

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 658 154**

51 Int. Cl.:

A61K 38/17 (2006.01)

A61K 48/00 (2006.01)

A61P 25/00 (2006.01)

A61P 25/28 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **01.02.2012 PCT/KR2012/000788**

87 Fecha y número de publicación internacional: **09.08.2012 WO12105813**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **01.02.2012 E 12742359 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **06.12.2017 EP 2670421**

54 Título: **Uso de ICAM-1 para la prevención o el tratamiento de enfermedades neurológicas**

30 Prioridad:

02.02.2011 US 201161438809 P
30.09.2011 US 201161541487 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
08.03.2018

73 Titular/es:

MEDIPOST CO., LTD. (100.0%)
No. 18, Seocho-daero 50-gil Seocho-gu
Seoul 137-874, KR

72 Inventor/es:

YANG, YOON-SUN;
OH, WON IL;
CHANG, JONG WOOK y
KIM, JI HYUN

74 Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

Observaciones :

Véase nota informativa (Remarks, Remarques o Bemerkungen) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes

ES 2 658 154 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

Uso de ICAM-1 para la prevención o el tratamiento de enfermedades neurológicas

Antecedentes de la invención

- 5 La enfermedad de Alzheimer se manifiesta por la destrucción de las células cerebrales, en parte debido a la acumulación de proteína beta-amiloide (A β) en el cerebro. La enfermedad de Alzheimer progresa en etapas y deteriora gradualmente las facultades de memoria, razonamiento, juicio y expresión, así como la capacidad de realizar tareas simples.
- 10 La enfermedad de Parkinson se manifiesta por la destrucción de unas células cerebrales especializadas, conocidas como las neuronas dopaminérgicas. La pérdida de neuronas dopaminérgicas conduce a síntomas clínicos incluyendo, pero no limitados a, la pérdida del control motor. La causa del inicio de la enfermedad de Parkinson no se conoce.
- La depresión o trastorno depresivo mayor es también una enfermedad del cerebro. El diagnóstico se basa en las experiencias que notifica el propio paciente, incluyendo un estado de ánimo bajo, autoestima baja y pérdida de interés o placer en actividades diversas.
- 15 La epilepsia es un trastorno neurológico del cerebro. Los pacientes con epilepsia padecen ataques frecuentes e impredecibles. Un episodio de epilepsia se caracteriza por un aumento anormal de la actividad neuronal en el cerebro.
- La esclerosis múltiple se manifiesta por la inflamación de la vaina de mielina alrededor de los axones del cerebro y la médula espinal. La desmielinización conduce, con el tiempo, a la pérdida de diversas funciones físicas y cognitivas.
- 20 La manía es un estado de ánimo anormalmente elevado o irritable, que con frecuencia dura una semana o más. Pacientes que padecen episodios maníacos han sido tratados con fármacos dirigidos a la neurotransmisión.
- La enfermedad de Lou Gehrig, también conocida como esclerosis lateral amiotrófica, es una forma de enfermedad de las motoneuronas que se manifiesta por la degeneración de las neuronas en la médula espinal. Los pacientes que padecen la enfermedad experimentan atrofia muscular, debilidad y dificultades para respirar.
- 25 El deterioro cognitivo leve (DCL, también conocido como demencia incipiente o deterioro de la memoria aislado) es un síndrome de la función cerebral que implica la aparición y evolución de alteraciones cognitivas más allá de las esperadas basándose en la edad y la educación del individuo, pero que no son lo suficientemente significativas para interferir con sus actividades diarias. Con frecuencia se encuentra que es una etapa de transición entre el envejecimiento normal y la demencia. Aunque el DCL puede presentarse con una diversidad de síntomas, cuando la pérdida de memoria es el síntoma predominante se denomina "DCL amnésico" y con frecuencia se considera una fase prodrómica de la enfermedad de Alzheimer. Los estudios sugieren que estos individuos tienden a progresar a enfermedad de Alzheimer probable a una tasa de aproximadamente el 10 % y el 15 % por año.
- 30 La demencia por infarto múltiple es un tipo de demencia vascular. La demencia vascular es la segunda forma más común de demencia después de la enfermedad de Alzheimer (EA) en los adultos ancianos. Se piensa que la demencia por infarto múltiple (DIM) es una forma irreversible de demencia y su inicio está provocado por una serie de pequeños ictus o, a veces, un ictus grande precedido o seguido de otros ictus más pequeños. El término se refiere a un grupo de síndromes provocados por diferentes mecanismos que dan como resultado, todos ellos, lesiones vasculares en el cerebro. La detección temprana y el diagnóstico preciso son importantes, ya que la demencia vascular es, al menos, parcialmente prevenible.
- 35 La demencia con cuerpos de Lewy (DCL), también conocida por una diversidad de otros nombres, incluyendo demencia por cuerpos de Lewy, enfermedad de cuerpos de Lewy difusos, enfermedad de cuerpos de Lewy corticales y demencia senil de tipo Lewy, es un tipo de demencia aliada estrechamente a las enfermedades tanto de Alzheimer como de Parkinson. Se caracteriza anatómicamente por la presencia de cuerpos de Lewy, aglomeraciones de alfa-sinucleína y proteína ubiquitina en las neuronas, detectables en biopsias cerebrales post-mortem. La demencia por cuerpos de Lewy afecta a 1,3 millones de individuos solo en los Estados Unidos.
- 40 La neprilisina es una enzima que degrada el péptido beta-amiloide. La deficiencia de neprilisina acelera la acumulación extracelular de amiloide. Un aumento en la expresión de neprilisina reduce los péptidos A β .
- 45 La Molécula de Adhesión Intracelular 1 (ICAM-1) es una glucoproteína de membrana codificada por el gen ICAM1. Ratones deficientes en el gen ICAM1 se desarrollaban normalmente, eran fértiles y tenían una granulocitosis moderada, pero presentaban una emigración de neutrófilos a estímulos químicos alterada y anomalías en las respuestas inflamatorias.

