad de la sustancia estupefaciente en base anhidra : <i>Anhydrous base content</i>	
Cannabis 1 kilogramos 560 gramos	
Condiciones especiales : <i>Special conditions</i>	<b>AUTORIZACIÓN PARA INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA - VÁLIDA PARA UN SOLO DESPACHO Permit valid for one shipment only- Substance destined to scientific research</b>

EJEMPLAR PARA LA ENTIDAD IMPORTADORA

2

Aduana : <i>Customs</i>	MADRID	Fecha de caducidad : <i>Expiry date</i>	19 enero 2012
			
SUBDIRECCIÓN GENERAL DE INSPECCIÓN Y CONTROL DE MEDICAMENTOS SALIDA N.º 29.069		Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios Subdirección General de Inspección y Control de Medicamentos Área de Estupefacientes y Psicótropos Campezo,1 Edificio 8, 28022 Madrid Tel : (00)- (34)-91-8225224 Fax : (00)- (34)-91-8225243 E-mail: mdeigado@aemps.es  LA DIRECTORA (P.D. 28.05.2010) LA JEFA DE ÁREA DE ESTUPEFACIENTES Y PSICÓTROPOS   Enriqueta Torres Vinuesa	

## I. mUHDRS.

### ESCALA UNIFICADA DE VALORACIÓN DE LA ENFERMEDAD DE HUNTINGTON

(Huntington Study Group. *Movement Disorders 1996; 11: 140-142*)

#### Evaluación motora: mUHDRS

#### EVALUACIÓN MOTORA:

##### Movimientos oculares de seguimiento (horizontal y vertical).

El seguimiento ocular se debe examinar moviendo un objeto lentamente delante del participante, con un giro angular de unos 20°, a una velocidad de  $\leq 10^\circ$  por segundo, lo que corresponde a una duración de 2 segundos, desde un hombro hasta el otro.

- 0: Normal.
- 1: Movimiento irregular, a sacadas.
- 2: Seguimiento interrumpido / rango de movimiento completo.
- 3: Rango de movimiento incompleto.
- 4: No puede realizar el seguimiento.

##### Inicio de movimientos sacádicos (horizontal y vertical).

La iniciación de las sacadas se debe medir con una amplitud de 20°, al igual que para el seguimiento ocular. El movimiento sacádico se debe elicitar mediante un sonido (por ejemplo, haciendo chasquear los dedos) o mediante un movimiento (moviendo los dedos) pero no mediante una orden verbal del estilo de: "mire usted a la izquierda o a la derecha".

- 0: Normal.
- 1: Sólo latencia aumentada.
- 2: Parpadeo o movimientos de cabeza suprimibles al iniciarlos.
- 3: No puede suprimir los movimientos de la cabeza.
- 4: No puede iniciar movimientos sacádicos.

##### Velocidad de movimientos sacádicos (horizontal y vertical).

La velocidad de las sacadas se debe medir con una mayor amplitud de aproximadamente 30° para asegurarnos de ser capaces de detectar amplitudes incompletas.

- 0: Normal.
- 1: Ligero enlentecimiento.
- 2: Moderado enlentecimiento.
- 3: Gran enlentecimiento, rango de movimientos completos.
- 4: Rango de movimientos incompleto.

##### Disartria.

- 0: Normal.
- 1: Articulación anormal, pero comprensible fácilmente sin repetición.
- 2: Articulación anormal, comprensible sólo con frecuente repetición.
- 3: Articulación casi incomprensible.
- 4: Anartria, imposibilidad para articular.



### **Protrusión de la lengua.**

Se debe pedir al participante que saque la lengua todo lo que pueda fuera de la boca mientras la mantiene abierta y que la mantenga fuera. Cuente hasta 10. Advierta al participante que no deben sujetar la lengua, con objeto de mantenerla fuera, ni con la mano ni con los dientes.

- 0: Puede mantener la lengua completamente protruida durante 10 segundos.
- 1: No puede mantener la lengua completamente protruida durante 10 segundos.
- 2: No puede mantener la lengua completamente protruida durante 5 segundos.
- 3: No puede mantenerla completamente protruida.
- 4: No puede protruir la por fuera de los labios.

### **Golpeteo con los dedos (mano derecha e izquierda).**

El sujeto ha de tocar con el primer dedo o pulgar con el dedo índice de forma rápida y con la mayor amplitud posible, primero con una mano y luego con la otra.

- 0: Normal ( $\geq 15/5$  seg).
- 1: Levemente enlentecido y/o reducción en amplitud (11 a 14/5 seg).
- 2: Moderadamente comprometido. Cansancio rápido y definido. Puede ocasionalmente detener el movimiento (7 a 10/5 seg).
- 3: Gravemente comprometido. Frecuentemente duda en iniciar el movimiento o detiene el movimiento en curso (3 a 6/5 seg).
- 4: Apenas puede realizar la tarea.

### **Pronación y supinación de manos (derecha e izquierda).**

En esta tarea se le pide al sujeto que golpee de forma alternante la palma y el dorso de su mano contra la palma de su otra mano. Se utiliza la palma de la otra mano como superficie para realizar la tarea en lugar de utilizar la pierna del sujeto o la mesa. Esta tarea ha de ser realizada con tanta rapidez como sea posible durante cinco segundos. La tarea se evalúa teniendo en cuenta la rapidez y la regularidad con que es ejecutada.

- 0: Normal.
- 1: Levemente irregular y/o enlentecido.
- 2: Moderadamente enlentecido e irregular.
- 3: Gravemente enlentecido e irregular.
- 4: No puede realizar la tarea.

### **Test de Luria (Puño - Canto- Palma).**

Secuencia puño-canto-palma – Se le dice al sujeto "¿Puede hacer esto?" El examinador coloca su puño en una superficie plana (o en su pierna) y realiza los siguientes movimientos: puño, canto, palma (no se debe verbalizar la acción). Se observa al sujeto para asegurarse que puede reproducir cada movimiento. Se sigue haciendo los 3 movimientos durante 1 - 2 minutos. Cuando se comprueba que el sujeto es capaz de imitarlo, se le dice: "Muy bien, ahora siga usted solo, yo voy a parar". Se debe parar y contar las secuencias que realiza el sujeto. Se considera que una secuencia es correcta cuando no tiene un modelo que seguir y es ejecutada en el orden adecuado. Se cuentan las secuencias completas y se puntúan. Si el sujeto no ha sido capaz de realizar ninguna secuencia correctamente durante 10 segundos, se le dice: "Vamos a volver a intentarlo. Ponga su mano así: PUÑO, CANTO, PALMA". Se observa que el sujeto es capaz de imitar cada movimiento. Verbalizando las acciones, se vuelve a realizar y se pide al sujeto lo siguiente: "Haga lo mismo que yo: Puño, Canto, Palma" (se sigue repitiendo las acciones verbalmente a la vez que las realiza). Se sigue realizando los 3 movimientos del test de Luria. Cuando el sujeto sea capaz de imitar, se le dice: "Muy bien, ahora siga usted solo, yo voy a parar". Pare y cuente las secuencias completas que realiza el sujeto. Una secuencia se considera correcta si se realiza sin ayuda y en el orden correcto. Cuente las secuencias completas y puntúelas.

0:  $\geq 4$  en 10 segundos, sin indicaciones.

1:  $< 4$  en 10 segundos, sin indicaciones.

2:  $\geq 4$  en 10 segundos, con indicaciones.

3:  $< 4$  en 10 segundos, con indicaciones

4: No puede realizar la prueba.

**Rigidez de brazos (derecho e izquierdo).**

La rigidez se evalúa mediante movimientos pasivos de los brazos, estando el sujeto relajado y sentado.

0: Ausente.

1: Imperceptible o detectada sólo con maniobra de Froment.

2: Leve a moderada.

3: Importante, rango de movimiento completo.

4: Importante, con limitación del rango de movimiento.

**Bradíinesia del cuerpo.**

Se observa al sujeto realizando diversas acciones como caminar, sentarse, levantarse de la silla, así como durante la realización de las tareas durante el examen. La puntuación será la estimación global del examinador sobre la bradicinesia del paciente.

0: Normal.

1: Mínimamente enlentecido (normal?).

2: Leve pero claramente enlentecido.

3: Moderadamente enlentecido, alguna vacilación.

4: Muy lento, latencia prolongada en inicio del movimiento.

**Distonía máxima (tronco y extremidades superiores e inferiores).**

La distonía máxima se define como la tendencia a adoptar una determinada postura o a colocarse a lo largo de un eje. Se observa al sujeto durante la realización del examen, no es necesaria la realización de determinados movimientos para la elicitación de estas posturas. La distonía máxima se observa habitualmente cuando se pide al sujeto que realice tareas motoras tales como caminar. Cuando se evalúa la distonía se debe tener en cuenta también la distonía facial (blefaroespasma, apertura y cierre de la boca) y cualquier tipo de distonía axial, como componente de la distonía del cuello.

0: Ausente.

1: Imperceptible / Intermitente.

2: Leve / presente frecuentemente / intermitente.

3: Moderada / presente casi siempre.

4: Grave / presente siempre

**Corea máxima (cara, bucolingual, tronco y extremidades superiores e inferiores).**

La Corea Máxima se define como un movimiento, no como una postura. Se observa al sujeto durante la realización del examen, no es necesaria la realización de determinadas maniobras para la elicitación de esta característica. La corea máxima se observa habitualmente cuando se pide al sujeto que realice tareas motoras tales como caminar. La corea se evalúa en áreas específicas: área bucolingual, cara, tronco o extremidades superiores e inferiores

0: Ausente.

1: Imperceptible / Intermitente.

2: Leve / presente frecuentemente / intermitente.

3: Moderada / presente casi siempre.

4: Grave / presente siempre.

**Equilibrio en la marcha.**

Se observa al sujeto caminar durante aproximadamente 9 metros, tan rápido como pueda y después se le pide que dé la vuelta y regrese al punto de partida.

0: Marcha normal, base de sustentación estrecha.

1: Lenta y/o amplía base de sustentación.

2: Camina con dificultad y amplía base de sustentación.

3: Camina sólo con asistencia.

4: No puede realizar la tarea.

**Marcha en tándem (Punta-Talón).**

Se pide al sujeto caminar 10 pasos en línea recta de tal manera que el talón de un pie toque la punta del anterior (ha de hacerlo correctamente pero no deprisa). Se cuentan las desviaciones que hace el sujeto sobre la línea recta.

0: Normal en 10 pasos.

1: 1 a 3 desviaciones de la línea recta.

2: > 3 desviaciones.

3: No puede completar la tarea.

4: No puede realizar la tarea.

**Test del empujón.**

Se pide al sujeto que se coloque de pie con los ojos abiertos y los pies ligeramente separados. El examinador se coloca detrás del sujeto y le empuja, con un golpe seco y rápido, de los hombros hacia atrás, después de haber avisado al sujeto. Se ha de repetir la prueba si el sujeto no lo ha entendido bien o no ha sido bien avisado. El sujeto ha de estar relajado, con los pies ligeramente separados y no echarse hacia delante. Si el examinador nota presión contra sus manos al ponerlas sobre los hombros del sujeto, debe indicar al paciente que se ponga derecho y no echarse hacia delante. El examinador ha de indicar al paciente que, si cree que se va a caer, dé un paso hacia atrás para evitar caerse. Los examinadores han de sujetar al sujeto si ven que se está cayendo.

0: Normal.

1: Se recupera espontáneamente.

2: Caería si no se le sujeta.

3: Tiende a caer espontáneamente.

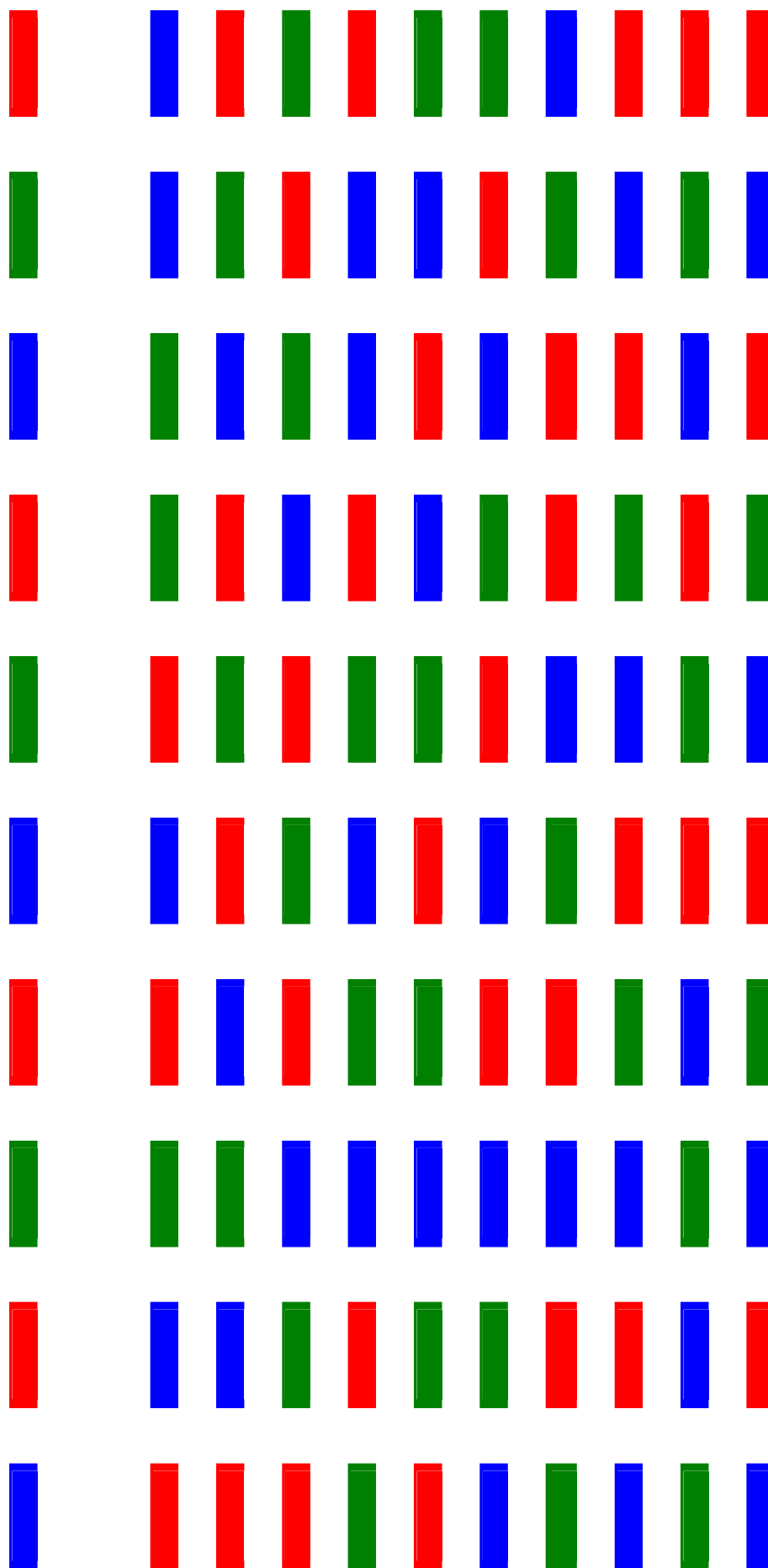
4: No puede estar de pie.

J. Stroop.

**STROOP**  
**Hoja de estímulos: Lectura de palabras**

ROJO	VERDE	AZUL	VERDE	ROJO	AZUL	AZUL	VERDE	ROJO	AZUL	VERDE	ROJO	VERDE
ROJO	AZUL	VERDE	ROJO	AZUL	ROJO	VERDE	VERDE	AZUL	VERDE	VERDE	AZUL	AZUL
ROJO	AZUL	VERDE	AZUL	ROJO	VERDE	ROJO	AZUL	VERDE	ROJO	AZUL	VERDE	ROJO
ROJO	VERDE	AZUL	ROJO	VERDE	ROJO	AZUL	VERDE	ROJO	AZUL	VERDE	ROJO	VERDE
VERDE	ROJO	AZUL	VERDE	AZUL	VERDE	ROJO	AZUL	VERDE	ROJO	AZUL	AZUL	ROJO
ROJO	VERDE	AZUL	VERDE	ROJO	VERDE	VERDE	VERDE	ROJO	AZUL	ROJO	AZUL	VERDE
AZUL	VERDE	AZUL	ROJO	AZUL	ROJO	ROJO	AZUL	VERDE	VERDE	AZUL	ROJO	VERDE
VERDE	ROJO	AZUL	ROJO	VERDE	AZUL	ROJO	ROJO	VERDE	ROJO	ROJO	VERDE	AZUL
AZUL	ROJO	AZUL	VERDE	ROJO	AZUL	AZUL	ROJO	ROJO	VERDE	ROJO	AZUL	ROJO
VERDE	AZUL	VERDE	AZUL	ROJO	ROJO	VERDE	AZUL	VERDE	ROJO	AZUL	VERDE	ROJO
AZUL	ROJO	AZUL	VERDE	ROJO	ROJO	AZUL	VERDE	ROJO	VERDE	ROJO	AZUL	ROJO

**STROOP**  
**Hoja de estímulos: Denominación del color**



**STROOP**  
**Hoja de estímulos: Interferencia**

RED	GREEN	BLUE	GREEN	RED	BLUE	GREEN	BLUE	RED	GREEN	RED	GREEN
RED	BLUE	GREEN	RED	BLUE	RED	GREEN	GREEN	BLUE	GREEN	BLUE	BLUE
RED	BLUE	GREEN	BLUE	RED	GREEN	RED	RED	GREEN	BLUE	GREEN	RED
RED	GREEN	BLUE	RED	GREEN	RED	BLUE	RED	GREEN	GREEN	RED	GREEN
GREEN	RED	BLUE	GREEN	BLUE	GREEN	BLUE	BLUE	RED	BLUE	BLUE	RED
RED	GREEN	BLUE	GREEN	RED	GREEN	BLUE	GREEN	RED	RED	BLUE	GREEN
BLUE	GREEN	BLUE	RED	BLUE	RED	GREEN	GREEN	BLUE	BLUE	RED	GREEN
GREEN	RED	BLUE	RED	GREEN	BLUE	RED	BLUE	RED	RED	GREEN	BLUE
BLUE	RED	BLUE	GREEN	RED	BLUE	GREEN	BLUE	BLUE	RED	BLUE	RED
GREEN	BLUE	GREEN	BLUE	RED	GREEN	RED	RED	GREEN	GREEN	GREEN	RED
BLUE	RED	BLUE	GREEN	RED	BLUE	GREEN	BLUE	GREEN	RED	BLUE	RED

K. Fluidez Verbal-FAS.

## FAS (PRUEBA DE FLUIDEZ VERBAL)

<b>F</b>	<b>A</b>	<b>S</b>
1.	1.	1.
2.	2.	2.
3.	3.	3.
4.	4.	4.
5.	5.	5.
6.	6.	6.
7.	7.	7.
8.	8.	8.
9.	9.	9.
10.	10.	10.
11.	11.	11.
12.	12.	12.
13.	13.	13.
14.	14.	14.
15.	15.	15.
16.	16.	16.
17.	17.	17.
18.	18.	18.
19.	19.	19.
Subtotal	Subtotal	Subtotal

**TOTAL:**

**L. Fluidez Categorial-animales.**

**FLUIDEZ CATEGORIAL - ANIMALES**

Hora de comienzo

--	--	--	--

*“Me gustaría que nombrara todos los animales que pueda... Tiene 1 minuto para nombrar animales diferentes tan rápido como pueda”* (Límite de tiempo – 60 segundos, 1 punto por cada palabra diferente y correcta).

Puntuación. Un punto por cada respuesta diferente nombrada hasta 20. No se puntúan la misma palabra en singular y en plural (Ej., no se puntúa “perros” si ya se ha nombrado “perro”). El rango de puntuación de la tarea va de 0 a 20. Anote el número de palabras diferentes correctas.

Respuesta	Correcta	Respuesta	Correcta
1.	<input type="checkbox"/>	16.	<input type="checkbox"/>
2.	<input type="checkbox"/>	17.	<input type="checkbox"/>
3.	<input type="checkbox"/>	18.	<input type="checkbox"/>
4.	<input type="checkbox"/>	19.	<input type="checkbox"/>
5.	<input type="checkbox"/>	20.	<input type="checkbox"/>
6.	<input type="checkbox"/>	21.	<input type="checkbox"/>
7.	<input type="checkbox"/>	22.	<input type="checkbox"/>
8.	<input type="checkbox"/>	23.	<input type="checkbox"/>
9.	<input type="checkbox"/>	24.	<input type="checkbox"/>
10.	<input type="checkbox"/>	25.	<input type="checkbox"/>
11.	<input type="checkbox"/>	26.	<input type="checkbox"/>
12.	<input type="checkbox"/>	27.	<input type="checkbox"/>
13.	<input type="checkbox"/>	28.	<input type="checkbox"/>
14.	<input type="checkbox"/>	29.	<input type="checkbox"/>
15.	<input type="checkbox"/>	30.	<input type="checkbox"/>
Respuestas correctas		Errores de repetición	
		Puntuación	

¿Se administró esta prueba?  Sí  No

Razón: \_\_\_\_\_

Iniciales del evaluador:

--	--	--

Firma del evaluador:



M. Goldberg.

## CUESTIONARIO DE SALUD GLOBAL GOLDBERG

<b>Preguntas:</b> <b>Marque con una cruz en la casilla correspondiente a su respuesta. Responda con referencia a el último tiempo, no al pasado.</b>  <b>En las dos ultimas semanas.....</b>	Mucho mas que lo habitual	Bastante mas que lo habitual	No mas que lo habitual	No en absoluto
1-. ¿Ha sido capaz concentrarse bien en lo que hace?	(0)	(0)	(1)	(1)
2-. ¿Ha perdido sueño por preocupaciones?	(1)	(1)	(0)	(0)
3-. ¿Se ha sentido útil para los demás?	(0)	(0)	(1)	(1)
4-. ¿Se ha sentido capaz de tomar decisiones?	(0)	(0)	(1)	(1)
5-. ¿Se ha sentido constantemente bajo tensión?	(1)	(1)	(0)	(0)
6-. ¿Ha sentido que no puede solucionar sus problemas?	(1)	(1)	(0)	(0)
7-. ¿Ha sido capaz de disfrutar de la vida diaria?	(0)	(0)	(1)	(1)
8-. ¿Ha sido capaz de enfrentar sus problemas?	(0)	(0)	(1)	(1)
9-. ¿Se ha sentido triste o deprimido?	(1)	(1)	(0)	(0)
10-. ¿Ha perdido confianza en sí mismo?	(1)	(1)	(0)	(0)
11-. ¿Ha sentido que Ud. no vale nada?	(0)	(0)	(1)	(1)
12-. ¿Se ha sentido feliz considerando todas las cosas?	(0)	(0)	(1)	(1)



**ESCALA UNIFICADA DE VALORACIÓN DE LA  
ENFERMEDAD DE HUNTINGTON**

(Huntington Study Group. *Movement Disorders* 1996; 11: 140-142)

**Evaluación funcional: fUHDRS**

¿Puede el sujeto ser atendido en casa todavía?

