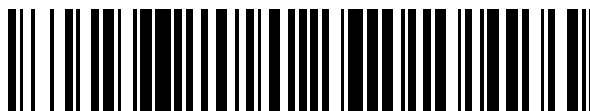


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 617 309**

51 Int. Cl.:

A61K 38/27 (2006.01)
A61K 38/30 (2006.01)
A61K 38/06 (2006.01)
A61K 31/33 (2006.01)
A61K 45/00 (2006.01)
A61K 49/00 (2006.01)
A61P 25/00 (2006.01)
G01N 33/50 (2006.01)
G01N 33/53 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **16.05.2011** **PCT/US2011/000860**
87 Fecha y número de publicación internacional: **24.11.2011** **WO2011146109**
96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **16.05.2011** **E 11783855 (7)**
97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **30.11.2016** **EP 2571515**

54 Título: **Métodos y ensayos de tratamiento de sujetos con eliminación, mutación o expresión reducida de SHANK3**

30 Prioridad:

17.05.2010 US 395775 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
16.06.2017

73 Titular/es:

**ICAHN SCHOOL OF MEDICINE AT MOUNT SINAI
(100.0%)
One Gustave Levy Place
New York, NY 10029-6574, US**

72 Inventor/es:

**BUXBAUM, JOSEPH, D.;
SAKURAI, TAKESHI y
GUNAL, OZLEM**

74 Agente/Representante:

ARIAS SANZ, Juan

ES 2 617 309 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

Métodos y ensayos de tratamiento de sujetos con eliminación, mutación o expresión reducida de SHANK3

5 Referencia cruzada a la solicitud relacionada

La presente solicitud reivindica el beneficio de la solicitud de patente provisional de EE.UU. n.º 61/395.775, presentada el 17 de mayo de 2010, cuyo contenido se incorpora en el presente documento por referencia en su totalidad.

10 Campo de la invención

La presente invención se refiere, en general, a métodos y ensayos para compuestos destinados al tratamiento de sujetos con síndrome de eliminación de 22q13, o eliminación, mutación o expresión reducida de SHANK3.

15 Antecedentes de la invención

A lo largo de la presente solicitud, se hace referencia a diversas publicaciones en forma abreviada. Las citas completas de estas referencias se pueden encontrar al final de la memoria descriptiva. Las divulgaciones de dichas publicaciones se incorporan en el presente documento por referencia en su totalidad en la aplicación en sujetos para describir de manera más completa la técnica a la que pertenece la presente invención.

Síndrome de eliminación de 22q13. El síndrome de eliminación del cromosoma 22q13, también conocido como Síndrome de Phelan-McDermid, se describió por primera vez en informes de casos en los años 90, culminando en una revisión de los 24 casos publicados y 37 casos adicionales realizada por Phelan *et al.* (2001). Los estudios demostraron de manera concluyente que los individuos identificados con el síndrome de eliminación de 22q13 tenían retraso global del desarrollo y ausencia o retraso grave del habla expresiva. Además, la gran mayoría de los casos tenían hipotonía (97 %) con crecimiento normal o acelerado (95 %). El retraso en el desarrollo se asocia con el retraso mental normalmente en un grado de leve a moderado. Otros rasgos, menos universales, incluían las manos grandes (> 75 %), uñas de los pies displásicas (>75 %) y reducción de la transpiración. Las características de comportamiento incluyen la introducción en la boca o masticación de objetos no comestibles (>75 %) y la reducción de la percepción del dolor (>75 %), y el autismo o rasgos autistas. Aproximadamente el 75 % de los individuos diagnosticados del síndrome de eliminación de 22q13 tienen bien una eliminación terminal de 22 q (es decir, una ruptura cromosómica en 22q con la pérdida del segmento distal al romperse) o una eliminación intersticial (es decir, dos roturas dentro del mismo brazo del cromosoma y la pérdida del segmento intermedio). El 25 % restante de los individuos diagnosticados con el síndrome de eliminación de 22q13.3 tuvo eliminaciones debidas a una translocación desequilibrada u otra reorganización estructural, incluyendo el anillo 22.

La hipotonía, el retraso global en el desarrollo y los problemas en el habla en conjunto representan algunos de los hallazgos más uniformes, cada uno en >95 % de todos los pacientes. La hipotonía en los recién nacidos que padecen el síndrome puede estar asociada con un llanto débil, un mal control de la cabeza y dificultades de alimentación que conducen a la falta de crecimiento. En términos de retraso en el desarrollo, además del retraso mental que se ha indicado anteriormente, también hay evidencias de un retraso en los hitos más importantes tales como, por ejemplo, la edad media para darse la vuelta, que es de aproximadamente ocho meses, para gatear, de aproximadamente 16 meses, y para caminar, de aproximadamente tres años. La falta de tono muscular, la falta de equilibrio y la reducción de la fuerza en la parte superior del cuerpo contribuyen a retrasar la edad a la que comienzan a andar y, en última instancia, la marcha suele ser con ampliación del polígono de sustentación e inestable. Por último, aunque los bebés con el síndrome normalmente balbucean a la edad apropiada y los niños pueden adquirir un vocabulario limitado, aproximadamente a los cuatro años de edad, muchos niños tienen déficit significativos en la capacidad para hablar. Con la terapia intensiva, los individuos con el síndrome pueden tener alguna conversación y aumentar su vocabulario. Es interesante señalar que las habilidades de comunicación receptiva son más avanzadas que las habilidades de lenguaje expresivo como lo demuestra la capacidad de los niños afectados para seguir órdenes simples, demostrar sentido del humor y expresar emociones.

Papel de SHANK3 en el síndrome de eliminación de 22q13. Tres líneas de evidencia implicaron a un solo gen, SHANK3 (SH3 y múltiples dominios repetidos de *anquirina* 3, también conocida como la proteína asociada a la sinapsis rica en prolina 2/PROSAP2), en el síndrome de eliminación de 22q13. En primer lugar, un análisis exhaustivo del grado de la eliminación en casos independientes indicó una pequeña región crítica que engloba a SHANK3. Por lo tanto, un análisis de 33 casos con diversas formas de monosomía del cromosoma 22 (incluyendo el anillo 22, que como se ha mencionado anteriormente, es fenotípico de manera similar al síndrome de eliminación) mostró que los 12 con eliminaciones simples tenían eliminaciones de tamaño variable (de 160 kb a 9 Mb), con una región crítica mínima responsable del fenotipo incluyendo SHANK3, ACR y RABL2B (Luciani *et al.*, 2003). Del mismo modo, un análisis de 56 pacientes con el síndrome volvió a demostrar un tamaño muy variable de la eliminación (de 130 kb a 9 Mb), encontrándose la eliminación de SHANK3 en todos los casos ensayados de forma explícita, incluyendo la eliminación más pequeña, englobando la región mínima los tres mismos genes. Sorprendentemente, la gravedad del fenotipo de comportamiento no se correlaciona con el tamaño de la eliminación,

lo que indica que la haploinsuficiencia de solo uno o más de estos tres genes fue principalmente responsable del fenotipo.

La segunda línea de evidencia fue la demostración de un punto de interrupción recurrente en SHANK3, en algunos casos, con el síndrome de eliminación de 22q13. El primer informe de una translocación con un punto de interrupción en SHANK3 asociado con el síndrome de eliminación de 22q13 ya hizo llegar a la conclusión de que es probable que la interrupción de SHANK3 cause el trastorno (Bonaglia *et al.*, 2001). A este grupo, le siguió la identificación de dos casos más (Bonaglia *et al.*, 2006), ambos con un punto de interrupción dentro de la misma unidad de repetición de 15 pb en el gen SHANK3 (que se solapaba con otro punto de interrupción de SHANK3 descrito por Wong *et al.*, 1997). La presencia de interrupciones recurrentes en SHANK3 llevó a la conclusión de que con la interrupción de este gen basta para la generación del síndrome de eliminación de 22q13.

Papel de SHANK3 en los trastornos del espectro autista (TEA). Las mutaciones directamente en SHANK3 que también dan lugar a las características principales del síndrome de eliminación de 22q13 representan la línea final de evidencia. Por lo tanto, si bien se ha reconocido cada vez más que el síndrome de eliminación de 22q13 puede presentarse con TEA y, de hecho, que las eliminaciones de 22q13 están comúnmente asociadas con el TEA en los estudios publicados (Vorstman *et al.*, 2006), tres estudios recientes exploraron una cuestión distinta relativa a si la interrupción de SHANK3 y las mutaciones se pueden encontrar en cohortes con TEA aparentemente idiopático. En el primero de dichos estudios (Durand *et al.*, 2007), se analizó SHANK3 tanto mediante FISH como mediante secuenciación directa en no menos de 227 individuos con TEA. Se identificaron tres variantes. En primer lugar, se identificó un individuo con una eliminación *de novo* de SHANK3; este individuo tenía autismo (en sentido estricto), ausencia de lenguaje y retraso mental moderado. En segundo lugar, se identificó una translocación heredada del padre que dio lugar a una eliminación de la región de 22q13 (incluyendo SHANK3) en una niña con autismo y retraso grave del lenguaje, y una duplicación de la misma región en su hermano con síndrome de Asperger. Finalmente, Durand *et al.* (2007) identificaron dos hermanos con autismo, discapacidad grave del habla y retraso mental grave, que portaban una inserción de una sola base en SHANK3. La inserción, que era de origen materno (probablemente debido a mosaicismo germinal en la madre), dio lugar a un desplazamiento de fase de lectura en el extremo COOH-terminal de la proteína que altera los dominios implicados en Homer, y la unión a la cortactina y el dominio del motivo estéril alfa (SAM) implicado en el montaje de la plataforma de SHANK3. La sobreexpresión de la forma mutante en las neuronas del hipocampo en cultivo no condujo a la localización sináptica de la proteína heteróloga, en contraste con la proteína SHANK3 de tipo silvestre.

En un seguimiento a Durand *et al.* (2007), Moessner *et al.* (2007) examinaron la dosificación tanto de la secuencia como del gen de SHANK3 en 400 individuos con TEA. Se identificaron dos eliminaciones, así como 1 mutación *de novo*. Además, se identificó una eliminación más en dos hermanos de una colección adicional. La mutación, encontrada en una niña con autismo, se traduce en un cambio de Q321R en el dominio de repetición de anquirina del extremo NH2 de SHANK3.

En un tercer estudio, Gauthier *et al.* (2009) secuenciaron SHANK3 en 427 sujetos con TEA, e identificaron una eliminación *de novo* en un sitio de corte y empalme donante intrínico y una variante de cambio de sentido transmitida desde un padre epiléptico.

También se ha informado de una variante del sitio de corte y empalme *de novo* del gen SHANK3 en un paciente con retraso mental y retraso grave del lenguaje (Hamdan *et al.*, 2011). Además, los ratones mutantes SHANK3 muestran comportamientos similares al autismo (Bozdagi *et al.* 2010; Bangash *et al.*, 2011; Peca *et al.*, 2011; Wang *et al.*, 2011).

Sorprendentemente, las mutaciones de SHANK3 también pueden dar lugar a esquizofrenia, incluyendo la esquizofrenia atípica asociada con el retraso mental y/o la aparición temprana como se ha demostrado recientemente por Gauthier *et al.* (2010).

En conjunto, estos estudios apoyan con fuerza un papel para las interrupciones de SHANK3 en el retraso en el desarrollo y el TEA. Claramente, la haploinsuficiencia de SHANK3, ya sea causada por una anomalía cromosómica o por una mutación, puede dar lugar a un fenotipo profundo. Además, aunque la sobreexpresión de SHANK3 puede dar lugar a trastornos del desarrollo (teniendo en cuenta, por ejemplo, el caso con el síndrome de Asperger y tres copias del locus SHANK3 informado en Durand *et al.*, 2007 o el caso de tres copias y el TDAH informado en Moessner *et al.*, 2007).

Función de las proteínas SHANK en la estructura de la sinapsis. La densidad postsináptica (PSD) es una estructura densa de electrones subyacente a la membrana postsináptica en las sinapsis glutamatérgicas del sistema nervioso central (Okabe, 2007). La PSD se encuentra más comúnmente en las espinas dendríticas de las neuronas piramidales del neocórtex y del hipocampo y las células de Purkinje del cerebelo, así como en los ejes dendríticos de los sitios de contacto con las interneuronas en el neocórtex y el hipocampo, así como las neuronas motoras de la médula espinal. Como tal, la PSD representa un orgánulo fundamental para la transmisión glutamatérgica. Se ha demostrado que las proteínas SHANK (incluyendo la SHANK3) son una parte importante de la PSD. Múltiples metodologías analíticas, incluyendo la caracterización de anticuerpos dirigidos contra los preparados de PSD, los

5 rastreos de dos híbridos, la electroforesis en gel y la espectrometría de masas y otras metodologías de proteómica modernas, han situado a las proteínas SHANK en la PSD (revisado en Boeckers, 2006 y Okabe, 2007). Por otra parte, los métodos cuantitativos recientes han estimado que hay aproximadamente 300 moléculas de SHANK individuales en un solo sitio postsináptico, lo que representa algo en el orden del 5 % de las moléculas de proteínas totales y la masa total de proteínas en el sitio (Sugiyama *et al.*, 2005). Como se ha postulado que las proteínas SHANK pueden nuclear el armazón proteico para la PSD, un estudio reciente examinó la capacidad del motivo alfa estéril (SAM) de SHANK3 para formar polímeros por autoasociación (Baron *et al.*, 2006). Al igual que con otros dominios SAM (Qiao y Bowie, 2005), el dominio SAM de SHANK3 era capaz de autoasociarse, dando lugar a grandes láminas de fibras paralelas. Estos estudios apoyan la hipótesis de que las láminas de las proteínas SHANK pueden formar el armazón o la plataforma sobre el que se construye la PSD. Dicho papel para las proteínas SHANK ha hecho que se les denominen "proteínas de armazón maestro" de la PSD.

