

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 373 540**

51 Int. Cl.:
A61K 31/4015 (2006.01)
G09B 3/00 (2006.01)
G09B 5/00 (2006.01)
G09B 7/00 (2006.01)
G09B 9/00 (2006.01)
A61P 25/28 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **01963877 .4**
96 Fecha de presentación: **10.08.2001**
97 Número de publicación de la solicitud: **1355669**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **29.10.2003**

54 Título: **ENTRENAMIENTO COGNITIVO AUMENTADO.**

30 Prioridad:
10.08.2000 US 224227 P

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
06.02.2012

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
06.02.2012

73 Titular/es:
**COLD SPRING HARBOR LABORATORY
1 BUNGTOWN ROAD
COLD SPRING HARBOR, NY 11724, US**

72 Inventor/es:
**TULLY, Timothy, P. y
CAVALIERI, Filippo**

74 Agente: **Carpintero López, Mario**

ES 2 373 540 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Entrenamiento cognitivo aumentado

Antecedentes de la invención

5 Aproximadamente de 4 a 5 millones de americanos (aproximadamente 2 % de todas las edades y 15 % de los mayores de 65 años de edad) tienen alguna forma y grado de insuficiencia cognitiva. La insuficiencia cognitiva (disfunción o pérdida de funciones cognitivas, el procedimiento por el que se adquiere, conserva y usa el conocimiento) habitualmente se produce en asociación con trastornos o afecciones del sistema nervioso central (SNC), incluyendo deterioro de la memoria asociado con la edad, delirio (en ocasiones denominado estado de confusión agudo), demencia (en ocasiones clasificada como de tipo Alzheimer o no Alzheimer), enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Parkinson, enfermedad de Huntington (corea), enfermedad cerebrovascular (por ejemplo, apoplejía, isquemia), trastornos afectivos (por ejemplo, depresión), trastornos psicóticos (por ejemplo, esquizofrenia, autismo (síndrome de Kanner)), trastornos neuróticos (por ejemplo, ansiedad, trastorno obsesivo-compulsivo), trastorno de déficit de atención (ADD), hematoma subdural, hidrocefalia de presión normal, tumor cerebral, traumatismo craneal o cerebral.

15 La disfunción cognitiva se manifiesta típicamente por uno o más déficits cognitivos, que incluyen deterioro de la memoria (capacidad deteriorada para aprender nueva información o para recordar información previamente aprendida), afasia (alteración del lenguaje/habla), apraxia (capacidad deteriorada para llevar a cabo actividades motoras a pesar de una función motora intacta), agnosia (incapacidad de reconocer o identificar objetos a pesar de función sensorial intacta), alteración en el funcionamiento ejecutivo (es decir, planear, organizar, secuenciar, abstraer).

20 La disfunción cognitiva provoca deterioro significativo del funcionamiento social y/u ocupacional, que puede interferir con la capacidad de un individuo para desarrollar actividades de la vida diaria y tiene un impacto importante en la autonomía y calidad de vida del individuo.

25 Generalmente se emplean protocolos de entrenamiento cognitivo en la rehabilitación de individuos que tienen alguna forma y grado de disfunción cognitiva. Por ejemplo, se emplean habitualmente protocolos de entrenamiento cognitivo en la rehabilitación de apoplejía y rehabilitación de pérdida de memoria relacionada con la edad. Debido a que con frecuencia se requieren sesiones de entrenamiento múltiples antes de obtenerse una mejora o potenciación de un aspecto específico del rendimiento cognitivo (capacidad o función) en los individuos, con frecuencia los protocolos de entrenamiento cognitivo son muy caros y consumen mucho tiempo.

30 **Sumario de la invención**

La presente invención se refiere al uso de un agente de aumento de acuerdo con la reivindicación 1 que implica una nueva metodología, también denominada en el presente documento entrenamiento cognitivo aumentado (ACT), que puede rehabilitar pérdida de función dependiente de traumatismo de forma más eficaz que cualquier procedimiento actual. ACT puede aplicarse para cualquier aspecto de la función cerebral que muestre una mejora del rendimiento duradera después de entrenamiento cognitivo. En consecuencia, ACT puede usarse en la rehabilitación de un animal con pérdida de función dependiente de traumatismo.

ACT también puede usarse para ejercitar circuitos neuronales apropiados para ajustar las conexiones sinápticas de células madre trasplantadas de nueva adquisición que se diferencian a neuronas.

40 Como se describe en el presente documento, ACT comprende dos partes indivisibles: (1) un protocolo de entrenamiento específico para cada función cerebral (cognitiva) y (2) administración de fármacos potenciadores de la ruta de la proteína de unión al elemento de respuesta a AMP cíclico (CREB). Esta combinación puede aumentar el entrenamiento cognitivo reduciendo el número de sesiones de entrenamiento requerido para producir un aumento del rendimiento en relación con el obtenido con entrenamiento cognitivo solamente o requiriendo intervalos de descanso más cortos o ninguno entre sesiones de entrenamiento para producir un aumento del rendimiento. Esta combinación también puede aumentar el entrenamiento cognitivo reduciendo la duración y/o número de sesiones de entrenamiento requeridas para la inducción en un circuito o circuitos neuronales específicos de un patrón de actividad neuronal o reduciendo la duración y/o número de sesiones de entrenamiento o patrón subyacente de actividad neuronal requerido para inducir un cambio funcional/estructural a largo plazo dependiente de CREB (es decir, de larga duración) entre conexiones sinápticas del circuito neuronal. De esta manera, ACT puede mejorar la eficacia de protocolos de entrenamiento cognitivos existentes, produciendo de este modo un beneficio económico significativo.

45 Por ejemplo, se emplean protocolos de entrenamiento cognitivo en el tratamiento de pacientes con depresión (monopolar) y/o fobias para ayudarles a desaprender respuestas patológicas asociadas con la depresión y/o fobia o fobias y aprender un comportamiento apropiado. La administración de un fármaco potenciador de la ruta de CREB junto con el entrenamiento cognitivo reduce el tiempo y/o número de sesiones de entrenamiento requerido para producir un aumento en el rendimiento en estos pacientes. Como tal, el tratamiento global se consigue en un período más corto de tiempo.

De forma similar, se emplean protocolos de entrenamiento cognitivos en el tratamiento de pacientes con autismo para ayudarles a desaprender respuestas patológicas y para aprender comportamiento apropiado. La administración de un fármaco que potencia la ruta de CREB junto con entrenamiento cognitivo reduce el tiempo y/o número de sesiones de entrenamiento requerido para producir un aumento en el rendimiento en estos pacientes.

5 Se emplean protocolos de entrenamiento cognitivo (por ejemplo, terapia física, procedimientos de bio-retroalimentación) en la rehabilitación de pacientes con apoplejía (rehabilitación de apoplejía), particularmente la rehabilitación de función o funciones motoras-sensoriales deterioradas o perdidas. De acuerdo con la invención, la administración de un agente de aumento como se define en la reivindicación 1, junto con entrenamiento cognitivo reduce el tiempo y/o número de sesiones de entrenamiento requerido para producir un aumento en el rendimiento de
10 estos pacientes. Se espera una recuperación más eficaz y más rápida de la función o funciones cognitivas perdidas como resultado.

Se emplean protocolos de entrenamiento cognitivo (por ejemplo, entrenamiento concentrado, entrenamiento espaciado) en el aprendizaje de un nuevo lenguaje o en el aprendizaje para tocar un nuevo instrumento musical. La administración de un fármaco potenciador de la ruta de CREB junto con el entrenamiento cognitivo reduce el tiempo
15 y/o número de sesiones de entrenamiento requerido para producir un aumento en el rendimiento. Como resultado, se requiere menos práctica (sesiones de entrenamiento) para aprender el nuevo lenguaje o para aprender a tocar el nuevo instrumento musical.