Sumario de la invención

La presente invención proporciona una composición farmacéutica para su uso en la prevención o el tratamiento de

una enfermedad neurológica de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6.

En el presente documento se describe una composición farmacéutica para la prevención o el tratamiento de una enfermedad neurológica, que comprende una proteína ICAM-1 (molécula de adhesión intercelular 1) o un fragmento o una variante de la misma como ingrediente activo. En una realización, la proteína ICAM-1 de dicha composición tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ. ID. NO.: 1 o la secuencia de aminoácidos de la que se elimina un péptido señal correspondiente a los restos de aminoácidos 1° a 27°. En otra realización, el fragmento de la proteína ICAM-1 tiene una actividad biológica equivalente a la de la proteína ICAM-1. En otra realización, la variante de la proteína ICAM-1 tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ. ID. NO.: 1 en la que se sustituyen, se delecionan, se insertan y/o se añaden uno o más aminoácidos y tiene una actividad biológica equivalente a la de la proteína ICAM-1. En otra realización, la variante de la proteína ICAM-1 tiene una secuencia de aminoácidos idéntica a al menos aproximadamente el 90 %, el 93 %, el 95 %, el 96 %, el 97 %, el 98 % o el 99 % de la proteína ICAM-1 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ. ID. NO.: 1 y tiene una actividad biológica equivalente a la de la proteína ICAM-1. En otra realización, la proteína ICAM-1, o el fragmento o la variante de la misma, induce la expresión de neprilisina (NEP) para promover la degradación de beta-amiloide (A β). La enfermedad neurológica es una enfermedad provocada por al menos uno seleccionado entre el grupo que consiste en la formación de placa beta-amiloide en neuronas, la reducción de la expresión de neprilisina en neuronas y una combinación de los mismos, y se selecciona entre el grupo que consiste en la enfermedad de Alzheimer, la epilepsia y el deterioro cognitivo leve.

En el presente documento también se desvela un procedimiento de prevención o tratamiento de una enfermedad neurológica en un sujeto, que comprende administrar al sujeto que lo necesite una proteína ICAM-1, o un fragmento o una variante de la misma.

En el presente documento también se desvela un procedimiento de aumento de la expresión de neprilisina en las neuronas, que comprende cocultivar con las neuronas una proteína ICAM-1, o un fragmento o una variante de la misma.