**Fuentes de información:**

La información para la evaluación funcional ha sido obtenida de:

- 1 = sólo el sujeto
- 2 = el sujeto y el familiar/acompañante

**Escala de independencia**

Grado de independencia del sujeto (%):

- 100 = no necesita ningún cuidado especial
- 95
- 90 = no necesita cuidados físicos siempre que se eviten las tareas difíciles
- 85
- 80 = nivel de pre-enfermedad, con cambios o finalización del trabajo; no puede realizar las tareas domésticas, necesita ayuda para ocuparse de la economía
- 75
- 70 = mantiene las actividades básicas como baño, limitadas las tareas domésticas, por ejemplo, cocinar o utilización de cuchillos, ya no conduce, incapaz de ocuparse de la economía
- 65
- 60 = necesita cierta ayuda para vestirse, ir al aseo, bañarse; hay que cortar la comida
- 55
- 50 = necesita supervisión de una persona las 24 horas; necesita ayuda para bañarse, comer, ir al aseo
- 45
- 40 = necesita cuidados crónicos, puede alimentarse con dieta líquida
- 35
- 30 = el sujeto mantiene mínimamente el comer, bañarse e ir al aseo
- 25
- 20 = no habla, hay que darle de comer
- 15
- 10 = se alimenta por sonda, en cama
- 5

**O. cUHDRS.**

**ESCALA UNIFICADA DE VALORACIÓN DE LA ENFERMEDAD DE HUNTINGTON**

(Huntington Study Group. *Movement Disorders 1996; 11: 140-142*)

**Evaluación conductual: cUHDRS**

**General**

Puntuación conductual:

--	--	--

**Evaluación conductual**

**Animo deprimido:**

Frecuencia:

- 0 = nunca o casi nunca
- 1 = a veces, menos de una vez por semana
- 2 = algunas veces, al menos una vez por semana
- 3 = frecuentemente, varias veces por semana
- 4 = muy a menudo, casi todo el tiempo

Gravedad:

- 0 = no alteraciones del estado de ánimo
- 1 = dudosas o posibles alteraciones
- 2 = ligeras alteraciones, se puede sobreponer
- 3 = algo deprimido, expresa ansiedad
- 4 = muy grave, con gran sufrimiento e incapacidad funcional

**Baja auto-estima/culpabilidad:**

Frecuencia:

- 0 = nunca o casi nunca
- 1 = a veces, menos de una vez por semana
- 2 = a veces, al menos una vez por semana
- 3 = frecuentemente, varias veces por semana
- 4 = muy a menudo, casi todo el tiempo

Gravedad:

- 0 = sin evidencia
- 1 = cuestionable o equívoca
- 2 = presente pero ligera
- 3 = moderada, ocasiona incomodidad
- 4 = grave

**Ansiedad:**

Frecuencia:

- 0 = nunca o casi nunca
- 1 = a veces, menos de una vez a la semana
- 2 = algunas veces, al menos una vez a la semana
- 3 = frecuentemente, varias veces a la semana
- 4 = muy a menudo, casi siempre

Gravedad:

- 0 = no evidencia
- 1 = cuestionable o equívoca
- 2 = ligera, responde a la confianza
- 3 = moderada, impacto en las actividades de la vida diaria
- 4 = grave, produce una gran alteración de las actividades de la vida diaria

**Ideas suicidas:**

Frecuencia:

- 0 = sin pensamientos de suicidio o autolesión
- 1 = cierto pensamiento sobre suicidio - menos de una vez al mes
- 2 = algunos pensamientos sobre suicidio - al menos una vez al mes
- 3 = pensamientos frecuentes sobre suicidio - al menos una vez a la semana
- 4 = muy a menudo piensa en el suicidio - a veces durante días y semanas

Gravedad:

- 0 = no ideas de suicidio
- 1 = no ideas de suicidio actualmente, pero la persona lo considera como una opción en el futuro
- 2 = pensamientos poco concretos sobre el suicidio
- 3 = ha considerado el suicidio seriamente pero no ha establecido un plan
- 4 = tiene el suicidio planeado y lo está llevando a cabo

**Conducta molesta o agresiva:**

Frecuencia:

- 0 = nunca o casi nunca
- 1 = a veces, menos de una vez al mes
- 2 = varias veces, por lo menos una vez al mes
- 3 = con frecuencia, al menos una vez a la semana
- 4 = muy a menudo, todos los días

Gravedad:

- 0 = conducta bien controlada
- 1 = agresiones verbales o conducta intimidatoria
- 2 = conducta ligeramente agresiva tanto verbal como física
- 3 = claras agresiones físicas (moderadas), empujones, golpes, insultos verbales
- 4 = claras agresiones físicas (graves), golpes, puñetazos, intención definitiva de causar daño

**Conducta irritable:**

Frecuencia:

- 0 = nunca o casi nunca
- 1 = a veces, menos de una vez a la semana
- 2 = algunas veces, por lo menos una vez a la semana
- 3 = frecuentemente, varias veces a la semana
- 4 = muy a menudo, casi todo el tiempo

Gravedad:

- 0 = conducta bien controlada
- 1 = cuestionable o equívoca
- 2 = ligera
- 3 = moderate, los que rodean al paciente modifican su conducta para evitar irritarle
- 4 = irritabilidad grave

**Pensamientos obsesivo/compulsivos:**

Frecuencia:

- 0 = nunca o casi nunca
- 1 = a veces, menos de una vez a la semana
- 2 = algunas veces, al menos una vez a la semana
- 3 = frecuentemente, varias veces a la semana
- 4 = muy frecuentemente, casi todo el tiempo

Gravedad:

- 0 = pensamiento flexible
- 1 = dudoso o equívoco
- 2 = se queda estancado en ciertas ideas pero puede ser reconducido fácilmente
- 3 = moderado - se queda estancado en ciertas ideas y difícil reconducirle
- 4 = importante - se queda estancado en ciertas ideas y no es posible reconducirle

**Comportamiento compulsivo:**

Frecuencia:

- 0 = nunca o casi nunca
- 1 = a veces, menos de una vez a la semana
- 2 = algunas veces, al menos una vez a la semana
- 3 = frecuentemente, varias veces a la semana
- 4 = muy frecuentemente, casi todo el tiempo

Gravedad:

- 0 = conducta siempre bien controlada
- 1 = equívoca - tiene un impulso pero no el suficiente como para actuar
- 2 = ligero - el impulso le lleva a actuar pero puede parar la conducta
- 3 = moderado - tiene impulso, actúa en consecuencia y a veces no puede parar
- 4 = grave - tiene impulso, actúa en consecuencia y no puede parar

**Percepciones anormales:**

Frecuencia:

- 0 = no evidencia
- 1 = a veces, menos de una vez a la semana
- 2 = algunas veces, al menos una vez a la semana
- 3 = frecuentemente, varias veces a la semana
- 4 = muy frecuentemente, a veces durante días enteros

Gravedad:

- 0 = no evidencia
- 1 = tiene ideas delirantes, pero no está seguro de que sean realidad
- 2 = está convencido de sus delirios pero acepta la posibilidad de que puedan no ser realidad
- 3 = absolutamente convencido del delirio
- 4 = absolutamente convencido del delirio, su conducta está guiada por el mismo

**Alucinaciones:**

Frecuencia:

- 0 = no evidencia de alucinaciones
- 1 = rara vez, menos de una vez al mes
- 2 = a veces, al menos una vez al mes
- 3 = frecuentemente, al menos una vez a la semana
- 4 = a menudo, durante días enteros a veces

Severidad:

- 0 = no evidencia
- 1 = tiene alucinaciones, pero duda sobre si son reales
- 2 = está convencido de que son reales, pero acepta la posibilidad de que no lo sean
- 3 = absolutamente convencido de que son reales, pero no actúa en consecuencia
- 4 = severa - tiene alucinaciones que son vívidas, el sujeto está absolutamente convencido de que son reales y esto afecta severamente la conducta

**Apatía:**

Frecuencia:

- 0 = nunca
- 1 = algo apático, menos de una vez a la semana
- 2 = algunas veces, al menos una vez a la semana
- 3 = frecuentemente, varias veces a la semana
- 4 = muy frecuentemente, casi todo el tiempo

Gravedad:

- 0 = no evidencia de apatía
- 1 = equívoco
- 2 = ligera apatía - el sujeto no inicia conversaciones u otras actividades pero responde a las mismas
- 3 = apatía moderada - a veces responde a los esfuerzos que se hacen para que se involucre en conversaciones o actividades
- 4 = apatía grave - en general, no responde a los intentos que se hacen para involucrarle en actividades o conversaciones

**Indicadores conductuales:**

¿Considera el investigador que el sujeto está confuso?

1 = sí  
0 = no

Considera el investigador que el sujeto está demenciado ?

1 = sí  
0 = no

¿Considera el investigador que el sujeto está deprimido?

1 = sí  
0 = no

¿Se le ha prescrito medicación anti-depresiva al sujeto?

1 = sí  
0 = no

¿Se le ha prescrito medicación para la tratar la irritabilidad al sujeto?

1 = sí  
0 = no

**Fuentes de información:**

La información sobre la conducta ha sido proporcionada por:

1 = el paciente  
2 = el paciente y la familia/acompañante

P. NPI.

**NPI**

CASO	NUNCA	FRECUENCIA	GRAVEDAD	DISTRESS	TOTAL F+G+D
IDEAS DELIRANTES		0 1 2 3 4	1 2 3		
ALUCINACIONES		0 1 2 3 4	1 2 3		
AGITACION		0 1 2 3 4	1 2 3		
DERESION/DISFORIA		0 1 2 3 4	1 2 3		
ANSIEDAD		0 1 2 3 4	1 2 3		
EUFORIA/JUBILO		0 1 2 3 4	1 2 3		
APATÍA/INDIFERENCIA		0 1 2 3 4	1 2 3		
DESHINIBICIÓN		0 1 2 3 4	1 2 3		
IRRITABILIDAD/INESTABILIDAD		0 1 2 3 4	1 2 3		
CONDUCTA MOTRIZ ANÓMALA		0 1 2 3 4	1 2 3		
APETITO/DESCORDENES ALIMENTARIOS		0 1 2 3 4	1 2 3		
SUEÑO		0 1 2 3 4	1 2 3		

DIASNOSTICO

DURACION DE LA ENFERMEDAD

PUNTUACION ESCALA DEPRESION

Frecuencia:

0 = *AUSENTE*

1 = *OCASIONALMENTE* (menos de una vez por semana)

2 = *A MENUDO* (alrededor de una vez por semana)

3 = *FRECUENTEMENTE* (varias veces por semana, pero no a diario)

4 = *MUY FRECUENTEMENTE* (a diario o continuamente)

Gravedad:

1 = *LEVE* (provoca poca molestia al paciente)

2 = *MODERADA* (más molesto para el paciente, pero puede ser redirigido por el cuidador)

3 = *GRAVE* (muy molesto para el paciente, y difícil de redirigir)

**TOTAL**



Q. HADS.

## HADS DEPRESION-ANSIEDAD

	N	PREGUNTA	RESPUESTAS	P
A	1	Me siento tenso/a o nervioso/a	Casi todo el día Gran parte del día De vez en cuando Nunca	3 2 1 0
D	2	Sigo disfrutando con las mismas cosas de siempre	Igual que antes No tanto como antes Solamente un poco Ya no disfruto nada	0 1 2 3
A	3	Siento una especie de temor como si algo malo fuera a suceder	Si, muy intenso S, pero muy intenso Si, pero no me preocupa No siento nada de eso	3 2 1 0
D	4	Soy capaz de reírme y ver el lado gracioso de las cosas	Igual que siempre Actualmente Algo menos Actualmente, muchos menos Actualmente en absoluto	0 1 2 3
A	5	Tengo la cabeza llena de preocupaciones	Casi todo el día Gran parte del día De vez en cuando Nunca	3 2 1 0
D	6	Me siento alegre	Nunca Muy pocas Veces En algunas ocasiones Gran parte del día	0 1 2 3
A	7	Soy capaz de permanecer sentado/1 Tranquilo/a y relajadamente	Siempre A menudo Raras veces Nunca	0 1 2 3
D	8	Me siento lento /a torpe	Gran parte del día A menudo A veces Nunca	3 2 1 0
A	9	Experimento una desagradable sensación de “nervios y hormigueos en el estómago”	Nunca Solo en algunas ocasiones A menudo Muy a menudo	0 1 2 3
D	10	He perdido el interés por mi aspecto personal	Completamente No me cuido como debiera hacerlo Es posible que no me cuide como debiera Me cuido como siempre lo he hecho	3 2 1 0
A	11	Me siento inquieto/a como si no pudiera parar de moverme	Realmente mucho Bastante No mucho	3 2 1

APÉNDICES

			En absoluto	0
D	12	Tengo ilusión por las cosas	Como siempre	0
			Algo menos que antes	1
			Mucho menos que antes	2
			En absoluto	3
A	13	Experimento de repente sensaciones de gran angustia o temor	Muy a menudo	3
			Con cierta Frecuencia	2
			Raramente	1
			Nunca	0
D	14	Soy capaz de disfrutar con un buen libro o un buen programa de radio o televisión	A menudo	0
			Algunas veces	1
			Raras veces	2
			Casi nunca	3

**TOTAL**

**R. DRS-2.**

**DRS 2**

**ATENCIÓN (ATT)**

**A. Concentración Numérica**

*“Voy a decir algunos números. Cuando termine quiero que usted los repita en el mismo orden. Repita lo que yo diga”.*

**A1. En Orden**

- :  2 puntos = 2 - 5
- 3 puntos = 3 - 1 - 6
- 4 puntos = 4 - 7 - 9 - 2

(Anotar la puntuación más alta: 0, 2, 3 ó 4 puntos) **A1 =**

*“Ahora cuando yo diga los números, quiero que usted los repita al revés. Por ejemplo, si yo digo 1-2, usted dice 2-1. ¿Entiende? ¿Listo (a)?”*

**A2. Al revés**

- :  2 puntos = 1 - 4                      “4 -1”
- 3 puntos = 5 - 3- 9                      “9 - 3 - 5”
- 4 puntos = 8 - 5 - 9 - 3                      “3 -9 -5 - 8”

(Anotar la puntuación más alta: 0, 2, 3 ó 4 puntos) **A2 =**

*(Anotar el total de las Tareas A: Rango 0-8 puntos)*

**Sume A1 + A2 = Puntuación Total Tarea A**

**B. Dos Instrucciones Seguidas**

*“Voy a darle algunas instrucciones. Haga lo que yo le diga”.*

- B1.**  1 punto = Abra la boca y cierre los ojos
- B2.**  1 punto = Saque la lengua y levante una mano

*(Anotar el total de las Tareas B: Rango 0-2 puntos)*

**Sume B1 + B2 = Puntuación Total Tarea B**

Si el total de la Tarea B = 2, anote 4 puntos para la Tarea C y 4 puntos para la Tarea D. sume los totales para las Tareas A, B, C, & D para obtener el total de ATT-1. Luego continúe con la Tarea E.

**C. instrucción Sencilla**

*“Voy a darle algunas instrucciones. Haga lo que yo le diga”.*

- C1.  1 punto = Abra la boca
- C2.  1 punto = Saque la lengua
- C3.  1 punto = Cierre los ojos
- C4.  1 punto = Levante una mano

*(Anotar el total de las Tareas C: Rango 0-4 puntos)*

**Sume C1 + C2 + C3 + C4 = Puntuación Total Tarea C**

**D. instrucción Sencilla**

*“Voy a darle algunas instrucciones. Haga lo que yo le diga”.*

- D1.  1 punto = Abra la boca
- D2.  1 punto = Saque la lengua
- D3.  1 punto = Cierre los ojos
- D4.  1 punto = Levante una mano

*(Anotar el total de las Tareas D: Rango 0-4 puntos)*

**Sume D1 + D2 + D3 + D4 = Puntuación Total Tarea D**

**(Sume Task Scores: Rango 0-18 puntos) A + B + C + D = ATT-1**

**INICIACIÓN Y PERSEVERANCIA**

**E. Iniciación y Perseverancia (I/P) Verbal Compleja**

*“Quiero que usted me diga todas las cosas que se pueden encontrar o que se pueden comprar en el supermercado. Tiene usted un minuto para decirme todas las cosas diferentes lo más rápido que pueda (60 segundos es el tiempo máximo, 1 punto por cada respuesta correcta)”.*

Respuesta	Correcta	Respuesta	Correcta
1.	<input type="checkbox"/>	13.	<input type="checkbox"/>
2.	<input type="checkbox"/>	14.	<input type="checkbox"/>
3.	<input type="checkbox"/>	15.	<input type="checkbox"/>
4.	<input type="checkbox"/>	16.	<input type="checkbox"/>
5.	<input type="checkbox"/>	17.	<input type="checkbox"/>
6.	<input type="checkbox"/>	18.	<input type="checkbox"/>
7.	<input type="checkbox"/>	19.	<input type="checkbox"/>
8.	<input type="checkbox"/>	20.	<input type="checkbox"/>
9.	<input type="checkbox"/>	21.	<input type="checkbox"/>
10.	<input type="checkbox"/>	22.	<input type="checkbox"/>
11.	<input type="checkbox"/>	23.	<input type="checkbox"/>
12.	<input type="checkbox"/>	24.	<input type="checkbox"/>

*(Total de palabras correctas en un minuto)*

*(Anote el total de la Tarea E. Rango 0-20 puntos) Puntuación Total Tarea E*

**Si el total de la Tarea B = 2, anote 4 puntos para la Tarea C y 4 puntos para la Tarea D. sume los totales para las Tareas A, B, C, & D para obtener el total de ATT-1. Luego continúe con la Tarea E.**

### F. Iniciación y Perseverancia (I/P) Verbal Simple

*“Míreme, fíjese en lo que traigo puesto y en lo que tengo en mis manos... Quiero que me diga todas las cosas que tengo puestas y que estoy sosteniendo. Si es necesario, pregunte “¿qué es lo que traigo puesto y lo que estoy sosteniendo?”, (60 segundos es el tiempo máximo, 1 punto por cada respuesta correcta)”*

Respuesta	Correcta	Respuesta	Correcta
1.	<input type="checkbox"/>	7.	<input type="checkbox"/>
2.	<input type="checkbox"/>	8.	<input type="checkbox"/>
3.	<input type="checkbox"/>	9.	<input type="checkbox"/>
4.	<input type="checkbox"/>	10.	<input type="checkbox"/>
5.	<input type="checkbox"/>	11.	<input type="checkbox"/>
6.	<input type="checkbox"/>	12.	<input type="checkbox"/>

(Anote el total de la Tarea F. Rango 0-8 puntos) **Puntuación Total Tarea F**

### G. Perseverancia con Consonantes

*“Diga “TE”...Diga “PE”...Diga “KE”. Ahora diga “TE-PE-KE” cuatro veces”.*  
Cuatro repeticiones de “TE-PE-KE” = 1 punto.

(Rango 0-1 puntos) **Puntuación Total Tarea G**

### H. Perseverancia con Vocales

*“Diga “VI”...Diga “VA”...Diga “VO”. Ahora diga “VI-VA-VO” cuatro veces”.*  
Cuatro repeticiones de “VI-VA-VO” = 1 punto.

(Rango 0-1 puntos) **Puntuación Total Tarea H**

**(Sume el total de las Tareas) E + F + G + H = I/P-1**

**I. Movimientos Dobles Alternados 1**

*“Míreme... Haga lo que yo estoy haciendo. Haga esto... la palma de una mano hacia arriba y la palma de la otra mano hacia abajo. Ahora cámbielas. Siga haciéndolo hasta que yo le diga que pare...”*

*Una palma hacia arriba y la otra hacia abajo...”* 5 repeticiones de palma arriba/abajo = 1 punto;

(Rango 0-1 puntos) **Puntuación Total Tarea I**

**Si el total de la Tarea I = 1, anote 1 puntos para la Tarea J y 1 punto para la Tarea K. Continúe con la Tarea L.**

**J. Movimientos Dobles Alternados 2**

*“Ahora haga esto... una mano con un puño y la otra extendida. Ahora cámbielas. Siga haciéndolo hasta que yo le diga que pare...”*

5 repeticiones de puño cerrado/extendido = 1 punto;

(Rango 0-1 puntos) **Puntuación Total Tarea J**

**K. Golpecitos suaves alternados**

*“Ahora haga esto... una golpecito con la mano izquierda y luego uno con la mano derecha. Siga haciéndolo hasta que yo le diga que pare”*

10 repeticiones de golpes suaves izquierda/derecha = 1 punto;

(Rango 0-1 puntos) **Puntuación Total Tarea K**

**L. Diseño Grafomotor 1**

Use la última página de este folleto de respuestas para esta tarea. Entréguele al paciente esta hoja con un lápiz o una pluma. Muestre la tarjeta ≠ 1 del libro de estímulos. Pídale al paciente que “copie este diseño completamente” (muéstrelle todos los detalles del diseño de izquierda a derecha). “Empiece en este punto” (muéstrelle el diseño al paciente, poniendo su dedo en la tarjeta ≠ 1 al lado izquierdo del paciente, aproximadamente 1 pulgada del margen de arriba). La reproducción del diseño debe de ser de 5 alternaciones consecutivas = 1 punto.

(Rango 0-1 puntos) **Puntuación Total Tarea L**

**Si la puntuación de la Tarea L = 1, anote 1 punto para la Tarea M, 1 punto para la Tarea N, y 1 punto para la Tarea O. Sume I/P-2. Continúe con la Tarea P.**

**M. Diseño Grafomotor 2**

Muestre la tarjeta ≠ 2 del libro de estímulos. Pídale al paciente que “copie este diseño” (indique el círculo). “Dibújelo aquí” (señale aproximadamente 1 pulgada abajo del diseño anterior).

*Reproducción del círculo = 1 punto.*

(Rango 0-1 puntos) **Puntuación Total Tarea M**

**N. Diseño Grafomotor 3**

Muestre la tarjeta ≠ 3 del libro de estímulos. Pídale al paciente que “copie este diseño completamente” (indique la “X”). “Dibújelo aquí” (señale aproximadamente 1 pulgada abajo del diseño anterior).

*Reproducción de la “X” = 1 punto.*

(Rango 0-1 puntos) **Puntuación Total Tarea N**



**O. Diseño Grafomotor 4**

Muestre la tarjeta # 4 del libro de estímulos. Pídale al paciente que *“copie este diseño completamente”* (indique la “XOXO”). *“Dibújelo aquí”* (señale aproximadamente 1 pulgada abajo del diseño anterior).

*Reproducción de la “XOXO” = 1 punto.*

(Rango 0-1 puntos) **Puntuación Total Tarea O**

**(Sume el total de las Tareas) I + J + K + L + M +N + O = I/P-2**

**CONSTRUCCIÓN**

**P. Construcción Diseño 1**

Muestre la tarjeta # 5 del libro de estímulos. Pídale al paciente que *“copie este diseño”* (indique las líneas verticales). *“Dibújelo aquí”* (señale aproximadamente 1 pulgada abajo del diseño anterior).

*Reproducción de las líneas verticales = 1 punto.*

(Rango 0-1 puntos) **Puntuación Total Tarea P**

**Q. Construcción Diseño 2**

Muestre la tarjeta # 6 del libro de estímulos. Pídale al paciente que *“copie este diseño completamente”* (indique el cuadrado con el diamante). *“Dibújelo aquí”* (señale aproximadamente 1 pulgada abajo del diseño anterior).

*Reproducción del cuadrado con diamante = 1 punto.*

(Rango 0-1 puntos) **Puntuación Total Tarea Q**

Si la puntuación de la Tarea Q = 1, anote 1 punto para la Tarea R, 1 punto para la Tarea S, y 1 punto para la Tarea T y un punto para la Tarea U. Sume las Tareas P, Q, R, S, T y U para obtener la puntuación de CONST. Continúe con la Tarea V.

**R. Construcción Diseño 3**

Muestre la tarjeta ≠ 7 del libro de estímulos. Pídale al paciente que “*copie este diseño completamente*” (indique el diamante dentro del cuadrado). “*Dibújelo aquí*” (señale aproximadamente 1 pulgada abajo del diseño anterior).

*Reproducción del diamante dentro del cuadrado = 1 punto.*

(Rango 0-1 puntos) **Puntuación Total Tarea R**

**CONCEPTUALIZACIÓN (CONCEPT)**

**V. Idénticos y Distintos**

*“Mire estos 3 diseños. ¿Cuál de los dos son iguales? ¿Cuáles se parecen más?”*

En secuencia, muestre las tarjetas 10-17

	Igual (1 punto)		Igual (1 punto)
V1. Tarjeta 10 Triángulos	<input type="checkbox"/>	V5. Tarjeta 14 Círculos	<input type="checkbox"/>
V2. Tarjeta 11 Líneas Verticales	<input type="checkbox"/>	V6. Tarjeta 15 Círculo/oval	<input type="checkbox"/>
V3. Tarjeta 12 Círculos Grandes	<input type="checkbox"/>	V7. Tarjeta 16 Cuadro/rectángulo	<input type="checkbox"/>
V4. Tarjeta 13 Cuadros	<input type="checkbox"/>	V8. Tarjeta 17 Par de diseños	<input type="checkbox"/>

Regrese a la Tarjeta ≠ 10 y vuélvala a presentar.

*“Mire estos 3 diseños... “¿Cuál es diferente a los demás? ¿Cuál no es similar a los demás?”*

	Igual (1 punto)		Igual (1 punto)
V9. Tarjeta 10 Triángulos	<input type="checkbox"/>	V13. Tarjeta 14 Triángulos	<input type="checkbox"/>
V10. Tarjeta 11 Línea horizontal	<input type="checkbox"/>	V14. Tarjeta 15 Cuadrado	<input type="checkbox"/>
V11. Tarjeta 12 Círculo pequeño	<input type="checkbox"/>	V15. Tarjeta 16 Círculo	<input type="checkbox"/>
V12. Tarjeta 13 Círculo	<input type="checkbox"/>	V16. Tarjeta 17 Rectángulo	<input type="checkbox"/>

(Anote el Total de la Tarea V: rango 0-16)

**Puntuación Total Tarea V**

### W. Similitudes

*Anote las respuestas del paciente. Un punto para cada respuesta básica/concreta y 2 puntos para cada respuesta abstracta/compleja. Si el paciente da una respuesta con elementos básicos/concretos y con elementos abstractos/complejos pregúntele al paciente “¿Cuál de las 2 respuestas es la mejor?”.*

W1. “Dígame 3 cosas que la gente come”. Anote las respuestas del paciente.

Respuestas \_\_\_\_\_ ; \_\_\_\_\_ ; \_\_\_\_\_

Luego pregunte: “¿En qué manera son un(a) \_\_\_\_\_, un(a) \_\_\_\_\_, y un(a) \_\_\_\_\_, parecidas? ¿Cómo son iguales?” Anote las respuestas del paciente.

Respuesta \_\_\_\_\_ (1 punto)

Si el paciente no puede nombrar 3 cosas que la gente come o si la respuesta es incorrecta, ofrezca ayuda, diciendo... “una tarta, una manzana y una galleta son cosas que la gente come”. Luego pregunte “¿cómo es que una tarta, una manzana y una galleta son parecidas? “¿Cómo son iguales”

Anote las respuestas del paciente

Respuesta \_\_\_\_\_ (1 punto)

Si el paciente no puede nombrar 3 cosas que la gente come después de haber dado ayuda o si las respuestas son incorrectas, diga “una tarta, una manzana y una galleta son cosas que la gente come”.

W2. "Dígame 3 clases de artículos de ropa". Anote las respuestas del paciente.

Respuestas \_\_\_\_\_; \_\_\_\_\_; \_\_\_\_\_

Luego pregunte: "¿En qué manera son un(a) \_\_\_\_\_, un(a) \_\_\_\_\_, y un(a) - \_\_\_\_\_, parecidas? ¿Cómo son iguales?" Anote las respuestas del paciente.

Respuesta \_\_\_\_\_ (1 punto)

Si el paciente no puede nombrar 3 artículos de ropa o si las respuestas son incorrectas, abandone la Tarea X y proceda con la Y.

(0 puntos)

W3. "Dígame 3 cosas que la gente usa como transporte". Anote las respuestas del paciente.

Respuestas \_\_\_\_\_; \_\_\_\_\_; \_\_\_\_\_

Luego pregunte: "¿En qué manera son un(a) \_\_\_\_\_, un(a) \_\_\_\_\_, y un(a) - \_\_\_\_\_, parecidas? ¿Cómo son iguales?" Anote las respuestas del paciente.

Respuestas \_\_\_\_\_ (1 punto)

Anote el Total de la Tarea W; rango 0-3

**Sume W1 + W2 + W3 = Puntuación Total Tarea W**

**X. Diferencias**

"Voy a decir 3 cosas. Dígame cuál no debe estar con las otras. Dígame cuál es diferente"

X1. Perro, gato, **carro** (1 punto)

X2. Niño, **puerta**, hombre (1 punto)

X3. **Pescado**, carro, tren (1 punto)

Anote el total de la Tarea Y. rango 0-3

**Sume X1 + X2 + X3 = Puntuación Total Tarea X**

**Y. Similitudes – Selecciones Múltiples**

Presente los 2 objetos para cada pregunta (por ejemplo una manzana y un plátano) con las selecciones múltiples (las dos son frutas, son animales, son verdes). Anote la puntuación apropiada.

Y1. *Una manzana y un plátano... ¿las dos son frutas, son verdes o son animales?*

2 puntos                       1 punto                       0 puntos

Y2. *Un abrigo y una camisa... ¿los dos son ropa, son de lana o son frutas?*

2 puntos                       1 punto                       0 puntos

Y3. *Un barco, un carro... ¿los dos son transporte, se mueven o son ropa?*

2 puntos                       1 punto                       0 puntos

Y4. *Un escritorio y una silla... ¿los dos son muebles, son de madera o son transportes?*

2 puntos                       1 punto                       0 puntos

Si el paciente ofrece una respuesta concreta y una respuesta abstracta para la misma pregunta, pídale que indique “cuál de las 2 respuestas es mejor”. Anote la puntuación apropiada para la respuesta escogida. Si el paciente no puede decir cuál es la mejor, anote la puntuación de la última respuesta.

*(Anote el Total de la Tarea Y: rango 0-8 puntos)*

**Sume Y1 + Y2 + Y3 = Puntuación Total Tarea Y**

**Z. Recolección Verbal – Lectura de Frases**

Presente la Tarjeta #18 del libro de estímulos. Pídale al paciente que “lea la frase en voz alta. Recuerde esta frase porque más tarde le voy a pedir que la repita” (No hay puntos para esta tarea).

**AA. Recolección Verbal – Iniciación de Frase**

*“Invente una frase usando las palabras “hombre” y “carro”. Recuerde esta frase porque más tarde voy a pedir que la repita”.*

Anote la frase \_\_\_\_\_

(Rango 0-1 puntos) **Puntuación Total Tarea AA**

**Sume el total de las Tareas V + W + X + Y + AA = CONCEPT**

**MEMORIA (MEM) Y ATENCION (ATT)**

**AB. Orientación**

*“Por favor, contésteme las siguientes preguntas.”* Anote las respuestas del paciente. Cada respuesta correcta es igual a 1 punto.