Se emplean protocolos de entrenamiento cognitivo en la mejora del aprendizaje y/o rendimiento en individuos con discapacidades de aprendizaje, lenguaje o lectura. La administración de un fármaco potenciador de la ruta de CREB
20 junto con el entrenamiento cognitivo reduce el tiempo y/o número de sesiones de entrenamiento requerido para producir un aumento en el rendimiento de estos individuos.

Se emplean protocolos de entrenamiento cognitivo para ejercitar circuitos neuronales en individuos para ajustar las conexiones sinápticas de células madre trasplantadas de nueva adquisición que se diferencian a neuronas. La administración de un fármaco potenciador de la ruta de CREB junto con entrenamiento cognitivo reduce el tiempo
25 y/o número de sesiones de entrenamiento requerido para la inducción en un circuito o circuitos neuronales específicos de un patrón de actividad neuronal en estos individuos.

Se emplean protocolos de entrenamiento cognitivo para estimulación repetida de actividad neuronal o un patrón de actividad neuronal que subyace a un circuito o circuitos neuronales específicos en individuos. La administración de un fármaco potenciador de la ruta de CREB junto con entrenamiento cognitivo reduce el tiempo y/o número de
30 sesiones de entrenamiento y/o patrón subyacente de actividad neuronal requerido para inducir cambio funcional/estructural a largo plazo dependiente de CREB (es decir, de larga duración) entre las conexiones sinápticas del circuito neuronal.

Se desvelan procedimientos para potenciar un aspecto específico del rendimiento cognitivo en un animal (particularmente un ser humano u otro mamífero o vertebrado) que lo necesite proporcionados en el presente
35 documento que comprenden (a) administrar al animal un agente de aumento que potencia la función de la ruta de CREB; y (b) entrenar al animal en condiciones suficientes para producir una mejora en la realización de una tarea cognitiva de interés por el animal. Los "agentes de aumento" también se denominan en el presente documento "fármacos potenciadores de la ruta de CREB".

Se proporcionan procedimientos en el presente documento para tratar un déficit cognitivo asociado con un trastorno o una afección del sistema nervioso central (SNC) en un animal que necesite dicho tratamiento que comprende (a) administrar al animal un agente de aumento que potencia la función de la ruta de CREB; y (b) entrenar al animal en condiciones suficientes para producir una mejora en el rendimiento de una tarea cognitiva particular por el animal. Los trastornos y afecciones de SNC incluyen deterioro de la memoria asociado con la edad, enfermedades neurodegenerativas (por ejemplo, enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Parkinson, enfermedad de Huntington
45 (corea), otra demencia senil), enfermedades psiquiátricas (por ejemplo, depresión, esquizofrenia, autismo, trastorno de déficit de atención), pérdida de función dependiente de traumatismo (por ejemplo, enfermedades cerebrovasculares (por ejemplo, apoplejía, isquemia), tumor cerebral, lesión de cabeza o cerebro), defectos genéticos (por ejemplo, síndrome de Rubinstein-Taybi, síndrome de Down) y discapacidades de aprendizaje.

También se proporcionan procedimientos en el presente documento para terapia de un déficit cognitivo asociado con un trastorno o una afección del SNC en un animal que se haya sometido a manipulación de células madre neuronales que comprenden (a) administrar al animal un agente de aumento que potencia la función de la ruta de CREB; y (b) entrenar al animal en condiciones suficientes para estimular o inducir actividad neuronal o un patrón de actividad neuronal en el animal. Por "manipulación de células madre neuronales" se entiende que (1) se transplantan células madre neuronales exógenas en el cerebro o médula espinal de un animal o (2) se estimulan células madre neuronales endógenas o se induce que proliferen en el animal.
50
55

Se proporcionan en el presente documento procedimientos para estimulación repetida de actividad neuronal o un patrón de actividad neuronal, tal como el que subyace a un circuito o circuitos neuronales específicos, en un animal que comprenden (a) administrar al animal un agente de aumento que potencia la función de la ruta de CREB; y (b)

entrenar al animal en condiciones suficientes para estimular o inducir actividad neuronal o un patrón de actividad neuronal en el animal.

Breve descripción del dibujo

La Figura es un diagrama esquemático que ilustra un mecanismo neuronal de plasticidad cerebral, que forma la base neurológica para el entrenamiento cognitivo aumentado. Los protocolos de entrenamiento cognitivo específicos producen cambios (dependientes de la experiencia) en la actividad neuronal de circuitos neuronales subyacentes específicos. Esta actividad neural activa un proceso bioquímico que modula la expresión génica dependiente de CREB. Los efectores corriente debajo de esta cascada de factores de transcripción producen después cambios funcionales y estructurales de larga duración en la conectividad sináptica del circuito (es decir, memoria a largo plazo). Este proceso de modificación sináptica depende de la experiencia está en curso en animales normales y requiere habitualmente múltiples sesiones de entrenamiento para la mayoría de las tareas. El aumento de la ruta de CREB durante el entrenamiento reducirá el número de sesiones de entrenamiento (o acortará el intervalo de descanso entre ellas) requerido para producir los cambios dependientes de la experiencia en la estructura y/o función sináptica.

Descripción detallada de la invención

Para muchas tareas en muchas especies, incluyendo seres humanos, los protocolos de entrenamiento espaciados (en múltiples sesiones de entrenamiento con un intervalo de descanso entre cada una) producen memoria más fuerte de mayor duración que los protocolos de entrenamiento concentrados (múltiples sesiones de entrenamiento sin intervalo de descanso intermedio). Estudios genéticos de comportamiento de aprendizaje olfatorio de Pavlov en *Drosophila* han establecido que el entrenamiento concentrado produce una memoria de larga duración que no obstante se deteriora en al menos cuatro días, no depende de síntesis proteica, no se interrumpe por sobreexpresión de un transgén represor de CREB y se interrumpe en mutantes *radish* (Tully, T. y col., Cell, 79(1):35-47 (1994); y Yin, J.C. y col, Cell, 79(1):49-58 (1994)). Por el contrario, el entrenamiento espaciado produce una memoria de larga duración que persiste durante al menos siete días, es dependiente de síntesis proteica, se interrumpe por sobreexpresión de un transgén represor de CREB y es normal en mutantes *radish* (Tully, T. y col, Cell, 79(1):35-47 (1994); y Yin, J.C. y col, Cell, 79(1):49-58 (1994)). Un día después del entrenamiento espaciado, la retención de memoria se compone de la memoria temprana (ARM) independiente tanto de CREB como de síntesis proteica y la memoria a largo plazo (LTM) dependiente de síntesis proteica y CREB. El entrenamiento concentrado adicional es insuficiente para inducir LTM (Tully, T. y col, Cell, 79(1):35-47 (1994); y Yin, J.C. y col, Cell, 79(1):49-58 (1994)).

Una cantidad creciente de pruebas extiende estos resultados de invertebrados a mamíferos. Por ejemplo, en *Aplysia*, las manipulaciones moleculares de la expresión de CREB, similares a las de moscas, suprimen o potencian (i) LTM de una respuesta electrofisiológica facilitadora en una monosinapsis sensomotora en cultivo celular y (ii) las conexiones sinápticas entre las neuronas motoras y sensoriales que se producen normalmente después de aplicaciones espaciadas del estímulo facilitador (Bartsch, D. y col, Cell, 83(6):979-992 (1995)). En ratas, las inyecciones de oligonucleótidos de ARN antisentido en el hipocampo o la amígdala bloquean la formación de LTM de dos tareas diferentes que dependen de la actividad en estas regiones anatómicas, respectivamente (Guzowski, J.F. y col., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 94(6):2693-2698 (1997); y Lamprecht, R. y col, J Neurosci., 17(21): 8443-8450 (1997)). En ratones, la formación de LTM para tareas tanto implícitas como explícitas es defectuosa en ratones mutantes de CREB (Bourtchuladze, R. y col, Cell, 79(1):59-68 (1994)).