En el presente documento también se desvela un procedimiento de aumento de la expresión de neprilisina en un sujeto, que comprende administrar al sujeto una proteína ICAM-1 (molécula de adhesión intercelular 1), o un fragmento o una variante de la misma.

En el presente documento se describe una composición que comprende una proteína ICAM-1, o un fragmento o una variante de la misma, en la que dicha proteína, fragmento o una variante de la misma, puede aumentar la expresión de neprilisina en las neuronas para eliminar péptidos beta-amiloides, una causa de la demencia, y es por tanto útil en la prevención o el tratamiento de una enfermedad neurológica, incluyendo la enfermedad de Alzheimer.

Breve descripción de los dibujos

Las características novedosas de la invención se exponen con particularidad en las reivindicaciones adjuntas. Se obtendrá una mejor comprensión de las características y ventajas de la presente invención por referencia a la siguiente descripción detallada que expone realizaciones ilustrativas, en las que se utilizan los principios de la invención, y los dibujos adjuntos de los cuales:

La Figura 1 ilustra el efecto de ICAM-1 sobre la expresión de neprilisina en células microgliales.

La Figura 2 ilustra el efecto de ICAM-1 sobre la expresión de neprilisina en el hipocampo.

La Figura 3 ilustra el efecto de ICAM-1 sobre el beta-amiloide 42.

La Figura 4A ilustra la estructura de una proteína ICAM-1. La Figura 4B ilustra cuatro fragmentos de ICAM-1 preparados en el Ejemplo 4.

La Figura 5 ilustra cuatro genes ICAM-1 que codifican fragmentos de ICAM-1 preparados en el Ejemplo 4.

La Figura 6 ilustra ácidos nucleicos obtenidos a partir de una cepa de *E. coli* transformada con un plásmido que contenía el gen ICAM-1.

Descripción detallada de la invención

Aunque se han mostrado y descrito en el presente documento realizaciones preferidas de la presente invención, será obvio para los expertos en la materia que dichas realizaciones se proporcionan solamente a modo de ejemplo. Se les ocurrirán ahora numerosas variaciones, cambios y sustituciones a los expertos en la materia sin apartarse de la invención. Debe entenderse que pueden emplearse en la práctica de la invención diversas alternativas a las realizaciones de la invención que se describen en el presente documento. Se pretende que las siguientes reivindicaciones definan el ámbito de la invención y esos procedimientos y estructuras dentro del ámbito de estas reivindicaciones.

A menos que se caractericen de forma diferente, los términos técnicos y científicos utilizados en el presente documento tienen el mismo significado que el entendido normalmente por un experto habitual en la materia a la que pertenece la presente invención.

El término "aproximadamente" en relación a un valor numérico de referencia incluye un intervalo de valores más o menos el 15 % de ese valor. Por ejemplo, la cantidad "aproximadamente 10" incluye cantidades de 8,5 a 11,5.