15 *El interactesoma de las proteínas SHANK.* Con las proteínas SHANK (incluyendo la SHANK3) formando una plataforma molecular en la que se puede construir el complejo proteico de PSD, otras proteínas y complejos de proteínas de la PSD pueden asociarse con la plataforma de SHANK. De los diversos complejos de proteínas asociados con las sinapsis glutamatérgicas, existe una buena evidencia de que el complejo de receptor de NMDA (NRC), el complejo de receptor de glutamato metabotrópico (mGC) y el complejo de receptor de AMPA (ARC) están asociados con la plataforma de SHANK (véase Boeckers, 2006).

20 El NRC (Husi *et al.*, 2000), identificado mediante purificación por afinidad, incluye receptores, proteínas de armazón, proteínas de señalización y proteínas del citoesqueleto. Entre las proteínas de armazón identificadas en el NRC están las proteínas SHANK, y se cree que los receptores de NMDA están anclados a la plataforma de SHANK a través de la mediación de la PSD-95 y SAPAP/GKAP (véase Boeckers, 2006). Así pues, los receptores de NMDA están atados a la membrana postsináptica por la interacción con los dominios PDZ de PSD-95, mientras que el dominio de guanilato quinasa de PSD-95 interactúa con las proteínas SAPAP/GKAP que, a su vez, se unen a las proteínas SHANK.

30 Del mismo modo, mGC está unido a la plataforma SHANK, al menos en parte, a través de Homer. El mGC (Fair *et al.*, 2004), identificado a través del inmunoprecipitado de mGluR5 y moléculas asociadas, incluye las proteínas SHANK y Homer, ambas de las cuales se han asociado previamente con los receptores de glutamato metabotrópicos usando otros métodos. Las proteínas Homer se unen al dominio citoplásmico de los receptores de mGlu (Brakeman *et al.*, 1997) y se asocian con receptores de mGlu - y, por lo tanto, con el mGC - a la plataforma de SHANK (Tu *et al.*, 1999). Como las proteínas SHANK son capaces de unirse al receptor de IP3, esta interacción también enlaza los receptores de mGlu al receptor de IP3 (Sala *et al.*, 2005).

35 Finalmente, los componentes de ARC se unen a la plataforma de SHANK. Hay evidencia de una interacción directa entre el receptor de AMPA de GluR1 y SHANK3 (Uchino *et al.*, 2006). Además, hay evidencia de una interacción indirecta en la que las subunidades de proteína reguladora de AMPA transmembrana (TARP), incluyendo la estargazina, se unen tanto a receptores de AMPA como a PSD-95 (por ejemplo, Bats *et al.*, 2007). La interacción de los receptores de AMPA con PSD-95, a su vez, permite la unión de los receptores de AMPA con la plataforma de SHANK a través de SAPAP/GKAP.

40 Existen importantes interacciones adicionales que implican a la plataforma de SHANK, pero incluso centrándose en estos tres complejos de proteínas, NRC, mGC y ARC, es evidente que las proteínas SHANK participan de manera fundamental en la arquitectura molecular de las sinapsis glutamatérgicas. Por otra parte, como las proteínas SHANK también interactúan con la F-actina (el componente citoesquelético principal de las espinas) a través de la cortactina (Naisbitt *et al.*, 1999) y mecanismos adicionales (véase Boeckers, 2006), es probable que la plataforma de SHANK también participe en la remodelación dinámica de las sinapsis glutamatérgicas en plazos más cortos y más largos (por ejemplo, Hering y Sheng, 2003).

50 *Modulación de la expresión de SHANK3 y de la formación de sinapsis.* La sobreexpresión de SHANK1 conduce a un mayor tamaño de las espinas en neuronas en cultivo (Sala *et al.*, 2001). Este efecto, que podría ser aún mayor con la cotransfección de Homer1, también dio lugar al reclutamiento de Homer, PSD-95 y GKAP en las espinas, junto con los receptores de glutamato, el receptor de IP3 y F-actina y Bassoon, con la mejora de la función sináptica, medida electrofisiológicamente (Sala *et al.*, 2001). Estudios más recientes con SHANK3 apoyan estas conclusiones (Roussignol *et al.*, 2005). Por lo tanto, la introducción de una construcción de ARNip que inhibe la expresión de SHANK3 condujo a la reducción del número de espinas en las neuronas del hipocampo en cultivo. Además, Roussignol *et al.* (2005) demostraron que la introducción de SHANK3 en neuronas cerebelosas espinales fue suficiente para inducir espinas dendríticas funcionales en estas células, que luego expresan receptores de NMDA y AMPA funcionales. En conjunto, estos estudios en células cultivadas apoyan un papel fundamental para las proteínas SHANK en el desarrollo y la función de la PSD.

65 Recientemente, se han descrito ratones homocigotos con desactivación de SHANK1 que mostraban alteraciones en el espesor de PSD y la composición de la proteína PSD, cambios en la morfología de la espina y reducción de la fuerza sináptica glutamatérgica (pero no hay cambios en la potenciación a largo plazo (LTP)) (Hung *et al.* 2008). Estos cambios se asociaron con un aumento en el comportamiento de ansiedad, deficiencias en el dispositivo Rota

Rod, deterioro de la memoria en una tarea de miedo contextual y en la retención en un laberinto radial, pero con un aumento de la adquisición en el laberinto radial, lo que confirma el papel de las proteínas SHANK en la transmisión glutamatérgica y en el comportamiento.

Regulación de la expresión de SHANK3 por metilación. La expresión adecuada de SHANK3 es un elemento importante de formación de espinas y desarrollo del cerebro. La metilación de los genes es un medio importante para la regulación de la expresión. Curiosamente, en un análisis de todo el genoma, se identificó SHANK3 como uno de los varios genes en los que había una clara relación entre el estado de metilación en las islas CpG del gen y la expresión (Ching *et al.*, 2005). Los autores demostraron, que SHANK3 se expresa en el tejido cerebral, en el que el gen está predominantemente desmetilado, y no se expresa en los linfocitos, donde la isla CpG estudiada en el gen de SHANK3 estaba casi completamente metilada.

Al estudio de Ching *et al.* (2005), le siguió un estudio más reciente que se fijaba con mayor detalle en SHANK3, así como en las islas CpG de SHANK1 y SHANK2 (Beri *et al.*, 2007). Los autores identificaron 5 islas CpG en SHANK3 (una que fue identificada por Beri *et al.* (2007) como CpG 4- era la isla CpG estudiada por Ching *et al.*, 2005) y un número equivalente en SHANK1 y SHANK2. Solo SHANK3 demostró la metilación específica del tejido de las islas CpG, con una relación entre la metilación y la expresión específica del tejido. Estos estudios no solo demostraron que la metilación en varias de las islas CpG de SHANK3 se correlacionaban con la expresión de SHANK3, sino también que la modulación de la metilación de SHANK3 en células en cultivo alteraba la expresión de SHANK3. Por lo tanto, el tratamiento de cultivos neuronales primarios con metionina para aumentar la metilación dio lugar a una reducción de la expresión de SHANK3, mientras que el tratamiento de las células HeLa con el agente de desmetilación 5-AdC dio lugar a la reducción de la metilación de SHANK3 y al aumento de la expresión de este gen en estas células, que normalmente no expresan SHANK3. Significativamente, la reducción de la expresión de SHANK3 en neuronas primarias tratadas con metionina se asoció con menores número de espinas dendríticas y con la reducción de la anchura de las espinas, similar a lo observado por este mismo grupo con el tratamiento con ARNip de dichas células (véase lo anterior y Roussignol *et al.*, 2005).

Se ha demostrado que una proporción (0,5-1 %) de los niños diagnosticados con trastornos de autismo o espectro autista tienen eliminaciones, duplicaciones o mutaciones en SHANK3. Mientras que el síndrome de eliminación de 22q13 es relativamente poco frecuente, los trastornos de autismo y espectro autista se producen con una frecuencia de aproximadamente 1 de cada 150 niños. Por esta razón, se puede estimar que al menos 1/15.000-1/30.000 individuos tendrán eliminaciones, duplicaciones o mutaciones en SHANK3 con fenotipos asociados. Esto se traduce en ~10-20.000 individuos solo en EE.UU. con discapacidad de por vida debida a alteraciones en la expresión de SHANK3. Por lo tanto, hay una necesidad imperiosa de tratamientos para pacientes con síndrome de eliminación de 22q13 o mutaciones en SHANK3. La presente invención aborda esta necesidad.

Sumario de la invención

La presente invención proporciona el factor de crecimiento de tipo insulina 1 (IGF-1) o un fragmento de IGF-1 activo, tal como el tripéptido (1-3)IGF-1 para su uso en el tratamiento del síndrome de Phelan-McDermid. En una realización, el fragmento de IGF-1 activo es un análogo de (1-3)IGF-1 seleccionado del grupo que consiste en amida de (1-3)IGF-1, estearato de (1-3)IGF-1, Gly-Pro-D-glutamato, glicina-prolina-treonina (Gly-Pro-Tyr), glicina-ácido glutámico-prolina (Gly-Glu-Pro), ácido glutámico-glicina-prolina (Glu-Gly-Pro) y ácido glutámico-prolina-glicina (Glu-Pro-Gly). En una realización, IGF-1 o el fragmento de IGF-1 activo alivia uno o más de entre hipotonía; ausencia o retraso del habla; aumento de la tolerancia al dolor; uñas de los pies en forma de escamas finas; mala termorregulación; masticación de objetos no comestibles; rechinar de los dientes; comportamientos autistas; interposición lingual; arrancamiento del cabello; aversión a la ropa; marcha con ampliación del polígono de sustentación e inestable. La presente divulgación proporciona métodos de tratamiento de sujetos con el síndrome de eliminación de 22q13 o eliminación de SHANK3, mutación en SHANK3 o reducción de la expresión de SHANK3, que los necesitan, comprendiendo los métodos la administración al sujeto del factor de crecimiento de tipo insulina 1 (IGF-1), un fragmento de IGF-1 activo, incluyendo el tripéptido (1-3)IGF-1 o un análogo del mismo, hormona del crecimiento o una AMPAkina, u otro compuesto que mejore directa o indirectamente la neurotransmisión del glutamato, incluyendo mediante la inhibición de la transmisión de inhibidores (lo más normalmente ácido γ -aminobutírico (GABA)), en una cantidad y de manera eficaz para el tratamiento de un sujeto con el síndrome de eliminación de 22q13, o la eliminación, mutación o reducción de la expresión de SHANK3.

La presente divulgación proporciona además métodos de tratamiento de sujetos con el síndrome de eliminación de 22q13, o la eliminación, mutación o reducción de la expresión de SHANK3 que los necesitan, comprendiendo los métodos la administración al sujeto de un agente que active el receptor de la hormona del crecimiento, o una vía de señalización cadena abajo del mismo, o el receptor del factor de crecimiento de tipo insulina 1 (IGF-1), o una vía de señalización cadena abajo del mismo, o una vía de señalización cadena abajo de (1-3)IGF-1, en una cantidad y de manera eficaz para el tratamiento de un sujeto con el síndrome de eliminación de 22q13, o la eliminación, mutación o reducción de la expresión de SHANK3.

La presente divulgación también proporciona métodos de detección de agentes para el tratamiento de sujetos con el síndrome de eliminación de 22q13, o la eliminación, mutación o reducción de la expresión de SHANK3,

comprendiendo los métodos la determinación de si o no el agente mejora la potenciación a largo plazo o aumenta la transmisión del glutamato, siendo un agente que mejora la potenciación a largo plazo o aumenta la transmisión de glutamato un candidato para el tratamiento de un sujeto con el síndrome de eliminación de 22q13, o la eliminación, mutación o reducción de la expresión de SHANK3, mientras que un agente que no mejora la potenciación a largo plazo ni aumenta la transmisión del glutamato no es un candidato para el tratamiento de un sujeto con el síndrome de eliminación de 22q13, o la eliminación, mutación o reducción de la expresión de SHANK3.

La presente divulgación también proporciona métodos de detección de agentes para el tratamiento de sujetos con el síndrome de eliminación de 22q13, o la eliminación, mutación o reducción de la expresión de SHANK3, comprendiendo los métodos la determinación de si o no el agente activa el receptor de la hormona del crecimiento, o una vía de señalización cadena abajo del mismo, o el receptor del factor de crecimiento de tipo insulina 1 (IGF-1), o una vía de señalización cadena abajo del mismo, o una vía de señalización cadena abajo de (1-3)IGF-1, siendo un agente que active el receptor de la hormona del crecimiento, o una vía de señalización cadena abajo del mismo, o el receptor del factor de crecimiento de tipo insulina 1 (IGF-1), o una vía de señalización cadena abajo del mismo, o una vía de señalización cadena abajo de (1-3)IGF-1, un candidato para el tratamiento de un sujeto con el síndrome de eliminación de 22q13, o la eliminación, mutación o reducción de la expresión de SHANK3, mientras que un agente que no active el receptor de la hormona del crecimiento, o una vía de señalización cadena abajo del mismo, o el receptor del factor de crecimiento de tipo insulina 1 (IGF-1), o una vía de señalización cadena abajo del mismo, o una vía de señalización cadena abajo de (1-3)IGF-1 no es un candidato para el tratamiento de un sujeto con el síndrome de eliminación de 22q13, o la eliminación, mutación o reducción de la expresión de SHANK3.

Breve descripción de las figuras

Figura 1A-1B. La potenciación a largo plazo se ve afectada en heterocigotos para Shank3. Se indujo la potenciación a largo plazo (LTP) bien mediante (B) el estímulo de alta frecuencia (HFS) (4 x 100 Hz, con 5 min de separación) o (A) el estímulo con ráfagas theta (TBS) (10 ráfagas de cuatro impulsos a 100 Hz con 200 ms de separación) en cortes de hipocampo en ratones. En ambas condiciones, la LTP evaluada mediante registros de campo del potencial postsináptico de excitación (EPSP) se vio afectada en los animales heterocigóticos (Het) en comparación con los de tipo silvestre (WT).