El entrenamiento de ratones transgénicos, que portan un gen indicador dependiente de CRE (beta-galactosidasa), en condicionamiento de miedo contextual dependiente de hipocampo o tareas de evitación pasiva induce expresión de gen indicador dependiente de CRE en las áreas CA1 y CA3 del hipocampo. El entrenamiento de estos ratones en una tarea de acondicionamiento de miedo dependiente de amígdala induce la expresión del gen indicador dependiente de CRE en la amígdala, pero no el hipocampo. Por lo tanto, los protocolos de entrenamiento que inducen la formación de LTM también inducen transcripción del gen dependiente de CRE en áreas anatómicas específicas del cerebro de mamífero (Impey, S. y col, Nat. Neurosci., 1(7):595-601 (1998)).

Con estos modelos animales, se han demostrado tres casos notables de potenciación de LTM. En primer lugar, la sobreexpresión de un transgén activador de CREB anula los requisitos de sesiones de entrenamiento espaciadas múltiples y, en su lugar, induce formación de LTM después de solamente una sesión de entrenamiento (que normalmente produce poca o ninguna retención de memoria 24 horas después (Yin, J.C. y col, Cell, 81(1):107-115 (1995)). En segundo lugar, la inyección de un transgén activador de CREB expresado en virus en amígdala de rata también es suficiente para potenciar la memoria después de entrenamiento concentrado para la respuesta de sobresalto potenciada por miedo, que anula el requisito de un intervalo de descanso en entrenamiento espaciado (Josselyn, S.A. y col, Society for Neuroscience, Vol. 24, Abstract 365.1.0 (1998)). En tercer lugar, la formación de LTM en ratones deficientes en CREB (Bourtchuladze, R. y col, Cell, 79(1):59-68 (1994)) puede formarse normalmente, si los ratones mutantes se someten a un protocolo de entrenamiento espaciado diferente, (Kogan, J.H. y col, Curr. Biol., 7(1):1-11 (1997)).

CREB también aparece implicado en diversas formas de plasticidad de desarrollo y celular en el cerebro de vertebrados. Por ejemplo, la actividad neuronal aumenta la actividad de CREB en el córtex (Moore, A.N. y col., *J. Biol. Chem.*, 271(24): 14214-14220 (1996)). CREB también media la plasticidad de desarrollo en el hipocampo (Murphy, D.D. y col., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 94(4):1482-1487 (1997)), en el córtex somatosensorial (Glazewski, S. y col., *Cereb. Cortex*, 9(3):249-256 (1999)), en el cuerpo estriado (Liu, F.C. y col., *Neuron*, 17(6):1133-1144 (1996)) y en el córtex visual (Pham, T.A. y col., *Neuron*, 22(1):63-72 (1999)).

CREB parece verse afectado en enfermedad neurodegenerativa humana y lesión cerebral. Por ejemplo, la activación y/o expresión de CREB se interrumpe en la enfermedad de Alzheimer (Ikezu, T. y col., *EMBO J.*, 15(10): 2468-2475 (1996); Sato, N. y col., *Biochem. Biophys. Res Commun.*, 232(3):637-642 (1997); y Yamamoto-Sasaki, M. y col., *Brain. Res.*, 824(2):300-303 (1999)). La activación y/o expresión de CREB también se eleva después de ataques o isquemia (Blendy, J.A. y col., *Brain. Res.*, 681(1-2):8-14 (1995); y Tanaka, K. y col., *Neuroreport*, 10(11): 2245-2250 (1999)). El "enriquecimiento ambiental" es neuroprotector, lo que evita la muerte celular actuando a través de CREB (Young, D. y col., *Nat., Med.*, 5(4):448-453 (1999)).

CREB actúa durante la sensibilidad a fármacos y abstinencia. Por ejemplo, CREB se ve afectado por etanol (Pandey, S.C. y col., *Alcohol Clin. Exp. Res.*, 23(9):1425-1434 (1999); Constantinescu, A. y col., *J. Biol. Chem.*, 274(38):26985-26991 (1999); Yang, X. y col., *Alcohol Clin. Exp. Res.*, 22(2):382-390 (1998); Yang, X. y col., *J. Neurochem.*, 70(1):224-232 (1998); y Moore, M.S. y col., *Cell*, 93(6):997-1007 (1998)), por cocaína (Carlezon, W.A., Jr. y col., *Science*, 282(5397):2272-2275 (1998)), por morfina (Widnell, K.L. y col., *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 276(1):306-315 (1996)), por metanfetamina (Muratake, T. y col., *Ann N. Y. Acad. Sci.*, 844:21-26 (1998)) y por cannabinoides (Calandra, B. y col., *Eur. J. Pharmacol.*, 374(3):445-455 (1999); y Herring, A.C. y col., *Biochem. Pharmacol.*, 55(7):1013-1023 (1998)).

Una ruta de transducción de señal que puede estimular la ruta de transcripción CREB/CRE es el sistema regulador de AMPc. De forma coherente con esto, los ratones que carecen de enzimas tanto adenilato ciclasa 1 (AC1) como AC8 no aprenden (Wong S.T. y col., *Neuron*, 23(4):787-798 (1999)). En estos ratones, la administración de forskolina al área CA1 del hipocampo restaura el aprendizaje y la memoria de tareas dependientes del hipocampo. Además, el tratamiento de ratas envejecidas con fármacos que elevan los niveles de AMPc (tales como rolipram y agonistas del receptor D1) alivia una pérdida dependiente de edad de memoria dependiente de hipocampo y potenciación a largo plazo celular (Barad, M. y col., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 95(25):15020-15025 (1998)). Estos últimos datos sugieren que una señalización de AMPc es defectuosa en las ratas envejecidas con deterioro del aprendizaje (Bach, M.E. y col., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 96(9):5280-5285 (1999)).

La presente invención se refiere a un agente de aumento de CREB para su uso en un procedimiento para tratar pérdida de función dependiente de traumatismo como se define en la reivindicación 1. ACT actúa mediante un mecanismo molecular general de plasticidad sináptica, que convierte aparentemente el efecto bioquímico de una experiencia de nueva adquisición en un cambio estructural de larga duración de la sinapsis. ACT puede aplicarse para cualquier aspecto de la función cerebral que muestre un aumento de rendimiento duradero después de entrenamiento cognitivo. En consecuencia, ACT puede usarse en la rehabilitación de un animal con pérdida de función dependiente de traumatismo.