- La expresión "beta-amiloide (A β)" se refiere a un elemento principal de la placa de amiloide descubierta en el cerebro de un paciente que tiene la enfermedad de Alzheimer. Un A β puede ser un péptido que incluye un aminoácido derivado del extremo C de la proteína precursora de amiloide (APP, por sus siglas en inglés) que es una glucoproteína transmembrana. Un A β puede producirse a partir de APP mediante una operación continua de la β -secretasa y la γ -secretasa. Un A β puede tener de 39 a 43 aminoácidos o de 40 a 42 aminoácidos. Un A β puede comprender 672-713 restos (A β 42) o 672-711 restos (A β 40) de la secuencia de aminoácidos del N.º de Referencia de NCBI: NP_000475. Un A β puede ser un precursor de la isoforma de la proteína beta-amiloide A4 humana. Un A β puede derivar de un mamífero. Un A β puede derivar de un ser humano o de un ratón. Un A β puede producirse de forma recombinante.
- La expresión "proteína tau" se refiere a una proteína asociada a microtúbulos que se encuentra en las neuronas del sistema nervioso central. Una proteína tau interactúa con la tubulina para estabilizar los microtúbulos y promueve el ensamblaje de la tubulina de los microtúbulos. Un tejido cerebral puede incluir seis isoformas diferentes de tau. La hiperfosforilación de una proteína tau se relaciona con el desarrollo de la enfermedad de Alzheimer. Una proteína tau puede ser altamente soluble. En los seres humanos, una proteína tau puede encontrarse en las neuronas más que en células no neuronales. Una proteína puede estar implicada en la estabilización de los microtúbulos axonales. Una proteína tau puede ser la isoforma 2 de la proteína tau asociada a microtúbulos que tiene la secuencia de aminoácidos del N.º de Referencia de NCBI: NP_005901. Una proteína tau puede derivar de un mamífero. Una proteína tau puede derivar de un ser humano o de un ratón. Una proteína tau puede producirse de forma recombinante.
- El término "neprilisina" se refiere a una enzima metaloproteasa dependiente de cinc que descompone un gran número de péptidos secretados pequeños. La neprilisina puede descomponer el beta-amiloide que provoca la enfermedad de Alzheimer si el beta-amiloide está anormalmente plegado y agregado en tejidos neuronales. Una neprilisina puede ser un péptido que tiene la secuencia de aminoácidos del N.º de Referencia de NCBI: NP_000893. La neprilisina puede derivar de un mamífero. La neprilisina puede derivar de un ser humano o de un ratón. La neprilisina puede producirse de forma recombinante.

ICAM-1

En el presente documento se describe una composición farmacéutica que comprende una proteína ICAM-1 (molécula de adhesión intercelular 1), o un fragmento o una variante de la misma, como ingrediente activo.

- En un aspecto, una ICAM-1 útil para las composiciones y los procedimientos que se describen en el presente documento incluye una ICAM-1 de origen natural. En una realización, una ICAM-1 de origen natural incluye, pero no se limita a, una ICAM-1 que tiene una secuencia de aminoácidos de tipo silvestre de una ICAM-1 normalmente asociada a un animal. En otra realización, una ICAM-1 de origen natural incluye, pero no se limita a, una variante de origen natural de una ICAM-1. En una realización, una variante de origen natural es una variante alélica. En otra realización, una variante de origen natural es una variante polimórfica. En otro aspecto, una ICAM-1 útil para las composiciones y los procedimientos que se describen en el presente documento incluye un mutante de una ICAM-1. En una realización, un mutante puede ser una ICAM-1 que tenga una mutación que se encuentra en la naturaleza. En otra realización, una mutación puede ser una mutación introducida artificialmente en una ICAM-1. En una realización, una mutación puede ser una mutación introducida en la secuencia de ácido nucleico de una ICAM-1, ya sea que tenga o no un efecto de reemplazo, delección o inserción de uno o más aminoácidos a una secuencia de ácido nucleico que codifica la ICAM-1.