Figura 2A-2B. La transmisión sináptica basal se reduce en ratones deficientes en Shank3. Se compararon ratones con una alteración dirigida de una copia del gen Shank3 ("heterocigotos para Shank3") y desactivaciones con controles de la misma camada de tipo silvestre. Tanto la curva de entrada-salida (figura) como la amplitud de las corrientes postsinápticas de excitación en miniatura (EPSC) (no mostradas) de las neuronas piramidales CA1 del hipocampo de heterocigotos para Shank3 son significativamente inferiores a las de los ratones de control, lo que indica una reducción de la transmisión basal debida a un efecto postsináptico. (A) Potencial postsináptico de excitación de campo (fEPSP) frente a la intensidad del estímulo para el tipo silvestre (WT), heterocigotos (Het) y desactivación (KO). (B) Tanto la inducción como el mantenimiento de la LTP se altera en las desactivaciones de SHANK3, lo que indica un fenotipo más grave en los ratones con desactivación. Pendiente de fEPSP frente al tiempo para WT, Het y KO.

Figura 3A-3B. Los heterocigotos para SHANK3 no muestran alteración en la depresión a largo plazo. La depresión a largo plazo se induce bien mediante (A) estímulo de baja frecuencia (LFS, 900 impulsos a 1 Hz; 15 min de duración) o (B) estímulo de baja frecuencia de impulsos emparejados (PP-LFS, 1 Hz durante 20 min; en intervalos de impulsos intermedios de 50 ms), que se sabe que induce la forma dependiente de mGluR de la depresión a largo plazo. N = 3 para cada grupo. N = 3 para cada grupo.

Figura 4A-4B. Reducción en el componente AMPA del fEPSP en los heterocigotos para SHANK3. (A) pendiente de fEPSP frente a la amplitud de la voleana de fibra para el componente NMDA de la neurotransmisión, llevada a cabo en presencia de CNQX, un bloqueador de los receptores de AMPA. (B) pendiente de fEPSP frente a la amplitud de la voleana de fibra para el componente de AMPA de la neurotransmisión, llevada a cabo en presencia de APV, un bloqueador de los receptores de NMDA.

Figura 5A-5C. Efectos del tratamiento con IGF-1 en la potenciación a largo plazo en las sinapsis de la colateral y de CA1 de Schaffer. Se administró (1-3)IGF-1 diariamente a través inyecciones i.p. (0,01 mg/g de peso corporal) partiendo de P13-15 y continuando durante 2 semanas para los registros electrofisiológicos. (A) fEPSP frente al tiempo para Het, Het inyectado con el péptido IGF1 y WT inyectado con el péptido IGF1. N = 4 tanto para los grupos Het como para Het (inyección de péptido IGF1), p = 0,02 en 90 min. (B) fEPSP frente al tiempo para Het (inyección de solución salina, albúmina de suero bovino (BSA) al 0,01 %) y Het ((inyección de péptido IGF1). (C) El tratamiento con péptido (1-3)IGF-1 (mismo protocolo usado en el tratamiento de ratones heterocigóticos) invirtió el deterioro en la LTP en ratones KO Shank3. fEPSP frente al tiempo para KO, KO inyectados con péptido IGF1 (N = 2) y ratones WT.

Figura 6. El tratamiento con IGF1 activa la vía de PI3K-Akt en el hipocampo. PI3K se une a AMPAR y es necesario para mantener la expresión superficial de AMPAR durante la potenciación a largo plazo. La figura muestra el aumento de la fosforilación de Akt (pAkt1) tras el tratamiento con IGF1 en ratones heterocigóticos, en comparación con los ratones que reciben inyección de vehículo (n = 3, p = 0,0366, ensayo t para muestras no relacionadas). Los datos implican a la vía de PI3K-Akt en los efectos beneficiosos de (1-3)IGF-1.

Figura 7. Efecto del tratamiento con IGF-1 en el EPSP de campo en los heterocigotos para Shank3 (Het). Se anestesiaron ratones de dos semanas de vida con una mezcla de ketamina y xilazina. Se administró IGF-1 recombinante (rIGF-1) o solución salina por vía intranasal en intervalos de 48 h para un total de 10 dosis (se

administraron 15 μ l de solución que contenía 60 μ g de IGF-1 o vehículo por ratón durante un período de 10 a 15 min). N = 2.

Figura 8. La ampakina CX1837 restablece la potenciación a largo plazo en ratones heterocigóticos para *Shank3*. Efectos del tratamiento con CX1837 en la potenciación a largo plazo en las sinapsis de la colateral y CA1 de Schaffer en ratones heterocigóticos para *Shank3*. Se administran ampakina CX1837 o vehículo HPCD diariamente a través de inyecciones i.p. (1,5 mg/kg de peso corporal) a partir de las 2 semanas de vida y siguiendo durante 4 semanas para los registros electrofisiológicos.

Figura 9. Efectos del tratamiento con hormona de crecimiento en la potenciación a largo plazo en las sinapsis de la colateral y CA1 de Schaffer en ratones heterocigóticos para *Shank3*. La hormona del crecimiento se administra diariamente a través de inyecciones i.p. (1 mg/kg de peso corporal), partiendo de P13-15 y siguiendo durante 2 semanas para los registros electrofisiológicos. N = 4, $p = 0,05$ en 60 min después de la estimulación de alta frecuencia (HFS).

Figura 10. Efectos del tratamiento con IGF-1 humano recombinante en la potenciación a largo plazo en las sinapsis de la colateral y CA1 de Schaffer en ratones heterocigóticos para *Shank3*. Se administra rhIGF-1 diariamente a través de inyecciones i.p. (120 o 240 μ g/kg de peso corporal) partiendo en P13-15 y siguiendo durante 2 semanas para los registros electrofisiológicos. Las dosis de 240 μ g/kg invirtieron el déficit de LTP.

Descripción detallada de la invención

La presente divulgación proporciona un método de tratamiento de un sujeto con el síndrome de eliminación de 22q13, o la eliminación de SHANK3, mutación en SHANK3 o reducción de la expresión de SHANK3, que lo necesita, comprendiendo el método administrar al sujeto el factor de crecimiento de tipo insulina 1 (IGF-1), un fragmento de IGF-1 activo que comprende el tripéptido (1-3)IGF-1 o un análogo del mismo, hormona del crecimiento o una AMPAkina, u otro compuesto que mejore directa o indirectamente la neurotransmisión del glutamato, incluyendo mediante la inhibición de la transmisión inhibitoria (lo más normalmente GABA), en una cantidad y de manera eficaz para el tratamiento de un sujeto con el síndrome de eliminación de 22q13, o la eliminación, mutación o reducción de la expresión de SHANK3. La reducción de la expresión de SHANK3 se puede deber, por ejemplo, a la metilación anómala del gen que codifica SHANK3.

La presente divulgación proporciona además un método de tratamiento de un sujeto con el síndrome de eliminación de 22q13, o la eliminación, mutación o reducción de la expresión de SHANK3 que lo necesita, comprendiendo el método administrar al sujeto un agente que active el receptor de la hormona del crecimiento, o una vía de señalización cadena abajo del mismo, o el receptor del factor de crecimiento de tipo insulina 1 (IGF-1), o una vía de señalización cadena abajo del mismo, o una vía de señalización cadena abajo de (1-3)IGF-1, en una cantidad y de manera eficaz para el tratamiento de un sujeto con el síndrome de eliminación de 22q13, o la eliminación, mutación o reducción de la expresión de SHANK3. Como se ha descrito en el presente documento, la hormona del crecimiento estimula la producción de IGF-1, y las principales vías de señalización cadena abajo del receptor de IGF-1 son la fosfoinosítido 3-quinasa (PI3K), la proteína quinasa 1 dependiente de la fosfoinosítido 3 (PDK), Akt, diana de mamífero de la rapamicina (mTOR) y vías de la quinasa regulada por señales extracelulares (ERK). Los ejemplos de dichos agentes incluyen la hormona del crecimiento, factor de crecimiento de tipo insulina 1 (IGF-1), el tripéptido (1-3)IGF-1 y análogos de los mismos.

Como se usa en el presente documento, tratar a un sujeto con el síndrome de eliminación de 22q13, o la eliminación de SHANK3, mutación en SHANK3 o reducción de la expresión de SHANK3 significa aliviar un signo o síntoma asociado con el síndrome de eliminación de 22q13, o la eliminación, mutación o reducción de la expresión de SHANK3. El síndrome se caracteriza por hipotonía general, ausencia o retraso en el habla y retrasos globales en el desarrollo. Los individuos con una eliminación de 22q13 o mutación en SHANK3 pueden padecer una variedad de síntomas, con características físicas y de comportamiento leves a muy graves. Los posibles síntomas incluyen, pero sin limitación, ausencia del habla o retraso grave del habla; hipotonía; aumento de la tolerancia al dolor; uñas de los pies en forma de escamas finas; ptosis; mala termorregulación; masticación de objetos no comestibles; rechinar de los dientes; comportamientos autistas; interposición lingual; arrancamiento del cabello; aversión a la ropa; así como otros síntomas físicos y del comportamiento, incluyendo trastornos del espectro autista y esquizofrenia atípica.

La presente divulgación también proporciona un método de detección de agentes para el tratamiento de un sujeto con el síndrome de eliminación de 22q13, o la eliminación, mutación o reducción de la expresión de SHANK3, comprendiendo el método la determinación de si o no el agente de mejora potenciación a largo plazo o aumenta la transmisión de glutamato, en el que un agente que mejora la potenciación a largo plazo o que disminuya la transmisión del glutamato es un candidato para el tratamiento de un sujeto con síndrome 22q 13 de eliminación o eliminación SHANK3, mutación o la reducción de expresión, mientras que un agente que no mejora la potenciación a largo plazo o aumentar la transmisión del glutamato no es un candidato para el tratamiento de un sujeto con el síndrome de eliminación o eliminación 22q13 SHANK3, mutación o reducción de la expresión. El ensayo puede llevarse a cabo, por ejemplo, usando ratones con una interrupción de al menos una copia de SHANK3 (por ejemplo, Shank3 ratones heterocigóticos).

La presente divulgación también proporciona un método, para la detección de agentes para el tratamiento de un sujeto con síndrome 22q13 eliminación o eliminación SHANK3, mutación o reducción de la expresión, comprendiendo el método la determinación de si o no el agente activa el receptor de la hormona del crecimiento, o una vía de señalización cadena abajo del mismo, o el receptor del factor de crecimiento de tipo insulina 1 (IGF-1), o una vía de señalización cadena abajo del mismo, o una vía de señalización cadena abajo de (1-3)IGF-1, siendo un agente que active el receptor de la hormona del crecimiento, o una vía de señalización cadena abajo del mismo, o el receptor del factor de crecimiento de tipo insulina 1 (IGF-1), o una vía de señalización cadena abajo del mismo, o una vía de señalización cadena abajo de (1-3)IGF-1, un candidato para el tratamiento de un sujeto con el síndrome de eliminación de 22q13, o la eliminación, mutación o reducción de la expresión de SHANK3, mientras que un agente que no active el receptor de la hormona del crecimiento, o una vía de señalización cadena abajo del mismo, o el receptor del factor de crecimiento de tipo insulina 1 (IGF-1), o una vía de señalización cadena abajo del mismo, o una vía de señalización cadena abajo de (1-3)IGF-1 no es un candidato para el tratamiento de un sujeto con el síndrome de eliminación de 22q13, o la eliminación, mutación o reducción de la expresión de SHANK3. Las vías de señalización cadena abajo del receptor de IGF-1 incluyen las vías de PI3K, PDK, Akt, mTOR y ERK.

Los ensayos pueden llevarse a cabo, por ejemplo, usando una preparación de cortes cerebrales, tal como una preparación de cortes del hipocampo, tal como, por ejemplo, la que se describe en el presente documento en el apartado de Detalles experimentales. Preferentemente, el corte cerebral es de un animal tal como un ratón, con una interrupción de al menos una copia de SHANK3 (por ejemplo, un ratón heterocigótico para *Shank3*).

La hormona del crecimiento (GH) es una hormona polipeptídica a base de proteína que estimula el crecimiento, y la reproducción y regeneración celular en los seres humanos y en otros animales. La hormona del crecimiento es sintetizada, almacenada y secretada por las células somatotrópicas de la glándula pituitaria anterior. La hormona del crecimiento se usa clínicamente para tratar trastornos del crecimiento en niños y la deficiencia de la hormona del crecimiento en adultos. La hormona del crecimiento estimula la producción de IGF-1. La hormona del crecimiento puede referirse tanto a la hormona natural producida por la hipófisis o a la hormona del crecimiento biosintética para la terapia. La somatotropina se refiere a la hormona del crecimiento producida de forma natural en los animales, mientras que el término somatropina se refiere a la hormona del crecimiento producida mediante tecnología de ADN recombinante. En realizaciones preferidas, la hormona del crecimiento es la hormona del crecimiento humana que tiene la secuencia de aminoácidos (SEQ ID NO: 1) (acceso AAH90045)

1 matgsrtsll lafgllclpw lqegsafpti plsrldnam lrahrilhqla fdtyqefeea

61 yipkeqkysf lqnpqtslcf sesiptpsnr eetqaksnle llrisllliq swlepqvqlr

121 svfanslvyg asdsnvdydl kdleegiql mgrledgspr tgqifkqtys kfdtnshndd

181 allknygllly cfrkdmkve tflrivqcrs vegscgf

o la hormona del crecimiento humana recombinante que tiene la secuencia de aminoácidos (SEQ ID NO: 2)

1 fptiplsrllf dnamlrahl hqlafdyqe feeayipkeq kysflqnpqt slcfsesipt

61 psnreetqk snlellrisl lliqswlepv qlrsvfans lvygasdsnv ydlldleeg

121 iqlmgrled gsptrtgqifk qtyskfdtns hnddallkny glycfrkdm dkvetflriv

181 qcrsvegscg f.