Un grupo creciente de pruebas sugiere que las neuronas continúan proliferando en el cerebro adulto (Arsenijevic, Y. y col., *Exp. Neurol.*, 170:48-62 (2001); Vescovi, A. L. y col., *Biomed. Pharmacother.*, 55:201-205 (2001); Cameron, H. A. y McKay, R. D. J. *Comp. Neurol.*, 435:406-417 (2001); y Geuna, S. y col., *Anat. Rec.*, 265:132-141 (2001)) y que dicha proliferación es en respuesta a diversas experiencias (Nilsson, M. y col., *J. Neurobiol.*, 39:569-578 (1999); Gould, E. y col., *Trends. Cogn. Sci.*, 3:186-192 (1999); Fuchs, E. y Gould, E., *Eur. J. Neurosci.*, 12:2211-2214 (2000); Gould, E. y col., *Biol. Psychiatry*, 48:715-720 (2000); y Gould, E. y col., *Nat. Neurosci.*, 2:260-265 (1999)). En la actualidad se están llevando a cabo estrategias experimentales para transplantar células madre neuronales en cerebro adulto para diversas indicaciones terapéuticas (Kurimoto, Y. y col., *Neurosci. Lett.*, 306:57-60 (2001); Singh, G., *Neuropathology*, 21:110-114 (2001); y Cameron, H. A y McKay, R. D., *Nat. Neurosci.*, 2:894-897 (1999)). Ya se conoce mucho acerca de la neurogénesis en las etapas embrionarias del desarrollo (Saitoe, M. y Tully, T., "Making connections between synaptic and behavioral plasticity in *Drosophila*", en *Toward a Theory of Neuroplasticity*, J. McEachern y C. Shaw, Eds. (Nueva York: Psychology Press.), pág. 193-220 (2000)). La diferenciación neuronal, extensión de neuritas y reconocimiento de diana sináptica inicial parecen producirse todas de una manera independiente de la actividad. La sinaptogénesis y crecimiento sináptico posteriores, sin embargo, requieren por lo tanto actividad neuronal continua para ajustar las conexiones sinápticas de una manera funcionalmente relevante. Estos hallazgos sugieren que la integración funcional (final) de las células madre neuronales trasplantadas requiere actividad neuronal. Por lo tanto, ACT puede usarse para ejercitar circuitos neuronales apropiados para ajustar las conexiones sinápticas de células madre trasplantadas de nueva adquisición que se diferencian en neuronas. Por "circuito o circuitos neuronales apropiados para ejercicio" se entiende la inducción en el circuito o circuitos neuronales apropiados de un patrón de actividad neuronal, que corresponde al producido por un protocolo de entrenamiento cognitivo particular. El protocolo de entrenamiento cognitivo puede usarse para inducir dicha actividad neuronal. Como alternativa, puede inducirse actividad neuronal por estimulación eléctrica directa de la circuitería neuronal. "Actividad neuronal" y "actividad neural" se usan de forma intercambiable en el presente documento. ACT comprende un protocolo de entrenamiento específico para cada función cerebral y una administración general de fármacos potenciadores de la ruta de CREB. El protocolo de entrenamiento (entrenamiento cognitivo) induce

- actividad neuronal en regiones específicas del cerebro y produce rendimiento mejorado de una función (cognitiva) cerebral específica. Los fármacos potenciadores de la ruta de CREB, también denominados en el presente documento agentes de aumento, potencian la función de la ruta de CREB, que se requiere para consolidar información de nueva adquisición en LTM. Por “potenciar la función la ruta de CREB” se entiende la capacidad de
- 5 potenciar o mejorar la expresión génica dependiente de CREB. La expresión génica dependiente de CREB puede potenciarse o mejorarse aumentando la producción de CREB endógena, por ejemplo estimulando directa o indirectamente el gen endógeno para producir cantidades aumentadas de CREB o aumentando CREB funcional (biológicamente activa). Véase, por ejemplo, Patente de Estados Unidos N° 5.929.223; Patente de Estados Unidos N° 6.051.559; y Publicación Internacional N° W09611270 (publicada el 18 de abril de 1996).
- 10 La administración de fármacos potenciadores de la ruta de CREB reduce el entrenamiento necesario para producir un aumento de rendimiento en relación con el producido con entrenamiento solamente. En particular, ACT puede potenciar el entrenamiento cognitivo reduciendo el número de sesiones de entrenamiento requeridas para producir un aumento de rendimiento en relación con el producido con entrenamiento cognitivo solamente o requiriendo intervalos de descanso más cortos o ninguno entre sesiones de entrenamiento para producir un aumento del
- 15 rendimiento. De esta manera, ACT puede mejorar la eficacia de las técnicas de entrenamiento cognitivo, produciendo de este modo un beneficio económico significativo. Por “aumento del rendimiento” se entiende una mejora en un aspecto del rendimiento cognitivo.
- Se desvelan procedimientos para potenciar un aspecto específico del rendimiento cognitivo en un animal (particularmente en un ser humano u otro mamífero o vertebrado) que lo necesite que comprenden (a) administrar al
- 20 animal un agente de aumento que potencie la función de la ruta de CREB; y (b) entrenar al animal en condiciones suficientes para producir una mejora en la realización de una tarea cognitiva particular por el animal.
- El entrenamiento puede comprender una o múltiples sesiones de entrenamiento y es entrenamiento apropiado para producir una mejora en el rendimiento de la tarea cognitiva de interés. Por ejemplo, si se desea una mejora en la adquisición del lenguaje, el entrenamiento se centraría en la adquisición del lenguaje. Si se desea un aumento en la
- 25 capacidad para aprender a tocar un instrumento musical, el entrenamiento se centraría en aprender a tocar el instrumento musical. Si se desea una mejora en una habilidad motora particular, el entrenamiento se centraría en la adquisición de la habilidad motora particular. La tarea cognitiva específica de interés se corresponde con el entrenamiento apropiado.
- También se desvelan procedimientos para estimulación repetida de actividad neuronal o un patrón de actividad neuronal, tal como el subyacente en un circuito o circuitos neuronales específicos, en un animal que comprenden (a)
- 30 administrar al animal un agente de aumento que potencia la función de la ruta de CREB; y (b) entrenar al animal en condiciones suficientes para estimular o inducir actividad neuronal o un patrón de actividad neuronal en el animal. En este caso, el entrenamiento es entrenamiento apropiado para estimular o inducir la actividad neuronal o un patrón de actividad neuronal en el animal.
- 35 Por “múltiples sesiones de entrenamiento” se entiende dos o más sesiones de entrenamiento. El agente de aumento puede administrarse antes, durante o después de una o más de las sesiones de entrenamiento. En una realización particular, el agente de aumento se administra antes y durante cada sesión de entrenamiento. El tratamiento con agente de aumento en relación con cada sesión de entrenamiento también se denomina “tratamiento de aumento”. Por “entrenamiento” se entiende entrenamiento cognitivo.
- 40 Se conocen y están fácilmente disponibles en la técnica protocolos de entrenamiento cognitivo. Véase, por ejemplo, Karni, A. y Sagi, D., “Where practice makes perfect in text discrimination: evidence for primary visual cortex plasticity”, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 88:4966-4970 (1991); Karni, A. y Sagi, D., “The time course of learning a visual skill”, *Nature*, 365:250-252 (1993); Kramer, A.F. y col., “Task coordination and aging: explorations of executive control processes in the task switching paradigm”, *Acta Psychol. (Amst.)*, 101:339-378 (1999); Kramer, A.F. y col.,
- 45 “Training for executive control: Task coordination strategies and aging”, In *Aging and Skilled Performance: Advances In Theory and Applications*, W. Rogers y col., eds. (Hillsdale, N.J.: Erlbaum) (1999); Rider, R.A. y Abdulahad, D.T., “Effects of massed versus distributed practice on gross and fine motor proficiency of educable mentally handicapped adolescents”, *Percept. Mot. Skills*, 73:219-224 (1991); Willis, S.L. y Schaie, K.W., “Training the elderly on the ability factors of spatial orientation and inductive reasoning”, *Psychol. Aging*, 1:239-247 (1986); Willis, S.L. y Nesselroade, C.S., “Long-term effects of fluid ability training in old-old age”, *Develop. Psychol.*, 26:905-910 (1990); Wek, S.R. y Husak, W.S., “Distributed and massed practice effects on motor performance and learning of autistic children”, *Percept. Mot. Skills*, 68:107-113 (1989); Verhaehen, P. y col., “Improving memory performance in the aged through mnemonic training: a meta-analytic study”, *Psychol. Aging*, 7:242-251 (1992); Verhaeghen, P. y Salthouse, T.A.,
- 50 “Meta-analyses of age-cognition relations in adulthood: estimates of linear and nonlinear age effects and structural models”, *Psychol. Bull.*, 122:231-249 (1997); Dean, C.M. y col., “Task-related circuit training improves performance of locomotor tasks in chronic stroke: a randomized, controlled pilot trial”, *Arch. Phys. Med. Rehabil.*, 81:409-417 (2000); Greener, J. y col., “Speech and language therapy for aphasia following stroke”, *Cochrane Database Syst. Rev.*, CD000425 (2000); Hummelsheim, H. y Eickhof, C., “Repetitive sensorimotor training for arm and hand in a patient with locked-in syndrome”, *Scand. J. Rehabil. Med.*, 31:250-256 (1999); Johansson, B.B., “Brain plasticity and stroke rehabilitation. The Willis lecture”, *Stroke*, 31:223-230 (2000); Ko Ko, C., “Effectiveness of rehabilitation for multiple sclerosis”, *Clin. Rehabil.*, 13 (Suppl. 1):33-41 (1999); Lange, G. y col., “Organizational strategy influence on visual
- 60