AB1. *¿Qué día de la semana es hoy?* \_\_\_\_\_ (1 punto)

AB2. *¿Qué fecha es hoy?* \_\_\_\_\_ (1 punto)

AB3. *¿En qué mes estamos?* \_\_\_\_\_ (1 punto)

AB4. *¿En qué años estamos?* \_\_\_\_\_ (1 punto)

AB5. *¿Quién es el Presidente del Gobierno?* \_\_\_\_\_ (1 punto)

AB6. *¿Quién es el Presidente de la Comunidad?* \_\_\_\_\_ (1 punto)

AB7. ¿Quién es el Alcalde? \_\_\_\_\_ (1 punto)

AB8. ¿Cómo se llama este edificio? \_\_\_\_\_ (1 punto)

AB9. ¿Cuál es el nombre de esta ciudad? \_\_\_\_\_ (1 punto)

(Anote el total de la Tarea AC: rango 0-9 puntos)

**Sume AB1 a AB9 = puntuación Total Tarea AC**

**MEM**

**AC. Conteo de Distracción 1**

Presente la Tarjeta #19 del libro de estímulos (la tarjeta debe ser presentada a lo largo).  
 “Señale y cuente todas las letras A”.

Puntuación = Respuestas correctas menos las respuestas incorrectas.

(Rango 0-6 puntos) **Puntuación Total Tarea AC**

**ATT**

**AD. Conteo de Distracción 2**

Presente la Tarjeta #20 del libro de estímulos. “Señale y cuente todas las letras A”.

Puntuación = Respuestas correctas menos las respuestas incorrectas.

(Rango 0-5 puntos) **Puntuación Total Tarea AD**

**ATT**

**AE. Recolección Verbal – Lectura**

“¿Recuerda la frase que leyó de este libro? Repítamela”

Anote la respuesta del paciente.

4 puntos = El niño tiene un perro marrón

1 punto = perro

1 punto = niño

1 punto = marrón

(Rango 0-4 puntos) **Puntuación Total Tarea AE**

**ATT**

**AF. Recolección Verbal – Iniciación**

*“¿Recuerda la frase que usted inventó? Repítamela”*

Anote la respuesta del paciente.

3 puntos = Frase completa       1 punto = hombre       1 punto = carro

(Rango 0-3 puntos) **Puntuación Total Tarea AF**      **MEM**     

**Sume el total de las Tareas AB, AE y AF =**      **MEM-1**     

**Sume el total de las Tareas AC y AD =**      **ATT-2**     

**AG. Reconocimiento Verbal – presentación**

Presente la tarjeta #21 del libro de estímulos.

*“Lea en voz alta esta lista de palabras 4 veces de tal modo que las recuerde”*

AG1. Primera lectura correcta (1 punto)     

AG2. Segunda lectura correcta (1 punto)     

AG3. Tercera lectura correcta (1 punto)     

AG4. Cuarta lectura correcta (1 punto)     

(Anote el Total de la Tarea AH: rango 0-4 puntos)

**Sume AG1 a AG4 = Puntuación Total Tarea AH**      **ATT**



**AH. Reconocimiento Visual**

*“Voy a mostrarle algunas palabras, dos a la vez. escoja la palabra que estaba en la lista que usted acaba de leer.”*

Muestre las Tarjetas 22-26 del libro de estímulos.

AH1. tarde	(1 punto)	<input type="checkbox"/>	AH4. máquina	(1 punto)	<input type="checkbox"/>
AH2. planta	(1 punto)	<input type="checkbox"/>	AH5. fuego	(1 punto)	<input type="checkbox"/>
AH3. abrir	(1 punto)	<input type="checkbox"/>			

*(Anote el Total de la Tarea AI: rango 0-5 puntos)*

**Sume AH1 a AH5 = Puntuación Total Tarea AI**                      **MEM**     

**AI. Emparejamiento Visual**

*“Los diseños de esta tarjeta (señale a la tarjeta #28) son iguales a los diseños de esta tarjeta (señale a la tarjeta #27). Cuando yo le muestre un diseño en mi tarjeta, quiero que usted me muestre el mismo diseño en su tarjeta. ¿Qué diseño es igual a éste?”. (Señale al diseño de arriba a la izquierda, desde el punto de vista del paciente en la tarjeta #27).*

Señale los otros 3 diseños en cualquier orden. Repita este procedimiento 3 veces más (total 4 veces).

A11. Primera presentación de los diseños	(1 punto)	<input type="checkbox"/>
A12. Segunda presentación de los diseños	(1 punto)	<input type="checkbox"/>
A13. Tercera presentación de los diseños	(1 punto)	<input type="checkbox"/>
A14. Cuarta presentación de los diseños	(1 punto)	<input type="checkbox"/>

*(Anote el Total de la Tarea AJ: rango 0-4 puntos)*

**Sume AI1 a AI4 = Puntuación Total Tarea AJ**                      **ATT**

**AJ. Reconocimiento Visual**

*“Voy a mostrarle unos diseños. De cada par, escoja aquel con el que ha estado trabajando. Señale el que acaba de ver”.*

Presente las tarjetas #29-32 del libro de estímulos.

AJ1. Lado derecho	(1 punto)	<input type="checkbox"/>	AJ3. Lado izquierdo	(1 punto)	<input type="checkbox"/>
AJ2. Lado izquierdo	(1 punto)	<input type="checkbox"/>	AJ4. Lado derecho	(1 punto)	<input type="checkbox"/>

(Anote el Total de la Tarea AI: rango 0-4 puntos)

<b>Sume AJ1 a AJ4 = Puntuación Total Tarea AJ</b>	<b>MEM</b>	<input type="checkbox"/>
<b>Sume el total de las Tareas AH y AJ =</b>	<b>MEM-2</b>	<input type="checkbox"/>
<b>Sume el total de las Tareas AG y AI =</b>	<b>ATT-3</b>	<input type="checkbox"/>

---

¿Se administró esta prueba?  Sí  No Razón: \_\_\_\_\_

Iniciales del evaluador:  Firma del evaluador: \_\_\_\_\_

Hora de finalización:  :

**S. Consentimiento informado general.**

 <p>SaludMadrid</p>	<p><b>Hospital Universitario Ramón y Cajal</b></p>	 <p><b>Comunidad de Madrid</b></p>
--	--	---

**HOJA DE INFORMACIÓN AL PACIENTE Y CONSENTIMIENTO INFORMADO:**

Título: “Evaluación de Sativex spray oral en pacientes con enfermedad de Huntington: Ensayo clínico aleatorizado, cruzado, doble ciego controlado con placebo”.

**Investigadores:** Este estudio de investigación está dirigido y diseñado por un grupo de investigadores en cannabinoides y en enfermedad de Huntington. (EH)

**Investigador Principal:** Dr. Justo García de Yébenes  
Servicio de Neurología  
Hospital Ramón y Cajal  
Consulta externa de Neurología, planta -2 centro.  
Ctra.. De Colmenar Km 9,1.  
Madrid, 28034. Spain  
Tfno.: 91-3368821  
Móvil: 651 561 752  
[neurol.hrc@salud.madrid.org](mailto:neurol.hrc@salud.madrid.org)

**Investigadores colaboradores:**

Dr. Guillermo García-Ribas, Neurólogo, Hospital Ramón y Cajal.  
Dr. José Luis López-Sendón,. Neurólogo, Hospital Ramón y Cajal  
Dr. Juan García Caldentey, Neurólogo, Hospital Ramón y Cajal  
Mónica Bascuñana. Fundación para Investigaciones Neurológicas. Coordinador del estudio.  
Patricia Trigo. Fundación Ramón y Cajal. Neuropsicóloga.

**Promotor:** Fundación para la investigación biomédica del Hospital Universitario Ramón y Cajal

Este consentimiento describe el propósito del estudio para ayudarle a decidir si quiere participar. Proporciona información importante sobre las dudas que pueden surgirle durante el estudio, sobre los beneficios y los riesgos y sobre sus derechos como sujeto de investigación.

- Si tiene alguna pregunta o no entiende algo de este consentimiento, debe preguntar al equipo de investigación.
- Puede hablar sobre su participación en el estudio con quien quiera, bien familia, bien amigos.

- No acepte participar en este estudio a menos que el equipo investigador le responda a sus preguntas y usted decida que quiere tomar parte en el mismo.

### **PROPOSITO DEL ESTUDIO**

Este es un estudio de investigación con fármacos, lo que se denomina ensayo clínico. Le invitamos a participar porque tiene enfermedad de Huntington y deseamos evaluar si la administración por vía bucal de un fármaco denominado Sativex, que es una combinación de cannabinoides, tiene algún efecto sobre sus síntomas, sobre células o sobre algunos parámetros bioquímicos que podemos determinar con análisis de laboratorio.

Queremos investigar si el Sativex tiene un efecto beneficioso sobre la enfermedad de Huntington porque disponemos de datos obtenidos en el laboratorio que muestran que este producto es eficaz en modelos experimentales de esta enfermedad y porque sabemos que, hasta la fecha, no existen tratamientos eficaces que frenen o paren la progresión de la enfermedad.

Para contestar a esta pregunta, un grupo de neurólogos y neurobiólogos españoles ha diseñado este protocolo de investigación independiente que cuenta con la aprobación y control del Comité de Ética e Investigación Clínica del Hospital Ramón y Cajal de Madrid.

### **¿CUANTA GENTE VA A PARTICIPAR?**

El ensayo clínico prevé reclutar a un total de 24 individuos afectados de EH.

### **¿CUANTO TIEMPO DURARÁ MI PARTICIPACIÓN?**

Si usted está de acuerdo en participar, su implicación será de al menos 38 semanas. Durante 24 semanas recibirá tratamiento, 12 semanas con el compuesto activo y otras 12 con placebo. Se realizarán 8 visitas durante este tiempo, que se harán en el Hospital. Prevemos que cada una de ellas durará unas 3 horas.

### **¿QUÉ TRATAMIENTO SE VA A EMPLEAR?**

El fármaco en estudio se denomina Sativex. Es un fármaco aprobado por la Agencia Europea del Medicamento (EMA) para el tratamiento de la espasticidad en pacientes con Esclerosis Múltiple en los que han fracasado otras terapias previas. Aunque está aprobado su uso, todavía no está comercializado en nuestro país. Sativex es spray preparado a partir de la planta Cannabis sativa, conocida vulgarmente como planta de la marihuana. Los compuestos más abundantes y con un potencial efecto terapéutico son los cannabinoides tetrahidrocanabinol (THC) y canabidiol (CBD). La planta contiene otras sustancias tales como otros cannabinoides, terpenos, flavonoides y esteroides que son retirados durante el proceso de elaboración de Sativex. El fármaco contiene una concentración precisa y constante de THC y CBD de tal forma que los efectos terapéuticos pueden ser evaluados y reproducidos.

El spray se aplica sobre la mucosa oral (en la boca) cambiando el lugar específico de la aplicación entre cada administración.

El primer día, el sujeto debe administrarse una dosis de spray por la mañana y otra a media tarde-noche. La dosis media efectiva es de 8-9 aplicaciones por día y la dosis máxima es de 12 aplicaciones por día.

El efecto secundario más frecuente reseñado en los ensayos clínicos realizados hasta la fecha es el mareo. Por lo general es leve y se resuelve en pocos días.

Si aparecen efectos secundarios, el número de administraciones puede reducirse o el tratamiento se puede interrumpir transitoria o definitivamente. Pero esta decisión no la debe tomar usted. Debe comentarlo con nosotros, sus médicos, quienes haremos las modificaciones oportunas.

Los cannabinoides tienen efectos cardiovasculares entre los que se incluyen taquicardia y cambios transitorios en la presión arterial, tales como episodios de hipotensión. El empleo de Sativex no está recomendado en pacientes con enfermedades cardiovasculares importantes.

Los participantes en el ensayo clínico no deben conducir vehículos o trabajar con mercancías peligrosas durante la realización del ensayo clínico. Los cannabinoides pueden interferir con actividades que precisen concentración o atención. Hasta que no se conozcan realmente los efectos de Sativex sobre la atención, es preferible por tanto evitar actividades peligrosas.

Desde mayo de 2000, más de 2000 sujetos han recibido Sativex en ensayos clínicos controlados y más de 1500 sujetos que han recibido Sativex en estudios de extensión abierta. Además, se calcula que en unos 5500 sujetos se ha prescrito Sativex en países de la Unión Europea y Canadá, donde el producto está ya comercializado. El programa de desarrollo clínico se ha centrado en el tratamiento sintomático de la espasticidad (rigidez muscular) en pacientes con esclerosis múltiple, una enfermedad inflamatoria del sistema nervioso central. También el desarrollo clínico ha incluido en tratamiento del dolor tanto neuropático como el asociado con el cáncer. Con el desarrollo de nuevas formulaciones se están planificando ensayos clínicos en pacientes con artritis reumatoide y otras enfermedades sistémicas. La mayoría de los efectos secundarios descritos son gastrointestinales (náuseas, diarrea) y sobre el sistema nervioso central (mareo, intranquilidad).

En un ensayo clínico diseñado para evaluar el potencial de abuso o dependencia del fármaco, se demostró que 4 dosis juntas no producían más tendencia al abuso que el placebo. Dosis mayores, de entre 8 a 16 administraciones seguidas sí mostraron una mayor tendencia al abuso que placebo, pero en un rango similar a una sustancia con potencial abuso conocido como es el dronabinol. Por tanto, la aplicación única y espaciada en más de una hora de la siguiente aplicación, parecen seguras en cuanto a potencial tendencia al abuso de sustancias.

## PROCEDIMIENTOS DEL ENSAYO CLÍNICO

La primera visita del estudio (**visita 0**) se iniciará con la lectura de esta Hoja de Información, discusión con el equipo investigador y la firma de un Consentimiento Informado, si está dispuesto a participar. Posteriormente, se determinará si usted cumple los criterios necesarios para participar y se realizarán una serie de exámenes físicos y análisis de sangre. Si la exploración o los análisis determinaran que usted no puede

recibir Sativex con garantías, su participación en el ensayo clínico terminará en ese momento.

Tras esta valoración inicial, usted será asignado al azar a recibir tratamiento con Sativex o con un placebo. El placebo es una sustancia inerte (como por ejemplo el agua) que se le dará en un envase igual al que contendrá el fármaco de tal manera que los participantes y los evaluadores no sabrán el tratamiento real que está recibiendo. Esto se denomina ensayo doble ciego controlado con placebo.

El ensayo clínico consta de dos fases de tratamiento. Durante 12 semanas recibirá bien placebo o bien Sativex, según la asignación al azar que le haya tocado. Finalizado este periodo, estará 4 semanas sin tratamiento. Posteriormente comenzará la segunda fase en la que recibirá el tratamiento que no le fue administrado en las 12 primeras semanas. Esto se denomina ensayo cruzado.

Durante las visitas, se realizarán evaluaciones clínicas sobre su estado motor y psicológico mediante la administración de test neuropsicológicos y exámenes neurológicos. Se extraerán muestras de sangre (alrededor de 20 mL del brazo) y orina (una muestra de orina espontánea) para control de seguridad y determinación de parámetros bioquímicos.

En total, tendrá que acudir al hospital en unas 8 ocasiones, y la duración de las mismas será de aproximadamente 3 horas.

### **Tejido/Sangre/Almacenamiento de Datos para futuros usos**

Como parte de este estudio nosotros obtendremos muestras de sangre, orina y otros datos suyos. Nos gustaría poder estudiarlas en un futuro, después de que el estudio haya terminado.

Las células sanguíneas y de la piel obtenidas a partir de las muestras de su sangre y biopsia serán utilizadas para establecer líneas celulares y obtener ADN. Las líneas celulares se producen por crecimiento de las células en el laboratorio y nos permiten obtener una fuente de ADN.

En las **visitas 3 y 6**, si el paciente lo autoriza, también se realizará una biopsia de piel. Para ello, tras limpiar y desinfectar la zona, se le administrará una pequeña cantidad de anestésico local inyectado en la zona de la piel que se va a biopsiar, generalmente del antebrazo. El anestésico es similar al que se emplea por ejemplo, para pequeños trabajos dentarios. Posteriormente se inserta un dispositivo de biopsia que obtiene un trozo de su piel de pequeño tamaño (un cilindro de aproximadamente 0,5 x 1 cm, similar a la cabeza de una chincheta). La herida se cubre con un apósito (parecido a una tirita). Con este procedimiento esperamos obtener unas células de la piel, denominadas fibroblastos, que tienen la capacidad de reproducirse en cultivos de laboratorio, permitiendo observar los efectos del tratamiento y cuantificarlos de manera más precisa. El equipo investigador realiza estas biopsias de forma rutinaria en pacientes con enfermedades neurodegenerativas sin complicaciones.

En las visitas 3 y 6 también procederemos a realizar una punción lumbar a aquellos pacientes que voluntariamente firmen un consentimiento adicional para la misma. La punción lumbar es una prueba muy frecuente que realizamos los neurólogos y otros profesionales para el diagnóstico de muchas enfermedades neurológicas. En este caso, los pacientes que lo autoricen nos permitirán obtener unos 5 cc de líquido cefalorraquídeo

que usaremos para determinar una serie de compuestos que son útiles para determinar la situación metabólica y funcional del sistema nervioso.

Debe saber que usted elige, puede participar en el estudio general, y no participar en el estudio de la biopsia de piel y/o de la punción lumbar, si así lo desea.

Los tests de sangre, orina y otros datos incluso pueden ser utilizados para futuros estudios que en la actualidad no existen, siempre relacionados con la enfermedad de Huntington

Por tanto, le pediremos su permiso para almacenar su sangre, orina y datos para poder así estudiarlos en el futuro. Esos futuros estudios pueden proporcionar información adicional que será de ayuda a la hora de comprender la enfermedad de Huntington, pero es improbable que lo que nosotros aprendemos de esos estudios tenga un beneficio directo sobre usted. Es posible que su sangre, orina o datos puedan ser utilizados para el desarrollo de productos o pruebas que puedan ser patentadas y legalizadas. No obtendría compensación económica si esto llegara a ocurrir.

Todas las investigaciones llevadas a cabo con muestras biológicas serán procesadas para garantizar su confidencialidad y su uso de acuerdo con lo dispuesto en la Ley 14/2007, de 3 de julio, de Investigación Biomédica. Se le pedirá que firme un consentimiento adicional para expresar su aceptación o denegación de estas investigaciones.

Si está de acuerdo ahora con la futura utilización de su sangre, orina y datos pero en un futuro cambia de opinión debe usted contactar con el Dr. García de Yébenes quien contactará con los laboratorios del estudio para evitar el uso de sus datos y muestras.

Sin embargo, si alguna investigación realizada con su sangre, orina o datos ha finalizado, la información generada podría seguir siendo utilizada.

## **¿QUÉ RIESGOS TIENE ESTE ENSAYO CLÍNICO?**

Usted puede experimentar uno o más de los siguientes riesgos indicados a continuación desde el comienzo del estudio.

El fármaco en estudio no ha sido utilizado de forma sistemática en pacientes afectados de enfermedad de Huntington, por tanto puede existir el riesgo de que produzca un empeoramiento de su sintomatología. Trabajos experimentales en líneas celulares y animales de laboratorio que expresan la proteína anormalmente mutada de la enfermedad de Huntington humana han demostrado que los cannabinoides pueden tener un efecto neuroprotector en estas células, por lo tanto esperamos que la respuesta al tratamiento sea beneficiosa o neutra. En caso de producirse efectos secundarios, se le suspenderá la administración del fármaco y será seguido de forma estrecha hasta la completa resolución de los síntomas.

Algunas personas experimentan nerviosismo, fatiga o aburrimiento durante las pruebas. Hay frecuentes descansos y el equipo está entrenado para ofrecer seguridad e interrumpir las pruebas si fuera necesario.

Durante la extracción de muestra de sangre o la biopsia de piel puede sentir dolor en el sitio del brazo de donde se saca la sangre o se realiza la biopsia y puede tener algún

cardenal. Las infecciones y el mareo también pueden ocurrir, aunque son muy raros. Si usted tiene mareos, debe tumbarse inmediatamente para evitar posibles lesiones y notificarlo al personal del estudio. Todas las extracciones de sangre y biopsias están hechas por personal cualificado y con experiencia en prevenir posibles infecciones y otros daños.

### **¿CUALES SON LOS BENEFICIOS DE ESTE ESTUDIO?**

No obtendrá ningún beneficio directo de este estudio. Si se demostrase que el fármaco del ensayo tiene unos efectos beneficiosos en usted, se valorará la solicitud del mismo a través del programa de uso compasivo, pero no podemos garantizarle su aceptación por parte de las Autoridades Sanitarias. Esperamos que un futuro otras personas puedan beneficiarse de su participación, la cual nos puede proporcionar información que será útil para valorar los tratamientos de la EH.

### **¿TENDRÁ ALGUN COSTE PARTICIPAR EN ESTE ESTUDIO?**

Su participación en el estudio no está remunerada. No tendrán ningún cargo las visitas ni las pruebas de laboratorio pertenecientes al estudio.

### **¿COBRARÉ POR PARTICIPAR?**

No, su participación es voluntaria. El equipo investigador puede percibir alguna remuneración por el trabajo de este ensayo, aunque al ser financiado mayoritariamente por ayudas a la investigación públicas, no se prevé que el equipo investigador obtenga una remuneración por su trabajo.

### **¿QUIEN FINANCIA ESTE ESTUDIO?**

El laboratorio GW Pharma Ltd (Porton Down Science Park, Salisbury, Wiltshire, SP4 0JQ. Reino Unido) es el fabricante de Sativex. Proporcionará el fármaco del ensayo y el placebo en envases similares al del fármaco activo.

La mayor parte de los costes del ensayo son financiados por entidades públicas del Estado Español, mediante becas, ayudas y programas de investigación

Este ensayo clínico es independiente y no persigue un objetivo comercial. El laboratorio farmacéutico propietario de la marca Sativex no ha intervenido en la elaboración ni el desarrollo del protocolo clínico. No recibirá información privilegiada de los resultados del estudio.

Los resultados del estudio serán hechos públicos mediante su difusión a la comunidad científica en congresos y publicaciones especializadas.

Los investigadores que participan en este estudio no recibirán compensaciones económicas por realizar este trabajo. El hospital Ramón y Cajal tampoco recibirá financiación aunque puede compensar los gastos de personal y material que se generen durante el mismo.



## **DAÑOS RELACIONADAS CON LA INVESTIGACIÓN**

En el caso de que usted sufriera alguna lesión relacionada con este estudio puede recibir el tratamiento médico necesario en el Hospital Ramón y Cajal en las mismas condiciones de gratuidad que el resto los pacientes atendidos en este centro.

Se ha contratado un seguro específico para este ensayo clínico que cubrirá las posibles lesiones que puedan resultar de su participación en el mismo, de acuerdo con la Ley General de Sanidad, la Ley de Garantías y Uso Racional de los Medicamentos y Productos Sanitarios y la regulación sobre ensayos clínicos establecida por el RD 223/2004.

## **CONFIDENCIALIDAD**

Si usted participa en el estudio tiene el derecho a acceder, rectificar y a cancelar sus datos personales incluidos en el protocolo del estudio. Su participación en el estudio será mantenida de forma confidencial según Ley Orgánica 15/1999 de Protección de Datos de Carácter Personal. Según lo recogido en esta ley debe usted saber que tiene derecho de acceso, rectificación, cancelación y oposición de los datos recogidos. Puede ejercer ese derecho poniéndose en contacto con los investigadores del estudio.

Sin embargo, es posible que otras personas tales como las indicadas a continuación den cuenta de su participación en este estudio y puedan inspeccionar y copiar archivos pertenecientes a este estudio. Algunos de estos archivos pueden contener información que le identifique ante:

- Agencias estatales responsables de la financiación del ensayo clínico
- Fundación para la Investigación del Hospital Ramón y Cajal.
- Comité Ético de Ensayos Clínicos del Hospital Ramón y Cajal.

Para ayudar a proteger su confidencialidad se limitará el acceso a sus datos personales al Dr. García de Yébenes y su equipo investigador. Todos los datos, incluyendo datos de identificación serán guardados en lugares cerrados o protegidos por contraseña en ordenadores y solamente serán accesibles para los investigadores del ensayo clínico. Todos los datos que contienen identificaciones serán guardados de forma separada de los datos del estudio únicamente etiquetados con los códigos de identificación, de tal manera que los datos más sensibles serán disociados del resto de información. Ningún nombre ni otra información identificable se adjuntará a los datos.

## **¿ES VOLUNTARIA MI PARTICIPACIÓN?**

Tomar parte en este ensayo es completamente voluntario. Usted puede elegir no tomar parte en absoluto. Si decide participar, puede abandonar el ensayo en cualquier momento, sin tener que dar explicaciones de su decisión. Su decisión de participar o abandonar el estudio no afectará en absoluto a la calidad de la atención médica que percibirá.

### **¿QUÉ OCURRIRÍA SI DECIDO ABANDONAR EL ESTUDIO?**

Usted puede abandonar el estudio en cualquier momento si así lo desea o si tiene efectos secundarios. Abandonar el estudio antes de tiempo no le causará ningún perjuicio ni molestia y seguirá teniendo acceso a todos los cuidados médicos y sanitarios a los que pueda tener derecho. Si hace esto, es posible que le contactemos para determinar si desea que las evaluaciones finales adicionales puedan completarse.

### **¿PUEDE ALGUIEN MÁS FINALIZAR MI PARTICIPACIÓN EN EL ESTUDIO?**

Bajo determinadas circunstancias, los investigadores, o las Autoridades Sanitarias pueden decidir terminar su participación en el estudio antes de lo planeado. Esto podría ocurrir porque los análisis intermedios realizados sugieran que el fármaco en estudio puede tener efectos contraproducentes o que su seguridad está comprometida. El Dr. García de Yébenes o algún miembro del equipo contactaría personalmente con usted para comunicarle esta decisión y el plan alternativo que se haya considerado.

### **PREGUNTAS**

Si usted, tiene cualquier duda sobre el estudio, por favor pregúntenosla. Si le surgiera cualquier duda en el futuro, puede llamar, si se trata de una pregunta médica, al Dr. Justo García de Yébenes al teléfono 91 336 88 21. Si usted tiene dudas sobre los derechos de los participantes en este estudio o sobre cualquier otro asunto administrativo, por favor contacte con Mónica Bascuñana en el teléfono 91 336 83 99.

**Este Consentimiento Informado no es un contrato. Es una explicación por escrito de lo que puede ocurrir en el estudio si usted decide participar. Usted no está renunciando a ningún derecho legal firmando este documento. Su firma indica que este estudio le ha sido explicado, que sus preguntas han sido contestadas y que está de acuerdo en tomar parte. Recibirá una copia de este documento.**

CONSENTIMIENTO INFORMADO

**Título: “Evaluación de Sativex spray oral en pacientes con enfermedad de Huntington: Ensayo clínico aleatorizado, cruzado, doble ciego controlado con placebo”.**

He leído y discutido con el Dr.