La hormona del crecimiento humana recombinante se encuentra disponible, por ejemplo, en Cell Sciences®, Canton MA (n.º de catálogo CRH200A-C) (SEQ ID NO: 2).

El factor de crecimiento de tipo insulina 1 (IGF-1), también conocido como somatomedina C o factor de crecimiento mecánico, es una proteína que está codificada por el gen *IGF1* en los seres humanos. IGF-1 es una hormona similar en estructura molecular a la insulina. Desempeña un papel importante en el crecimiento infantil y sigue teniendo un efecto anabólico en los adultos. Un análogo sintético de IGF-1, la mecasermina, se usa para el tratamiento de la falta de crecimiento. El IGF-1 es producido principalmente por el hígado como una hormona endocrina, así como en los tejidos diana de una manera paracrina/autocrina. La producción es estimulada por la hormona de crecimiento y se puede retardar por la desnutrición, la insensibilidad a la hormona del crecimiento, la falta de receptores de la hormona del crecimiento o la insuficiencia de los receptores de la hormona de crecimiento posteriores a la vía de señalización cadena abajo, incluyendo SHP2 y STAT5B. En una realización preferida, el IGF-1 es IGF-1 humano recombinante (una proteína de 7,6 kDa) que tiene la secuencia de aminoácidos (SEQ ID NO: 3)

1 gpetlegael vdalqfvcgd rgfyfinkptg ygssrrapq tgivdeccfr scdlrrlemy
61 caplcpaksa.

El tripéptido (1-3)IGF-1 tiene la secuencia de aminoácidos de glicina-prolina-ácido glutámico (Gly-Pro-Glu o GPE) (SEQ ID NO: 4). (1-3)IGF-1 se puede obtener de Bachem (Torrance, CA) como H-Gly-Pro-Glu-OH (n.º de catálogo H-2468). El péptido tiene la ventaja de que puede penetrar la barrera hematoencefálica. Los análogos de (1-3)IGF-1 que se pueden usar incluyen, pero sin limitación, amida de (1-3)IGF-1, estearato de (1-3)IGF-1, Gly-Pro-D-glutamato, glicina-prolina-treonina (Gly-Pro-Thr), glicina-ácido glutámico-prolina (Gly-Glu-Pro), glutámico ácido glicina-prolina (Glu-Gly-Pro) y ácido glutámico-prolina-glicina (Glu-Pro-Gly).

Las AMPAkinas son una clase de compuestos que interactúan fuertemente con receptores de AMPA glutamérgico (ácido α -amino-3-hidroxil-5-metil-4-isoxazolpropiónico). Los receptores de AMPA glutamérgico son receptores transmembrana ionotrópicos de tipo no NMDA para el glutamato que median la transmisión sináptica rápida en el sistema nervioso central (SNC). Hasta la fecha, se han desarrollado cuatro clases estructurales de AMPAkinas: derivados de pirrolidina de fármacos racetam tales como piracetam y aniracetam; serie CX de fármacos que abarcan una selección de estructuras de benzoilpiperidina y benzoilpirrolidina; derivados de benzotiazida tales como ciclotiazida e IDRA-21; y biarilpropilsulfonamidas tales como LY-392.098, LY-404.187, LY-451.646 y LY-503.430. Las AMPAkinas se unen a los receptores de AMPA glutamérgico, impulsando la actividad del glutamato, un neurotransmisor, y facilitando la codificación de la memoria y del aprendizaje. Algunas AMPAkinas pueden aumentar los niveles de factores tróficos tales como el factor neurotrófico derivado del cerebro. Las AMPAkinas preferidas incluyen las AMPAkinas CX (Cortex Pharmaceuticals, Inc., Irvine, California), tales como, por ejemplo, CX-516 (Ampalex), CX-546, CX-614, CX-691 (Farampator), CX-717, CX-701, CX-1739, CX-1763 y CX-1837 (véase, por ejemplo, las patentes de EE.UU. n.º 5.650.409, 5.736.543, 5.985.871, 6.166.008, 6.313.115 y 7.799.913, y las publicaciones de solicitud de patente de EE.UU. n.º 2002/0055508, 2010/0041647, 2010/0173903, 2010/0267728, 2010/02866177 y 2011/0003835, cuyos contenidos se incorporan en el presente documento por referencia).

Los compuestos que potencian directa o indirectamente la neurotransmisión del glutamato, incluyendo, por ejemplo, mediante la inhibición de la transmisión inhibitoria (más normalmente GABA), incluyen, por ejemplo, los inhibidores del transportador de glicina 1 (GLYT1), factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF) y ciclotiazida. La ciclotiazida actúa tanto sobre los receptores de AMPA como los receptores de GABA (A). Los inhibidores de GLYT1 son una clase de compuestos funcionales, e incluyen compuestos que actúan como moduladores e inhibidores alostéricos negativos de receptores de GABA(A). Los inhibidores específicos de GLYT1 incluyen, por ejemplo, los NFPS, Org 24461 y sarcosina.

El IGF-1 interactúa con su receptor (IGF-1R) para iniciar respuestas cadena abajo tales como la proliferación y la diferenciación. El IGF-1R es un receptor transmembrana que es activado por el IGF-1 y por el factor de crecimiento relacionado IGF-2. Pertenecer a la gran clase de receptores de tirosina quinasa, y media los efectos de IGF-1. Los receptores de tirosina quinasa, incluyendo el IGF-1R, median su actividad provocando la adición de un grupo fosfato a determinadas tirosinas en ciertas proteínas dentro de una célula. Esta adición de fosfato induce lo que se denomina cascadas de "señalización celular" - y el resultado habitual de la activación del IGF-1R es la supervivencia y la proliferación en las células competentes en la mitosis y el crecimiento (la hipertrofia) en tejidos tales como el músculo esquelético y el músculo cardíaco. IGF-1R activa varias vías de señalización cadena abajo. Las principales vías de señalización cadena abajo de IGF-1R son las vías PI3K, PDK, Akt, mTOR y ERK.

Las fosfoinosítido 3-quinasas (PI 3-quinasas o PI3K) son una familia de enzimas que participan en las funciones celulares tales como el crecimiento, la proliferación, la diferenciación, la motilidad, la supervivencia y el tráfico intracelular de las células. Las PI3K se encuentran cadena abajo de IGF-1R e interactúan con el IRS (sustrato del receptor de insulina) para regular la absorción de la función celular a través de una serie de fosforilaciones. La familia de las fosfoinosítido 3-quinasas se divide en tres clases diferentes: Clase I, Clase II y Clase III. Las clasificaciones se basan en la estructura primaria, la regulación y la especificidad de sustrato lipídico *in vitro*. La PI3K también se ha implicado en la potenciación a largo plazo (LTP). Las PI3K son necesarias para la supervivencia de los progenitores y oligodendrocitos maduros, y para la supervivencia, la proliferación y la síntesis de proteínas de las células mediadas por IGF-1.

La familia de proteínas AKT, cuyos miembros también se denominan proteínas quinasa B (PKB), desempeña un papel importante en la señalización celular de los mamíferos. En los seres humanos, hay tres genes en la "familia Akt": Akt1, Akt2 y Akt3. Estos genes codifican enzimas que son miembros de la familia de las proteínas quinasa específicas de serina/treonina. Akt1 participa en las vías de supervivencia celular, mediante la inhibición de los procesos de apoptosis. Akt1 también es capaz de inducir vías de síntesis de proteínas y, por lo tanto, es una proteína de señalización clave en las vías celulares que conducen a la hipertrofia del músculo esquelético y al crecimiento tisular general. Akt2 es una importante molécula de señalización en la vía de señalización de la insulina. Se requiere para inducir el transporte de glucosa. Akt puede ser fosforilada por PDK1 y mTORC2. Al lado de los efectores cadena abajo de PI3K, Akt se puede activar de una manera independiente de PI3K. Se requiere Akt2 para la translocación inducida por insulina del transportador de glucosa 4 (GLUT4) a la membrana plasmática. La

glucógeno sintasa quinasa 3 (GSK-3) se podría inhibir tras la fosforilación por Akt, lo que resulta en la potenciación de la síntesis de glucógeno. Los inhibidores de Akt y la expresión de Akt dominante negativa pueden bloquear la síntesis de proteínas estimulada por el IGF-1 en las células progenitoras de oligodendrocitos.

La proteína quinasa 1 dependiente de fosfoinosítido 3 (PDK1) es una proteína que, en seres humanos, está codificada por el gen *PDPK1*, y es una quinasa maestra crucial para la activación de AKT/PKB y muchas otras quinasas AGC, incluyendo PKC, S6K y SGK. Un papel importante de PDK1 se encuentra en las vías de señalización activadas por varios factores de crecimiento y hormonas, incluyendo la señalización de la insulina. La PDK1 funciona cadena abajo de PI3K a través de la interacción de PDK1 con los fosfolípidos de membrana, incluyendo fosfatidilinositoles, fosfatidilinositol (3,4)-bisfosfato y fosfatidilinositol (3,4,5)-trisfosfato. La PI3K regula indirectamente la PDPK1 mediante la fosforilación de los fosfatidilinositoles, lo que, a su vez, genera fosfatidilinositol (3,4)-bisfosfato y fosfatidilinositol (3,4,5)-trisfosfato.

La diana de mamífero de la rapamicina (mTOR), también conocida como diana mecánica de rapamicina o proteína 12 de unión a FK506-proteína asociada a la rapamicina 1 (FRAP1), es una proteína que, en los seres humanos, está codificada por el gen *FRAP1*. mTOR es una proteína quinasa de serina/treonina que regula el crecimiento celular, la proliferación celular, la motilidad celular, la supervivencia celular, la síntesis de proteínas y la transcripción. mTOR integra la entrada de las vías secuencia arriba, incluyendo la insulina, factores de crecimiento (tales como IGF-1 e IGF-2) y mitógenos. mTOR también detecta los niveles de nutrientes y de energía celular y el estado redox.

Las quinasas reguladas por señales extracelulares (ERK) o MAP quinasas clásicas son moléculas de señalización intracelular de proteínas quinasa ampliamente expresadas que participan en funciones incluyendo la regulación de la meiosis, la mitosis y las funciones postmitóticas en las células diferenciadas. Muchos estímulos diferentes, incluyendo factores de crecimiento (tales como IGF-1 e IGF-2), citocinas, infección por virus, ligandos para receptores acoplados a proteínas G heterotriméricas, agentes de transformación y carcinógenos, activan la vía de ERK.

El síndrome de eliminación de 22q13, o la eliminación, mutación o reducción de la expresión de SHANK3 se pueden tratar mediante la administración local o sistémica de IGF-1, péptido o análogo derivado de IGF-1, hormona del crecimiento, AMPAkina, u otro compuesto que mejore directa o indirectamente la neurotransmisión del glutamato, incluyendo mediante la inhibición de la transmisión inhibitoria (más normalmente GABA) u otro agente terapéutico. El tratamiento local puede comprender la inyección intramuscular o intratilar. El tratamiento sistémico puede comprender métodos enterales o intravenosos. El IGF-1, péptido o análogo derivado de IGF-1, hormona del crecimiento, AMPAkina, u otro compuesto que mejore directa o indirectamente la neurotransmisión del glutamato, incluyendo mediante la inhibición de la transmisión inhibitoria (más normalmente GABA) o el agente se pueden administrar en una composición farmacéutica que comprenda el IGF-1, péptido o análogo derivado de IGF-1, hormona del crecimiento, AMPAkina, u otro compuesto que mejore directa o indirectamente la neurotransmisión del glutamato, incluyendo mediante la inhibición de la transmisión inhibitoria (más normalmente GABA) o el agente en un vehículo farmacéuticamente aceptable.

El vehículo farmacéuticamente aceptable debe ser compatible con el IGF-1, péptido o análogo derivado de IGF-1, hormona del crecimiento, AMPAkina, u otro compuesto que mejore directa o indirectamente la neurotransmisión del glutamato, incluyendo mediante la inhibición de la transmisión inhibitoria (más normalmente GABA) o agente, y no perjudicial para el sujeto. Los ejemplos de vehículos farmacéuticos aceptables incluyen carboximetilcelulosa, celulosa cristalina, glicerina, goma árabe, lactosa, estearato de magnesio, metilcelulosa, polvos, solución salina, alginato de sodio, sacarosa, almidón, talco y agua, entre otros. Las formulaciones de la composición farmacéutica se pueden presentar convenientemente en dosis unitarias y se pueden preparar mediante cualquier método conocido en la técnica farmacéutica. Por ejemplo, el IGF-1, péptido o análogo derivado de IGF-1, hormona del crecimiento, AMPAkina, u otro compuesto que mejore directa o indirectamente la neurotransmisión del glutamato, incluyendo mediante la inhibición de la transmisión inhibitoria (más normalmente GABA) o el agente se pueden poner en asociación con un vehículo o diluyente, como una suspensión o solución. Opcionalmente, también se pueden añadir uno o más ingredientes accesorios, tales como tampones, agentes aromatizantes, ingredientes tensioactivos y similares. La elección de los vehículos dependerá del método de administración. La composición farmacéutica se puede formular para la administración mediante cualquier método conocido en la técnica, incluyendo, pero sin limitación, por vía intravenosa y por vía intracraneal.

La cantidad de IGF-1, péptido o análogo derivado de IGF-1, hormona del crecimiento, AMPAkina, u otro compuesto que mejore directa o indirectamente la neurotransmisión del glutamato, incluyendo mediante la inhibición de la transmisión inhibitoria (más normalmente GABA) o el agente terapéuticamente necesario dependerán de la gravedad del síndrome de eliminación de 22q13 o mutación de SHANK3, así como de la forma de administración del IGF-1, péptido o análogo derivado de IGF-1, hormona del crecimiento, AMPAkina, u otro compuesto que mejore directa o indirectamente la neurotransmisión del glutamato, incluyendo mediante la inhibición de la transmisión inhibitoria (más normalmente GABA) o agente. Un experto en la materia puede determinar fácilmente la cantidad y la forma de administración del IGF-1, péptido o análogo derivado de IGF-1, hormona del crecimiento, AMPAkina, u otro compuesto que mejore directa o indirectamente la neurotransmisión del glutamato, incluyendo mediante la inhibición de la transmisión inhibitoria (más normalmente GABA) o agente necesario.