memory performance after stroke: cortical/subcortical and left/right hemisphere contrasts”, Arch. Phys. Med. Rehabil., 81:89-94 (2000); Liepert, J. y col., “Treatment-induced cortical reorganization after stroke in humans”, Stroke, 31:1210-1216 (2000); Lotery, A.J. y col., “Correctable visual impairment in stroke rehabilitation patients”, Age Ageing, 29:221-222 (2000); Majid, M.J. y col., “Cognitive rehabilitation for memory deficits following stroke” (Cochrane review), Cochrane Database Syst. Rev., CD002293 (2000); Merzenich, M. y col., “Cortical plasticity underlying perceptual, motor, and cognitive skill development: implications for neurorehabilitation”, Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol., 61:1-8 (1996); Merzenich, M.M. y col., “Temporal processing deficits of language-learning impaired children ameliorated by training”, Science, 271: 77-81 (1996); Murphy, E., “Stroke rehabilitation”, J. R. Coll. Physicians Lond., 33:466-468 (1999); Nagarajan, S.S. y col., “Speech modifications algorithms used for training language learning-impaired children”, IEEE Trans. Rehabil. Eng., 6:257-268. (1998); Oddone, E. y col., “Quality Enhancement Research Initiative in stroke: prevention, treatment, and rehabilitation”, Med Care 38: 192-1104 (2000); Rice-Oxley, M. y Turner-Stokes, L., “Effectiveness of brain injury rehabilitation”, Clin. Rehabil., 13 (Supl 1):7-24 (1999); Tallal, P. y col., “Language learning impairments: integrating basic science, technology, and remediation”, Exp. Brain Res., 123:210-219 (1998); Tallal, P. y col., “Language comprehension in language-learning impaired children improved with acoustically modified speech”, Science, 271:81-84 (1996), cuyas referencias se incorporan en el presente documento en su totalidad por referencia.

Como se usa en el presente documento, el término “animal” incluye mamíferos, así como otros animales vertebrados e invertebrados (por ejemplo, aves, peces, reptiles, insectos (por ejemplo, especies de *Drosophila*), moluscos (por ejemplo, *Aplysia*). El término “mamífero”, como se usa en el presente documento, se refiere a cualquier animal vertebrado, incluyendo monotremas, marsupiales y placentarios, que amamantan a sus crías y paren crías vivas (mamíferos placentarios o euterios) o ponen huevos (mamíferos no placentarios o metaterios). Los ejemplos de especies mamíferas incluyen seres humanos y primates (por ejemplos, monos, chimpancés), roedores (por ejemplo, ratas, ratones, cobayas) y rumiantes (por ejemplo, vacas, cerdos, caballos).

El animal puede ser un animal con alguna forma y grado de disfunción cognitiva o un animal con rendimiento cognitivo normal (es decir, un animal sin ninguna forma de insuficiencia cognitiva (disfunción o pérdida de cualquier función cognitiva)).

La disfunción cognitiva, habitualmente asociada con disfunción cerebral y trastornos o afecciones del sistema nervioso central (SNC), surge debido a herencia, enfermedad, lesión y/o edad. Los trastornos y afecciones del SNC asociados con alguna forma y grado de insuficiencia cognitiva (disfunción) incluyen, pero sin limitación, lo siguiente:

- 1) deterioro de la memoria asociado con la edad;
- 2) trastornos neurodegenerativos, tales como delirio (estado de confusión aguda); demencia, incluyendo enfermedad de Alzheimer y demencias de tipo no Alzheimer, tales como, pero sin limitación, demencia de cuerpos de Lewy, demencia vascular, demencia de Binswanger (encefalopatía arteriosclerótica subcortical), demencias asociadas con enfermedad de Parkinson, parálisis supranuclear progresiva, enfermedad de Huntington (corea), enfermedad de Pick, hidrocefalia de presión normal, enfermedad de Creutzfeldt-Jakob, enfermedad de Gerstmann-Sträussler-Scheinker, neurosífilis (paresia general) o infección por VIH, síndrome de demencia del lóbulo frontal, demencias asociadas con traumatismo craneal, incluyendo demencia pugilística, traumatismo cerebral, hematoma subdural, tumor cerebral, hipotiroidismo, deficiencia de vitamina B₁₂, radiación intracraneal; otros trastornos neurodegenerativos;
- 3) trastornos psiquiátricos, incluyendo trastornos afectivos (trastornos anímicos), tales como, pero sin limitación, depresión, incluyendo pseudodemencia depresiva; trastornos psicóticos, tales como, pero sin limitación, esquizofrenia y autismo (síndrome de Kanner); trastornos neuróticos, tales como, pero sin limitación, ansiedad y trastorno obsesivo compulsivo; trastorno de déficit de atención;
- 4) pérdida de función cognitiva dependiente de traumatismo, tal como, pero sin limitación, la asociada con (debido a), enfermedades cerebrovasculares, incluyendo apoplejía e isquemia, incluyendo apoplejía isquémica; traumatismo cerebral, incluyendo hematoma subdural y tumor cerebral; lesión de cabeza;
- 5) trastornos asociados con alguna forma y grado de disfunción cognitiva que surge debido a un defecto genético, tal como, pero sin limitación, síndrome de Rubinstein-Taybi y síndrome de Down;
- 6) discapacidades de aprendizaje, lenguaje o lectura, particularmente en niños. Por “discapacidades de aprendizaje” se entiende trastornos de los procesos psicológicos básicos que afectan la forma en que un individuo aprende. Las discapacidades de aprendizaje pueden provocar dificultades en escuchar, pensar, hablar, leer, escribir, deletrear, aritmética o combinaciones de cualquiera de las anteriores. Las discapacidades de aprendizaje incluyen minusvalías perceptuales, dislexia y afasia del desarrollo.

Las expresiones “rendimiento cognitivo” y “función cognitiva” son términos reconocidos en la técnica y se usan en el presente documento de acuerdo con sus significados aceptados en la técnica. Por “tarea cognitiva” se entiende una función cognitiva. Las funciones cognitivas incluyen adquisición de memoria, diferenciación visual, diferenciación auditiva, funcionamiento ejecutivo, aprendizaje de habilidades motoras, razonamiento abstracto, capacidad espacial, habilidades de habla y lenguaje y adquisición del lenguaje. Por “potenciar un aspecto específico del rendimiento cognitivo” se entiende la capacidad para potenciar o mejorar una función cognitiva o cerebral específica, tal como, por ejemplo, la adquisición de memoria o la realización de una tarea aprendida. Por “mejora en el rendimiento de una tarea cognitiva particular” se entiende una mejora en el rendimiento de una tarea cognitiva específica o aspecto de la función cerebral en relación con el rendimiento antes del entrenamiento. Por ejemplo si, después de una apoplejía, un paciente solamente puede mover su dedo del pie, una mejora en el rendimiento (aumento de

rendimiento) en el paciente sería la capacidad de caminar, por ejemplo.