\_\_\_\_\_ (Nombre del investigador)

la hoja de información al paciente del ensayo clínico **“Evaluación de Sativex spray oral en pacientes con enfermedad de Huntington: Ensayo clínico aleatorizado, cruzado, doble ciego controlado con placebo”** y por la presente acepto mi participación voluntaria en el mismo.

Participante Nombre y Apellidos :

\_\_\_\_\_

**No firme este documento si hay una fecha puesta**

\_\_\_\_\_ - \_\_\_\_\_ -

\_\_\_\_\_  
(Firma del participante)

\_\_\_\_\_  
(Fecha)

Como investigador de este ensayo clínico he discutido con el paciente, o con el representante legal del mismo el protocolo de este ensayo clínico. Opino que el participante comprende los riesgos, beneficios y procedimientos que conlleva su participación en este ensayo.

\_\_\_\_\_

**Nombre y Apellidos del Investigador que obtiene el Consentimiento**

\_\_\_\_\_ - \_\_\_\_\_ -

\_\_\_\_\_  
(Firma del investigador que obtiene el consentimiento)

\_\_\_\_\_  
(Fecha)



**T. Consentimiento informado de la punción lumbar.**



**Título:** “Evaluación de Sativex spray oral en pacientes con enfermedad de Huntington: Ensayo clínico aleatorizado, cruzado, doble ciego controlado con placebo”.

**Investigadores:** Este estudio de investigación está dirigido y diseñado por un grupo de investigadores en cannabinoides y en enfermedad de Huntington. (EH)

**Investigador Principal:** Dr. Justo García de Yébenes  
Servicio de Neurología  
Hospital Ramón y Cajal  
Consulta externa de Neurología, planta -2 centro.  
Ctra.. De Colmenar Km 9,1.  
Madrid, 28034. Spain  
Tfno.: 91-3368821  
Móvil: 651 561 752  
[neurol.hrc@salud.madrid.org](mailto:neurol.hrc@salud.madrid.org)

**Investigadores colaboradores:**

Dr. Guillermo García-Ribas, Neurólogo, Hospital Ramón y Cajal.  
Dr. José Luis López-Sendón, Neurólogo, Hospital Ramón y Cajal  
Dr. Juan García Caldentey, Neurólogo, Hospital Ramón y Cajal  
Mónica Bascuñana. Fundación para Investigaciones Neurológicas. Coordinador del estudio.

Patricia Trigo. Fundación Ramón y Cajal. Neuropsicóloga.

**Promotor:** Fundación para la investigación biomédica del Hospital Universitario Ramón y Cajal

**CONSENTIMIENTO PARA PUNCIÓN LUMBAR**

Mediante este documento declaro que he sido informado de que un grupo de médicos e investigadores de los Servicios de Neurología y Neurobiología del Hospital Ramón y Cajal están investigando el valor diagnóstico y pronóstico de una serie de determinaciones en líquido cefalorraquídeo que incluyen la medición de algunos neurotransmisores, proteínas involucradas en la muerte neuronal, células y otros posibles parámetros cuyo interés pueda ser descubierto en el futuro. También declaro que se me ha invitado a participar en ese estudio.

Para ello se me pide que acepte donar una pequeña muestra de líquido céfalo raquídeo (unos 6 cc) obtenido a través de una punción lumbar. El procedimiento se realizará sin anestesia porque los médicos que me tratan estiman que la posible molestia que puedo presentar no justifica la administración de anestésicos. Se me informa que también se obtendrá una pequeña muestra de sangre (2cc) para determinaciones de algunos de esos compuestos en plasma. También se me comunica que si los doctores que me tratan estiman que la punción puede ser difícil por problemas de malformación de la columna, obesidad y u otros, la punción se realizará con control radiológico para hacerla mas fácil.

Entiendo que la extracción del líquido céfalo raquídeo es una práctica habitual de diagnóstico neurológico que se realiza sin problemas aunque en algunas personas, sobre todo en mujeres jóvenes, produce dolores de cabeza que aumentan al ponerse de pie y que mejoran con analgésicos, bebiendo abundantes líquidos y haciendo reposo. Otras complicaciones, incluyendo infecciones del sistema nervioso, hematomas espinales, o lesión de alguna raíz nerviosa, son tan raros que ninguno de los médicos que componen el equipo investigador, alguno con casi 40 años de experiencia profesional, ha tenido que lamentarlos.

Se me informa que, junto a la extracción de la sangre y líquido cefalorraquídeo, los investigadores que toman parte en este proyecto procederán a anotar una serie de datos clínicos, como la edad, el sexo, las enfermedades que he padecido, las medicina que tomo. También anotarán el número de mi historia clínica, que podrán revisar, si es necesario, para confirmar datos importantes pero no se registrarán datos personales identificativos. Se que los doctores que me atienden me dedicarán el mejor tipo de tratamiento que les permitan sus recursos y sus conocimientos con independencia de que acepte o rechace la invitación a participar en este proyecto cuyo investigador principal es el Dr. Justo García de Yébenes, del Servicio de Neurología.

Por esto acepto libremente la participación en este estudio y firmo el presente consentimiento en Madrid a .....de.....de 2011.

Nombre del paciente o su representante legal

Firma del paciente o su representante legal

Nombre del testigo

Firma del testigo

**U. Consentimiento informado de la biopsia de piel.**

	<p><b>Hospital Universitario Ramón y Cajal</b></p>	
---	--	---

**Título:** “Evaluación de Sativex spray oral en pacientes con enfermedad de Huntington: Ensayo clínico aleatorizado, cruzado, doble ciego controlado con placebo”.

**Investigadores:** Este estudio de investigación está dirigido y diseñado por un grupo de investigadores en cannabinoides y en enfermedad de Huntington. (EH)

**Investigador Principal:** Dr. Justo García de Yébenes  
Servicio de Neurología  
Hospital Ramón y Cajal  
Consulta externa de Neurología, planta -2 centro.  
Ctra.. De Colmenar Km 9,1.  
Madrid, 28034. Spain  
Tfno.: 91-3368821  
Móvil: 651 561 752  
[neurol.hrc@salud.madrid.org](mailto:neurol.hrc@salud.madrid.org)

**Investigadores colaboradores:**

Dr. Guillermo García-Ribas, Neurólogo, Hospital Ramón y Cajal.  
Dr. José Luis López-Sendón, Neurólogo, Hospital Ramón y Cajal  
Dr. Juan García Caldentey, Neurólogo, Hospital Ramón y Cajal  
Mónica Bascuñana. Fundación para Investigaciones Neurológicas. Coordinador del estudio.

Patricia Trigo. Fundación Ramón y Cajal. Neuropsicóloga.

**Promotor:** Fundación para la investigación biomédica del Hospital Universitario Ramón y Cajal

**Solicitud de autorización para obtener biopsias de piel para cultivos de fibroblastos en pacientes con enfermedad de Huntington**

**Introducción.** La enfermedad de Huntington es una enfermedad neurodegenerativa, de carácter genético y de transmisión autosómica dominante, producida por una expansión de tripletes CAG del gen de la huntingtina. La proteína mutada se trasloca a nivel subcelular y emigra al núcleo donde modifica la transcripción de múltiples genes. Además de este posible mecanismo patogénico la huntingtina mutada puede producir daño celular a través de otros mecanismos entre los que se incluyen el depósito neuronal de proteína insoluble, la interferencia con la función mitocondrial o la activación de caspasas. Es

posible que varios de estos mecanismos contribuyan a la muerte neuronal pero el peso relativo de cada uno de ellos es desconocido.

Tampoco se conocen tratamientos eficaces de esta enfermedad. Un reciente ensayo clínico con riluzol, un supuesto bloqueante de la transmisión excitadora, después de varios años de trabajo con mas de 500 pacientes ha resultado negativo. Por eso se necesita un sistema celular en el que probar el peso relativo de los distintos mecanismos patógenos y en el que ensayar mecanismos de neuroprotección eficaces.

Existen modelos animales de enfermedad de Huntington en ratones que han servido para obtener una gran cantidad de información. Pero los datos deben validarse en células humanas de pacientes pues las interacciones de las proteínas unas con otras y la expresión de genes cambian bastante entre ratones y humanos. Por esto entendemos que disponer de sistemas celulares de pacientes con enfermedad de Huntington puede ser muy útil para investigar el peso relativo de los distintos mecanismos patógenos y para probar fármacos protectores.

#### **Propósito.**

1. Cultivar fibroblastos humanos de pacientes con enfermedad de Huntington obtenidos por biopsia de piel.
2. Investigar los mecanismos patogénicos de la enfermedad.
3. Investigar el efecto neuroprotector de diferentes tratamientos.

#### **Métodos.**

1. Obtención de los fibroblastos. Por biopsia de piel como se detalla en la hoja de consentimiento informado. En síntesis, se anestesia con lidocaina la piel del antebrazo y se obtiene por punción un cilindro de 3mm de diámetro y 2mm de altura. No se sutura.
2. Cultivo. Se cultivan los fibroblastos hasta obtener confluencia. Después se usan los fibroblastos tras el segundo pase. Son viable durante unos 20 pases en personas de mas de cincuenta años (el investigador principal de este proyecto).
3. Investigación de mecanismos patógenos. Investigaremos la expresión de los receptores de amino ácidos excitadores, de cannabinoides, la respiración mitocondrial, la expresión de chaperonas protectoras, los parámetros de muerte neuronal tras exposición a neurotóxicos.
4. Investigación de fármacos protectores. En principio utilizaremos fármacos que actúan sobre el receptor CB2 de cannabinoides pero es probable que los experimentos previos señalen nuevas dianas.
5. Número y tipo de pacientes. En este estudio utilizaremos 4 grupos de 6 pacientes, a saber.
  - a. Pacientes con enfermedad de Huntington con mutaciones de huntingtina largas (>46 tripletes)
  - b. Pacientes con enfermedad de Huntington con mutaciones de huntingtina cortas (entre 39 y 43 tripletes)
  - c. Sujetos asintomáticos portadores de la mutación de Huntington.
  - d. Sujetos sanos, miembros de las familias de los pacientes con esta enfermedad pero libres de esta mutación



**Consentimiento informado para biopsia de piel**

Mediante este documento declaro que he sido informado de que un grupo de médicos e investigadores de los Servicios de Neurología y de Genética del Hospital Ramón y Cajal y de la Universidad Complutense de Madrid están investigando las propiedades de los fibroblastos de los pacientes con enfermedad de Huntington con objeto de determinar con precisión los mecanismos a través de los cuales se produce la enfermedad y el efecto de determinadas medicinas que podrían frenar la progresión de la misma También declaro que se me ha invitado a participar en ese estudio.

Para ello se me pide que acepte donar una pequeña muestra de piel de la que se extraerán los fibroblastos. La biopsia se tomará de uno de mis antebrazos, después de insensibilizar el sitio de extracción con anestesia local y tendrá una forma de cilindro de 3 mm de diámetro y 2mm de profundidad. Se me informa de que la toma de la biopsia no supone riesgos importantes aunque en algún caso puede producirse un pequeño hematoma o una molestia leve de carácter transitorio en el sitio de la punción.

Se me informa que, junto a la extracción del fragmento de piel los investigadores que toman parte en este proyecto procederán a anotar una serie de datos clínicos, que están incluidos en el protocolo del estudio “Registry” del que soy participante, como la edad, el sexo, las enfermedades que he padecido, las medicinas que tomo, la duración de la enfermedad que padezco, las características de la mutación genética que la produce y la gravedad de los síntomas que padezco. También anotarán el número de mi historia clínica y el de participante en el estudio “Registry”, que podrán revisar, si es necesario, para confirmar datos importantes pero no se registrarán datos personales identificativos.

Se que los doctores que me atienden me dedicarán el mejor tipo de tratamiento que les permitan sus recursos y sus conocimientos con independencia de que acepte o rechace la invitación a participar en este proyecto cuyo investigador principal es el Dr. Justo García de Yébenes, del Servicio de Neurología.

Por esto acepto libremente la participación en este estudio y firmo el presente consentimiento en Madrid a .....de.....de 2011.

Nombre del paciente o su representante legal

Firma del paciente o su representante legal

Nombre del testigo

Firma del testigo

**V. Consentimiento informado de la videofilmación.**

**Consentimiento informado para obtención y exhibición de videofilmación**

Mediante este documento declaro que he sido informado de que un grupo de médicos e investigadores del Servicio de Neurología, del Hospital Ramón y Cajal, dirigidos por el Dr. García de Yébenes, están investigando el efecto beneficioso del Sativex en la enfermedad de Huntington.

Para ello se me pide que acepte que mi exploración neurológica quede almacenada en una videofilmación que podrá ser utilizada por los investigadores para evaluar los resultados del estudio y para mostrar esos resultados en publicaciones científicas y en otras actividades de carácter docente e investigador. Cuando esto ocurra no se mostrarán junto a las video filmaciones datos de carácter identificador.

En el caso de que los videos tuvieran que ser mostrados a otras personas o hecho públicos se procederá a enmascarar los rasgos faciales identificadores de los participantes.

Por esto acepto libremente la video filmación en este estudio y firmo el presente consentimiento en Madrid a .....de.....de 2011.

Nombre del paciente

Firma del paciente

## VIII. BIBLIOGRAFÍA

## VII. BIBLIOGRAFÍA

1. Walker FO. Huntington ' s disease. *The Lancet*. 2007;369:218–28.
2. Penney JB, Young AB, Shoulson I, Starosta-Rubenstein S, Snodgrass SR, Sanchez-Ramos J, et al. Huntington's disease in Venezuela: 7 years of follow-up on symptomatic and asymptomatic individuals. *Movement disorders : official journal of the Movement Disorder Society* [Internet]. 1990 Jan [cited 2012 Mar 28];5(2):93–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2139171>
3. The Huntington's Disease Collaborative Research Group. A novel gene containing a trinucleotide repeat that is expanded and unstable on Huntington's disease chromosomes. *Cell* [Internet]. 1993 Mar 26 [cited 2011 Jul 15];72(6):971–83. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8458085>
4. Li S-H, Li X-J. Huntingtin-protein interactions and the pathogenesis of Huntington's disease. *Trends in genetics : TIG* [Internet]. 2004 Mar [cited 2011 Sep 12];20(3):146–54. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15036808>
5. White JK, Auerbach W, Duyao MP, Vonsattel JP, Gusella JF, Joyner AL, et al. Huntingtin is required for neurogenesis and is not impaired by the Huntington's disease CAG expansion. *Nature genetics* [Internet]. 1997 Dec [cited 2011 Oct 26];17(4):404–10. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9398841>
6. Rosas HD, Salat DH, Lee SY, Zaleta AK, Pappu V, Fischl B, et al. Cerebral cortex and the clinical expression of Huntington's disease: complexity and heterogeneity. *Brain*. [Internet]. Oxford Univ Press; 2008 [cited 2012 Jan 22];131(4):1057. Available from: <http://www.sciencemag.org/content/306/5703/1895.short>
7. Mestre T, Ferreira J, Coelho MM, Rosa M, Sampaio C. Therapeutic interventions for symptomatic treatment in Huntington's disease. *Cochrane database of systematic reviews (Online)* [Internet]. 2009 Jan [cited 2012 Jan 21];(3):CD006456. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19588393>
8. Newcombe RG, Walker DA, Harper PS. Factors influencing age at onset and duration of survival in Huntington's chorea. *Annals of human genetics* [Internet]. 1981 Oct [cited 2012 Mar 8];45(Pt 4):387–96. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6211129>
9. Huntington G. On chorea. George Huntington, M.D. *The Journal of neuropsychiatry and clinical neurosciences* [Internet]. 2003 Jan [cited 2012 Mar 8];15(1):109–12. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12556582>
10. Neylan TC. Neurodegenerative disorders: George Huntington's description of hereditary chorea. *The Journal of neuropsychiatry and clinical neurosciences* [Internet]. 2003 Jan [cited 2012 Mar 8];15(1):108. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12556581>
11. Osler W. Historical note on hereditary chorea. Browning W (ed). *Neurograph*. [Internet]. 1908 Jan [cited 2012 Mar 8];1(Brooklyn, NY: Albert c. Huntington):113–6. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20897152>
12. Critchley M. The history of Huntington's chorea. *Psychological medicine* [Internet]. 1984 Nov [cited 2012 Mar 8];14(4):725–7. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6242493>
13. Harper PS. The Venezuela project. Huntington's disease. Saunders WB, editor. *American journal of human genetics*. London: Huntington disease.; 1991. p. 23–4.
14. Negrette A. Corea de Huntington. Estudio de una sola familia investigada a través de varias generaciones. *Universidad de Zulia. Venezuela*; 1963 Mar;40(1):1–226.

15. Okun MS, Thommi N. Americo Negrette (1924 to 2003): diagnosing Huntington disease in Venezuela. *Neurology* [Internet]. 2004 Jul 27 [cited 2012 Mar 22];63(2):340–3. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15277631>
16. Avila-Girón R. Cognitive changes in Huntington's disease. *Advances in neurology*. 1973 Jan;1:261–6.
17. Gusella JF, Wexler NS, Conneally PM, Naylor SL, Anderson MA, Tanzi RE, et al. A polymorphic DNA marker genetically linked to Huntington's disease. *Nature*. 1983;306(5940):234–8.
18. Harper PS. The epidemiology of Huntington's disease. *Human genetics* [Internet]. 1992 Jun [cited 2012 Mar 28];89(4):365–76. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1535611>
19. Palo J, Somer H, Ikonen E, Karila L, Peltonen L. Low prevalence of Huntington's disease in Finland. *Lancet* [Internet]. 1987 Oct 3 [cited 2012 Apr 22];2(8562):805–6. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2889026>
20. Calopa, M; Genis, D; Sanchez A. Tratado de los trastornos del movimiento (2ª edición) Vol III. Otros trastornos del movimiento. Vigeras Ed. Jimenez, FJ; Luquin, MR; Molina, JA; Linazasoro G, editor. Barcelona; 2008. p. 991–1018.
21. Calcedo Ordóñez A. [Huntington's disease in the Province of Cadiz. Epidemiological and familial study]. *Revista clínica española* [Internet]. 1970 Dec 30 [cited 2012 Apr 22];119(4):333–44. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/4250824>
22. Ruiz JJ, Ortin A, Arcaya J, Cacho J AJ. Corea de Huntington: estudio epidemiológico en la provincia de Salamanca. *Arch Neurobiol*. 1985;48:302–3.
23. Burguera JA, Solís P, Salazar A. [Estimate of the prevalence of Huntington disease in the Valencia region using the capture-recapture method]. *Revista de neurologia* [Internet]. 1997 Dec [cited 2012 Apr 22];25(148):1845–7. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9528016>
24. Hayden MR, MacGregor JM, Beighton PH. The prevalence of Huntington's chorea in South Africa. *South African medical journal = Suid-Afrikaanse tydskrif vir geneeskunde* [Internet]. 1980 Aug 2 [cited 2012 Apr 22];58(5):193–6. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6447364>
25. Nakashima K, Watanabe Y, Kusumi M, Nanba E, Maeoka Y, Nakagawa M, et al. Epidemiological and genetic studies of Huntington's disease in the San-in area of Japan. *Neuroepidemiology* [Internet]. 1996 Jan [cited 2012 Apr 22];15(3):126–31. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8700304>
26. Ramos-Arroyo MA, Moreno S, Valiente A. Incidence and mutation rates of Huntington's disease in Spain: experience of 9 years of direct genetic testing. *Journal of neurology, neurosurgery, and psychiatry* [Internet]. 2005 Mar [cited 2012 Apr 22];76(3):337–42. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=1739554&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
27. Mercy L, Hodges JR, Dawson K, Barker RA, Brayne C. Incidence of early-onset dementias in Cambridgeshire, United Kingdom. *Neurology* [Internet]. 2008 Nov 4 [cited 2012 Apr 22];71(19):1496–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18981371>
28. Kremer B, Goldberg P, Andrew SE, Theilmann J, Telenius H, Zeisler J, et al. A worldwide study of the Huntington's disease mutation. The sensitivity and specificity of measuring CAG repeats. *The New England journal of medicine* [Internet]. 1994 May 19 [cited 2012 Apr 22];330(20):1401–6. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8159192>
29. Squitieri F, Andrew SE, Goldberg YP, Kremer B, Spence N, Zeisler J, et al. DNA haplotype analysis of Huntington disease reveals clues to the origins and mechanisms of CAG expansion and reasons for geographic

- variations of prevalence. *Human molecular genetics* [Internet]. 1994 Dec [cited 2012 Apr 22];3(12):2103–14. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7881406>
30. Watkins WS, Bamshad M, Jorde LB. Population genetics of trinucleotide repeat polymorphisms. *Human molecular genetics* [Internet]. 1995 Sep [cited 2012 Apr 22];4(9):1485–91. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8541830>
  31. Ramos EM, Cerqueira J, Lemos C, Pinto-Basto J, Alonso I, Sequeiros J. Intergenerational instability in Huntington disease: extreme repeat changes among 134 transmissions. *Movement disorders : official journal of the Movement Disorder Society* [Internet]. 2012 Apr [cited 2013 Apr 8];27(4):583–5. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22162197>
  32. Paulsen JS, Langbehn DR, Stout JC, Aylward E, Ross CA, Nance M, et al. Detection of Huntington's disease decades before diagnosis: the Predict-HD study. *Journal of neurology, neurosurgery, and psychiatry* [Internet]. 2008 Aug [cited 2013 Feb 6];79(8):874–80. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2569211&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
  33. Dorsey ER. Characterization of a Large Group of Individuals with Huntington Disease and Their Relatives Enrolled in the COHORT Study. *PloS one* [Internet]. Public Library of Science; 2012 Jan [cited 2012 Mar 28];7(2):e29522. Available from: [/pmc/articles/PMC3281013/?report=abstract](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3281013/?report=abstract)
  34. Andrew SE, Goldberg YP, Kremer B, Telenius H, Theilmann J, Adam S, et al. The relationship between trinucleotide (CAG) repeat length and clinical features of Huntington's disease. *Nature genetics* [Internet]. 1993 Aug [cited 2013 Feb 4];4(4):398–403. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8401589>
  35. Nørremølle A, Sørensen SA, Fenger K, Hasholt L. Correlation between magnitude of CAG repeat length alterations and length of the paternal repeat in paternally inherited Huntington's disease. *Clinical genetics* [Internet]. 1995 Mar [cited 2013 Feb 4];47(3):113–7. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7634532>
  36. Snell RG, MacMillan JC, Cheadle JP, Fenton I, Lazarou LP, Davies P, et al. Relationship between trinucleotide repeat expansion and phenotypic variation in Huntington's disease. *Nature genetics* [Internet]. 1993 Aug [cited 2013 Feb 4];4(4):393–7. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8401588>
  37. Duyao M, Ambrose C, Myers R, Novelletto A, Persichetti F, Frontali M, et al. Trinucleotide repeat length instability and age of onset in Huntington's disease. *Nature genetics* [Internet]. 1993 Aug [cited 2013 Feb 4];4(4):387–92. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8401587>
  38. López-Sendón JL, Royuela A, Trigo P, Orth M, Lange H, Reilmann R, et al. What is the impact of education on Huntington's disease? *Movement Disorders* [Internet]. Wiley Online Library; 2011 [cited 2012 Jan 22];26(8):1489–95. Available from: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/mds.23385/full>
  39. Lee J-M, Ramos EM, Lee J-H, Gillis T, Mysore JS, Hayden MR, et al. CAG repeat expansion in Huntington disease determines age at onset in a fully dominant fashion. *Neurology* [Internet]. 2012 Mar 6 [cited 2013 Apr 8];78(10):690–5. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3306163&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
  40. Farrer LA, Cupples LA, Wiater P, Conneally PM, Gusella JF, Myers RH. The normal Huntington disease (HD) allele, or a closely linked gene, influences age at onset of HD. *American journal of human genetics* [Internet]. 1993 Jul [cited 2013 Feb 4];53(1):125–30. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=1682222&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
  41. Djoussé L, Knowlton B, Hayden M, Almqvist EW, Brinkman R, Ross C, et al. Interaction of normal and expanded CAG repeat sizes influences age at onset of Huntington disease. *American journal of medical genetics. Part A* [Internet]. 2003 Jun 15 [cited 2013 Feb 4];119A(3):279–82. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12784292>

42. Wexler NS, Lorimer J, Porter J, Gomez F, Moskowitz C, Shackell E, et al. Venezuelan kindreds reveal that genetic and environmental factors modulate Huntington's disease age of onset. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* [Internet]. National Academy of Sciences; 2004 Mar 9 [cited 2012 Mar 22];101(10):3498–503. Available from: [/pmc/articles/PMC373491/?report=abstract](http://pmc/articles/PMC373491/?report=abstract)
43. Van Dellen A, Hannan AJ. Genetic and environmental factors in the pathogenesis of Huntington's disease. *Neurogenetics* [Internet]. 2004 Feb [cited 2013 Feb 4];5(1):9–17. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14745585>
44. Spiers TL, Grote HE, Varshney NK, Cordery PM, van Dellen A, Blakemore C, et al. Environmental enrichment rescues protein deficits in a mouse model of Huntington's disease, indicating a possible disease mechanism. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* [Internet]. 2004 Mar 3 [cited 2013 Feb 4];24(9):2270–6. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14999077>
45. Friedman JH, Trieschmann ME, Myers RH, Fernandez HH. Monozygotic twins discordant for Huntington disease after 7 years. *Archives of neurology* [Internet]. 2005 Jun [cited 2013 Feb 4];62(6):995–7. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15956172>
46. Walker DA, Harper PS, Wells CE, Tyler A, Davies K, Newcombe RG. Huntington's Chorea in South Wales. A genetic and epidemiological study. *Clinical genetics* [Internet]. 1981 Apr [cited 2012 Apr 22];19(4):213–21. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6456090>
47. Folstein SE, Chase GA, Wahl WE, McDonnell AM, Folstein MF. Huntington disease in Maryland: clinical aspects of racial variation. *American journal of human genetics* [Internet]. 1987 Aug [cited 2013 Feb 4];41(2):168–79. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=1684204&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
48. Adams P, Falek A, Arnold J. Huntington disease in Georgia: age at onset. *American journal of human genetics* [Internet]. 1988 Nov [cited 2013 Feb 4];43(5):695–704. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=1715551&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
49. Van Dijk JG, van der Velde EA, Roos RA, Bruyn GW. Juvenile Huntington disease. *Human genetics* [Internet]. 1986 Jul [cited 2013 Feb 4];73(3):235–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2942452>
50. Telenius H, Kremer HP, Theilmann J, Andrew SE, Almqvist E, Anvret M, et al. Molecular analysis of juvenile Huntington disease: the major influence on (CAG)<sub>n</sub> repeat length is the sex of the affected parent. *Human molecular genetics* [Internet]. 1993 Oct [cited 2013 Feb 4];2(10):1535–40. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8268906>
51. Farrer LA, Conneally PM. Predictability of phenotype in Huntington's disease. *Archives of neurology* [Internet]. 1987 Jan [cited 2013 Feb 4];44(1):109–13. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2948483>
52. Haines JL, Conneally PM. Causes of death in Huntington disease as reported on death certificates. *Genetic epidemiology* [Internet]. 1986 Jan [cited 2013 Feb 4];3(6):417–23. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2948872>
53. Chiu E, Alexander L. Causes of death in Huntington's disease. *The Medical journal of Australia* [Internet]. 1982 Feb 20 [cited 2013 Feb 4];1(4):153. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6210834>
54. Leigh RJ, Newman SA, Folstein SE, Lasker AG, Jensen BA. Abnormal ocular motor control in Huntington's disease. *Neurology* [Internet]. 1983 Oct [cited 2013 Feb 6];33(10):1268–75. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6225033>
55. Hahn-Barma V, Deweer B, Dürr A, Dodé C, Feingold J, Pillon B, et al. Are cognitive changes the first symptoms of Huntington's disease? A study of gene carriers. *Journal of neurology, neurosurgery, and*