De acuerdo con el método desvelado en el presente documento, el IGF-1, péptido o análogo derivado de IGF-1, hormona del crecimiento, AMPAkina, u otro compuesto que mejore directa o indirectamente la neurotransmisión del glutamato, incluyendo mediante la inhibición de la transmisión inhibitoria (más normalmente GABA) u otro agente terapéutico pueden administrarse a un sujeto mediante cualquier procedimiento conocido, incluyendo, pero sin limitación, la administración oral, la administración parenteral, la administración transdérmica, la administración intranasal y la administración a través de una mini-bomba osmótica.

Para la administración oral, la formulación de IGF-1, péptido o análogo derivado de IGF-1, hormona del crecimiento, AMPAkina, u otro compuesto que mejore directa o indirectamente la neurotransmisión del glutamato, incluyendo mediante la inhibición de la transmisión inhibitoria (más normalmente GABA) u otro agente terapéutico se pueden presentar en forma de cápsulas, comprimidos, polvo, gránulos o en forma de una suspensión. La formulación puede tener aditivos convencionales tales como lactosa, manitol, almidón de maíz o almidón de patata. La formulación también puede presentarse junto con aglutinantes, tales como celulosa cristalina, derivados de celulosa, goma arábiga, almidón de maíz o gelatinas. Además, la formulación puede presentarse con disgregantes tales como almidón de maíz, almidón de patata o carboximetilcelulosa de sodio. La formulación también puede presentarse junto con fosfato cálcico dibásico anhidro o glicolato de almidón sódico. Finalmente, la formulación puede presentarse con lubricantes, tales como talco o estearato de magnesio.

Para una administración parenteral, el IGF-1, péptido o análogo derivado de IGF-1, hormona del crecimiento, AMPAkina, u otro compuesto que mejore directa o indirectamente la neurotransmisión del glutamato, incluyendo mediante la inhibición de la transmisión inhibitoria (más normalmente GABA) u otro agente terapéutico se pueden combinar con una solución acuosa estéril que sea preferentemente isotónica con la sangre del sujeto. Dicha formulación se puede preparar mediante la disolución de un principio activo sólido en agua que contenga sustancias compatibles fisiológicamente, tales como cloruro sódico, glicina y similares, y que tenga un pH tamponado compatible con las condiciones fisiológicas, para producir una solución acuosa, volviendo luego dicha solución estéril. Las formulaciones pueden estar presentes en recipientes monodosis o multidosis, tales como ampollas o viales sellados. La formulación se puede administrar mediante cualquier medio de inyección, incluyendo, sin limitación, epifascial, intraesternal, intravascular, intravenosa, parenquimatosa o subcutánea.

Para la administración transdérmica, el IGF-1, péptido o análogo derivado de IGF-1, hormona del crecimiento, AMPAkina, u otro compuesto que mejore directa o indirectamente la neurotransmisión del glutamato, incluyendo mediante la inhibición de la transmisión inhibitoria (más normalmente GABA) u otro agente se pueden combinar con potenciadores de la penetración en la piel, tales como propilenglicol, polietilenglicol, isopropanol, etanol, ácido oleico, N-metilpirrolidona y similares, que aumentan la permeabilidad de la piel para el IGF-1, péptido o análogo derivado de IGF-1, hormona del crecimiento, AMPAkina, u otro compuesto que mejore directa o indirectamente la neurotransmisión del glutamato, incluyendo mediante la inhibición de la transmisión inhibitoria (más normalmente GABA) u otro agente terapéutico. Las composiciones de IGF-1, péptido o análogo derivado de IGF-1, hormona del crecimiento, AMPAkina, u otro compuesto que mejore directa o indirectamente la neurotransmisión del glutamato, incluyendo mediante la inhibición de la transmisión inhibitoria (más normalmente GABA) u otro agente terapéutico también se pueden combinar además con una sustancia polimérica, tal como etilcelulosa, hidroxipropilcelulosa, copolímero de etileno/acetato de vinilo, polivinilpirrolidona, y similares, para proporcionar la composición en forma de gel, que se puede disolver en un disolvente tal como cloruro de metileno, evaporarse hasta la viscosidad deseada y luego aplicarse al material de soporte para proporcionar un parche.

El IGF-1, péptido o análogo derivado de IGF-1, hormona del crecimiento, AMPAkina, u otro compuesto que mejore directa o indirectamente la neurotransmisión del glutamato, incluyendo mediante la inhibición de la transmisión inhibitoria (más normalmente GABA) u otro agente terapéutico también se pueden liberar o administrar desde una mini-bomba osmótica. La velocidad de liberación desde una mini-bomba osmótica elemental se puede modular con un gel de respuesta rápida, microporoso, dispuesto en el orificio de liberación. Una mini-bomba osmótica sería útil para controlar la liberación, o dirigir la administración, del IGF-1 o análogo, hormona del crecimiento, AMPAkina, u otro compuesto que mejore directa o indirectamente la neurotransmisión del glutamato, incluyendo mediante la inhibición de la transmisión inhibitoria (más normalmente GABA) u otro agente terapéutico.

La potenciación a largo plazo (LTP) es una mejora de larga duración en la transmisión de señales entre dos neuronas que se produce estimulándolas de forma sincrónica. Es uno de los varios fenómenos subyacentes a la plasticidad sináptica, la capacidad de las sinapsis químicas para cambiar su fuerza. La LTP comparte muchas características con la memoria a largo plazo, convirtiéndola en un candidato atractivo para un mecanismo celular de aprendizaje. Por ejemplo, la LTP y la memoria a largo plazo se desencadenan rápidamente, cada una dependiendo de la síntesis de nuevas proteínas, cada una con propiedades de asociatividad y pudiendo cada una durar muchos meses. La LTP puede ser responsable de muchos tipos de aprendizaje, desde el condicionamiento clásico relativamente simple presente en todos los animales, a la cognición de nivel superior, más compleja, observada en los seres humanos. A nivel celular, la LTP mejora la transmisión sináptica. Mejora la capacidad de dos neuronas, una presináptica y la otra postsináptica, para comunicarse entre sí a través de una sinapsis.

Las sinapsis químicas son conexiones funcionales entre las neuronas de todo el sistema nervioso. En una sinapsis típica, la información se transmite en gran parte desde la primera neurona (presináptica) a la segunda neurona

(postsináptica) a través de un proceso de transmisión sináptica. Mediante manipulación experimental, se puede aplicar un estímulo no tetánico a la célula presináptica, haciendo que se libere un neurotransmisor tal como glutamato en la membrana celular postsináptica. Allí, el glutamato se une a receptores tales como los receptores de AMPA (AMPA) embebidos en la membrana postsináptica. El receptor de AMPA es uno de los principales receptores de excitación del cerebro, y es responsable de la mayor parte de su rápida actividad de excitación de momento a momento. La unión del glutamato al receptor de AMPA desencadena el flujo de entrada de iones de sodio cargados positivamente en la célula postsináptica, causando una despolarización de corta duración denominada potencial postsináptico de excitación (EPSP). La quinasa regulada por señales extracelulares (ERK) desempeña un papel en la LTP tardía, en la que la expresión génica y la síntesis de proteínas se producen mediante la activación persistente de las proteínas quinasa activadas durante la LTP temprana. La ERK fosforila una serie de moléculas citoplasmáticas y nucleares que finalmente dan lugar a la síntesis de proteínas y a cambios morfológicos observados en la LTP tardía. Los cambios mediados por ERK en la actividad del factor de transcripción pueden desencadenar la síntesis de proteínas que subyacen en el mantenimiento de la L-LTP.

Un potencial postsináptico de excitación (EPSP) es una despolarización temporal del potencial de membrana postsináptica causada por el flujo de iones de carga positiva en la célula postsináptica como resultado de la apertura de los canales sensibles al ligando. Los EPSPs de las células vivas se producen químicamente. Cuando una célula presináptica activa libera neurotransmisores en la sinapsis, algunos se unen a receptores en la célula postsináptica. Muchos de estos receptores contienen un canal iónico capaz de dejar pasar los iones cargados positivamente, ya sea dentro o fuera de la célula. La corriente de despolarización provoca un aumento en el potencial de membrana, el EPSP. El aminoácido glutamato es el neurotransmisor que se asocia más a menudo con los EPSP.

El glutamato es el neurotransmisor excitador más abundante del sistema nervioso de los vertebrados. En las sinapsis químicas, el glutamato se almacena en vesículas. Los impulsos nerviosos desencadenan la liberación del glutamato desde la célula presináptica. En la célula postsináptica opuesta, los receptores de glutamato tales como el receptor de NMDA, se unen al glutamato y se activan. Debido a su papel en la plasticidad sináptica, el glutamato participa en funciones cognitivas como el aprendizaje y la memoria en el cerebro. La forma de plasticidad conocida como potenciación a largo plazo tiene lugar en las sinapsis glutamatérgicas del hipocampo, del neocórtex y de otras partes del cerebro. El glutamato no funciona solo como un transmisor de un punto a otro, sino también a través de la diafonía sináptica de desbordamiento entre las sinapsis, en las que la suma del glutamato liberado desde la sinapsis vecina crea la transmisión de la señalización/de volumen extrasináptica.

Los transportadores de glutamato se encuentran en las membranas neuronales y gliales. Eliminan rápidamente el glutamato del espacio extracelular. En la lesión o enfermedad cerebral, pueden funcionar a la inversa, y se puede acumular glutamato en exceso fuera de las células. Este proceso hace que los iones de calcio entren en las células a través de canales de receptores de NMDA, conduciendo a un daño neuronal y, finalmente, a la muerte celular, y se denomina excitotoxicidad.

El sujeto puede ser cualquier mamífero, en particular, un ser humano. El sujeto puede tener, por ejemplo, uno o más de entre autismo, síndrome de Asperger, trastorno del espectro autista, trastorno generalizado del desarrollo, retraso mental, hipotonía, déficit del habla, y retraso y/o defectos del desarrollo.

Detalles experimentales

Procedimientos experimentales breves: se preparan cortes de hipocampo (350 μ m) de heterocigotos para *Shank3*, desactivación de *Shank3* y miembros de la misma camada de tipo silvestre, tratados con péptido (1-3)IGF-1, IGF1 de longitud completa, hormona del crecimiento o AMPAkina, o solución salina u otro control apropiado. Se perfunden los cortes con solución de Ringer, se burbujan con O_2 al 95 %/ CO_2 al 5 %, a 32 °C, durante los registros extracelulares. La línea basal de los potenciales de excitación postsinápticos de campo (fEPSP) registrados del estrato radiado en la zona CA1, evocados por estimulación de los aferentes colaterales-comisurales de Schaffer con electrodos de tungsteno bipolares colocados en la zona CA3. La potenciación a largo plazo (LTP) se induce bien por un estímulo de alta frecuencia (cuatro trenes de 100 Hz, estimulación de 1 s con 5 min de separación) o por estimulación de ráfagas theta (TBS) (10 ráfagas de cuatro impulsos a 100 Hz con 200 ms de separación), con una tasa de éxito > 90 % para el control, y los animales modificados genéticamente con todos los protocolos de estimulación. Para inducir la depresión a largo plazo (LTD), se estimularon las colaterales de Schaffer mediante un estímulo de baja frecuencia (900 pulsos a 1 Hz durante 15 min). La LTD se indujo con una tasa de éxito de > 90 % para los animales de control. Con el fin de examinar la fosforilación de Akt, se diseccionaron el hipocampo y la corteza del otro hemisferio del heterocigoto para *Shank3* y de miembros de la misma camada de tipo silvestre, que se usaron para hacer cortes y congelarlos de inmediato en hielo seco. La transferencia Western se realiza para determinar los niveles de Akt total y fosforilada.