5 Se desvelan procedimientos para tratar un déficit cognitivo asociado con un trastorno o afección del SNC en un animal (particularmente en un ser humano u otro mamífero o vertebrado) que necesite dicho tratamiento que comprenden (a) administrar al animal un agente de aumento que potencia la función de la ruta de CREB; y (b) entrenar al animal en condiciones suficientes para producir una mejora en la realización de una tarea cognitiva particular por el animal.

10 Se desvela un procedimiento para tratar un déficit cognitivo asociado con deterioro de la memoria asociado con la edad en un animal que necesite dicho tratamiento que comprende (a) administrar al animal un agente de aumento que potencia la función de la ruta de CREB; y (b) entrenar al animal en condiciones suficientes para producir una mejora en la realización por el animal de una tarea cognitiva cuya pérdida se asocia con deterioro de la memoria asociado con la edad.

15 Se desvela un procedimiento para tratar un déficit cognitivo asociado con una enfermedad neurodegenerativa (por ejemplo, enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Parkinson, enfermedad de Huntington, otra demencia senil) en un animal que necesite dicho tratamiento que comprende (a) administrar al animal un agente de aumento que potencia la función de la ruta de CREB; y (b) entrenar al animal en condiciones suficientes para producir una mejora en la realización por el animal de una tarea cognitiva, cuyo déficit se asocia con la enfermedad neurodegenerativa.

20 Se desvela un procedimiento para tratar un déficit cognitivo asociado con una enfermedad psiquiátrica (por ejemplo, depresión, esquizofrenia, autismo, trastorno de déficit de atención) en un animal que necesite dicho tratamiento que comprende (a) administrar al animal un agente de aumento que potencia la función de la ruta de CREB; y (b) entrenar al animal en condiciones suficientes para producir una mejora en la realización por el animal de una tarea cognitiva cuyo déficit está asociado con la enfermedad psiquiátrica.

25 La invención se refiere a un agente de aumento para su uso en un procedimiento para tratar un déficit cognitivo asociado con pérdida de función cognitiva dependiente de traumatismo (por ejemplo, enfermedades cerebrovasculares (por ejemplo, apoplejía, isquemia), tumor cerebral, lesión de cabeza o cerebro) en un animal que necesite dicho tratamiento que comprende (a) administrar al animal un agente de aumento que potencia la función de la ruta de CREB; y (b) entrenar al animal en condiciones suficientes para producir una mejora en la realización por el animal de una tarea cognitiva cuyo déficit está asociado con pérdida de función cognitiva dependiente de traumatismo.

30 Se desvela un procedimiento para tratar un déficit cognitivo asociado con un defecto genético (por ejemplo, síndrome de Rubinstein-Taybi, síndrome de Down) en un animal que necesite dicho tratamiento que comprende (a) administrar al animal un agente de aumento que potencia la función de la ruta de CREB; y (b) entrenar al animal en condiciones suficientes para producir una mejora en la realización por el animal de una tarea cognitiva cuyo déficit está asociado con un defecto genético.

35 Se desvelan procedimientos de terapia de un déficit cognitivo asociado con un trastorno o afección del SNC en un animal que se ha sometido a manipulación de células madre neuronales que comprenden (a) administrar al animal un agente de aumento que potencia la función de la ruta de CREB; y (b) entrenar al animal en condiciones suficientes para estimular o inducir actividad neuronal o un patrón de actividad neuronal en el animal. Por "manipulación de células madre neuronales" se entiende que (1) se trasplantan células madre neuronales exógenas en el cerebro o médula espinal de un animal o (2) se estimulan células madre neuronales endógenas o se induce su proliferación en el animal. Se conocen y están fácilmente disponibles en la técnica procedimientos para trasplantar células madre neuronales en el cerebro o médula espinal de un animal (véase, por ejemplo, Cameron, H. A. y McKay, R. D., *Nat. Neurosci.*, 2:894-897 (1999); Kurimoto, Y. y col., *Neurosci. Lett.*, 306:57-60 (2001); y Singh, G., *Neuropathology*, 21:110-114 (2001)). Se conocen y están fácilmente disponibles en la técnica procedimientos para estimular o inducir la proliferación de células madre neuronales endógenas en un animal (véase, por ejemplo, Gould, y col., *Trends Cogn. Sci*" 3:186-192 (1999); Gould, E. y col., *Biol. Psychiatry*, 48:715-20 (2000); Nilsson, M. y col., *J. Neurobiol.*, 39:569-578 (1999); Fuchs, E. y Gould, E., *Eur. J. Neurosci.*, 12:2211-2214 (2000); y Gould, E. y col., *Nat. Neurosci.*, 2:260-265 (1999)). Los procedimientos particulares de trasplantar células madre neuronales en el cerebro o médula espinal de un animal y los procedimientos particulares para estimular o inducir la proliferación de células madre neuronales endógenas en un animal no son críticos para la práctica de la invención.

50 Se desvelan procedimientos para mejorar o potenciar el aprendizaje y/o rendimiento en un animal con una discapacidad de aprendizaje, lenguaje o lectura o combinaciones de cualquiera de los anteriores, que comprenden (a) administrar al animal un agente de aumento que potencia la función de la ruta de CREB; y (b) entrenar al animal en condiciones suficientes para producir una mejora en la realización por el animal de una tarea cognitiva asociada con la discapacidad en rendimiento de aprendizaje, lenguaje o lectura.

55 Los agentes de aumento, como se usa en el presente documento, son compuestos con actividad farmacológica e incluyen fármacos, compuestos químicos, compuestos iónicos, compuestos orgánicos, ligandos orgánicos, incluyendo cofactores, sacáridos, péptidos recombinantes y sintéticos, proteínas, peptoides, secuencias de ácido nucleico, incluyendo genes, productos de ácido nucleico y otras moléculas y composiciones.

De acuerdo con la invención los agentes de aumento son inhibidores de las fosfodiesterasas responsables de la rotura de AMPc (por ejemplo, rolipram (que inhibe la fosfodiesterasa 4)).

Las secuencias de ácido nucleico se definen en el presente documento como heteropolímeros de moléculas de ácido nucleico. Las moléculas de ácido nucleico pueden ser bicatenarias o monocatenarias y pueden ser una molécula de desoxirribonucleótidos (ADN), tal como ADNc o ADN genómico o una molécula de ribonucleótidos (ARN). Como tal, la secuencia de ácido nucleico puede, por ejemplo, incluir uno o más exones, con o sin, según sea apropiado, intrones, así como una o más secuencias de control adecuadas. En un ejemplo, la molécula de ácido nucleico contiene una fase de lectura abierta sencilla que codifica un producto de ácido nucleico deseado. La secuencia de ácido nucleico está "ligada operativamente" a un promotor adecuado.

Una secuencia de ácido nucleico que codificar una proteína CREB deseada, análogo de CREB (incluyendo CREM, ATF-1), molécula de tipo CREB, fragmento de CREB biológicamente activo, proteína de fusión de CREB o modulador de función de CREB puede aislarse de la naturaleza, modificarse a partir de secuencias nativas o fabricarse de novo, como se describe en, por ejemplo, Ausubel y col., *Current Protocols in Molecular Biology*, John Wiley & Sons, Nueva York (1998); y Sambrook y col., *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, 2ª edición, Cold Spring Harbor University Press, Nueva York. (1989). Los ácidos nucleicos pueden aislarse y fusionarse entre sí por procedimientos conocidos en la técnica, tales como explotar y fabricar sitios de clonación o restricción compatibles.