- En un aspecto, una ICAM-1 útil para las composiciones y los procedimientos que se describen en el presente documento incluye secuencias de polipéptidos que codifican una ICAM-1 de un animal. Un animal que codifica una ICAM-1 puede incluir, pero no se limita a, *Homo sapiens*, *Mus musculus*, *Rattus norvegicus*, *Bos taurus*, *Pan troglodytes*, *Canis lupus familiaris*, *Sus scrofa*, *Oryctolagus cuniculus*, *Macaca mulatta*, *Nomascus leucogenys*, *Cricetulus griseus*, *Gorilla gorilla*, *Pongo abelii*, *Callithrix jacchus* y *Ailuropoda melanoleuca*. Una diversidad de secuencias de péptidos de ICAM-1 descubiertas en estos animales están disponibles en bases de datos públicas, incluyendo el Centro Nacional de Información Biotecnológica de los EE.UU. (NCBI, por sus siglas en inglés). En una realización, una ICAM-1 útil para las composiciones y los procedimientos que se describen en el presente documento es una ICAM-1 animal con una secuencia que corresponde a un Número de Referencia de GenBank. Un Número de Referencia de GenBank de una ICAM-1 útil para las composiciones y los procedimientos que se describen en el presente documento incluye, pero no se limita a, P13597.1, Q00238.1, CAA41977.1, AAB19978.1, P05362.2, NP_037099.1, NP_000192.2, NP_776773.1, NP_001009946.1, P33729.2, Q5NKV4.1, Q28806.2, Q95132.1, NP_001040600.1, DAA28002.1, Q5NKV9.1, Q5NKV6.1, AAA92551.1, NP_034623.1, NP_998981.1, AAA37875.1, AAF80287.1, NP_001003291.1, AAD13617.1, NP_001009731.1, ACJ49146.1, AAB51145.1, BAD04920.1, 1IAM_A, 1MQ8_C, 1MQ8_A, 3TCX_b, 3TCX_a, 3TCX_Z, 3TCX_Y, 3TCX_X, 3TCX_W, 3TCX_V, 3TCX_U, 3TCX_T, 3TCX_S, 3TCX_R, 3TCX_Q, 3TCX_P, 3TCX_O, 3TCX_N, 3TCX_M, 3TCX_L, 3TCX_K, 3TCX_J, 3TCX_I, 3TCX_H, 3TCX_G, 3TCX_F, 3TCX_E, 3TCX_D, 3TCX_C, 3TCX_B, 3TCX_A, 2OZ4_H, 2OZ4_L, 2OZ4_A, 1P53_B, 1P53_A, 1MQ8_D, 1MQ8_B, 1IC1_B, 1IC1_A, CAA30051.1, 1D3E_I, 1D3E_4, 1D3E_3, 1D3E_2, 1D3E_1, 1D3L_A, NP_037021.1, 1DGI_4, 1DGI_3, 1DGI_2, 1DGI_1, 1DGI_R, NP_034624.1, NP_001032869.2, NP_001186763.1, NP_542413.1, NP_001069.1, P90489.1, NP_579840.1, 3E09_H, 3E09_L, 3EOB_J, 3EOB_B, 3EOB_A, 3EOB_I, 3EOB_H, 3EOB_L, 3EOA_J, 3EOA_B, 3EOA_A, 3EOA_I, 3EOA_H, 3EOA_L, BAA00759_1,