Referencias

- Bats C., Groc L., Choquet D. "The interaction between Stargazin and PSD-95 regulates AMPA receptor surface trafficking". *Neuron*. 1 de marzo de 2007; 53(5):719-34.
Bangash M. A., Park J. M., Melnikova T., Wang D., Jeon S. K., Lee D., Syeda S., Kim J., Kouser M., Schwartz J.,

- Cui Y., Zhao X., Speed H. E., Kee S. E., Tu J. C., Hu J. H., Petralia R. S., *et al.* "Enhanced Polyubiquitination of Shank3 and NMDA Receptor in a Mouse Model of Autism". *Cell*. 11 de mayo de 2011. [publicación electrónica antes de impresión].
- Baron, Marisa K., Tobias M. Boeckers, Bianca Vaida, Salem Faham, Mari Gingery, Michael R Sawaya, *et al.* 2006. "An architectural framework that may lie at the core of the postsynaptic density". *Science* 311, n.º 5760 (27 de enero): 531-5.
- Beri, Silvana, Noemi Tonna, Giorgia Menozzi, Maria Clara Bonaglia, Carlo Sala, Roberto Giorda, *et al.* 2007. "DNA methylation regulates tissue-specific expression of Shank3". *Journal of Neurochemistry* 101, n.º 5 (junio): 1380-91.
- Boeckers, T. M. 2006. "The postsynaptic density. Cell and Tissue Research" 326, n.º 2 (noviembre): 409-22.
- Bonaglia, M. C., R Giorda, R. Borgatti, G. Felisari, C. Gagliardi, A. Selicorni, *et al.* 2001. "Disruption of the ProSAP2 gene in a t(12;22)(q24.1;q13.3) is associated with the 22q13.3 deletion syndrome". *American Journal of Human Genetics* 69 (2): 261-8.
- Bonaglia, M. C., R. Giorda, E. Mani, G. Aceti, B-M Anderlid, A. Baroncini, *et al.* 2006. "Identification of a recurrent breakpoint within the SHANK3 gene in the 22q13.3 deletion syndrome". *Journal of Medical Genetics* 43, n.º 10 (octubre): 822-8.
- Bozdagi O., Sakurai T., Papapetrou D., Wang X., Dickstein D. L., Takahashi N., Kajiwar Y., Yang M., Katz A. M., Scattoni M. L., Harris M. J., Saxena R., Silverman J. L., Crawley J. N., Zhou Q., Hof P. R., Buxbaum J. D. "Haploinsufficiency of the autism-associated Shank3 gene leads to deficits in synaptic function, social interaction, and social communication". *Mol Autism*. 17 de diciembre de 2010; 1(1):15.
- Brakeman P. R., Lanahan A. A., O'Brien R., Roche K., Barnes C. A., Haganir R. L., Worley P. F.. "Homer: a protein that selectively binds metabotropic glutamate receptors". *Nature*. 20 marzo de 1997; 386(6622):284-8.
- Ching, Tsui-Ting, Alike K. Maunakea, Peter Jun, Chibo Hong, Giuseppe Zardo, Daniel Pinkel, *et al.* 2005. "Epigenome analyses using BAC microarrays identify evolutionary conservation of tissue-specific methylation of SHANK3". *Nature Genetics* 37, n.º 6 (junio): 645-51.
- Durand, Christelle M., Catalina Betancur, Tobias M. Boeckers, Juergen Bockmann, Pauline Chaste, Fabien Fauchereau, *et al.* 2007. "Mutations in the gene encoding the synaptic scaffolding protein SHANK3 are associated with autism spectrum disorders". *Nature Genetics* 39, n.º 1 (enero): 25-7.
- Farr, Carol D., Philip R. Gaffken, Angela D. Norbeck, Catalin E. Doneanu, Martha D. Stapels, Douglas F. Barofsky, *et al.* 2004. "Proteomic analysis of native metabotropic glutamate receptor 5 protein complexes reveals novel molecular constituents". *Journal of Neurochemistry* 91, n.º 2 (octubre): 438-50.
- Gauthier J, Spiegelman D., Piton A., Lafreniere R. G., Laurent S., St-Onge J., Lapointe L., Hamdan F. F., Cossette P.
- Mottron L., Fombonne E., Joobor R., Marneau C., Drapeau P., Rouleau G. A. "Novel de novo SHANK3 mutation in autistic patients". *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*. 5 de abril de 2009;150B(3):421-4.
- Gauthier J., Champagne N., Lafreniere R. G. Xiong L., Spiegelman D., Brustein E., Lapointe M., Peng H., Cote M., Noreau A., Hamdan F. F., Addington A. M., Rapoport J. L., *et al.* "De novo mutations in the gene encoding the synaptic scaffolding protein SHANK3 in patients ascertained for schizophrenia". *Proc Natl Acad Sci EE.UU.* 27 de abril de 2010; 107(17):7863-8.
- Publicación electrónica del 12 de abril de 2010.
- Hamdan F. F., Gauthier J., Araki Y., Lin D. T., Yoshizawa Y., Higashi K., Park A. R., Spiegelman D., Dobrzaniecka S., Piton A., Tomitori H., Daoud H., Massicotte C., Henrion E., *et al.* "Excess of de novo deleterious mutations in genes associated with glutamatergic systems in nonsyndromic intellectual disability". *Am J Hum Genet*. 11 de marzo de 2011; 88(3):306-16. Publicación electrónica del 3 de marzo de 2011.
- Hering, Heike y Morgan Sheng. 2003. "Activity-dependent redistribution and essential role of cortactin in dendritic spine morphogenesis". *J Neurosci* 23 (37): 11759-69.
- Hung A. Y., Futai K., Sala C., Valtschanoff J. G., Ryu J., Woodworth M. A., Kidd F. L., Sung C. C., Miyakawa T., Bear M. F., Weinberg R. J., Sheng M. "Smaller dendritic spines, weaker synaptic transmission, but enhanced spatial learning in mice lacking Shank1". *J Neurosci* 2008; 28(7): 1697-1708.
- Husi, H., M. A. Ward, J. S. Choudhary, W. P. Blackstock y S. G. Grant. 2000. "Proteomic analysis of NMDA receptor- adhesion protein signaling complexes". *Nature Neuroscience* 3, n.º 7 (julio): 661-9.
- Luciani J. J., de Mas P., Depetris D., Mignon-Ravix C., Bottani A., Prieur M., Jonveaux P., Philippe A., Bourrouillou G., de Martinville B., Delobel B., Vallee L., Croquette M. F., Mattei M. G. "Telomeric 22q13 deletions resulting from rings, simple deletions, and translocations: cytogenetic, molecular, and clinical analyses of 32 new observations". *J Med Genet* 2003; 40(9): 690-696.
- Moessner R., Marshall C. R., Sutcliffe J. S., Skaug J., Pinto D., Vincent J., Zwaigenbaum L., Fernandez B., Roberts W., Szatmari P., Scherer S. W. "Contribution of SHANK3 mutations to autism spectrum disorder". *Am J Hum Genet* 2007; 81(6): 1289-1297.
- Naisbitt, S., E. Kim, J. C. Tu, B. Xiao, C. Sala, J. Valtschanoff, *et al.* 1999. "Shank, a novel family of postsynaptic density proteins that binds to the NMDA receptor/PSD-95/GKAP complex and cortactin. Neuron 23", n.º 3 (julio): 569-82.
- Okabe, Shigeo. 2007. "Molecular anatomy of the postsynaptic density. Molecular and Cellular Neurosciences" 34, n.º 4 (abril): 503-18.
- Pepa J., Feliciano C., Ting J. T., Wang W., Wells M. F., Venkatraman T. N., Lascola C. D., Fu Z., Feng G.
- "Shank3 mutant mice display autistic-like behaviours and striatal dysfunction". *Nature*. 28 de abril de 2011; 472(7344):437-42. Publicación electrónica del 20 de marzo de 2011.

- Phelan M. C., Rogers R. C., Saul R. A., Stapleton G. A., Sweet K., McDermid H., Shaw S. R., Claytor J., Willis J., Kelly D. P. "522q13 deletion syndrome". *Am J Med Genet* 2001; 101: 91-9.
- Qiao, FENA y James U. Bowie. 2005. "The many faces of SAM. Science's STKE: signal transduction knowledge environment" 2005, n.º 286 (31 de mayo): re7.
- 5 Roussignol, Gautier, Fabrice Ango, Stefano Romorini, Jian Cheng Tu, Carlo Sala, Paul F Worley, *et al.* 2005. "Shank expression is sufficient to induce functional dendritic spine synapses in aspiny neurons". *Journal of Neuroscience* 25(14) (6 de abril): 3560-70.
- Sala, C., V. Piech, N. R. Wilson, M. Passafaro, G. Liu, M. Sheng, *et al.* 2001. "Regulation of dendritic spine morphology and synaptic function by Shank and Homer". *Neuron* 31, n.º 1 (19 de julio): 115-30.
- 10 Sala, Carlo, Gautier Roussignol, Jacopo Meldolesi y Laurent Fagni. 2005. "Key role of the postsynaptic density scaffold proteins Shank and Homer in the functional architecture of Ca2+ homeostasis at dendritic spines in hippocampal neurons". *J Neurosci* 25(18): 4587-92.
- Sugiyama, Yoshiko, Izumi Kawabata, Kenji Sobue y Shigeo Okabe. 2005. "Determination of absolute protein numbers in single synapses by a GFP-based calibration technique. *Nature Methods* 2", n.º 9 (septiembre): 677-84.
- 15 Tu J. C., Xiao B., Naisbitt S., Yuan J. P., Petralia R. S., Brakeman P., Doan A., Aakalu V. K., Lanahan A. A., Sheng M., Worley P. F. "Coupling of mGluR/Homer and PSD-95 complexes by the Shank family of postsynaptic density proteins". *Neuron* 1999; 23(3): 583-592.
- 20 Uchino S., Wada H., Honda S., Nakamura Y., Ondo Y., Uchiyama T., Tsutsumi M., Suzuki E., Hirasawa T., Kohsaka S. "Direct interaction of postsynaptic density-95/Dlg/ZO-1 domain-containing synaptic molecule Shank3 with GluR1 alpha-amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazole propionic acid receptor". *J Neurochem* 2006; 97(4): 1203-14.
- Vorstman, J. A. S., W. G. Staal, E. van Daalen, H. van Engeland, P. F. R. Hochstenbach, L. Franke, *et al.* 2006. "Identification of novel autism candidate regions through analysis of reported cytogenetic abnormalities associated with autism". *Molecular Psychiatry* 11, n.º 1 (enero): 1, 18-28.
- 25 Wang X., McCoy P., Rodriguez R. M., Pan Y., Je H S., Roberts A., Kim C., Berrios J., Colvin J S., Bousquet-Moore D., Lorenzo I., Wu G., Weinberg R. J., Ehlers M. D., Philpot B. D., Beaudet al, Wetsel W. C., Jiang Y. H. "Synaptic dysfunction and abnormal behaviors in mice lacking major isoforms of Shank3". *Hum Mol Genet.* 10 de mayo de 2011.
- 30 Wong, A. C., Y. Ning, J. Flint, K. Clark, J. P. Dumanski, D. H. Ledbetter, *et al.* 1997. "Molecular characterization of a 130 kb terminal microdeletion at 22q in a child with mild mental retardation". *American Journal of Human Genetics* 60 (1): 113-20.

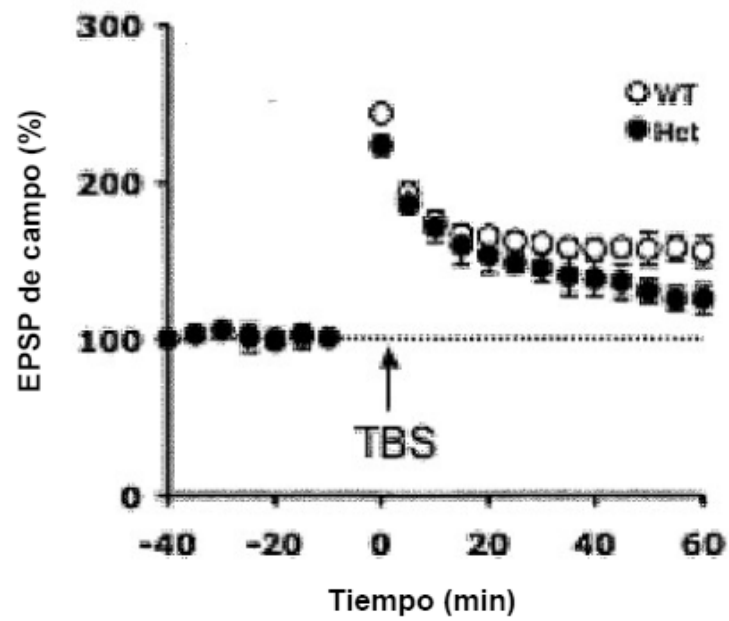
REIVINDICACIONES

1. Factor de crecimiento de tipo insulina 1 (IGF-1) o un fragmento de IGF-1 activo, tal como el tripéptido (1-3)IGF-1, para su uso en el tratamiento del síndrome de Phelan-McDermid.

5 2. Factor de crecimiento de tipo insulina (IGF-1) o un fragmento de IGF-1 activo para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en el que el fragmento de IGF-1 activo es un análogo de (1-3)IGF-1 seleccionado del grupo que consiste en amida de (1-3)IGF-1, estearato de (1-3)IGF-1, Gly-Pro-D-glutamato, glicina-prolina-treonina (Gly-Pro-Thr), glicina-ácido glutámico-prolina (Gly-Glu-Pro), ácido glutámico-glicina-prolina (Glu-Gly-Pro) y ácido glutámico-prolina-glicina (Glu-Pro-Gly).

10 3. Factor de crecimiento de tipo insulina 1 (IGF-1) o el fragmento de IGF-1 activo para su uso de acuerdo con las reivindicaciones 1 o 2, en el que el IGF-1 o el fragmento de IGF-1 activo alivia uno o más de entre hipotonía; ausencia o retraso del habla; aumento de la tolerancia al dolor; uñas de los pies en forma de escamas finas; mala termorregulación; masticación de objetos no comestibles; rechinar de los dientes; comportamientos autistas; interposición lingual; arrancamiento del cabello; aversión a la ropa; marcha con ampliación del polígono de sustentación e inestable.