Típicamente, la secuencia de ácido nucleico será un gen que codifica la proteína CREB deseada, análogo de CREB, molécula de tipo CREB, proteína de fusión de CREB o modulador de función de CREB. Dicho gen típicamente se liga operativamente a secuencias de control adecuadas capaces de efectuar la expresión de la proteína CREB o modulador de la función de CREB, preferentemente en el SNC. La expresión "ligado operativamente", como se usa en el presente documento, se define para significar que el gen (o la secuencia de ácido nucleico) se liga a secuencias de control de una manera que permite la expresión del gen (o la secuencia de ácido nucleico). Generalmente, ligado operativamente significa contiguo.

Las secuencias de control incluyen un promotor transcripcional, una secuencia operadora opcional para controlar la transcripción, un ARN mensajero adecuado que codifica una secuencia (ARNm), sitios de unión a ribosoma y secuencias que controlan la terminación de la transcripción y traducción. En una realización particular, un gen recombinante (o una secuencia de ácido nucleico) que codifica una proteína CREB, análogo de CREB, molécula de tipo CREB, fragmento de CREB biológicamente activo, proteína de fusión de CREB o modulador de función de CREB puede colocarse bajo el control regulador de un promotor que puede inducirse o reprimirse, ofreciendo de este modo un mayor grado de control con respecto al nivel del producto.

Como se usa en el presente documento, el término "promotor" se refiere a una secuencia de ADN, habitualmente cadena arriba (5') de la región codificante de un gen estructural, que controla la expresión de la región codificante proporcionando sitios de unión y reconocimiento para ARN polimerasa y otros factores que pueden requerirse para el inicio de la transcripción. Se conocen bien en la técnica promotores adecuados. Los promotores ejemplares incluyen el SV40 y factor de elongación humano (EFI). Otros promotores adecuados están fácilmente disponibles en la técnica (véase, por ejemplo, Ausubel y col., *Current Protocols in Molecular Biology*, John Wiley & Sons, Inc., Nueva York (1998); Sambrook y col., *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, 2ª edición, Cold Spring Harbor University Press, Nueva York (1989); y Patente de Estados Unidos N° 5.681.735).

Los agentes de aumento pueden potenciar la función de la ruta de CREB por una diversidad de mecanismos. Por ejemplo, un agente de aumento puede afectar a una ruta de transducción de señal que conduce a inducción de expresión génica dependiente de CREB. La inducción de expresión génica dependiente de CREB puede conseguirse, por ejemplo, mediante regulación positiva de efectores positivos de la función de CREB y/o regulación negativa de efectores negativos de la función de CREB. Los efectores positivos de la función de CREB incluyen adenilato ciclasas y activadores de CREB. Los efectores negativos de la función de CREB incluyen AMPc fosfodiesterasa (AMPc PDE) y represores de CREB.

Un agente de aumento puede potenciar la función de la ruta de CREB actuando bioquímicamente corriente arriba de o actuando directamente en una forma activadora o represora de una proteína CREB y/o en un complejo de transcripción que contiene proteína CREB. Por ejemplo, la función de la ruta de CREB puede verse afectada por el aumento de los niveles de proteína CREB transcripcionalmente, post-transcripcionalmente o tanto transcripcionalmente como post-transcripcionalmente; alterando la afinidad de la proteína CREB con otros componentes necesarios del complejo de transcripción, tales como, por ejemplo, con la proteína de unión a CREB (proteína CBP); alterando la afinidad de un complejo de transcripción que contiene proteína CREB para elementos sensibles a CREB de ADN en la región promotora; o induciendo inmunidad pasiva o activa a isoformas de proteína CREB. El mecanismo particular por el que un agente de aumento potencia la función de la ruta de CREB no es crítico para la práctica de la invención.

Los agentes de aumento pueden administrarse directamente a un animal de una diversidad de maneras. En una realización preferida, los agentes de aumento se administran sistémicamente. Otras vías de administración se conocen generalmente en la técnica e incluyen intravenosa incluyendo infusión y/o inyección de embolada, por vía intracerebroventricular, intratecal, parenteral, mucosa, de implante, intraperitoneal, oral, intradérmica, transdérmica

(por ejemplo, en polímeros de liberación lenta), intramuscular, subcutánea, tópica, epidural, etc. Otras vías adecuadas de administración también pueden usarse, por ejemplo, para conseguir absorción a través de los revestimientos epitelial o mucocutáneo. También pueden administrarse agentes de aumento particulares por terapia génica, en la que una molécula de ADN que codifica una proteína o péptido terapéutico particular se administra al animal, por ejemplo, mediante un vector, que provoca que la proteína o péptido particular se exprese y secrete a niveles terapéuticos in vivo.

Un vector, como se usa el término en el presente documento, se refiere a un vector de ácido nucleico, por ejemplo, un plásmido de ADN, virus u otro replicón adecuado (por ejemplo, vector viral). Los vectores virales incluyen retrovirus, adenovirus, parvovirus (por ejemplo, virus adeno-asociados), coronavirus, virus de ARN de hebra negativa tales como ortomixovirus (por ejemplo, virus de la gripe), rabdovirus (por ejemplo, virus de la rabia y de estomatitis vesicular), paramixovirus (por ejemplo, sarampión y Sendai), virus de ARN de hebra positiva tales como picornavirus y alfavirus y virus de ADN bicatenario incluyendo adenovirus, herpesvirus (por ejemplo, virus de Herpes Simplex tipos 1 y 2, virus de Epstein-Barr, citomegalovirus) y poxvirus (por ejemplo, vaccinia, viruela aviar y viruela de canarios). Otros virus incluyen virus Norwalk, togavirus, flavivirus, reovirus, papovavirus, hepadnavirus y virus de la hepatitis, por ejemplo. Los ejemplos de retrovirus incluyen: sarcoma-leucosis aviar, virus de tipo B, de tipo C de mamífero, virus de tipo D, grupo HT-LV-BLV, lentivirus, spumavirus (Coffin, J.M., *Retroviridae: The viruses and their replication*, en *Fundamental Virology*, Tercera Edición, B.N. Fields, y col., Eds., Lippincott-Raven Publishers, Filadelfia, 1996) Otros ejemplos incluyen virus de leucemia murina, virus de sarcoma murino, virus de tumor mamario de ratón, virus de leucemia bovina, virus de leucemia felina, virus de sarcoma felino, virus de leucemia aviar, virus de leucemia de linfocitos T humanos, virus endógeno de babuino, virus de leucemia de gibón, virus de mono Mason Pfizer, virus de la inmunodeficiencia de simios, virus de sarcoma de simios, virus de sarcoma de Rous y lentivirus. Otros ejemplos de vectores se describen, por ejemplo, en McVey y col., *Patente de Estados Unidos N° 5.801.030*, las enseñanzas de la cual se incorporan en el presente documento por referencia.

Una secuencia de ácido nucleico que codifica una proteína o péptido (por ejemplo, proteína CREB, análogo de CREB (incluyendo CREM, ATF-1), molécula de tipo CREB, fragmento de CREB biológicamente activo, proteína de fusión de CREB, modulador de función de CREB) puede insertarse en un vector de ácido nucleico de acuerdo con procedimientos generalmente conocidos en la técnica, (véase, por ejemplo, Ausubel y col., Eds., *Current Protocols in Molecular Biology*, John Wiley & Sons, Inc., Nueva York (1998); Sambrook y col., Eds., *Molecular Cloning: A laboratory Manual*, 2ª edición, Cold Spring Harbor University Press, Nueva York (1989)).

El modo de administración es preferentemente en la localización de las células diana. En una realización particular, el modo de administración es a las neuronas.