- psychiatry [Internet]. 1998 Feb [cited 2013 Feb 6];64(2):172–7. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2169968&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
56. Fahn S, Jankovic J. Clinical overview and phenomenology of movement disorders. *Principles and practice of Movement Disorders*. Churchill. Philadelphia; 2007. p. 1–42.
  57. Louis ED, Lee P, Quinn L, Marder K. Dystonia in Huntington's disease: prevalence and clinical characteristics. *Movement disorders : official journal of the Movement Disorder Society* [Internet]. 1999 Jan [cited 2013 Feb 6];14(1):95–101. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9918350>
  58. Fahn S. Classification of movement disorders. *Movement disorders : official journal of the Movement Disorder Society* [Internet]. 2011 May [cited 2013 Feb 6];26(6):947–57. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21626541>
  59. Louis ED, Anderson KE, Moskowitz C, Thorne DZ, Marder K. Dystonia-predominant adult-onset Huntington disease: association between motor phenotype and age of onset in adults. *Archives of neurology* [Internet]. 2000 Sep [cited 2013 Feb 6];57(9):1326–30. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10987900>
  60. Gambardella A, Muglia M, Labate A, Magariello A, Gabriele AL, Mazzei R, et al. Juvenile Huntington's disease presenting as progressive myoclonic epilepsy. *Neurology* [Internet]. 2001 Aug 28 [cited 2013 Feb 11];57(4):708–11. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11524486>
  61. Caviness JN, Kurth M. Cortical Myoclonus in Huntington's disease associated with an enlarged somatosensory evoked potential. *Movement disorders : official journal of the Movement Disorder Society* [Internet]. 1997 Nov [cited 2013 Feb 11];12(6):1046–51. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9399235>
  62. Lozsadi D. Myoclonus: a pragmatic approach. *Practical neurology* [Internet]. 2012 Aug [cited 2013 Feb 11];12(4):215–24. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22869763>
  63. Jankovic J, Ashizawa T. Tourettism associated with Huntington's disease. *Movement disorders : official journal of the Movement Disorder Society* [Internet]. 1995 Jan [cited 2013 Feb 11];10(1):103–5. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7885343>
  64. Kumar R, Lang AE. Tourette syndrome. Secondary tic disorders. *Neurologic clinics* [Internet]. 1997 May [cited 2013 Feb 11];15(2):309–31. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9115464>
  65. Jankovic J, Kurlan R. Tourette syndrome: evolving concepts. *Movement disorders : official journal of the Movement Disorder Society* [Internet]. 2011 May [cited 2013 Feb 11];26(6):1149–56. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21484868>
  66. Van Vugt JP, van Hilten BJ, Roos RA. Hypokinesia in Huntington's disease. *Movement disorders : official journal of the Movement Disorder Society* [Internet]. 1996 Jul [cited 2013 Feb 11];11(4):384–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8813217>
  67. Garcia Ruiz PJ, Gomez Tortosa E, Sanchez Bernados V, Rojo A, Fontán A, Garcia de Yébenes J. Bradykinesia in Huntington's disease. *Clinical neuropharmacology* [Internet]. [cited 2013 Feb 11];23(1):50–2. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10682231>
  68. García Ruiz PJ, Hernández J, Cantarero S, Bartolomé M, Sánchez Bernardos V, García de Yébenes J. Bradykinesia in Huntington's disease. A prospective, follow-up study. *Journal of neurology* [Internet]. 2002 Apr [cited 2013 Feb 11];249(4):437–40. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11967649>
  69. Girotti F, Carella F, Scigliano G, Grassi MP, Soliveri P, Giovannini P, et al. Effect of neuroleptic treatment on involuntary movements and motor performances in Huntington's disease. *Journal of neurology, neurosurgery,*



- and psychiatry [Internet]. 1984 Aug [cited 2013 Feb 11];47(8):848–52. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=1027950&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
70. García Ruiz PJ, Mena MA, Sanchez Bernardos V, Díaz Neira W, Gimenez Roldan S, Benitez J, et al. Cerebrospinal fluid homovanillic acid is reduced in untreated Huntington's disease. *Clinical neuropharmacology* [Internet]. 1995 Feb [cited 2013 Feb 11];18(1):58–63. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8665535>
  71. Kirkwood SC, Siemers E, Hodes ME, Conneally PM, Christian JC, Foroud T. Subtle changes among presymptomatic carriers of the Huntington's disease gene. *Journal of neurology, neurosurgery, and psychiatry* [Internet]. 2000 Dec [cited 2013 Feb 11];69(6):773–9. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=1737193&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
  72. Blekher T, Johnson SA, Marshall J, White K, Hui S, Weaver M, et al. Saccades in presymptomatic and early stages of Huntington disease. *Neurology* [Internet]. 2006 Aug 8 [cited 2013 Feb 11];67(3):394–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16855205>
  73. Grimbergen YAM, Knol MJ, Bloem BR, Kremer BPH, Roos RAC, Munneke M. Falls and gait disturbances in Huntington's disease. *Movement disorders : official journal of the Movement Disorder Society* [Internet]. 2008 May 15 [cited 2013 Feb 11];23(7):970–6. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18381643>
  74. Van Duijn E, Kingma EM, van der Mast RC. Psychopathology in verified Huntington's disease gene carriers. *The Journal of neuropsychiatry and clinical neurosciences* [Internet]. 2007 Jan [cited 2013 Feb 11];19(4):441–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18070848>
  75. Thompson JC, Harris J, Sollom AC, Stopford CL, Howard E, Snowden JS, et al. Longitudinal evaluation of neuropsychiatric symptoms in Huntington's disease. *The Journal of neuropsychiatry and clinical neurosciences* [Internet]. 2012 Jan [cited 2013 Feb 11];24(1):53–60. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22450614>
  76. Shiwach R. Psychopathology in Huntington's disease patients. *Acta psychiatrica Scandinavica* [Internet]. 1994 Oct [cited 2013 Feb 11];90(4):241–6. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7831992>
  77. Slaughter JR, Martens MP, Slaughter KA. Depression and Huntington's disease: prevalence, clinical manifestations, etiology, and treatment. *CNS spectrums* [Internet]. 2001 Apr [cited 2013 Feb 11];6(4):306–26. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16113629>
  78. Farrer LA. Suicide and attempted suicide in Huntington disease: implications for preclinical testing of persons at risk. *American journal of medical genetics* [Internet]. 1986 Jun [cited 2013 Feb 11];24(2):305–11. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2940862>
  79. Di Maio L, Squitieri F, Napolitano G, Campanella G, Trofatter JA, Conneally PM. Suicide risk in Huntington's disease. *Journal of medical genetics* [Internet]. 1993 Apr [cited 2013 Feb 11];30(4):293–5. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=1016335&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
  80. Paulsen JS, Hoth KF, Nehl C, Stierman L. Critical periods of suicide risk in Huntington's disease. *The American journal of psychiatry* [Internet]. 2005 Apr [cited 2013 Feb 11];162(4):725–31. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15800145>
  81. Mendez MF. Huntington's disease: update and review of neuropsychiatric aspects. *International journal of psychiatry in medicine* [Internet]. 1994 Jan [cited 2013 Feb 11];24(3):189–208. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7890478>
  82. Craufurd D, Thompson JC, Snowden JS. Behavioral changes in Huntington Disease. *Neuropsychiatry, neuropsychology, and behavioral neurology* [Internet]. [cited 2013 Feb 11];14(4):219–26. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11725215>

83. Marder K, Zhao H, Myers RH, Cudkowicz M, Kayson E, Kieburz K, et al. Rate of functional decline in Huntington's disease. Huntington Study Group. *Neurology* [Internet]. 2000 Jan 25 [cited 2013 Feb 11];54(2):452–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10668713>
84. Hamilton JM, Salmon DP, Corey-Bloom J, Gamst A, Paulsen JS, Jerkins S, et al. Behavioural abnormalities contribute to functional decline in Huntington's disease. *Journal of neurology, neurosurgery, and psychiatry* [Internet]. 2003 Jan [cited 2013 Feb 11];74(1):120–2. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=1738208&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
85. Levy R, Dubois B. Apathy and the functional anatomy of the prefrontal cortex-basal ganglia circuits. *Cerebral cortex (New York, N.Y. : 1991)* [Internet]. 2006 Jul [cited 2013 Feb 11];16(7):916–28. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16207933>
86. Kirkwood SC, Siemers E, Viken R, Hodes ME, Conneally PM, Christian JC, et al. Longitudinal personality changes among presymptomatic Huntington disease gene carriers. *Neuropsychiatry, neuropsychology, and behavioral neurology* [Internet]. 2002 Sep [cited 2013 Feb 11];15(3):192–7. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12218712>
87. Kulisevsky J, Litvan I, Berthier ML, Pascual-Sedano B, Paulsen JS, Cummings JL. Neuropsychiatric assessment of Gilles de la Tourette patients: comparative study with other hyperkinetic and hypokinetic movement disorders. *Movement disorders : official journal of the Movement Disorder Society* [Internet]. 2001 Nov [cited 2013 Feb 11];16(6):1098–104. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11748741>
88. Murgod UA, Saleem Q, Anand A, Brahmachari SK, Jain S, Muthane UB. A clinical study of patients with genetically confirmed Huntington's disease from India. *Journal of the neurological sciences* [Internet]. 2001 Sep 15 [cited 2013 Feb 11];190(1-2):73–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11574110>
89. Bonelli RM, Cummings JL. Frontal-subcortical dementias. *The neurologist* [Internet]. 2008 Mar [cited 2013 May 22];14(2):100–7. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18332839>
90. Gómez-Tortosa E, del Barrio A, García Ruiz PJ, Pernaute RS, Benítez J, Barroso A, et al. Severity of cognitive impairment in juvenile and late-onset Huntington disease. *Archives of neurology* [Internet]. 1998 Jun [cited 2013 Apr 8];55(6):835–43. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9626775>
91. Gordon WP, Illes J. Neurolinguistic characteristics of language production in Huntington's disease: a preliminary report. *Brain and language* [Internet]. 1987 May [cited 2013 Jul 27];31(1):1–10. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2437992>
92. Podoll K, Caspary P, Lange HW, Noth J. Language functions in Huntington's disease. *Brain : a journal of neurology* [Internet]. 1988 Dec [cited 2013 Jul 27];111 ( Pt 6):1475–503. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2974745>
93. Ho AK, Robbins AOG, Barker RA. Huntington's disease patients have selective problems with insight. *Movement disorders : official journal of the Movement Disorder Society* [Internet]. 2006 Mar [cited 2013 Feb 11];21(3):385–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16211608>
94. Aziz NA, van der Burg JMM, Landwehrmeyer GB, Brundin P, Stijnen T, Roos RAC. Weight loss in Huntington disease increases with higher CAG repeat number. *Neurology* [Internet]. 2008 Nov 4 [cited 2013 Feb 11];71(19):1506–13. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18981372>
95. Fedoroff JP, Peyser C, Franz ML, Folstein SE. Sexual disorders in Huntington's disease. *The Journal of neuropsychiatry and clinical neurosciences* [Internet]. 1994 Jan [cited 2013 Feb 11];6(2):147–53. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8044036>

96. Arnulf I, Nielsen J, Lohmann E, Schiefer J, Schieffer J, Wild E, et al. Rapid eye movement sleep disturbances in Huntington disease. *Archives of neurology* [Internet]. 2008 Apr [cited 2013 Feb 11];65(4):482–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18413470>
97. Squitieri F, Gellera C, Cannella M, Mariotti C, Cislighi G, Rubinsztein DC, et al. Homozygosity for CAG mutation in Huntington disease is associated with a more severe clinical course. *Brain : a journal of neurology* [Internet]. 2003 Apr [cited 2013 Feb 20];126(Pt 4):946–55. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12615650>
98. Ranen NG, Stine OC, Abbott MH, Sherr M, Codori AM, Franz ML, et al. Anticipation and instability of IT-15 (CAG)<sub>n</sub> repeats in parent-offspring pairs with Huntington disease. *American journal of human genetics* [Internet]. 1995 Sep [cited 2013 Feb 20];57(3):593–602. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=1801258&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
99. Goldberg YP, Kremer B, Andrew SE, Theilmann J, Graham RK, Squitieri F, et al. Molecular analysis of new mutations for Huntington's disease: intermediate alleles and sex of origin effects. *Nature genetics* [Internet]. 1993 Oct [cited 2013 Feb 13];5(2):174–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8252043>
100. Goldberg YP, McMurray CT, Zeisler J, Almqvist E, Sillence D, Richards F, et al. Increased instability of intermediate alleles in families with sporadic Huntington disease compared to similar sized intermediate alleles in the general population. *Human molecular genetics* [Internet]. 1995 Oct [cited 2013 Feb 20];4(10):1911–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8595415>
101. Chong SS, Almqvist E, Telenius H, LaTray L, Nichol K, Bourdelat-Parks B, et al. Contribution of DNA sequence and CAG size to mutation frequencies of intermediate alleles for Huntington disease: evidence from single sperm analyses. *Human molecular genetics* [Internet]. 1997 Feb [cited 2013 Feb 20];6(2):301–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9063751>
102. Ha AD, Jankovic J. Exploring the correlates of intermediate CAG repeats in Huntington disease. *Postgraduate medicine* [Internet]. 2011 Sep [cited 2013 Apr 10];123(5):116–21. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21904093>
103. Ha AD, Beck CA, Jankovic J. Intermediate CAG Repeats in Huntington's Disease: Analysis of COHORT. Tremor and other hyperkinetic movements (New York, N.Y.) [Internet]. 2012 Jan [cited 2013 Apr 10];2. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3569951&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
104. Kenney C, Powell S, Jankovic J. Autopsy-proven Huntington's disease with 29 trinucleotide repeats. *Movement disorders : official journal of the Movement Disorder Society* [Internet]. 2007 Jan [cited 2013 Apr 10];22(1):127–30. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17115386>
105. International Huntington Association and the World Federation of Neurology Research Group on Huntington's Chorea. Guidelines for the molecular genetics predictive test in Huntington's disease. *Journal of medical genetics* [Internet]. 1994 Jul [cited 2013 Feb 21];31(7):555–9. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=1049979&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
106. Ley de investigación biomédica. p. L 14/2007 3 de julio 2007.
107. Lopez-Sendon JL, García de Yebenes J. Diagnóstico Diferencial. In: López del Val LJ, Burgera Hernández JA, editors. *Enfermedad de Huntington. Claves y respuesta para un desafío singular*. Editorial. Madrid; 2010. p. 89–96.
108. World Federation of Neurology: Research Committee. Research Group on Huntington's chorea. Ethical issues policy statement on Huntington's disease molecular genetics predictive test. *Journal of the neurological sciences* [Internet]. 1989 Dec [cited 2013 Feb 21];94(1-3):327–32. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2533250>

109. Marsden CD. The mysterious motor function of the basal ganglia: the Robert Wartenberg Lecture. *Neurology* [Internet]. 1982 May [cited 2013 Feb 21];32(5):514–39. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7200209>
110. Fahn S, Jankovic J. *Functional neuroanatomy of the Basal Ganglia. Principles and practice of Movement Disorders*. 1 st ed. 2007. p. 65–77.
111. Kemp JM, Powell TP. The cortico-striate projection in the monkey. *Brain : a journal of neurology* [Internet]. 1970 Jan [cited 2013 Feb 21];93(3):525–46. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/4990231>
112. Fudge JL, Kunishio K, Walsh P, Richard C, Haber SN. Amygdaloid projections to ventromedial striatal subterritories in the primate. *Neuroscience* [Internet]. 2002 Jan [cited 2013 Feb 6];110(2):257–75. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11958868>
113. Parent A, Lavoie B, Smith Y, Bédard P. The dopaminergic nigropallidal projection in primates: distinct cellular origin and relative sparing in MPTP-treated monkeys. *Advances in neurology* [Internet]. 1990 Jan [cited 2013 Feb 21];53:111–6. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1978512>
114. Moore RY, Bloom FE. Central catecholamine neuron systems: anatomy and physiology of the norepinephrine and epinephrine systems. *Annual review of neuroscience* [Internet]. 1979 Jan [cited 2013 Feb 21];2:113–68. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/231924>
115. Joel D. Open interconnected model of basal ganglia-thalamocortical circuitry and its relevance to the clinical syndrome of Huntington's disease. *Movement disorders : official journal of the Movement Disorder Society* [Internet]. 2001 May [cited 2013 Feb 21];16(3):407–23. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11391734>
116. Guridi J, Rodríguez Oroz MC. Cirugía en la Enfermedad de Huntington. In: López del Val LJ, Burguera JA, editors. *Enfermedad de Huntington. Claves y respuesta para un desafío singular*. Editorial . 2010. p. 105–13.
117. Rivas Infante E. Neuropatología. In: López del Val LJ, Burguera Hernández JA, editors. *Enfermedad de Huntington. Claves y respuesta para un desafío singular*. Editorial . 2010. p. 65–73.
118. Vonsattel JP, DiFiglia M. Huntington disease. *Journal of neuropathology and experimental neurology* [Internet]. 1998 May [cited 2013 Feb 22];57(5):369–84. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9596408>
119. Martínez A, Rábano A. Anatomía patológica de la enfermedad de Huntington. *Revista española de patología*. 2002;36:517–27.
120. Ferrante RJ, Kowall NW, Richardson EP. Proliferative and degenerative changes in striatal spiny neurons in Huntington's disease: a combined study using the section-Golgi method and calbindin D28k immunocytochemistry. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* [Internet]. 1991 Dec [cited 2013 Feb 22];11(12):3877–87. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1836019>
121. Hedreen JC, Folstein SE. Early loss of neostriatal striosome neurons in Huntington's disease. *Journal of neuropathology and experimental neurology* [Internet]. 1995 Jan [cited 2013 Feb 22];54(1):105–20. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7815073>
122. Albin RL. Selective neurodegeneration in Huntington's disease. *Annals of neurology* [Internet]. 1995 Dec [cited 2013 Feb 22];38(6):835–6. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8526454>

123. Vonsattel JP, Myers RH, Stevens TJ, Ferrante RJ, Bird ED, Richardson EP. Neuropathological classification of Huntington's disease. *Journal of neuropathology and experimental neurology* [Internet]. 1985 Nov [cited 2013 Mar 26];44(6):559–77. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2932539>
124. Myers RH, Vonsattel JP, Paskevich PA, Kiely DK, Stevens TJ, Cupples LA, et al. Decreased neuronal and increased oligodendroglial densities in Huntington's disease caudate nucleus. *Journal of neuropathology and experimental neurology* [Internet]. 1991 Nov [cited 2013 Feb 22];50(6):729–42. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1836225>
125. Rosenblatt A, Abbott MH, Gourley LM, Troncoso JC, Margolis RL, Brandt J, et al. Predictors of neuropathological severity in 100 patients with Huntington's disease. *Annals of neurology* [Internet]. 2003 Oct [cited 2013 Jul 29];54(4):488–93. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14520661>
126. Hadzi TC, Hendricks AE, Latourelle JC, Lunetta KL, Cupples LA, Gillis T, et al. Assessment of cortical and striatal involvement in 523 Huntington disease brains. *Neurology* [Internet]. 2012 Oct 16 [cited 2013 May 28];79(16):1708–15. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3468776&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
127. Vonsattel JPG. Huntington disease models and human neuropathology: similarities and differences. *Acta neuropathologica* [Internet]. 2008 Jan [cited 2013 Feb 22];115(1):55–69. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2847401&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
128. Sotrel A, Paskevich PA, Kiely DK, Bird ED, Williams RS, Myers RH. Morphometric analysis of the prefrontal cortex in Huntington's disease. *Neurology* [Internet]. 1991 Jul [cited 2013 Feb 22];41(7):1117–23. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1829794>
129. Herndon ES, Hladik CL, Shang P, Burns DK, Raisanen J, White CL. Neuroanatomic profile of polyglutamine immunoreactivity in Huntington disease brains. *Journal of neuropathology and experimental neurology* [Internet]. 2009 Mar [cited 2013 Feb 22];68(3):250–61. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2756075&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
130. DiFiglia M, Sapp E, Chase K, Schwarz C, Meloni A, Young C, et al. Huntingtin is a cytoplasmic protein associated with vesicles in human and rat brain neurons. *Neuron* [Internet]. 1995 May [cited 2013 Feb 22];14(5):1075–81. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7748555>
131. Sharp AH, Loev SJ, Schilling G, Li SH, Li XJ, Bao J, et al. Widespread expression of Huntington's disease gene (IT15) protein product. *Neuron* [Internet]. 1995 May [cited 2013 Feb 22];14(5):1065–74. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7748554>
132. Rubinsztein DC. Lessons from animal models of Huntington's disease. *Trends in genetics : TIG* [Internet]. 2002 Apr [cited 2013 Feb 22];18(4):202–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11932021>
133. Roze E, Cahill E, Martin E, Bonnet C, Vanhoutte P, Betuing S, et al. Huntington's Disease and Striatal Signaling. *Frontiers in neuroanatomy* [Internet]. 2011 Jan [cited 2013 Feb 21];5:55. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3188786&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
134. Huang CC, Faber PW, Persichetti F, Mittal V, Vonsattel JP, MacDonald ME, et al. Amyloid formation by mutant huntingtin: threshold, progressivity and recruitment of normal polyglutamine proteins. *Somatic cell and molecular genetics* [Internet]. 1998 Jul [cited 2013 Feb 22];24(4):217–33. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10410676>
135. Perutz MF, Pope BJ, Owen D, Wanker EE, Scherzinger E. Aggregation of proteins with expanded glutamine and alanine repeats of the glutamine-rich and asparagine-rich domains of Sup35 and of the amyloid beta-peptide of amyloid plaques. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* [Internet]. 2002 Apr 16 [cited 2013 Feb 22];99(8):5596–600. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=122815&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>

136. Ross CA, Tabrizi SJ. Huntington's disease: from molecular pathogenesis to clinical treatment. *Lancet neurology* [Internet]. 2011 Jan [cited 2013 Feb 11];10(1):83–98. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21163446>
137. Landles C, Bates GP. Huntingtin and the molecular pathogenesis of Huntington's disease. Fourth in molecular medicine review series. *EMBO reports* [Internet]. 2004 Oct [cited 2013 Feb 3];5(10):958–63. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=1299150&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
138. DiFiglia M, Sapp E, Chase KO, Davies SW, Bates GP, Vonsattel JP, et al. Aggregation of huntingtin in neuronal intranuclear inclusions and dystrophic neurites in brain. *Science (New York, N.Y.)* [Internet]. 1997 Sep 26 [cited 2013 Feb 25];277(5334):1990–3. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9302293>
139. Martindale D, Hackam A, Wieczorek A, Ellerby L, Wellington C, McCutcheon K, et al. Length of huntingtin and its polyglutamine tract influences localization and frequency of intracellular aggregates. *Nature genetics* [Internet]. 1998 Feb [cited 2013 Feb 25];18(2):150–4. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9462744>
140. Steffan JS, Kazantsev A, Spasic-Boskovic O, Greenwald M, Zhu YZ, Gohler H, et al. The Huntington's disease protein interacts with p53 and CREB-binding protein and represses transcription. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* [Internet]. 2000 Jun 6 [cited 2013 Feb 25];97(12):6763–8. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=18731&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
141. Trushina E, Dyer RB, Badger JD, Ure D, Eide L, Tran DD, et al. Mutant huntingtin impairs axonal trafficking in mammalian neurons in vivo and in vitro. *Molecular and cellular biology* [Internet]. 2004 Sep [cited 2013 Feb 25];24(18):8195–209. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=515048&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
142. Lee W-CM, Yoshihara M, Littleton JT. Cytoplasmic aggregates trap polyglutamine-containing proteins and block axonal transport in a *Drosophila* model of Huntington's disease. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* [Internet]. 2004 Mar 2 [cited 2013 Feb 16];101(9):3224–9. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=365771&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
143. Bennett EJ, Shaler TA, Woodman B, Ryu K-Y, Zaitseva TS, Becker CH, et al. Global changes to the ubiquitin system in Huntington's disease. *Nature* [Internet]. 2007 Aug 9 [cited 2013 Feb 5];448(7154):704–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17687326>
144. Hunter JM, Lesort M, Johnson GVW. Ubiquitin-proteasome system alterations in a striatal cell model of Huntington's disease. *Journal of neuroscience research* [Internet]. 2007 Jun [cited 2013 Feb 25];85(8):1774–88. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17455294>
145. Tydlacka S, Wang C-E, Wang X, Li S, Li X-J. Differential activities of the ubiquitin-proteasome system in neurons versus glia may account for the preferential accumulation of misfolded proteins in neurons. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* [Internet]. 2008 Dec 3 [cited 2013 Feb 25];28(49):13285–95. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2662777&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
146. Cattaneo E, Zuccato C, Tartari M. Normal huntingtin function: an alternative approach to Huntington's disease. *Nature reviews. Neuroscience* [Internet]. 2005 Dec [cited 2013 Feb 13];6(12):919–30. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16288298>
147. Luthi-Carter R, Strand A, Peters NL, Solano SM, Hollingsworth ZR, Menon AS, et al. Decreased expression of striatal signaling genes in a mouse model of Huntington's disease. *Human molecular genetics* [Internet]. 2000 May 22 [cited 2013 Feb 26];9(9):1259–71. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10814708>