A



B

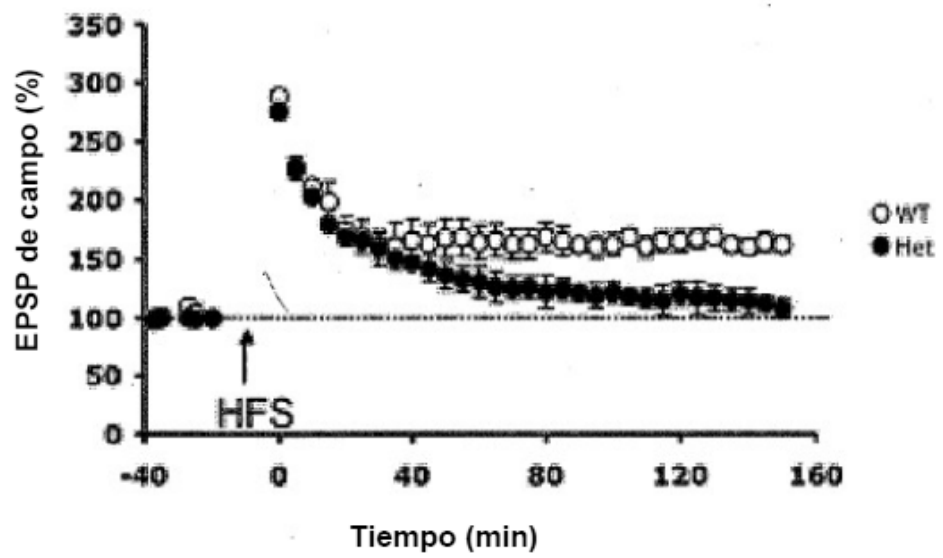
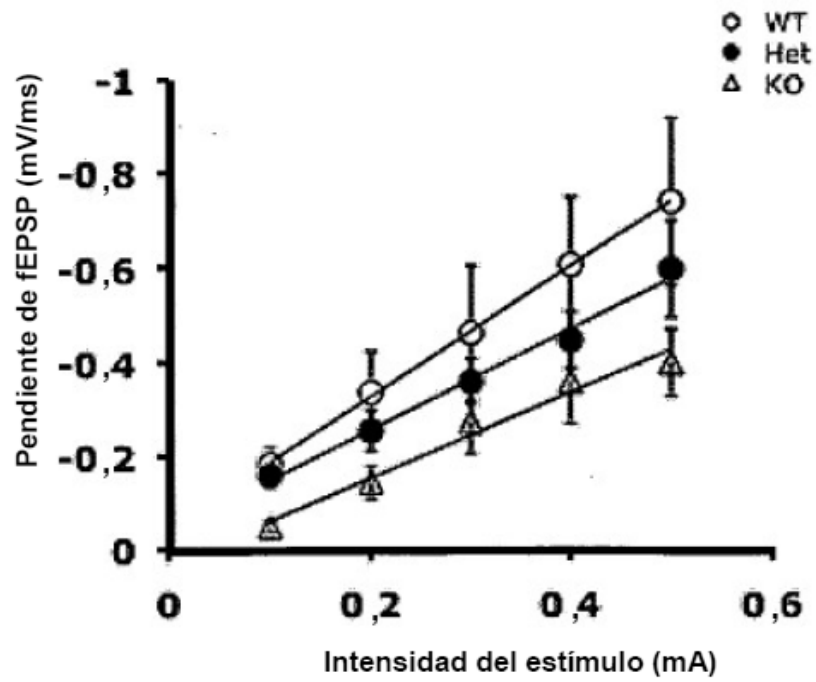


FIGURA 1A-1B

A



B

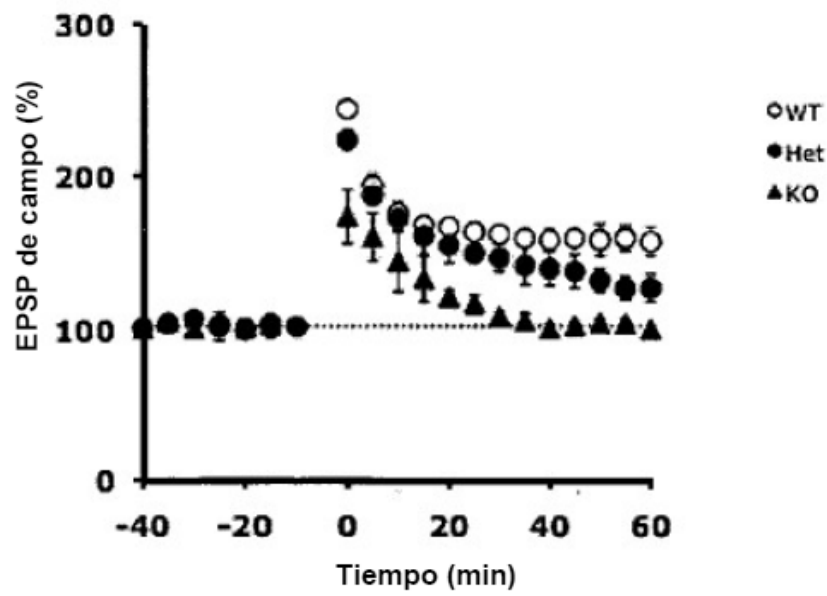


FIGURA 2A-2B

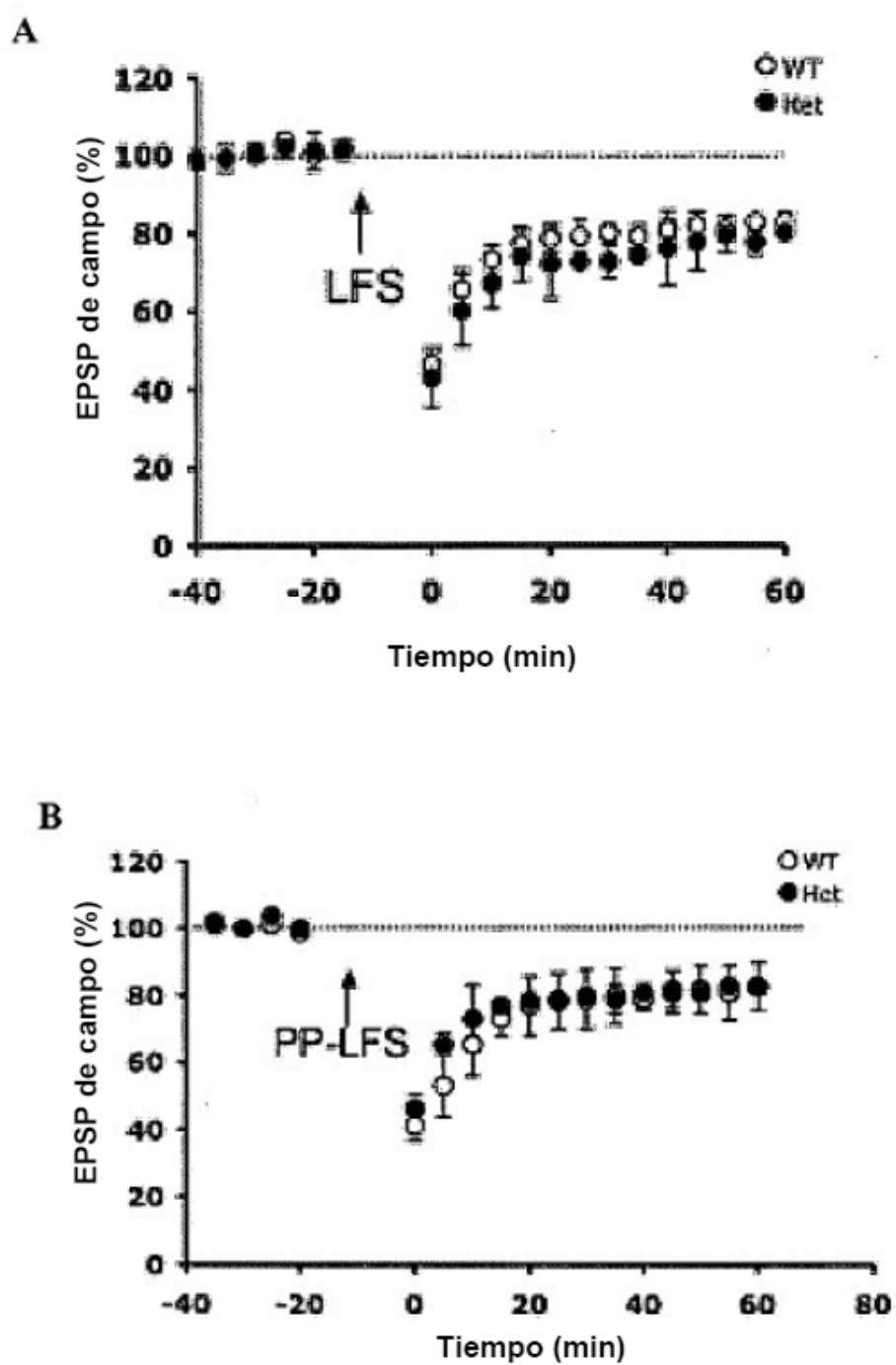
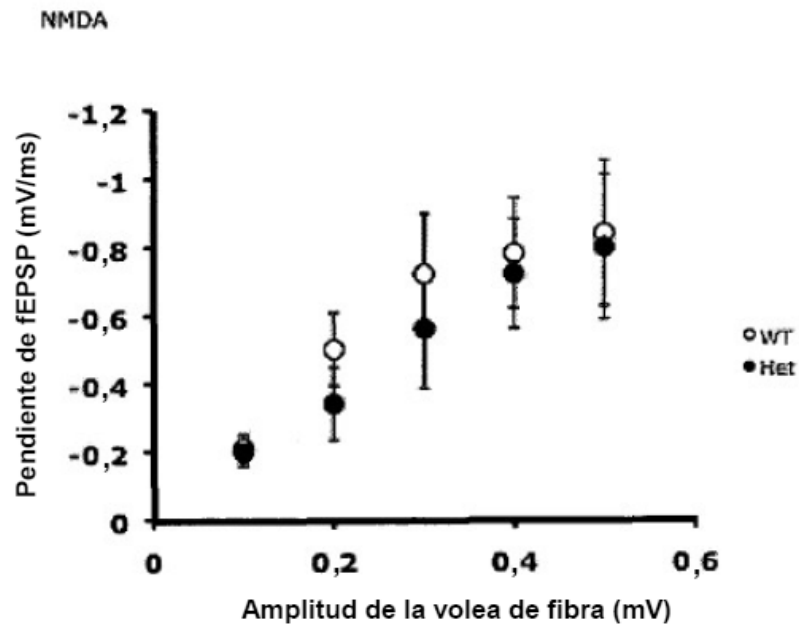