Los agentes de aumento pueden administrarse junto con otros componentes de agentes biológicamente activos, tales como tensioactivos farmacéuticamente aceptables (por ejemplo, glicéridos), excipientes (por ejemplo, lactosa), estabilizadores, conservantes, humectantes, emolientes, antioxidantes, excipientes, diluyentes y vehículos. Si se desea, también pueden añadirse ciertos agentes edulcorantes, saporíferos y/o colorantes.

Pueden formularse agentes de aumento como una solución, suspensión, emulsión o polvo liofilizado en asociación con un vehículo parenteral farmacéuticamente aceptable. Los ejemplos de tales vehículos son agua, solución salina, solución de Ringer, solución de cloruro sódico isotónica, solución de dextrosa y albúmina de suero humano 5 %. También pueden usarse liposomas y vehículos no acuosos tales como aceites fijos. El vehículo o polvo liofilizado puede contener aditivos que mantienen la isotonicidad (por ejemplo, cloruro sódico, manitol) y estabilidad química (por ejemplo, tampones y conservantes). La formulación puede esterilizarse por técnicas habitualmente usadas. Se describen vehículos farmacéuticos adecuados en *Remington's Pharmaceutical Sciences*.

La dosificación de agente de aumento administrado a un animal es la cantidad requerida para efectuar un cambio en la expresión génica dependiente de CREB, particularmente en neuronas. La dosificación administrada a un animal, incluyendo frecuencia de administración, variará dependiendo de una diversidad de factores, incluyendo características farmacodinámicas del agente de aumento particular, modo y vía de administración; talla, edad, sexo, salud, peso corporal y dieta del receptor, naturaleza y alcance de los síntomas que se tratan o naturaleza y alcance de la función o funciones cognitivas que se potencian o modulan, tipo de tratamiento simultáneo, frecuencia de tratamiento y el efecto deseado.

Los agentes de aumento pueden administrarse en dosis sencillas o divididas (por ejemplo, una serie de dosis separadas por intervalos de días, semanas o meses), o en una forma de liberación prolongada, dependiendo de factores tales como la naturaleza y el alcance de los síntomas, tipo de tratamiento simultáneo y el efecto deseado. Otros regímenes terapéuticos o agentes pueden usarse junto con la presente invención.

REIVINDICACIONES

1. Un agente de aumento de CREB para su uso en un procedimiento para tratar pérdida de función cognitiva del procedimiento dependiente de traumatismo, que comprende:
- 5 a) administrar dicho agente de aumento a un animal que tiene un déficit cognitivo asociado con un trastorno o afección del sistema nervioso central;
- b) proporcionar un protocolo de entrenamiento cognitivo a dicho animal en condiciones suficientes para producir una mejora duradera en la realización por dicho animal de una tarea cognitiva cuyo déficit está asociado con dicho trastorno o afección del sistema nervioso central; y
- 10 aumentar de este modo dicho protocolo de entrenamiento cognitivo reduciendo el número de sesiones de entrenamiento requeridas para producir dicha mejora duradera en el rendimiento en relación con la obtenida con entrenamiento cognitivo solamente;
- en el que dicho agente de aumento es un inhibidor de las fosfodiesterasas responsables de la descomposición del AMPc.
- 15 2. El agente de aumento de CREB para uso de acuerdo con la reivindicación 1, en el que dicho trastorno o afección del sistema nervioso central se selecciona del grupo que consiste en:
- a) una enfermedad cerebrovascular, incluyendo apoplejía o isquemia; y
- b) traumatismo cerebral y traumatismo craneal.
3. El agente de aumento de CREB para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, administrándose dicho agente de aumento antes y durante cada sesión de entrenamiento.
- 20 4. El agente de aumento de CREB para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que dicho procedimiento para tratar un déficit cognitivo es terapia de mamífero, por ejemplo terapia en un ser humano.
5. El agente de aumento de CREB para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, induciendo dicho agente de aumento expresión génica dependiente de CREB.
- 25

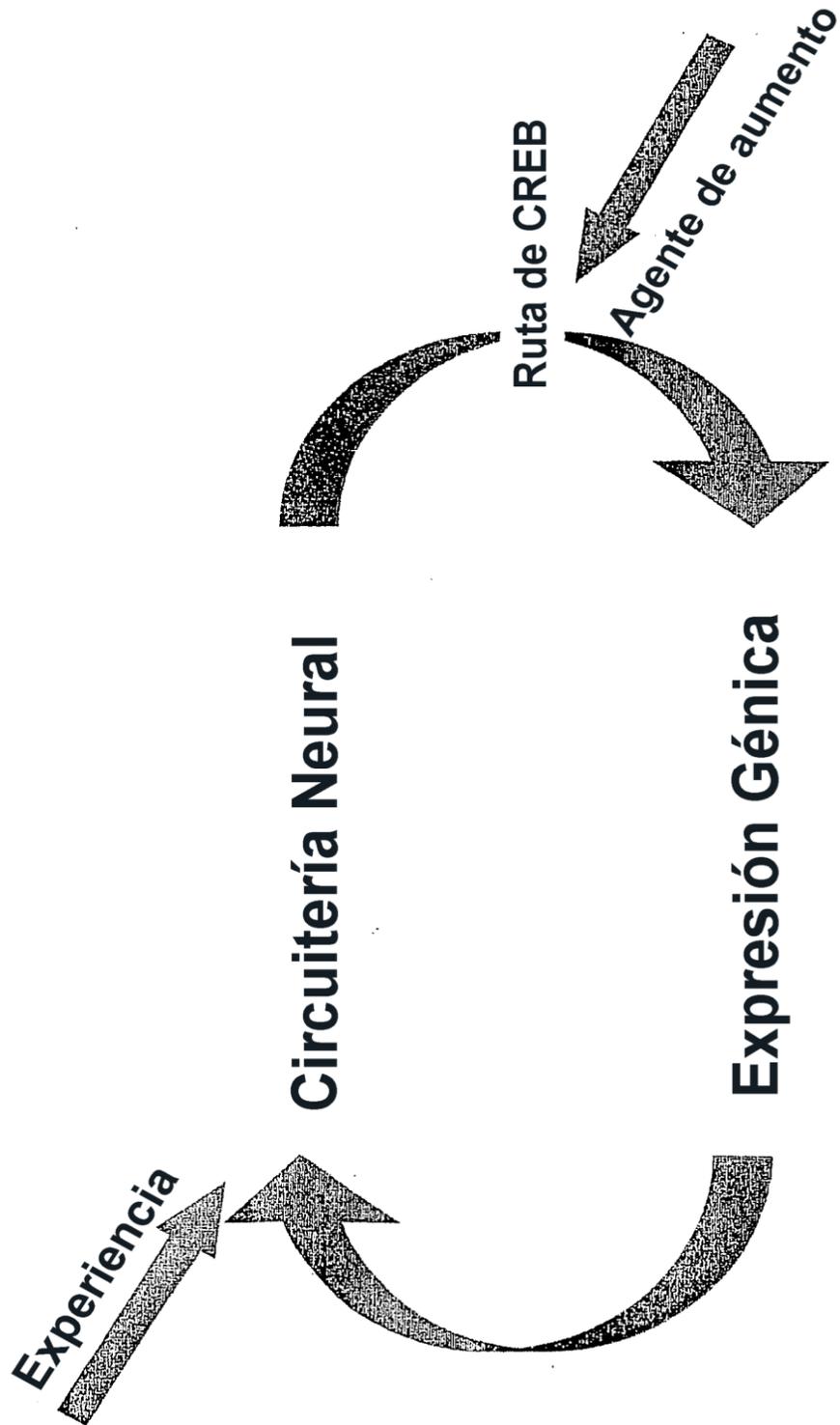


FIGURA 1