148. Desplats PA, Kass KE, Gilmartin T, Stanwood GD, Woodward EL, Head SR, et al. Selective deficits in the expression of striatal-enriched mRNAs in Huntington's disease. *Journal of neurochemistry* [Internet]. 2006 Feb [cited 2013 Feb 13];96(3):743–57. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16405510>
149. Zuccato C, Cattaneo E. Brain-derived neurotrophic factor in neurodegenerative diseases. *Nature reviews. Neurology* [Internet]. 2009 Jun [cited 2013 Jan 30];5(6):311–22. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19498435>
150. Canals JM, Pineda JR, Torres-Peraza JF, Bosch M, Martín-Ibañez R, Muñoz MT, et al. Brain-derived neurotrophic factor regulates the onset and severity of motor dysfunction associated with enkephalinergic neuronal degeneration in Huntington's disease. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* [Internet]. 2004 Sep 1 [cited 2013 Feb 13];24(35):7727–39. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15342740>
151. Gharami K, Xie Y, An JJ, Tonegawa S, Xu B. Brain-derived neurotrophic factor over-expression in the forebrain ameliorates Huntington's disease phenotypes in mice. *Journal of neurochemistry* [Internet]. 2008 Apr [cited 2013 Feb 13];105(2):369–79. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2377033&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
152. Cowan CM, Raymond LA. Selective neuronal degeneration in Huntington's disease. *Current topics in developmental biology* [Internet]. 2006 Jan [cited 2013 Feb 26];75:25–71. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16984809>
153. Liévens JC, Woodman B, Mahal A, Spasic-Bosovic O, Samuel D, Kerkerian-Le Goff L, et al. Impaired glutamate uptake in the R6 Huntington's disease transgenic mice. *Neurobiology of disease* [Internet]. 2001 Oct [cited 2013 Feb 20];8(5):807–21. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11592850>
154. Rothman SM, Olney JW. Excitotoxicity and the NMDA receptor--still lethal after eight years. *Trends in neurosciences* [Internet]. 1995 Feb [cited 2013 Feb 26];18(2):57–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7537407>
155. Beal MF. Mitochondria take center stage in aging and neurodegeneration. *Annals of neurology* [Internet]. 2005 Oct [cited 2013 Feb 19];58(4):495–505. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16178023>
156. Tabrizi SJ, Workman J, Hart PE, Mangiarini L, Mahal A, Bates G, et al. Mitochondrial dysfunction and free radical damage in the Huntington R6/2 transgenic mouse. *Annals of neurology* [Internet]. 2000 Jan [cited 2013 Feb 12];47(1):80–6. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10632104>
157. Wang H, Lim PJ, Karbowski M, Monteiro MJ. Effects of overexpression of huntingtin proteins on mitochondrial integrity. *Human molecular genetics* [Internet]. 2009 Feb 15 [cited 2013 Feb 26];18(4):737–52. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2722218&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
158. Grafton ST, Mazziotta JC, Pahl JJ, St George-Hyslop P, Haines JL, Gusella J, et al. Serial changes of cerebral glucose metabolism and caudate size in persons at risk for Huntington's disease. *Archives of neurology* [Internet]. 1992 Nov [cited 2013 Feb 26];49(11):1161–7. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1444883>
159. Jenkins BG, Rosas HD, Chen YC, Makabe T, Myers R, MacDonald M, et al. 1H NMR spectroscopy studies of Huntington's disease: correlations with CAG repeat numbers. *Neurology* [Internet]. 1998 May [cited 2013 Feb 26];50(5):1357–65. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9595987>
160. Napolitano M, Centonze D, Gubellini P, Rossi S, Spiezia S, Bernardi G, et al. Inhibition of mitochondrial complex II alters striatal expression of genes involved in glutamatergic and dopaminergic signaling: possible implications for Huntington's disease. *Neurobiology of disease* [Internet]. 2004 Mar [cited 2013 Feb 26];15(2):407–14. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15006711>

161. Rosenstock TR, Duarte AI, Rego AC. Mitochondrial-associated metabolic changes and neurodegeneration in Huntington's disease - from clinical features to the bench. *Current drug targets* [Internet]. 2010 Oct [cited 2013 Feb 26];11(10):1218–36. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20840066>
162. Caviston JP, Holzbaur ELF. Huntingtin as an essential integrator of intracellular vesicular trafficking. *Trends in cell biology* [Internet]. 2009 Apr [cited 2013 Feb 13];19(4):147–55. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2930405&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
163. Gunawardena S, Her L-S, Bruschi RG, Laymon RA, Niesman IR, Gordesky-Gold B, et al. Disruption of axonal transport by loss of huntingtin or expression of pathogenic polyQ proteins in *Drosophila*. *Neuron* [Internet]. 2003 Sep 25 [cited 2013 Feb 26];40(1):25–40. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14527431>
164. Szebenyi G, Morfini GA, Babcock A, Gould M, Selkoe K, Stenoien DL, et al. Neuropathogenic forms of huntingtin and androgen receptor inhibit fast axonal transport. *Neuron* [Internet]. 2003 Sep 25 [cited 2013 Feb 26];40(1):41–52. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14527432>
165. Gauthier LR, Charrin BC, Borrell-Pagès M, Dompierre JP, Rangone H, Cordelières FP, et al. Huntingtin controls neurotrophic support and survival of neurons by enhancing BDNF vesicular transport along microtubules. *Cell* [Internet]. 2004 Jul 9 [cited 2013 Feb 26];118(1):127–38. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15242649>
166. Li X-J, Li H, Li S. Clearance of mutant huntingtin. *Autophagy* [Internet]. 2010 Jul 1 [cited 2013 Feb 26];6(5):2445–55. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2876889&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
167. Hoenicka J, Vidal L, Morales B, Ampuero I, Jiménez-Jiménez FJ, Berciano J, et al. Molecular findings in familial Parkinson disease in Spain. *Archives of neurology* [Internet]. 2002 Jun [cited 2013 Feb 26];59(6):966–70. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12056932>
168. Levine B, Kroemer G. Autophagy in the pathogenesis of disease. *Cell* [Internet]. 2008 Jan 11 [cited 2013 Jan 29];132(1):27–42. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2696814&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
169. Mestre T, Ferreira J, Coelho MM, Rosa M, Sampaio C. Therapeutic interventions for disease progression in Huntington's disease. *Cochrane database of systematic reviews (Online)* [Internet]. 2009 Jan [cited 2013 Mar 29];(3):CD006455. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19588392>
170. Bonelli RM, Mahnert FA, Niederwieser G. Olanzapine for Huntington's disease: an open label study. *Clinical neuropharmacology* [Internet]. [cited 2013 Feb 27];25(5):263–5. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12410058>
171. Bogelman G, Hirschmann S, Modai I. Olanzapine and Huntington's disease. *Journal of clinical psychopharmacology* [Internet]. 2001 Apr [cited 2013 Feb 27];21(2):245–6. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11270928>
172. Dallochio C, Buffa C, Tinelli C, Mazzarello P. Effectiveness of risperidone in Huntington chorea patients. *Journal of clinical psychopharmacology* [Internet]. 1999 Feb [cited 2013 Feb 27];19(1):101–3. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9934953>
173. Duff K, Beglinger LJ, O'Rourke ME, Nopoulos P, Paulson HL, Paulsen JS. Risperidone and the treatment of psychiatric, motor, and cognitive symptoms in Huntington's disease. *Annals of clinical psychiatry : official journal of the American Academy of Clinical Psychiatrists* [Internet]. [cited 2013 Feb 27];20(1):1–3. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18297579>



174. Bonuccelli U, Ceravolo R, Maremmani C, Nuti A, Rossi G, Muratorio A. Clozapine in Huntington's chorea. *Neurology* [Internet]. 1994 May [cited 2013 Feb 27];44(5):821–3. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8190281>
175. Van Vugt JP, Siesling S, Vergeer M, van der Velde EA, Roos RA. Clozapine versus placebo in Huntington's disease: a double blind randomised comparative study. *Journal of neurology, neurosurgery, and psychiatry* [Internet]. 1997 Jul [cited 2013 Feb 27];63(1):35–9. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2169648&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
176. Bonelli RM, Wenning GK. Pharmacological management of Huntington's disease: an evidence-based review. *Current pharmaceutical design* [Internet]. 2006 Jan [cited 2013 Feb 27];12(21):2701–20. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16842168>
177. López Del Val LJ, López-García E, Martínez-Martínez L, Santos-Lasaosa S. [Therapeutic use of tetrabenazine]. *Revista de neurología* [Internet]. [cited 2013 Feb 27];48(10):523–33. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19434587>
178. Jankovic J, Orman J. Tetrabenazine therapy of dystonia, chorea, tics, and other dyskinesias. *Neurology* [Internet]. 1988 Mar [cited 2013 Feb 27];38(3):391–4. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3279337>
179. Jankovic J. Treatment of hyperkinetic movement disorders with tetrabenazine: a double-blind crossover study. *Annals of neurology* [Internet]. 1982 Jan [cited 2013 Feb 27];11(1):41–7. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6460467>
180. Tetrabenazine as antichorea therapy in Huntington disease: a randomized controlled trial. *Neurology* [Internet]. 2006 Feb 14 [cited 2013 Feb 27];66(3):366–72. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16476934>
181. Lucetti C, Del Dotto P, Gambaccini G, Dell' Agnello G, Bernardini S, Rossi G, et al. IV amantadine improves chorea in Huntington's disease: an acute randomized, controlled study. *Neurology* [Internet]. 2003 Jun 24 [cited 2013 Feb 27];60(12):1995–7. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12821751>
182. Gray MW, Herzberg L, Lerman JA, Turnbull MJ, Victoratos G. Letter: Amantadine in chorea. *Lancet* [Internet]. 1975 Jul 19 [cited 2013 Feb 27];2(7925):132–3. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/49730>
183. Verhagen Metman L, Morris MJ, Farmer C, Gillespie M, Mosby K, Wu J, et al. Huntington's disease: a randomized, controlled trial using the NMDA-antagonist amantadine. *Neurology* [Internet]. 2002 Sep 10 [cited 2013 Feb 27];59(5):694–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12221159>
184. Rosas HD, Koroshetz WJ, Jenkins BG, Chen YI, Hayden DL, Beal MF, et al. Riluzole therapy in Huntington's disease (HD). *Movement disorders : official journal of the Movement Disorder Society* [Internet]. 1999 Mar [cited 2013 Feb 27];14(2):326–30. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10091628>
185. Seppi K, Mueller J, Bodner T, Brandauer E, Benke T, Weirich-Schwaiger H, et al. Riluzole in Huntington's disease (HD): an open label study with one year follow up. *Journal of neurology* [Internet]. 2001 Oct [cited 2013 Feb 27];248(10):866–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11697523>
186. Zesiewicz TA, Sullivan KL, Hauser RA, Sanchez-Ramos J. Open-label pilot study of levetiracetam (Keppra) for the treatment of chorea in Huntington's disease. *Movement disorders : official journal of the Movement Disorder Society* [Internet]. 2006 Nov [cited 2013 Feb 27];21(11):1998–2001. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16941461>

187. Adam OR, Jankovic J. Symptomatic treatment of Huntington disease. *Neurotherapeutics : the journal of the American Society for Experimental NeuroTherapeutics* [Internet]. 2008 Apr [cited 2013 Feb 27];5(2):181–97. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18394562>
188. Bonelli RM, Niederwieser G, Diez J, Gruber A, Költringer P. Pramipexole ameliorates neurologic and psychiatric symptoms in a Westphal variant of Huntington's disease. *Clinical neuropharmacology* [Internet]. [cited 2013 Feb 27];25(1):58–60. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11852299>
189. De Yebenes JG, Landwehrmeyer B, Squitieri F, Reilmann R, Rosser A, Barker R a, et al. Pridopidine for the treatment of motor function in patients with Huntington's disease (MermaiHD): a phase 3, randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet neurology* [Internet]. 2011 Dec [cited 2011 Dec 3];10(12):1049–57. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22071279>
190. Churchyard AJ, Morris ME, Georgiou N, Chiu E, Cooper R, Iansek R. Gait dysfunction in Huntington's disease: parkinsonism and a disorder of timing. Implications for movement rehabilitation. *Advances in neurology* [Internet]. 2001 Jan [cited 2013 Feb 27];87:375–85. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11347241>
191. Fahn S, Jankovic J. Principles and practices of Movement Disorders. In: Elsevier CL, editor. 2007. p. 369–92.
192. Grove VE, Quintanilla J, DeVaney GT. Improvement of Huntington's disease with olanzapine and valproate. *The New England journal of medicine* [Internet]. 2000 Sep 28 [cited 2013 Mar 4];343(13):973–4. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11012330>
193. López Del Val LJ, Martínez Martínez L, López García E. Tratamiento médico. In: Panamericana E médica, editor. *Enfermedad de Huntington. Claves y respuesta para un desafío singular*. 2010. p. 97–104.
194. Rot U, Kopal J, Sever A, Pirtosek Z, Mesec A. Rivastigmine in the treatment of Huntington's disease. *European journal of neurology : the official journal of the European Federation of Neurological Societies* [Internet]. 2002 Nov [cited 2013 Mar 4];9(6):689–90. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12453090>
195. De Tommaso M, Specchio N, Sciruicchio V, Difruscolo O, Specchio LM. Effects of rivastigmine on motor and cognitive impairment in Huntington's disease. *Movement disorders : official journal of the Movement Disorder Society* [Internet]. 2004 Dec [cited 2013 Mar 4];19(12):1516–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15390067>
196. De Tommaso M, Difruscolo O, Sciruicchio V, Specchio N, Livrea P. Two years' follow-up of rivastigmine treatment in Huntington disease. *Clinical neuropharmacology* [Internet]. [cited 2013 Mar 4];30(1):43–6. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17272969>
197. Fernandez HH, Friedman JH, Grace J, Beason-Hazen S. Donepezil for Huntington's disease. *Movement disorders : official journal of the Movement Disorder Society* [Internet]. 2000 Jan [cited 2013 Mar 4];15(1):173–6. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10634264>
198. Cubo E, Shannon KM, Tracy D, Jaglin JA, Bernard BA, Wu J, et al. Effect of donepezil on motor and cognitive function in Huntington disease. *Neurology* [Internet]. 2006 Oct 10 [cited 2013 Mar 4];67(7):1268–71. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17030764>
199. Guridi J, Obeso JA, Rodriguez-Oroz MC, Lozano AA, Manrique M. L-dopa-induced dyskinesia and stereotactic surgery for Parkinson's disease. *Neurosurgery* [Internet]. 2008 Feb [cited 2013 Mar 4];62(2):311–23; discussion 323–5. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18382309>
200. Cubo E, Shannon KM, Penn RD, Kroin JS. Internal globus pallidotomy in dystonia secondary to Huntington's disease. *Movement disorders : official journal of the Movement Disorder Society* [Internet]. 2000 Nov [cited 2013 Mar 4];15(6):1248–51. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11104214>

201. Moro E, Lang AE, Strafella AP, Poon Y-YW, Arango PM, Dagher A, et al. Bilateral globus pallidus stimulation for Huntington's disease. *Annals of neurology* [Internet]. 2004 Aug [cited 2013 Mar 4];56(2):290–4. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15293283>
202. Hebb MO, Garcia R, Gaudet P, Mendez IM. Bilateral stimulation of the globus pallidus internus to treat choreoathetosis in Huntington's disease: technical case report. *Neurosurgery* [Internet]. 2006 Feb [cited 2013 Mar 4];58(2):E383; discussion E383. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16462466>
203. Biolsi B, Cif L, Fertit H El, Robles SG, Coubes P. Long-term follow-up of Huntington disease treated by bilateral deep brain stimulation of the internal globus pallidus. *Journal of neurosurgery* [Internet]. 2008 Jul [cited 2013 Mar 4];109(1):130–2. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18590443>
204. Fasano A, Mazzone P, Piano C, Quaranta D, Soleti F, Bentivoglio AR. GPI-DBS in Huntington's disease: results on motor function and cognition in a 72-year-old case. *Movement disorders : official journal of the Movement Disorder Society* [Internet]. 2008 Jul 15 [cited 2013 Mar 4];23(9):1289–92. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18512756>
205. Edwards TC, Zrinzo L, Limousin P, Foltynie T. Deep brain stimulation in the treatment of chorea. *Movement disorders : official journal of the Movement Disorder Society* [Internet]. 2012 Mar [cited 2013 Mar 4];27(3):357–63. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21997283>
206. Garcia-Ruiz PJ, Ayerbe J, del Val J, Herranz A. Deep brain stimulation in disabling involuntary vocalization associated with Huntington's disease. *Parkinsonism & related disorders* [Internet]. 2012 Jul [cited 2013 Mar 4];18(6):803–4. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22459562>
207. Ruiz C, Casarejos MJ, Rubio I, Gines S, Puigdellivol M, Alberch J, et al. The dopaminergic stabilizer, (-)-OSU6162, rescues striatal neurons with normal and expanded polyglutamine chains in huntingtin protein from exposure to free radicals and mitochondrial toxins. *Brain research* [Internet]. 2012 Jun 12 [cited 2013 Mar 6];1459:100–12. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22560595>
208. André VM, Cepeda C, Levine MS. Dopamine and glutamate in Huntington's disease: A balancing act. *CNS neuroscience & therapeutics* [Internet]. 2010 Jun [cited 2013 Mar 6];16(3):163–78. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3118459&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
209. Rung JP, Rung E, Helgeson L, Johansson AM, Svensson K, Carlsson A, et al. Effects of (-)-OSU6162 and ACR16 on motor activity in rats, indicating a unique mechanism of dopaminergic stabilization. *Journal of neural transmission (Vienna, Austria : 1996)* [Internet]. 2008 Jun [cited 2013 Mar 6];115(6):899–908. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18351286>
210. Tadori Y, Miwa T, Tottori K, Burris KD, Stark A, Mori T, et al. Aripiprazole's low intrinsic activities at human dopamine D2L and D2S receptors render it a unique antipsychotic. *European journal of pharmacology* [Internet]. 2005 May 16 [cited 2013 Mar 6];515(1-3):10–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15894311>
211. Seeman P, Tokita K, Matsumoto M, Matsuo A, Sasamata M, Miyata K. The dopaminergic stabilizer ASP2314/ACR16 selectively interacts with D2(High) receptors. *Synapse (New York, N.Y.)* [Internet]. 2009 Oct [cited 2013 Mar 6];63(10):930–4. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19588469>
212. Pettersson F, Pontén H, Waters N, Waters S, Sonesson C. Synthesis and evaluation of a set of 4-phenylpiperidines and 4-phenylpiperazines as D2 receptor ligands and the discovery of the dopaminergic stabilizer 4-[3-(methylsulfonyl)phenyl]-1-propylpiperidine (huntexil, pridopidine, ACR16). *Journal of medicinal chemistry* [Internet]. 2010 Mar 25 [cited 2013 Mar 6];53(6):2510–20. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20155917>
213. Lundin A, Dietrichs E, Haghighi S, Göller M-L, Heiberg A, Loutfi G, et al. Efficacy and safety of the dopaminergic stabilizer Pridopidine (ACR16) in patients with Huntington's disease. *Clinical*

- neuropharmacology [Internet]. [cited 2013 Mar 6];33(5):260–4. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20616707>
214. Squitieri F, Landwehrmeyer B, Reilmann R, Rosser A, de Yebenes JG, Prang A, et al. One-year safety and tolerability profile of pridopidine in patients with Huntington disease. *Neurology* [Internet]. 2013 Mar 19 [cited 2013 Mar 29];80(12):1086–94. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23446684>
  215. Semaka A, Collins JA, Hayden MR. Unstable familial transmissions of Huntington disease alleles with 27-35 CAG repeats (intermediate alleles). *American journal of medical genetics. Part B, Neuropsychiatric genetics : the official publication of the International Society of Psychiatric Genetics* [Internet]. 2010 Jan 5 [cited 2013 Mar 4];153B(1):314–20. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19455596>
  216. Harper SQ, Staber PD, He X, Eliason SL, Martins IH, Mao Q, et al. RNA interference improves motor and neuropathological abnormalities in a Huntington's disease mouse model. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* [Internet]. 2005 Apr 19 [cited 2013 Mar 4];102(16):5820–5. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=556303&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
  217. Wang Y-L, Liu W, Wada E, Murata M, Wada K, Kanazawa I. Clinico-pathological rescue of a model mouse of Huntington's disease by siRNA. *Neuroscience research* [Internet]. 2005 Nov [cited 2013 Mar 4];53(3):241–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16095740>
  218. Boudreau RL, McBride JL, Martins I, Shen S, Xing Y, Carter BJ, et al. Nonallele-specific silencing of mutant and wild-type huntingtin demonstrates therapeutic efficacy in Huntington's disease mice. *Molecular therapy : the journal of the American Society of Gene Therapy* [Internet]. 2009 Jun [cited 2013 Mar 4];17(6):1053–63. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2835182&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
  219. Pfister EL, Kennington L, Straubhaar J, Wagh S, Liu W, DiFiglia M, et al. Five siRNAs targeting three SNPs may provide therapy for three-quarters of Huntington's disease patients. *Current biology : CB* [Internet]. 2009 May 12 [cited 2013 Mar 4];19(9):774–8. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2746439&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
  220. Lepore AC, Neuhuber B, Connors TM, Han SSW, Liu Y, Daniels MP, et al. Long-term fate of neural precursor cells following transplantation into developing and adult CNS. *Neuroscience* [Internet]. 2006 Sep 29 [cited 2013 Mar 4];142(1):287–304. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17120358>
  221. Bachoud-Lévi AC, Rémy P, Nguyen JP, Brugières P, Lefaucheur JP, Bourdet C, et al. Motor and cognitive improvements in patients with Huntington's disease after neural transplantation. *Lancet* [Internet]. 2000 Dec 9 [cited 2013 Mar 4];356(9246):1975–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11130527>
  222. Bachoud-Lévi A-C, Gaura V, Brugières P, Lefaucheur J-P, Boissé M-F, Maison P, et al. Effect of fetal neural transplants in patients with Huntington's disease 6 years after surgery: a long-term follow-up study. *Lancet neurology* [Internet]. 2006 Apr [cited 2013 Mar 4];5(4):303–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16545746>
  223. Hauser RA, Furtado S, Cimino CR, Delgado H, Eichler S, Schwartz S, et al. Bilateral human fetal striatal transplantation in Huntington's disease. *Neurology* [Internet]. 2002 Mar 12 [cited 2013 Mar 4];58(5):687–95. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11889229>
  224. Keene CD, Sonnen JA, Swanson PD, Kopyov O, Leverenz JB, Bird TD, et al. Neural transplantation in Huntington disease: long-term grafts in two patients. *Neurology* [Internet]. 2007 Jun 12 [cited 2013 Mar 4];68(24):2093–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17562830>
  225. Hersch SM, Rosas HD. Neuroprotection for Huntington's disease: ready, set, slow. *Neurotherapeutics : the journal of the American Society for Experimental NeuroTherapeutics* [Internet]. 2008 Apr [cited 2013 Mar

- 6];5(2):226–36. Available from:  
<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2359156&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
226. Yamamoto A, Lucas JJ, Hen R. Reversal of neuropathology and motor dysfunction in a conditional model of Huntington's disease. *Cell* [Internet]. 2000 Mar 31 [cited 2013 Mar 6];101(1):57–66. Available from:  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10778856>
227. Leegwater-Kim J, Cha J-HJ. The paradigm of Huntington's disease: therapeutic opportunities in neurodegeneration. *NeuroRx : the journal of the American Society for Experimental NeuroTherapeutics* [Internet]. 2004 Jan [cited 2013 Mar 6];1(1):128–38. Available from:  
<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=534918&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
228. Bodner RA, Outeiro TF, Altmann S, Maxwell MM, Cho SH, Hyman BT, et al. Pharmacological promotion of inclusion formation: a therapeutic approach for Huntington's and Parkinson's diseases. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* [Internet]. 2006 Mar 14 [cited 2013 Mar 6];103(11):4246–51. Available from:  
<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=1449678&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
229. Beal MF, Ferrante RJ. Experimental therapeutics in transgenic mouse models of Huntington's disease. *Nature reviews. Neuroscience* [Internet]. 2004 May [cited 2013 Mar 6];5(5):373–84. Available from:  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15100720>
230. Ryu H, Ferrante RJ. Emerging chemotherapeutic strategies for Huntington's disease. *Expert opinion on emerging drugs* [Internet]. 2005 May [cited 2013 Mar 6];10(2):345–63. Available from:  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15934871>
231. Gowran A, Noonan J, Campbell VA. The multiplicity of action of cannabinoids: implications for treating neurodegeneration. *CNS neuroscience & therapeutics* [Internet]. 2011 Dec [cited 2013 Mar 6];17(6):637–44. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20875047>
232. Sagredo O, Pazos MR, Valdeolivas S, Fernandez-Ruiz J. Cannabinoids: novel medicines for the treatment of Huntington's disease. *Recent patents on CNS drug discovery* [Internet]. 2012 Apr 1 [cited 2013 Mar 6];7(1):41–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22280340>
233. Schiefer J, Landwehrmeyer GB, Lüesse H-G, Sprünken A, Puls C, Milkereit A, et al. Riluzole prolongs survival time and alters nuclear inclusion formation in a transgenic mouse model of Huntington's disease. *Movement disorders : official journal of the Movement Disorder Society* [Internet]. 2002 Jul [cited 2013 Mar 6];17(4):748–57. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12210870>
234. Squitieri F, Orobello S, Cannella M, Martino T, Romanelli P, Giovacchini G, et al. Riluzole protects Huntington disease patients from brain glucose hypometabolism and grey matter volume loss and increases production of neurotrophins. *European journal of nuclear medicine and molecular imaging* [Internet]. 2009 Jul [cited 2013 Mar 6];36(7):1113–20. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19280185>
235. Dosage effects of riluzole in Huntington's disease: a multicenter placebo-controlled study. *Neurology* [Internet]. 2003 Dec 9 [cited 2013 Mar 6];61(11):1551–6. Available from:  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14663041>
236. Ferrante RJ, Andreassen OA, Dedeoglu A, Ferrante KL, Jenkins BG, Hersch SM, et al. Therapeutic effects of coenzyme Q10 and remacemide in transgenic mouse models of Huntington's disease. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* [Internet]. 2002 Mar 1 [cited 2013 Mar 6];22(5):1592–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11880489>
237. A randomized, placebo-controlled trial of coenzyme Q10 and remacemide in Huntington's disease. *Neurology* [Internet]. 2001 Aug 14 [cited 2013 Mar 6];57(3):397–404. Available from:  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11502903>