FIGURA 3A-3B

A



B

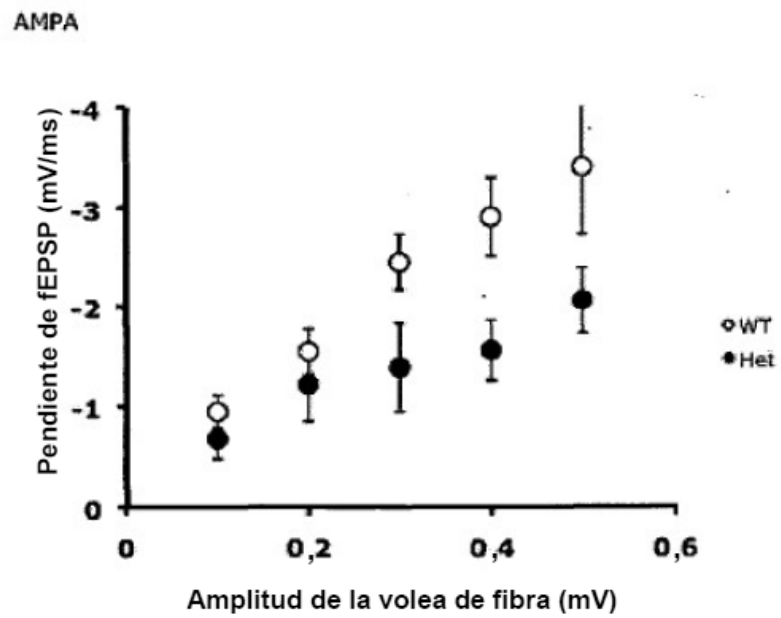


FIGURA 4A-4B

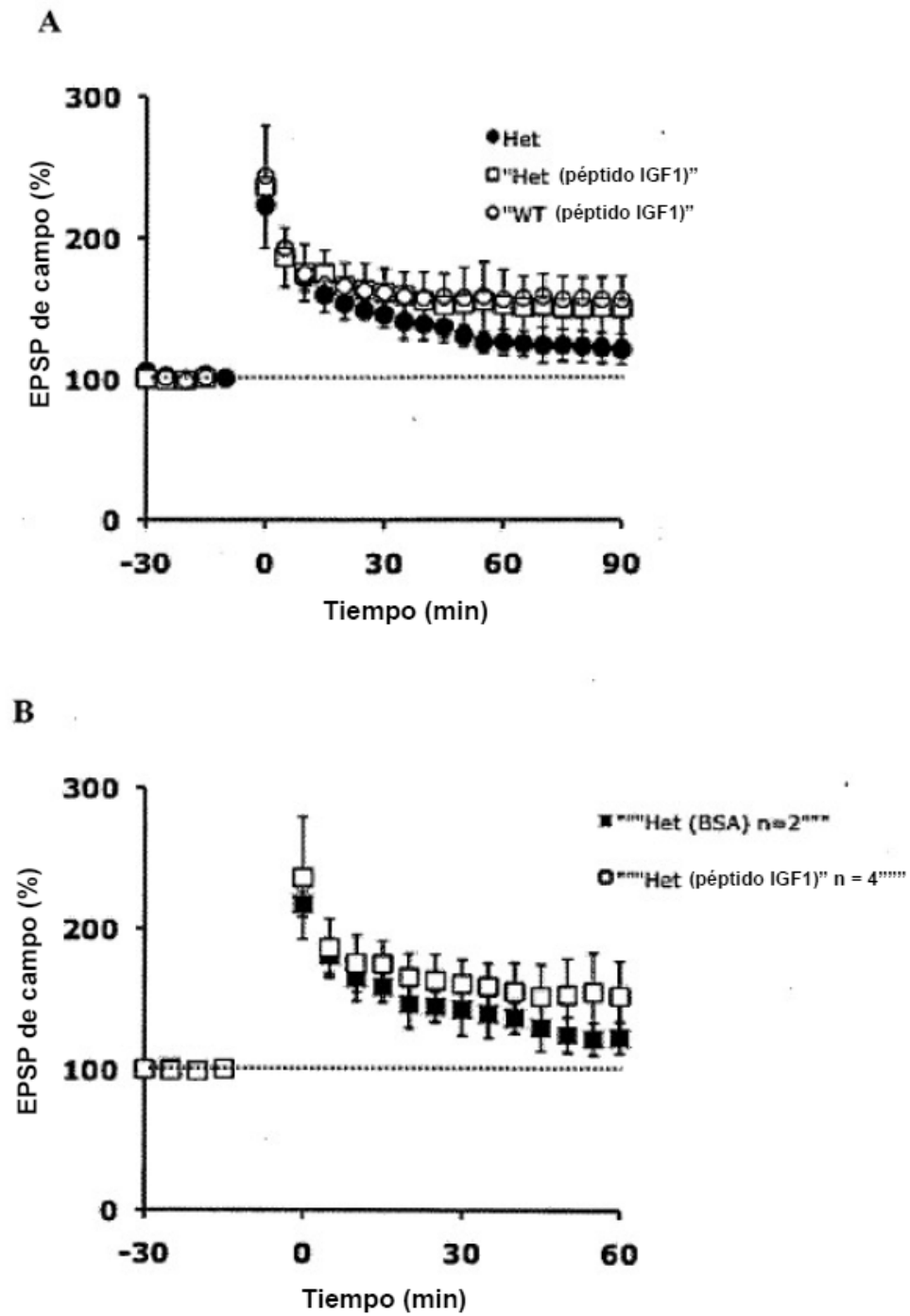


FIGURA 5A-5B

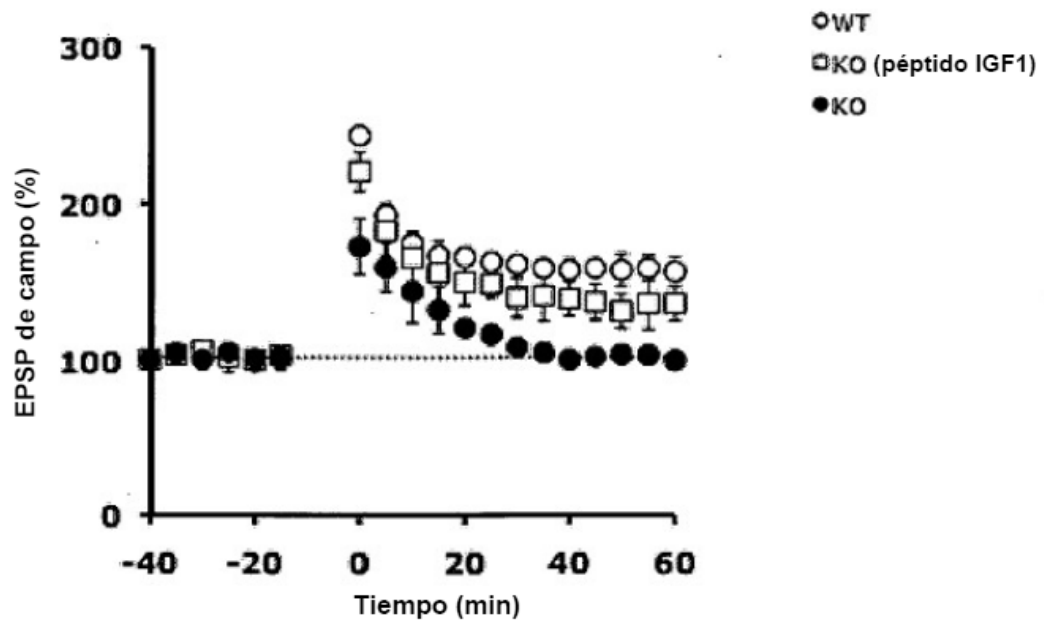


FIGURA 5C

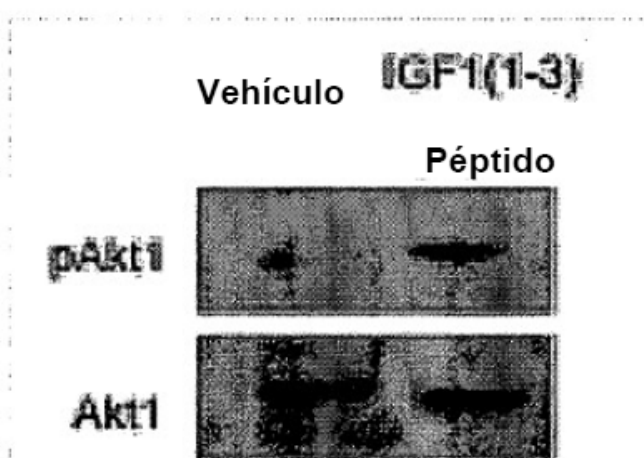
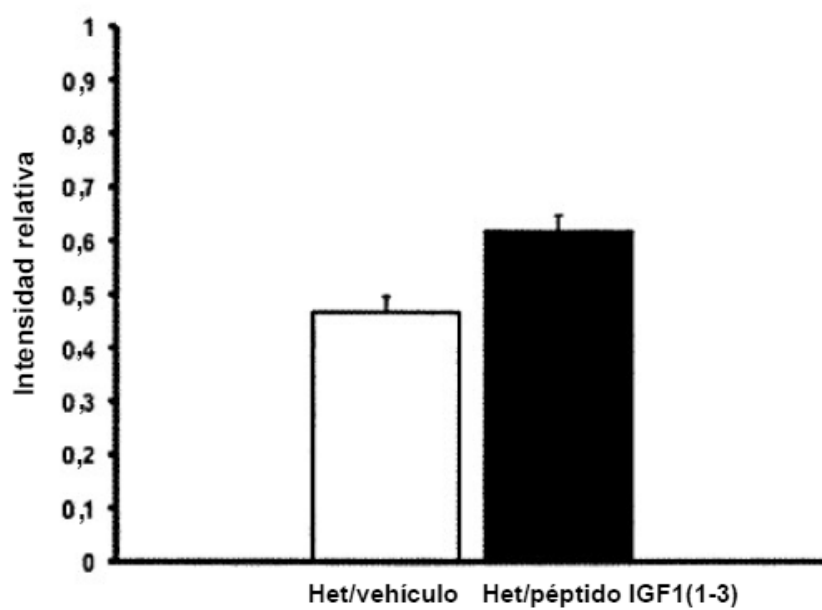


FIGURA 6

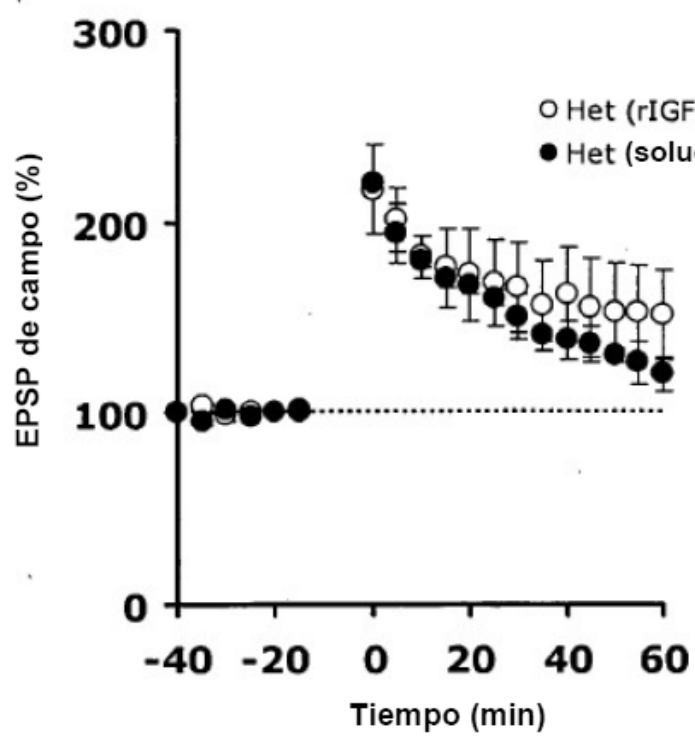


FIGURA 7

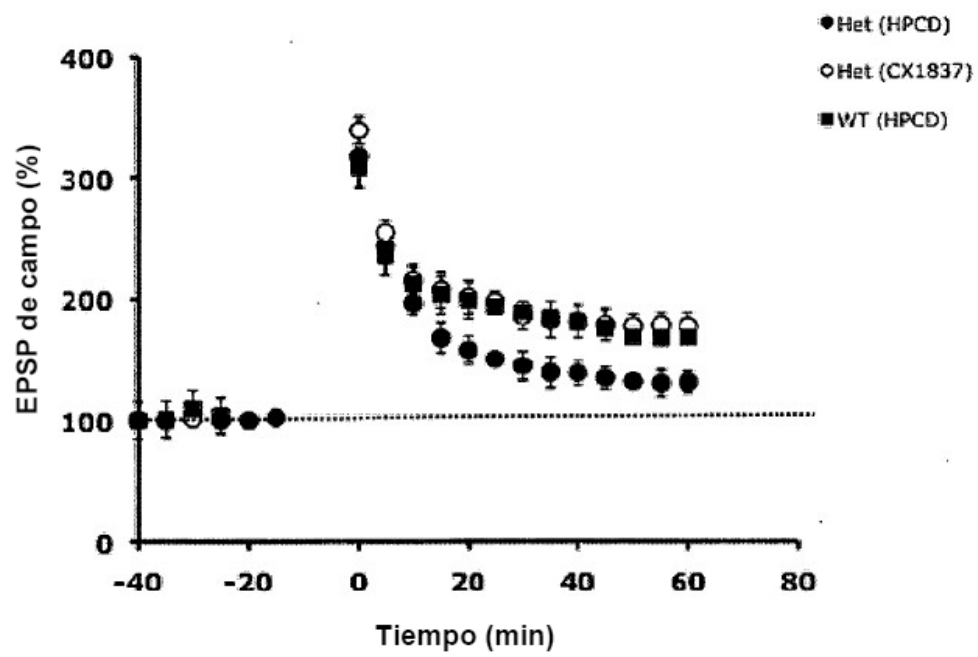


FIGURA 8

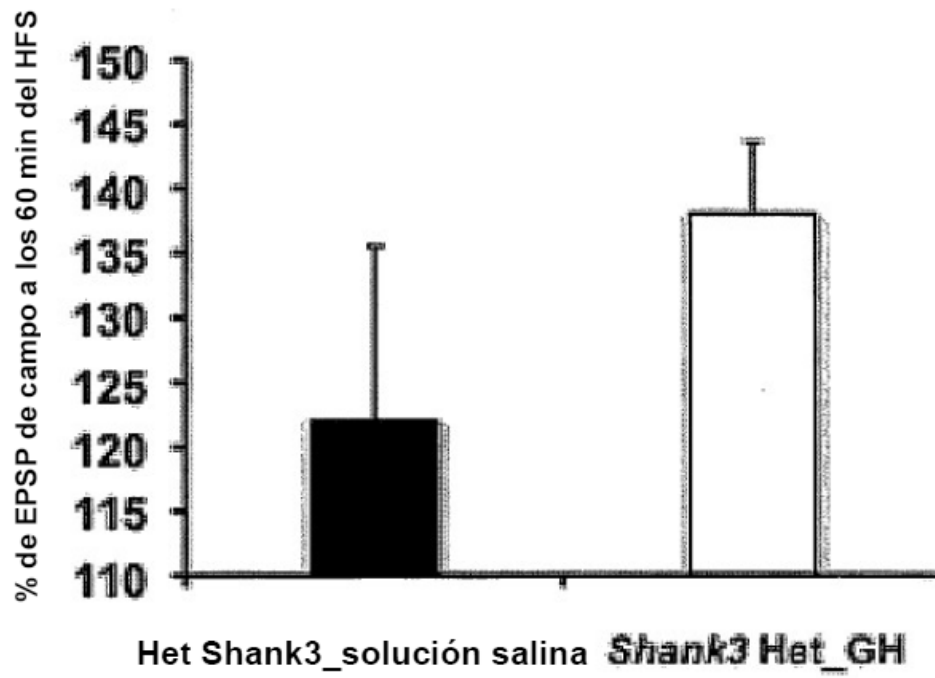


FIGURA 9

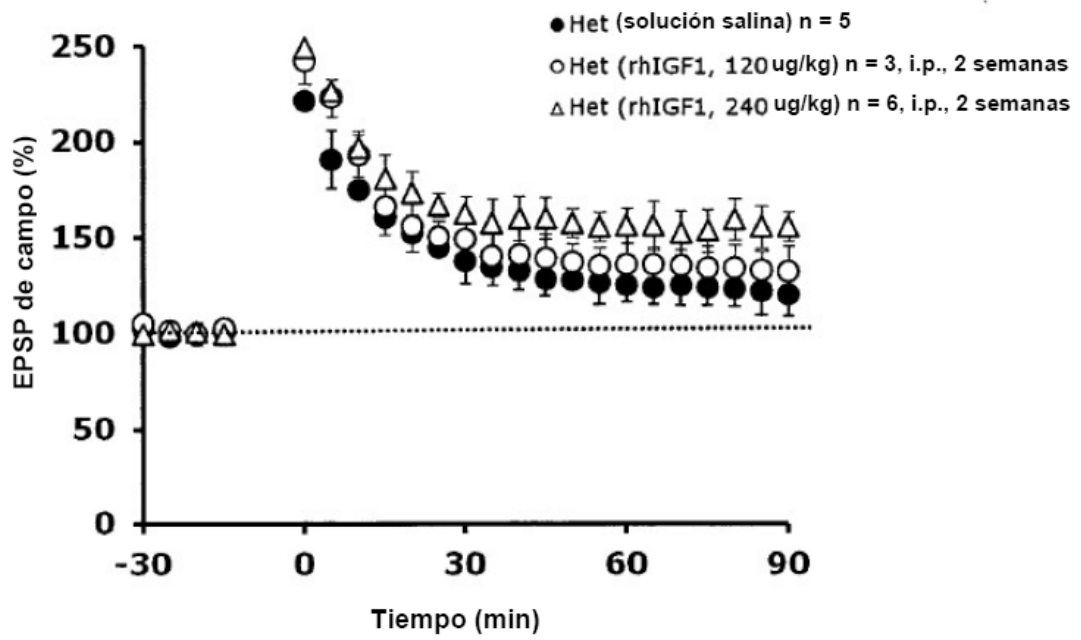


FIGURA 10