238. Shoulson I, Odoroff C, Oakes D, Behr J, Goldblatt D, Caine E, et al. A controlled clinical trial of baclofen as protective therapy in early Huntington's disease. *Annals of neurology* [Internet]. 1989 Mar [cited 2013 Mar 7];25(3):252–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2524992>
239. Kornhuber J, Weller M, Schoppmeyer K, Riederer P. Amantadine and memantine are NMDA receptor antagonists with neuroprotective properties. *Journal of neural transmission. Supplementum* [Internet]. 1994 Jan [cited 2013 Mar 7];43:91–104. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7884411>
240. Beister A, Kraus P, Kuhn W, Dose M, Weindl A, Gerlach M. The N-methyl-D-aspartate antagonist memantine retards progression of Huntington's disease. *Journal of neural transmission. Supplementum* [Internet]. 2004 Jan [cited 2013 Mar 7];(68):117–22. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15354397>
241. Kremer B, Clark CM, Almqvist EW, Raymond LA, Graf P, Jacova C, et al. Influence of lamotrigine on progression of early Huntington disease: a randomized clinical trial. *Neurology* [Internet]. 1999 Sep 22 [cited 2013 Mar 7];53(5):1000–11. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10496259>
242. Ferrante RJ, Andreassen OA, Jenkins BG, Dedeoglu A, Kuemmerle S, Kubilus JK, et al. Neuroprotective effects of creatine in a transgenic mouse model of Huntington's disease. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* [Internet]. 2000 Jun 15 [cited 2013 Mar 6];20(12):4389–97. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10844007>
243. Ryu H, Rosas HD, Hersch SM, Ferrante RJ. The therapeutic role of creatine in Huntington's disease. *Pharmacology & therapeutics* [Internet]. 2005 Nov [cited 2013 Mar 1];108(2):193–207. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16055197>
244. Hersch SM, Gevorkian S, Marder K, Moskowitz C, Feigin A, Cox M, et al. Creatine in Huntington disease is safe, tolerable, bioavailable in brain and reduces serum 8OH2'dG. *Neurology* [Internet]. 2006 Jan 24 [cited 2013 Mar 1];66(2):250–2. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16434666>
245. Verbessem P, Lemiere J, Eijnde BO, Swinnen S, Vanhees L, Van Leemputte M, et al. Creatine supplementation in Huntington's disease: a placebo-controlled pilot trial. *Neurology* [Internet]. 2003 Oct 14 [cited 2013 Mar 6];61(7):925–30. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14557561>
246. Shults CW, Schapira AH. A cue to queue for CoQ? *Neurology* [Internet]. 2001 Aug 14 [cited 2013 Mar 6];57(3):375–6. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11502896>
247. Feigin A, Kiebertz K, Como P, Hickey C, Claude K, Abwender D, et al. Assessment of coenzyme Q10 tolerability in Huntington's disease. *Movement disorders : official journal of the Movement Disorder Society* [Internet]. 1996 May [cited 2013 Mar 6];11(3):321–3. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8723151>
248. Gillis JC, Benefield P, McTavish D. Idebenone. A review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties, and therapeutic use in age-related cognitive disorders. *Drugs & aging* [Internet]. 1994 Aug [cited 2013 Mar 7];5(2):133–52. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7981485>
249. Ranen NG, Peyser CE, Coyle JT, Bylsma FW, Sherr M, Day L, et al. A controlled trial of idebenone in Huntington's disease. *Movement disorders : official journal of the Movement Disorder Society* [Internet]. 1996 Sep [cited 2013 Mar 7];11(5):549–54. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8866496>
250. Peyser CE, Folstein M, Chase GA, Starkstein S, Brandt J, Cockrell JR, et al. Trial of d-alpha-tocopherol in Huntington's disease. *The American journal of psychiatry* [Internet]. 1995 Dec [cited 2013 Mar 7];152(12):1771–5. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8526244>

251. Safety and tolerability of the free-radical scavenger OPC-14117 in Huntington's disease. The Huntington Study Group. *Neurology* [Internet]. 1998 May [cited 2013 Mar 7];50(5):1366–73. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9595988>
252. Chen M, Ona VO, Li M, Ferrante RJ, Fink KB, Zhu S, et al. Minocycline inhibits caspase-1 and caspase-3 expression and delays mortality in a transgenic mouse model of Huntington disease. *Nature medicine* [Internet]. 2000 Jul [cited 2013 Mar 7];6(7):797–801. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10888929>
253. Bonelli RM, Heuberger C, Reisecker F. Minocycline for Huntington's disease: an open label study. *Neurology* [Internet]. 2003 Mar 11 [cited 2013 Mar 7];60(5):883–4. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12629257>
254. Thomas M, Le WD, Jankovic J. Minocycline and other tetracycline derivatives: a neuroprotective strategy in Parkinson's disease and Huntington's disease. *Clinical neuropharmacology* [Internet]. [cited 2013 Mar 7];26(1):18–23. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12567160>
255. Thomas M, Ashizawa T, Jankovic J. Minocycline in Huntington's disease: a pilot study. *Movement disorders : official journal of the Movement Disorder Society* [Internet]. 2004 Jun [cited 2013 Mar 7];19(6):692–5. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15197710>
256. Minocycline safety and tolerability in Huntington disease. *Neurology* [Internet]. 2004 Aug 10 [cited 2013 Mar 7];63(3):547–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15304592>
257. Zemke D, Majid A. The potential of minocycline for neuroprotection in human neurologic disease. *Clinical neuropharmacology* [Internet]. [cited 2013 Mar 7];27(6):293–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15613934>
258. Smith DL, Woodman B, Mahal A, Sathasivam K, Ghazi-Noori S, Lowden PAS, et al. Minocycline and doxycycline are not beneficial in a model of Huntington's disease. *Annals of neurology* [Internet]. 2003 Aug [cited 2013 Mar 7];54(2):186–96. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12891671>
259. Duan W, Guo Z, Jiang H, Ladenheim B, Xu X, Cadet JL, et al. Paroxetine retards disease onset and progression in Huntingtin mutant mice. *Annals of neurology* [Internet]. 2004 Apr [cited 2013 Mar 7];55(4):590–4. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15048901>
260. Sarkar S, Krishna G, Imarisio S, Saiki S, O'Kane CJ, Rubinsztein DC. A rational mechanism for combination treatment of Huntington's disease using lithium and rapamycin. *Human molecular genetics* [Internet]. 2008 Jan 15 [cited 2013 Mar 7];17(2):170–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17921520>
261. Tanaka M, Machida Y, Niu S, Ikeda T, Jana NR, Doi H, et al. Trehalose alleviates polyglutamine-mediated pathology in a mouse model of Huntington disease. *Nature medicine* [Internet]. 2004 Feb [cited 2013 Mar 7];10(2):148–54. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14730359>
262. Sarkar S, Davies JE, Huang Z, Tunnacliffe A, Rubinsztein DC. Trehalose, a novel mTOR-independent autophagy enhancer, accelerates the clearance of mutant huntingtin and alpha-synuclein. *The Journal of biological chemistry* [Internet]. 2007 Feb 23 [cited 2013 Mar 7];282(8):5641–52. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17182613>
263. Karpuj M V, Becher MW, Springer JE, Chabas D, Youssef S, Pedotti R, et al. Prolonged survival and decreased abnormal movements in transgenic model of Huntington disease, with administration of the transglutaminase inhibitor cystamine. *Nature medicine* [Internet]. 2002 Feb [cited 2013 Mar 7];8(2):143–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11821898>
264. Dedeoglu A, Kubilus JK, Jeitner TM, Matson SA, Bogdanov M, Kowall NW, et al. Therapeutic effects of cystamine in a murine model of Huntington's disease. *The Journal of neuroscience : the official journal of the*

- Society for Neuroscience [Internet]. 2002 Oct 15 [cited 2013 Mar 7];22(20):8942–50. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12388601>
265. Sittler A, Lurz R, Lueder G, Priller J, Lehrach H, Hayer-Hartl MK, et al. Geldanamycin activates a heat shock response and inhibits huntingtin aggregation in a cell culture model of Huntington's disease. *Human molecular genetics* [Internet]. 2001 Jun 1 [cited 2013 Mar 7];10(12):1307–15. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11406612>
266. Bloch J, Bachoud-Lévi AC, Déglon N, Lefaucheur JP, Winkel L, Palfi S, et al. Neuroprotective gene therapy for Huntington's disease, using polymer-encapsulated cells engineered to secrete human ciliary neurotrophic factor: results of a phase I study. *Human gene therapy* [Internet]. 2004 Oct [cited 2013 Mar 7];15(10):968–75. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15585112>
267. Mena MA, de Bernardo S, Casarejos MJ, Canals S, Rodríguez-Martín E. The role of astroglia on the survival of dopamine neurons. *Molecular neurobiology* [Internet]. 2002 Jun [cited 2013 Mar 7];25(3):245–63. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12109874>
268. Mena MA, Casarejos MJ, Carazo A, Paino CL, García de Yébenes J. Glia conditioned medium protects fetal rat midbrain neurones in culture from L-DOPA toxicity. *Neuroreport* [Internet]. 1996 Jan 31 [cited 2013 Mar 7];7(2):441–5. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8730801>
269. Mena MA, Casarejos MJ, Carazo A, Paño CL, García de Yébenes J. Glia protect fetal midbrain dopamine neurons in culture from L-DOPA toxicity through multiple mechanisms. *Journal of neural transmission* (Vienna, Austria : 1996) [Internet]. 1997 Jan [cited 2013 Mar 7];104(4-5):317–28. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9295168>
270. Solano RM, Casarejos MJ, Menéndez-Cuervo J, Rodríguez-Navarro JA, García de Yébenes J, Mena MA. Glial dysfunction in parkin null mice: effects of aging. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* [Internet]. 2008 Jan 16 [cited 2013 Mar 7];28(3):598–611. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18199761>
271. Randomized controlled trial of ethyl-eicosapentaenoic acid in Huntington disease: the TREND-HD study. *Archives of neurology* [Internet]. 2008 Dec [cited 2013 Mar 7];65(12):1582–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19064745>
272. Maalouf M, Sullivan PG, Davis L, Kim DY, Rho JM. Ketones inhibit mitochondrial production of reactive oxygen species production following glutamate excitotoxicity by increasing NADH oxidation. *Neuroscience* [Internet]. 2007 Mar 2 [cited 2013 Mar 7];145(1):256–64. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=1865572&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
273. Henderson ST. Ketone bodies as a therapeutic for Alzheimer's disease. *Neurotherapeutics : the journal of the American Society for Experimental NeuroTherapeutics* [Internet]. 2008 Jul [cited 2013 Mar 7];5(3):470–80. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18625458>
274. Ruskin DN, Ross JL, Kawamura M, Ruiz TL, Geiger JD, Masino SA. A ketogenic diet delays weight loss and does not impair working memory or motor function in the R6/2 1J mouse model of Huntington's disease. *Physiology & behavior* [Internet]. 2011 Jul 6 [cited 2013 Mar 7];103(5):501–7. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3107892&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
275. Veech RL. The therapeutic implications of ketone bodies: the effects of ketone bodies in pathological conditions: ketosis, ketogenic diet, redox states, insulin resistance, and mitochondrial metabolism. *Prostaglandins, leukotrienes, and essential fatty acids* [Internet]. 2004 Mar [cited 2013 Mar 7];70(3):309–19. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14769489>



276. Tasset I, Pontes AJ, Hinojosa AJ, de la Torre R, Túnez I. Olive oil reduces oxidative damage in a 3-nitropropionic acid-induced Huntington's disease-like rat model. *Nutritional neuroscience* [Internet]. 2011 May [cited 2013 Mar 7];14(3):106–11. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21756531>
277. Mechoulam R, Ben-Shabat S. From gan-zi-gun-nu to anandamide and 2-arachidonoylglycerol: the ongoing story of cannabis. *Natural product reports* [Internet]. 1999 Apr [cited 2013 Mar 8];16(2):131–43. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10331283>
278. Kogan NM, Mechoulam R. Cannabinoids in health and disease. *Dialogues in clinical neuroscience* [Internet]. 2007 Jan [cited 2012 Jan 15];9(4):413–30. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3202504&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
279. Kalant H. Medicinal use of cannabis: history and current status. *Pain research & management : the journal of the Canadian Pain Society = journal de la société canadienne pour le traitement de la douleur* [Internet]. 2001 Jan [cited 2013 Mar 8];6(2):80–91. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11854770>
280. Gaoni Y, Mechoulam R. The isolation and structure of delta-1-tetrahydrocannabinol and other neutral cannabinoids from hashish. *Journal of the American Chemical Society* [Internet]. 1971 Jan 13 [cited 2013 Mar 8];93(1):217–24. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/5538858>
281. Pertwee RG. The diverse CB1 and CB2 receptor pharmacology of three plant cannabinoids: delta9-tetrahydrocannabinol, cannabidiol and delta9-tetrahydrocannabivarin. *British journal of pharmacology* [Internet]. 2008 Jan [cited 2013 Feb 28];153(2):199–215. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2219532&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
282. Devane WA, Dysarz FA, Johnson MR, Melvin LS, Howlett AC. Determination and characterization of a cannabinoid receptor in rat brain. *Molecular pharmacology* [Internet]. 1988 Nov [cited 2013 Mar 8];34(5):605–13. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2848184>
283. Matsuda LA, Lolait SJ, Brownstein MJ, Young AC, Bonner TI. Structure of a cannabinoid receptor and functional expression of the cloned cDNA. *Nature* [Internet]. 1990 Aug 9 [cited 2013 Mar 8];346(6284):561–4. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2165569>
284. Munro S, Thomas KL, Abu-Shaar M. Molecular characterization of a peripheral receptor for cannabinoids. *Nature* [Internet]. 1993 Sep 2 [cited 2013 Mar 8];365(6441):61–5. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7689702>
285. Sagar DR, Gaw AG, Okine BN, Woodhams SG, Wong A, Kendall DA, et al. Dynamic regulation of the endocannabinoid system: implications for analgesia. *Molecular pain* [Internet]. 2009 Jan [cited 2013 Mar 9];5:59. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2770047&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
286. Butler RK, Rea K, Lang Y, Gavin AM, Finn DP. Endocannabinoid-mediated enhancement of fear-conditioned analgesia in rats: opioid receptor dependency and molecular correlates. *Pain* [Internet]. 2008 Dec [cited 2013 Mar 9];140(3):491–500. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19004548>
287. Jesudason D, Wittert G. Endocannabinoid system in food intake and metabolic regulation. *Current opinion in lipidology* [Internet]. 2008 Aug [cited 2013 Mar 9];19(4):344–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18607180>
288. Støving RK, Andries A, Brixen K, Flyvbjerg A, Hørder K, Frystyk J. Leptin, ghrelin, and endocannabinoids: potential therapeutic targets in anorexia nervosa. *Journal of psychiatric research* [Internet]. 2009 Apr [cited 2013 Mar 9];43(7):671–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18926548>
289. Dowie MJ, Bradshaw HB, Howard ML, Nicholson LFB, Faull RLM, Hannan AJ, et al. Altered CB1 receptor and endocannabinoid levels precede motor symptom onset in a transgenic mouse model of Huntington's

- disease. *Neuroscience* [Internet]. 2009 Sep 29 [cited 2013 Mar 9];163(1):456–65. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19524019>
290. Fernández-Ruiz J, Lastres-Becker I, Cabranes A, González S, Ramos JA. Endocannabinoids and basal ganglia functionality. *Prostaglandins, leukotrienes, and essential fatty acids* [Internet]. [cited 2012 Jan 20];66(2-3):257–67. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12052041>
291. Fernández-Ruiz J. The endocannabinoid system as a target for the treatment of motor dysfunction. *British journal of pharmacology* [Internet]. 2009 Apr [cited 2011 Jul 27];156(7):1029–40. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2697699&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
292. Heifets BD, Castillo PE. Endocannabinoid signaling and long-term synaptic plasticity. *Annual review of physiology* [Internet]. 2009 Jan [cited 2013 Mar 2];71:283–306. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19575681>
293. Marchalant Y, Brothers HM, Norman GJ, Karelina K, DeVries AC, Wenk GL. Cannabinoids attenuate the effects of aging upon neuroinflammation and neurogenesis. *Neurobiology of disease* [Internet]. 2009 May [cited 2013 Mar 9];34(2):300–7. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19385063>
294. Burstein SH, Zurier RB. Cannabinoids, endocannabinoids, and related analogs in inflammation. *The AAPS journal* [Internet]. 2009 Mar [cited 2013 Mar 9];11(1):109–19. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2664885&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
295. Campbell VA, Gowran A. Alzheimer's disease; taking the edge off with cannabinoids? *British journal of pharmacology* [Internet]. 2007 Nov [cited 2013 Mar 9];152(5):655–62. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2190031&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
296. Guzmán M, Sánchez C, Galve-Roperh I. Cannabinoids and cell fate. *Pharmacology & therapeutics* [Internet]. 2002 Aug [cited 2013 Mar 9];95(2):175–84. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12182964>
297. Guzman M. Neurons on cannabinoids: dead or alive? *British journal of pharmacology* [Internet]. 2003 Oct [cited 2013 Mar 9];140(3):439–40. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=1574056&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
298. Turcotte D, Le Dorze J-A, Esfahani F, Frost E, Gomori A, Namaka M. Examining the roles of cannabinoids in pain and other therapeutic indications: a review. *Expert opinion on pharmacotherapy* [Internet]. 2010 Jan [cited 2013 Mar 9];11(1):17–31. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20001426>
299. Wade DT, Makela P, Robson P, House H, Bateman C. Do cannabis-based medicinal extracts have general or specific effects on symptoms in multiple sclerosis? A double-blind, randomized, placebo-controlled study on 160 patients. *Multiple sclerosis (Houndmills, Basingstoke, England)* [Internet]. 2004 Aug [cited 2013 Mar 9];10(4):434–41. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15327042>
300. Guzmán M, Duarte MJ, Blázquez C, Ravina J, Rosa MC, Galve-Roperh I, et al. A pilot clinical study of Delta9-tetrahydrocannabinol in patients with recurrent glioblastoma multiforme. *British journal of cancer* [Internet]. 2006 Jul 17 [cited 2013 Mar 9];95(2):197–203. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2360617&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
301. Herkenham M, Lynn AB, Johnson MR, Melvin LS, de Costa BR, Rice KC. Characterization and localization of cannabinoid receptors in rat brain: a quantitative in vitro autoradiographic study. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* [Internet]. 1991 Feb [cited 2013 Mar 9];11(2):563–83. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1992016>
302. Devane WA, Hanus L, Breuer A, Pertwee RG, Stevenson LA, Griffin G, et al. Isolation and structure of a brain constituent that binds to the cannabinoid receptor. *Science (New York, N.Y.)* [Internet]. 1992 Dec 18 [cited 2013 Mar 6];258(5090):1946–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1470919>

303. Mechoulam R, Ben-Shabat S, Hanus L, Ligumsky M, Kaminski NE, Schatz AR, et al. Identification of an endogenous 2-monoglyceride, present in canine gut, that binds to cannabinoid receptors. *Biochemical pharmacology* [Internet]. 1995 Jun 29 [cited 2013 Mar 6];50(1):83–90. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7605349>
304. Gomes I, Grushko JS, Golebiewska U, Hoogendoorn S, Gupta A, Heimann AS, et al. Novel endogenous peptide agonists of cannabinoid receptors. *FASEB journal : official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology* [Internet]. 2009 Sep [cited 2013 Mar 9];23(9):3020–9. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2735371&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
305. Wang J, Ueda N. Biology of endocannabinoid synthesis system. *Prostaglandins & other lipid mediators* [Internet]. 2009 Sep [cited 2013 Mar 9];89(3-4):112–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19126434>
306. Fowler CJ. The cannabinoid system and its pharmacological manipulation--a review, with emphasis upon the uptake and hydrolysis of anandamide. *Fundamental & clinical pharmacology* [Internet]. 2006 Dec [cited 2013 Mar 9];20(6):549–62. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17109648>
307. Blankman JL, Simon GM, Cravatt BF. A comprehensive profile of brain enzymes that hydrolyze the endocannabinoid 2-arachidonoylglycerol. *Chemistry & biology* [Internet]. 2007 Dec [cited 2013 Mar 2];14(12):1347–56. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2692834&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
308. Fezza F, De Simone C, Amadio D, Maccarrone M. Fatty acid amide hydrolase: a gate-keeper of the endocannabinoid system. *Sub-cellular biochemistry* [Internet]. 2008 Jan [cited 2013 Mar 9];49:101–32. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18751909>
309. Cota D. CB1 receptors: emerging evidence for central and peripheral mechanisms that regulate energy balance, metabolism, and cardiovascular health. *Diabetes/metabolism research and reviews* [Internet]. 2007 Oct [cited 2013 Mar 9];23(7):507–17. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17683024>
310. Kano M, Ohno-Shosaku T, Hashimoto-dani Y, Uchigashima M, Watanabe M. Endocannabinoid-mediated control of synaptic transmission. *Physiological reviews* [Internet]. 2009 Jan [cited 2013 Mar 9];89(1):309–80. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19126760>
311. Núñez E, Benito C, Tolón RM, Hillard CJ, Griffin WST, Romero J. Glial expression of cannabinoid CB(2) receptors and fatty acid amide hydrolase are beta amyloid-linked events in Down's syndrome. *Neuroscience* [Internet]. 2008 Jan 2 [cited 2013 Mar 9];151(1):104–10. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18068305>
312. Tóth A, Blumberg PM, Boczán J. Anandamide and the vanilloid receptor (TRPV1). *Vitamins and hormones* [Internet]. 2009 Jan [cited 2013 Mar 9];81:389–419. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19647120>
313. Costa B, Bettoni I, Petrosino S, Comelli F, Giagnoni G, Di Marzo V. The dual fatty acid amide hydrolase/TRPV1 blocker, N-arachidonoyl-serotonin, relieves carrageenan-induced inflammation and hyperalgesia in mice. *Pharmacological research : the official journal of the Italian Pharmacological Society* [Internet]. 2010 Jun [cited 2013 Mar 9];61(6):537–46. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20138997>
314. Ross RA. The enigmatic pharmacology of GPR55. *Trends in pharmacological sciences* [Internet]. 2009 Mar [cited 2013 Mar 9];30(3):156–63. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19233486>
315. Pertwee RG, Howlett AC, Abood ME, Alexander SPH, Di Marzo V, Elphick MR, et al. International Union of Basic and Clinical Pharmacology. LXXIX. Cannabinoid receptors and their ligands: beyond CB<sub>1</sub> and CB<sub>2</sub>.

- Pharmacological reviews [Internet]. 2010 Dec [cited 2013 Mar 9];62(4):588–631. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2993256&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
316. O'Sullivan SE. Cannabinoids go nuclear: evidence for activation of peroxisome proliferator-activated receptors. *British journal of pharmacology* [Internet]. 2007 Nov [cited 2013 Feb 28];152(5):576–82. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2190029&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
317. Miyamoto N, Tanaka R, Zhang N, Shimura H, Onodera M, Mochizuki H, et al. Crucial role for Ser133-phosphorylated form of cyclic AMP-responsive element binding protein signaling in the differentiation and survival of neural progenitors under chronic cerebral hypoperfusion. *Neuroscience* [Internet]. 2009 Aug 18 [cited 2013 Mar 9];162(2):525–36. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19426786>
318. Bisogno T, Berrendero F, Ambrosino G, Cebeira M, Ramos JA, Fernandez-Ruiz JJ, et al. Brain regional distribution of endocannabinoids: implications for their biosynthesis and biological function. *Biochemical and biophysical research communications* [Internet]. 1999 Mar 16 [cited 2013 Mar 9];256(2):377–80. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10079192>
319. Di Marzo V, Hill MP, Bisogno T, Crossman AR, Brotchie JM. Enhanced levels of endogenous cannabinoids in the globus pallidus are associated with a reduction in movement in an animal model of Parkinson's disease. *FASEB journal : official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology* [Internet]. 2000 Jul [cited 2013 Mar 9];14(10):1432–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10877836>
320. Herkenham M, Lynn AB, de Costa BR, Richfield EK. Neuronal localization of cannabinoid receptors in the basal ganglia of the rat. *Brain research* [Internet]. 1991 May 3 [cited 2013 Mar 10];547(2):267–74. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1909204>
321. Tsou K, Brown S, Sañudo-Peña MC, Mackie K, Walker JM. Immunohistochemical distribution of cannabinoid CB1 receptors in the rat central nervous system. *Neuroscience* [Internet]. 1998 Mar [cited 2013 Mar 10];83(2):393–411. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9460749>
322. Hohmann AG, Herkenham M. Localization of cannabinoid CB(1) receptor mRNA in neuronal subpopulations of rat striatum: a double-label in situ hybridization study. *Synapse (New York, N.Y.)* [Internet]. 2000 Jul [cited 2013 Mar 10];37(1):71–80. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10842353>
323. Fusco FR, Martorana A, Giampà C, De March Z, Farini D, D'Angelo V, et al. Immunolocalization of CB1 receptor in rat striatal neurons: a confocal microscopy study. *Synapse (New York, N.Y.)* [Internet]. 2004 Sep 1 [cited 2013 Mar 10];53(3):159–67. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15236348>
324. Mailleux P, Vanderhaeghen JJ. Distribution of neuronal cannabinoid receptor in the adult rat brain: a comparative receptor binding radioautography and in situ hybridization histochemistry. *Neuroscience* [Internet]. 1992 Jan [cited 2013 Mar 10];48(3):655–68. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1376455>
325. Mezey E, Tóth ZE, Cortright DN, Arzubi MK, Krause JE, Elde R, et al. Distribution of mRNA for vanilloid receptor subtype 1 (VR1), and VR1-like immunoreactivity, in the central nervous system of the rat and human. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* [Internet]. 2000 Mar 28 [cited 2013 Mar 10];97(7):3655–60. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=16295&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
326. De Lago E, de Miguel R, Lastres-Becker I, Ramos JA, Fernández-Ruiz J. Involvement of vanilloid-like receptors in the effects of anandamide on motor behavior and nigrostriatal dopaminergic activity: in vivo and in vitro evidence. *Brain research* [Internet]. 2004 May 8 [cited 2013 Mar 10];1007(1-2):152–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15064146>
327. Tzavara ET, Li DL, Moutsimilli L, Bisogno T, Di Marzo V, Phebus LA, et al. Endocannabinoids activate transient receptor potential vanilloid 1 receptors to reduce hyperdopaminergia-related hyperactivity: therapeutic

- implications. *Biological psychiatry* [Internet]. 2006 Mar 15 [cited 2013 Mar 10];59(6):508–15. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16199010>
328. Sheng WS, Hu S, Min X, Cabral GA, Lokensgard JR, Peterson PK. Synthetic cannabinoid WIN55,212-2 inhibits generation of inflammatory mediators by IL-1beta-stimulated human astrocytes. *Glia* [Internet]. 2005 Jan 15 [cited 2013 Mar 10];49(2):211–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15390091>
329. Sagredo O, González S, Aroyo I, Pazos MR, Benito C, Lastres-Becker I, et al. Cannabinoid CB2 receptor agonists protect the striatum against malonate toxicity: relevance for Huntington's disease. *Glia* [Internet]. 2009 Aug 15 [cited 2011 Oct 22];57(11):1154–67. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2706932&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
330. Meschler JP, Howlett AC, Madras BK. Cannabinoid receptor agonist and antagonist effects on motor function in normal and 1-methyl-4-phenyl-1,2,5,6-tetrahydropyridine (MPTP)-treated non-human primates. *Psychopharmacology* [Internet]. 2001 Jun [cited 2013 Mar 10];156(1):79–85. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11465637>
331. Fernández-Ruiz J, González S. Cannabinoid control of motor function at the basal ganglia. *Handbook of experimental pharmacology* [Internet]. 2005 Jan [cited 2011 Oct 30];(168):479–507. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16596785>
332. Glass M, Faull RL, Dragunow M. Loss of cannabinoid receptors in the substantia nigra in Huntington's disease. *Neuroscience* [Internet]. 1993 Oct [cited 2013 Mar 10];56(3):523–7. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8255419>
333. Glass M, Dragunow M, Faull RL. The pattern of neurodegeneration in Huntington's disease: a comparative study of cannabinoid, dopamine, adenosine and GABA(A) receptor alterations in the human basal ganglia in Huntington's disease. *Neuroscience* [Internet]. 2000 Jan [cited 2013 Mar 10];97(3):505–19. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10828533>
334. Richfield EK, Herkenham M. Selective vulnerability in Huntington's disease: preferential loss of cannabinoid receptors in lateral globus pallidus. *Annals of neurology* [Internet]. 1994 Oct [cited 2013 Mar 10];36(4):577–84. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7944290>
335. Lastres-Becker I, De Miguel R, Fernández-Ruiz JJ. The endocannabinoid system and Huntington's disease. *Current drug targets. CNS and neurological disorders* [Internet]. 2003 Oct [cited 2012 Jan 20];2(5):335–47. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14529364>
336. Denovan-Wright EM, Robertson HA. Cannabinoid receptor messenger RNA levels decrease in a subset of neurons of the lateral striatum, cortex and hippocampus of transgenic Huntington's disease mice. *Neuroscience* [Internet]. 2000 Jan [cited 2013 Mar 10];98(4):705–13. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10891614>
337. Lastres-Becker I, Berrendero F, Lucas JJ, Martín-Aparicio E, Yamamoto A, Ramos JA, et al. Loss of mRNA levels, binding and activation of GTP-binding proteins for cannabinoid CB1 receptors in the basal ganglia of a transgenic model of Huntington's disease. *Brain research* [Internet]. 2002 Mar 8 [cited 2013 Mar 10];929(2):236–42. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11864629>
338. McCaw EA, Hu H, Gomez GT, Hebb ALO, Kelly MEM, Denovan-Wright EM. Structure, expression and regulation of the cannabinoid receptor gene (CB1) in Huntington's disease transgenic mice. *European journal of biochemistry / FEBS* [Internet]. 2004 Dec [cited 2011 Dec 8];271(23-24):4909–20. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15606779>
339. Naver B, Stub C, Møller M, Fenger K, Hansen AK, Hasholt L, et al. Molecular and behavioral analysis of the R6/1 Huntington's disease transgenic mouse. *Neuroscience* [Internet]. 2003 Jan [cited 2012 Jan 20];122(4):1049–57. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14643771>

340. Page KJ, Besret L, Jain M, Monaghan EM, Dunnett SB, Everitt BJ. Effects of systemic 3-nitropropionic acid-induced lesions of the dorsal striatum on cannabinoid and mu-opioid receptor binding in the basal ganglia. *Experimental brain research. Experimentelle Hirnforschung. Expérimentation cérébrale* [Internet]. 2000 Jan [cited 2013 Mar 10];130(2):142–50. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10672467>
341. Lastres-Becker I, Fezza F, Cebeira M, Bisogno T, Ramos JA, Milone A, et al. Changes in endocannabinoid transmission in the basal ganglia in a rat model of Huntington's disease. *Neuroreport* [Internet]. 2001 Jul 20 [cited 2012 Jan 20];12(10):2125–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11447320>
342. Lastres-Becker I, Gómez M, De Miguel R, Ramos JA, Fernández-Ruiz J. Loss of cannabinoid CB(1) receptors in the basal ganglia in the late akinetic phase of rats with experimental Huntington's disease. *Neurotoxicity research* [Internet]. [cited 2012 Jan 20];4(7-8):601–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12709298>
343. Lastres-Becker I, Hansen HH, Berrendero F, De Miguel R, Pérez-Rosado A, Manzanares J, et al. Alleviation of motor hyperactivity and neurochemical deficits by endocannabinoid uptake inhibition in a rat model of Huntington's disease. *Synapse (New York, N.Y.)* [Internet]. 2002 Apr [cited 2012 Jan 20];44(1):23–35. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11842443>
344. Blázquez C, Chiarlone A, Sagredo O, Aguado T, Pazos MR, Resel E, et al. Loss of striatal type 1 cannabinoid receptors is a key pathogenic factor in Huntington's disease. *Brain : a journal of neurology* [Internet]. 2011 Jan [cited 2011 Oct 5];134(Pt 1):119–36. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20929960>
345. Pazos MR, Sagredo O, Fernández-Ruiz J. The endocannabinoid system in Huntington's disease. *Current pharmaceutical design* [Internet]. 2008 Jan [cited 2012 Jan 22];14(23):2317–25. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18781982>
346. Van der Stelt M, Veldhuis WB, Maccarrone M, Bär PR, Nicolay K, Veldink GA, et al. Acute neuronal injury, excitotoxicity, and the endocannabinoid system. *Molecular neurobiology* [Internet]. [cited 2013 Mar 10];26(2-3):317–46. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12428763>
347. Sagredo O, García-Arencibia M, de Lago E, Finetti S, Decio A, Fernández-Ruiz J. Cannabinoids and neuroprotection in basal ganglia disorders. *Molecular neurobiology* [Internet]. 2007 Aug [cited 2011 Jul 27];36(1):82–91. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17952653>
348. Palazuelos J, Aguado T, Pazos MR, Julien B, Carrasco C, Resel E, et al. Microglial CB2 cannabinoid receptors are neuroprotective in Huntington's disease excitotoxicity. *Brain : a journal of neurology* [Internet]. 2009 Nov [cited 2011 Jul 27];132(Pt 11):3152–64. Available from: <http://brain.oxfordjournals.org/cgi/content/abstract/132/11/3152>
349. Battista N, Bari M, Tarditi A, Mariotti C, Bachoud-Lévi A-C, Zuccato C, et al. Severe deficiency of the fatty acid amide hydrolase (FAAH) activity segregates with the Huntington's disease mutation in peripheral lymphocytes. *Neurobiology of disease* [Internet]. 2007 Jul [cited 2012 Jan 20];27(1):108–16. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17553686>
350. Lastres-Becker I, de Miguel R, De Petrocellis L, Makriyannis A, Di Marzo V, Fernández-Ruiz J. Compounds acting at the endocannabinoid and/or endovanilloid systems reduce hyperkinesia in a rat model of Huntington's disease. *Journal of neurochemistry* [Internet]. 2003 Mar [cited 2012 Jan 20];84(5):1097–109. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12603833>
351. Consroe P. Brain cannabinoid systems as targets for the therapy of neurological disorders. *Neurobiology of disease* [Internet]. 1998 Dec [cited 2013 Mar 10];5(6 Pt B):534–51. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9974182>

352. Müller-Vahl KR, Schneider U, Emrich HM. Nabilone increases choreatic movements in Huntington's disease. *Movement disorders : official journal of the Movement Disorder Society* [Internet]. 1999 Nov [cited 2012 Jan 20];14(6):1038–40. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10584686>
353. Müller-Vahl KR, Kolbe H, Schneider U, Emrich HM. Cannabis in movement disorders. *Forschende Komplementärmedizin* [Internet]. 1999 Oct [cited 2012 Jan 20];6 Suppl 3:23–7. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10627163>
354. Curtis A, Rickards H. Nabilone could treat chorea and irritability in Huntington's disease. *The Journal of neuropsychiatry and clinical neurosciences* [Internet]. 2006 Jan [cited 2012 Jan 20];18(4):553–4. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17135385>
355. Marsicano G, Goodenough S, Monory K, Hermann H, Eder M, Cannich A, et al. CB1 cannabinoid receptors and on-demand defense against excitotoxicity. *Science (New York, N.Y.)* [Internet]. 2003 Oct 3 [cited 2013 Mar 10];302(5642):84–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14526074>
356. Mechoulam R, Shohami E. Endocannabinoids and traumatic brain injury. *Molecular neurobiology* [Internet]. 2007 Aug [cited 2013 Mar 10];36(1):68–74. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17952651>
357. Fernández-Ruiz J, Romero J, Velasco G, Tolón RM, Ramos JA, Guzmán M. Cannabinoid CB2 receptor: a new target for controlling neural cell survival? *Trends in pharmacological sciences* [Internet]. 2007 Jan [cited 2013 Mar 10];28(1):39–45. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17141334>
358. Fernández-Ruiz J, García C, Sagredo O, Gómez-Ruiz M, de Lago E. The endocannabinoid system as a target for the treatment of neuronal damage. *Expert opinion on therapeutic targets* [Internet]. 2010 Apr [cited 2013 Mar 10];14(4):387–404. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20230193>
359. Ozaita A, Puighermanal E, Maldonado R. Regulation of PI3K/Akt/GSK-3 pathway by cannabinoids in the brain. *Journal of neurochemistry* [Internet]. 2007 Aug [cited 2013 Mar 10];102(4):1105–14. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17484726>
360. Van der Stelt M, Di Marzo V. Cannabinoid receptors and their role in neuroprotection. *Neuromolecular medicine* [Internet]. 2005 Jan [cited 2013 Mar 10];7(1-2):37–50. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16052037>
361. Hampson AJ, Bornheim LM, Scanziani M, Yost CS, Gray AT, Hansen BM, et al. Dual effects of anandamide on NMDA receptor-mediated responses and neurotransmission. *Journal of neurochemistry* [Internet]. 1998 Feb [cited 2013 Mar 10];70(2):671–6. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9453561>
362. Skaper SD, Buriani A, Dal Toso R, Petrelli L, Romanello S, Facci L, et al. The ALIAmide palmitoylethanolamide and cannabinoids, but not anandamide, are protective in a delayed postglutamate paradigm of excitotoxic death in cerebellar granule neurons. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* [Internet]. 1996 Apr 30 [cited 2013 Mar 10];93(9):3984–9. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=39472&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
363. Shen M, Thayer SA. Cannabinoid receptor agonists protect cultured rat hippocampal neurons from excitotoxicity. *Molecular pharmacology* [Internet]. 1998 Sep [cited 2013 Mar 10];54(3):459–62. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9730904>
364. Monory K, Massa F, Egertová M, Eder M, Blaudzun H, Westenbroek R, et al. The endocannabinoid system controls key epileptogenic circuits in the hippocampus. *Neuron* [Internet]. 2006 Aug 17 [cited 2013 Feb 28];51(4):455–66. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=1769341&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>

365. Földy C, Neu A, Jones M V, Soltesz I. Presynaptic, activity-dependent modulation of cannabinoid type 1 receptor-mediated inhibition of GABA release. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* [Internet]. 2006 Feb 1 [cited 2013 Feb 28];26(5):1465–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16452670>
366. Molina-Holgado E, Molina-Holgado F. Mending the broken brain: neuroimmune interactions in neurogenesis. *Journal of neurochemistry* [Internet]. 2010 Sep 1 [cited 2013 Mar 10];114(5):1277–90. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20534007>
367. Hampson AJ, Grimaldi M, Axelrod J, Wink D. Cannabidiol and (-)Delta9-tetrahydrocannabinol are neuroprotective antioxidants. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* [Internet]. 1998 Jul 7 [cited 2013 Mar 10];95(14):8268–73. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=20965&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
368. Zuardi AW. Cannabidiol: from an inactive cannabinoid to a drug with wide spectrum of action. *Revista brasileira de psiquiatria (São Paulo, Brazil : 1999)* [Internet]. 2008 Sep [cited 2013 Mar 10];30(3):271–80. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18833429>
369. Aguado T, Monory K, Palazuelos J, Stella N, Cravatt B, Lutz B, et al. The endocannabinoid system drives neural progenitor proliferation. *FASEB journal : official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology* [Internet]. 2005 Oct [cited 2013 Mar 7];19(12):1704–6. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16037095>
370. Galve-Roperh I, Aguado T, Palazuelos J, Guzmán M. The endocannabinoid system and neurogenesis in health and disease. *The Neuroscientist : a review journal bringing neurobiology, neurology and psychiatry* [Internet]. 2007 Apr [cited 2013 Mar 11];13(2):109–14. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17404371>
371. Maccarrone M, Battista N, Centonze D. The endocannabinoid pathway in Huntington's disease: a comparison with other neurodegenerative diseases. *Progress in neurobiology* [Internet]. 2007 Apr [cited 2011 Jul 26];81(5-6):349–79. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17276576>
372. Curtis MA, Penney EB, Pearson AG, van Roon-Mom WMC, Butterworth NJ, Dragunow M, et al. Increased cell proliferation and neurogenesis in the adult human Huntington's disease brain. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* [Internet]. 2003 Jul 22 [cited 2013 Mar 11];100(15):9023–7. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=166431&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
373. Barnabé-Heider F, Miller FD. Endogenously produced neurotrophins regulate survival and differentiation of cortical progenitors via distinct signaling pathways. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* [Internet]. 2003 Jun 15 [cited 2013 Mar 11];23(12):5149–60. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12832539>
374. Jin K, LaFevre-Bernt M, Sun Y, Chen S, Gafni J, Crippen D, et al. FGF-2 promotes neurogenesis and neuroprotection and prolongs survival in a transgenic mouse model of Huntington's disease. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* [Internet]. 2005 Dec 13 [cited 2013 Mar 11];102(50):18189–94. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=1312383&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
375. Curtis MA, Faull RLM, Glass M. A novel population of progenitor cells expressing cannabinoid receptors in the subependymal layer of the adult normal and Huntington's disease human brain. *Journal of chemical neuroanatomy* [Internet]. 2006 Apr [cited 2012 Jan 20];31(3):210–5. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16533591>
376. Lastres-Becker I, Bizat N, Boyer F, Hantraye P, Fernández-Ruiz J, Brouillet E. Potential involvement of cannabinoid receptors in 3-nitropropionic acid toxicity in vivo. *Neuroreport* [Internet]. 2004 Oct 25 [cited 2012 Jan 20];15(15):2375–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15640759>



377. Lastres-Becker I, Bizat N, Boyer F, Hantraye P, Brouillet E, Fernández-Ruiz J. Effects of cannabinoids in the rat model of Huntington's disease generated by an intrastriatal injection of malonate. *Neuroreport* [Internet]. 2003 May 6 [cited 2012 Jan 20];14(6):813–6. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12858038>
378. Pintor A, Tebano MT, Martire A, Grieco R, Galluzzo M, Scattoni ML, et al. The cannabinoid receptor agonist WIN 55,212-2 attenuates the effects induced by quinolinic acid in the rat striatum. *Neuropharmacology* [Internet]. 2006 Oct [cited 2013 Mar 11];51(5):1004–12. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16895732>
379. Sagredo O, Ramos JA, Decio A, Mechoulam R, Fernández-Ruiz J. Cannabidiol reduced the striatal atrophy caused 3-nitropropionic acid in vivo by mechanisms independent of the activation of cannabinoid, vanilloid TRPV1 and adenosine A2A receptors. *The European journal of neuroscience* [Internet]. 2007 Aug [cited 2012 Jan 20];26(4):843–51. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17672854>
380. Aiken CT, Tobin AJ, Schweitzer ES. A cell-based screen for drugs to treat Huntington's disease. *Neurobiology of disease* [Internet]. 2004 Aug [cited 2011 Sep 28];16(3):546–55. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15262266>
381. Wang W, Duan W, Igarashi S, Morita H, Nakamura M, Ross CA. Compounds blocking mutant huntingtin toxicity identified using a Huntington's disease neuronal cell model. *Neurobiology of disease* [Internet]. 2005 Nov [cited 2013 Mar 11];20(2):500–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15908226>
382. Brouillet E, Jacquard C, Bizat N, Blum D. 3-Nitropropionic acid: a mitochondrial toxin to uncover physiopathological mechanisms underlying striatal degeneration in Huntington's disease. *Journal of neurochemistry* [Internet]. 2005 Dec [cited 2013 Mar 6];95(6):1521–40. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16300642>
383. Alexi T, Hughes PE, Faull RL, Williams CE. 3-Nitropropionic acid's lethal triplet: cooperative pathways of neurodegeneration. *Neuroreport* [Internet]. 1998 Aug 3 [cited 2013 Mar 11];9(11):R57–64. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9721909>
384. Toulmond S, Tang K, Bureau Y, Ashdown H, Degen S, O'Donnell R, et al. Neuroprotective effects of M826, a reversible caspase-3 inhibitor, in the rat malonate model of Huntington's disease. *British journal of pharmacology* [Internet]. 2004 Feb [cited 2013 Mar 11];141(4):689–97. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=1574244&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
385. Curtis A, Mitchell I, Patel S, Ives N, Rickards H. A pilot study using nabilone for symptomatic treatment in Huntington's disease. *Movement disorders : official journal of the Movement Disorder Society* [Internet]. 2009 Nov 15 [cited 2012 Jan 20];24(15):2254–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19845035>
386. Consroe P, Laguna J, Allender J, Snider S, Stern L, Sandyk R, et al. Controlled clinical trial of cannabidiol in Huntington's disease. *Pharmacology, biochemistry, and behavior* [Internet]. 1991 Nov [cited 2012 Jan 20];40(3):701–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1839644>
387. Russo E, Guy GW. A tale of two cannabinoids: the therapeutic rationale for combining tetrahydrocannabinol and cannabidiol. *Medical hypotheses* [Internet]. 2006 Jan [cited 2013 Mar 11];66(2):234–46. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16209908>
388. Wright S. Cannabinoid-based medicines for neurological disorders--clinical evidence. *Molecular neurobiology* [Internet]. 2007 Aug [cited 2013 Mar 11];36(1):129–36. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17952657>
389. Pertwee RG. Emerging strategies for exploiting cannabinoid receptor agonists as medicines. *British journal of pharmacology* [Internet]. 2009 Feb [cited 2013 Mar 11];156(3):397–411. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2697681&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>

390. Sagredo O, Pazos MR, Satta V, Ramos JA, Pertwee RG, Fernández-Ruiz J. Neuroprotective effects of phytocannabinoid-based medicines in experimental models of Huntington's disease. *Journal of neuroscience research* [Internet]. 2011 Sep [cited 2012 Jan 20];89(9):1509–18. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21674569>
391. Scotter EL, Goodfellow CE, Graham ES, Dragunow M, Glass M. Neuroprotective potential of CB1 receptor agonists in an in vitro model of Huntington's disease. *British journal of pharmacology* [Internet]. 2010 Jun [cited 2012 Jan 20];160(3):747–61. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2931573&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
392. Costa B, Trovato AE, Comelli F, Giagnoni G, Colleoni M. The non-psychoactive cannabis constituent cannabidiol is an orally effective therapeutic agent in rat chronic inflammatory and neuropathic pain. *European journal of pharmacology* [Internet]. 2007 Feb 5 [cited 2013 Mar 11];556(1-3):75–83. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17157290>
393. Costa B, Colleoni M, Conti S, Parolaro D, Franke C, Trovato AE, et al. Oral anti-inflammatory activity of cannabidiol, a non-psychoactive constituent of cannabis, in acute carrageenan-induced inflammation in the rat paw. *Naunyn-Schmiedeberg's archives of pharmacology* [Internet]. 2004 Mar [cited 2013 Mar 11];369(3):294–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14963641>
394. Izzo AA, Borrelli F, Capasso R, Di Marzo V, Mechoulam R. Non-psychoactive plant cannabinoids: new therapeutic opportunities from an ancient herb. *Trends in pharmacological sciences* [Internet]. 2009 Oct [cited 2013 Feb 28];30(10):515–27. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19729208>
395. Mechoulam R, Peters M, Murillo-Rodriguez E, Hanus LO. Cannabidiol--recent advances. *Chemistry & biodiversity* [Internet]. 2007 Aug [cited 2013 Feb 28];4(8):1678–92. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17712814>
396. Huestis MA, Henningfield JE, Cone EJ. Blood cannabinoids. I. Absorption of THC and formation of 11-OH-THC and THCCOOH during and after smoking marijuana. *Journal of analytical toxicology* [Internet]. [cited 2013 Mar 24];16(5):276–82. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1338215>
397. Unified Huntington's Disease Rating Scale: reliability and consistency. Huntington Study Group. *Movement disorders : official journal of the Movement Disorder Society* [Internet]. 1996 Mar [cited 2013 Mar 24];11(2):136–42. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8684382>
398. Scheinin M. Monoamine metabolites in human cerebrospinal fluid: indicators of neuronal activity? *Medical biology* [Internet]. 1985 Jan [cited 2013 Mar 25];63(1):1–17. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2582215>
399. Jack CR, Knopman DS, Jagust WJ, Shaw LM, Aisen PS, Weiner MW, et al. Hypothetical model of dynamic biomarkers of the Alzheimer's pathological cascade. *Lancet neurology* [Internet]. 2010 Jan [cited 2013 Mar 4];9(1):119–28. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2819840&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
400. Peña-Casanova J, Gramunt Fombuena N, Gich Fullà J. Test neuropsicológicos. Fundamentos para una neuropsicología clínica basada en evidencias. MASSON, S. Barcelona; 2004.
401. Casals-Coll M, Sánchez-Benavides G, Quintana M, Manero R, Rognoni T, Calvo L, et al. Estudios normativos españoles en población adulta joven (proyecto NEURONORMA jóvenes): normas para los test de fluencia verbal. *Neurología*. 2012;
402. Lobo A, Pérez-Echeverría MJ, Artal J. Validity of the scaled version of the General Health Questionnaire (GHQ-28) in a Spanish population. *Psychological medicine* [Internet]. 1986 Feb [cited 2013 Mar 24];16(1):135–40. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3961039>

403. Cummings JL, Mega M, Gray K, Rosenberg-Thompson S, Carusi DA, Gornbein J. The Neuropsychiatric Inventory: comprehensive assessment of psychopathology in dementia. *Neurology* [Internet]. 1994 Dec [cited 2013 Mar 22];44(12):2308–14. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7991117>
404. Zigmond AS, Snaith RP. The hospital anxiety and depression scale. *Acta psychiatrica Scandinavica* [Internet]. 1983 Jun [cited 2013 Mar 5];67(6):361–70. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6880820>
405. Terol M, López-Roig S, Rodríguez-Marín J, Martín-Aragón M, Pastor M, MT R. Propiedades psicométricas de la Escala Hospitalaria de Ansiedad y Estés (HAD) en población española. *Ansiedad y depresión*. 2007;13((2-3)):163–76.
406. Mattis S. *Dementia Rating Scale: professional manual*. Florida: Psychological Assessment Resources. 1988;
407. Kurlan R, Caine E, Rubin A, Nemeroff CB, Bissette G, Zaczek R, et al. Cerebrospinal fluid correlates of depression in Huntington's disease. *Archives of neurology* [Internet]. 1988 Aug [cited 2013 Mar 25];45(8):881–3. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2456053>
408. Schwarcz R, Tamminga CA, Kurlan R, Shoulson I. Cerebrospinal fluid levels of quinolinic acid in Huntington's disease and schizophrenia. *Annals of neurology* [Internet]. 1988 Oct [cited 2013 Mar 25];24(4):580–2. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2977086>
409. Montine TJ, Beal MF, Robertson D, Cudkowicz ME, Biaggioni I, O'Donnell H, et al. Cerebrospinal fluid F2-isoprostanes are elevated in Huntington's disease. *Neurology* [Internet]. 1999 Mar 23 [cited 2013 Mar 25];52(5):1104–5. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10102447>
410. Jeitner TM, Bogdanov MB, Matson WR, Daikhin Y, Yudkoff M, Folk JE, et al. N(epsilon)-(gamma-L-glutamyl)-L-lysine (GGEL) is increased in cerebrospinal fluid of patients with Huntington's disease. *Journal of neurochemistry* [Internet]. 2001 Dec [cited 2013 Mar 25];79(5):1109–12. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11739625>
411. Meyer C, Landwehrmeyer B, Schwenke C, Doble A, Orth M, Ludolph AC. Rate of change in early Huntington's disease: a clinicometric analysis. *Movement disorders : official journal of the Movement Disorder Society* [Internet]. 2012 Jan [cited 2013 Apr 6];27(1):118–24. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22095693>
412. Klempír J, Klempírova O, Spacková N, Zidovská J, Roth J. Unified Huntington's disease rating scale: clinical practice and a critical approach. *Functional neurology* [Internet]. [cited 2013 Apr 6];21(4):217–21. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17367582>
413. De la Fuente-Fernández R, Schulzer M, Stoessl AJ. The placebo effect in neurological disorders. *Lancet neurology* [Internet]. 2002 Jun [cited 2013 Apr 6];1(2):85–91. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12849512>
414. Cubo E, González M, del Puerto I, de Yébenes JG, Arconada OF, Gabriel y Galán JMT. Placebo effect characteristics observed in a single, international, longitudinal study in Huntington's disease. *Movement disorders : official journal of the Movement Disorder Society* [Internet]. 2012 Mar [cited 2013 Apr 6];27(3):439–42. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22162184>
415. Pillai JA, Hansen LA, Masliah E, Goldstein JL, Edland SD, Corey-Bloom J. Clinical severity of Huntington's disease does not always correlate with neuropathologic stage. *Movement disorders : official journal of the Movement Disorder Society* [Internet]. 2012 Aug [cited 2013 Mar 10];27(9):1099–103. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22674458>
416. Leussink VI, Hussein L, Warnke C, Broussalis E, Hartung H-P, Kieseier BC. Symptomatic therapy in multiple sclerosis: the role of cannabinoids in treating spasticity. *Therapeutic advances in neurological disorders*

- [Internet]. 2012 Sep [cited 2013 Apr 3];5(5):255–66. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3437528&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
417. Novotna A, Mares J, Ratcliffe S, Novakova I, Vachova M, Zapletalova O, et al. A randomized, double-blind, placebo-controlled, parallel-group, enriched-design study of nabiximols\* (Sativex®), as add-on therapy, in subjects with refractory spasticity caused by multiple sclerosis. *European journal of neurology : the official journal of the European Federation of Neurological Societies* [Internet]. 2011 Sep [cited 2012 Jan 22];18(9):1122–31. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21362108>
418. Wang T, Collet J-P, Shapiro S, Ware MA. Adverse effects of medical cannabinoids: a systematic review. *CMAJ : Canadian Medical Association journal = journal de l'Association medicale canadienne* [Internet]. 2008 Jun 17 [cited 2013 Apr 3];178(13):1669–78. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2413308&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
419. Wade DT, Makela PM, House H, Bateman C, Robson P. Long-term use of a cannabis-based medicine in the treatment of spasticity and other symptoms in multiple sclerosis. *Multiple sclerosis (Houndmills, Basingstoke, England)* [Internet]. 2006 Oct [cited 2013 Apr 3];12(5):639–45. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17086911>
420. Papathanasopoulos P, Messinis L, Lyros E, Kastellakis A, Panagis G. Multiple sclerosis, cannabinoids, and cognition. *The Journal of neuropsychiatry and clinical neurosciences* [Internet]. 2008 Jan [cited 2013 Apr 4];20(1):36–51. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18305283>
421. Robson P. Abuse potential and psychoactive effects of  $\delta$ -9-tetrahydrocannabinol and cannabidiol oromucosal spray (Sativex), a new cannabinoid medicine. *Expert opinion on drug safety* [Internet]. 2011 Sep [cited 2013 Apr 4];10(5):675–85. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21542664>
422. Casarejos MJ, Perucho J, Gomez A, Muñoz MP, Fernandez-Estevez M, Sagredo O, et al. Natural Cannabinoids Improve Dopamine Neurotransmission and Tau and Amyloid Pathology in a Mouse Model of Tauopathy. *Journal of Alzheimer's disease : JAD* [Internet]. 2013 Mar 11 [cited 2013 Apr 5]; Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23478312>
423. De Yébenes JG. TRACK and attack Huntington's disease. *Lancet neurology* [Internet]. 2011 Jan [cited 2013 Apr 7];10(1):21–2. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21130038>
424. Tabrizi SJ, Reilmann R, Roos RAC, Durr A, Leavitt B, Owen G, et al. Potential endpoints for clinical trials in premanifest and early Huntington's disease in the TRACK-HD study: analysis of 24 month observational data. *Lancet neurology* [Internet]. 2012 Jan [cited 2013 Mar 10];11(1):42–53. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22137354>
425. Kieburtz K, Venuto C. TRACK-HD: both promise and disappointment. *Lancet neurology* [Internet]. 2012 Jan [cited 2013 Apr 7];11(1):24–5. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22137355>