CAA36507.1, NP_999056.1, NP_036843.1, AAA84866.1, 3HI6_Y, 3HI6_X, 3HI6_L, 3HI6_H, 3HI6_B, 3HI6_A, 3HI5_L, 3HI5_H, AAA37876.1, 1MJN_A, AAA35415.1, 1MQA_A, 1MQ9_A, NP001139280.1, NP_000623.2, NP_000425.1, EAW72950.1, EAW72949.1, NP_938033.1, NP_005408.1, NP_002219.1, P29533.1, P19320.1, Q9UMF0.3, P13598.2, NP_035823.3, NP_937882.1, NP_003871.1, NP_001107852.1, NP_002200.2, NP_001093259.1, NP_001093258.1, NP_001093257.1, NP_000864.2, NP_001093256.1, NP_038900.1, NP_058577.1, NP_001126200.1, NP_001095120.1, NP_001094628.1, NP_001094501.1, NP_776909.1, NP_612405.2, EHH50108.1, EHH14990.1, NP_001075621.1, EHB02165.1, XP_003479223.1, XP_003409421.1, AEH17929.1, NP_001003298.1, ADS87907.1, ADS87821.1, ADS11235.1, XP_002928199.1, XP_001135527.2, XP_003260168.1, XP_003260167.1, XP_003260166.1, AED70916.1, 1Y04_A, 1Z7Z_I, 1VCA_B, 1VCA_A, BAE25364.1, BAE37132.1, BAJ20764.1, AAA61269.1, AAA52709.1, AAA42332.1, AAA40545.1, AAA51917.1, XP_002801716.1, XP_001107860.1, XP_001107924.1, DAA31477.1, DAA31439.1, XP_002751186.1, XP_002751185.1, XP_002751184.1, AA052742.1, AAG30280.1, AAC97931.1, AAH89812.1, AAH81837.1, EFB17343.1, AAH1159.2, AAH29823.1, AAA61270.1, AAY99622.1, AA151460.1, AAM96190.1, AAH85003.1, AAH68490.2, AAH17276.3, AAA16921.1, 1D3I_I, ACP59454.1, CAJ18580.1, ACE87430.1, ACE86744.1, CAH92063.1, ABS85192.1, BAF84421.1, BAD96986.1, EDL82023.1, EDL78334.1, EDL12389.1, EDL12388.1, CAA34621.1, CAA45254.1, CAA47989.1, AAX04663.1, AAQ80666.1, AAE84809.1, AAE84808.1, BAB19782.1, BAB19650.1, 226347, CAA37218.1, CAA33630.1, Q28260.1, NP_776975.1, NP_000946.2, P29534.1, AAB46863.1, NP_997404.1, NP_997403.1, NP_065393.1, NP_722550.1, NP_008939.1, NP_999564.1, EAW94220.1, EAW94219.1, EAW94218.1, EAW94217.1, EAW94216.1, NP_035012.2, NP_001171744.1, NP_059430.2, NP_001020083.1, NP_000566.3, NP_001703.2, NP_006524.1, NP_004753.1, P15941.3, P2701.3, Q86YJ5.2, P09450.1, NP_065109.1, NP_032223.2, NP_004045.1, Q82122.4, NP_001192273.1, NP_001171745.1, NP_001171742.1, NP_001535.1, XP_542074.2, NP_003250.3, NP_004193.1, NP_001025459.1, NP_001003301.1, NP_999011.1, NP_071614.1, NP_003114.1, NP_001164621.1, NP_00117196.1, NP_00117195.1, NP_001091731.1, NP_031645.2, NP_001007726.1, NP_999187.1, NP_620234.1, NP_032442.1, EHH59189.1, EHH29618.1, NP_001075902.1, NP_001034221.1, NP_446310.1, Q28730.1, NP_071772.1, NP_001009166.1, NP_001189482.1, Q60625.1, NP_076381.1, XP_003514828.1, XP_003512840.1, EHB03341.1, XP_003123268.1, XP_003123292.3, NP_001727.1, NP_032345.2, NP_004219.3, NP_059431.1, P10922.4, AEN34099.1, AEN34098.1, EGW02598.1, ADT46952.1, ADS73661.1, ADS58865.1, ADS30919.1, NP_001165550.1, ADT46951.1, ADS58866.1, ADS11236.1, AAC50959.1, NP_987103.1, AEL21381.1, AEH21939.1, AEH17956.1, AEH17955.1, AEH17954.1, AEH17953.1, AEH17952.1, AEH17951.1, AEH17950.1, AEH17949.1, AEH17948.1, AEH17947.1, AEH17946.1, AEH17945.1, AEH17944.1, AEH17943.1, AEH17942.1, AEH17941.1, AEH17940.1, AEH17939.1, AEH17938.1, AEH17937.1, AEH17936.1, AEH17935.1, AEH17934.1, AEH17933.1, AEH17932.1, AEH17931.1, AEH17930.1, AEF79448.1, AEF79447.1, AEF79446.1, AEF79445.1, AEF79444.1, AEF79443.1, AEF75643.1, XP_002921422.1, XP_003262690.1, XP_003262689.1, XP_003262688.1, XP_001922015.3, XP_002661307.2, XP_694556.3, 1RMF_L, 1Z7Z_5, 1Z7Z_4, 1Z7Z_3, 1Z7Z_2, 1Z7Z_1, 1RMF_H, 3BN3_B, 2P28_B, 2P28_A, 2P26_A, 1ZXQ_A, 1UOT_P, 1VSC_B, 1VSC_A, BAE31310.1, BAE31287.1, BAE31286.1, BAE30990.1, BAE40221.1, BAE29272.1, BAE29266.1, BAE29079.1, BAE29059.1, BAE42944.1, BAE30219.1, BAE22394.1, BAE42504.1, BAE42493.1, BAC26834.1, BAJ20559.1, AAA64832.1, AAA83030.1, AAA67204.1, AAA18478.1, AAA52708.1, AAA40546.1, XP_002828698.1, XP_002827759.1, XP_002807841.1, AAA67349.1, XP_233737.5, XP_001077293.2, AAB36305.1, AAQ14910.1, AAQ14909.1, AAQ14908.1, AAQ14907.1, AAQ14906.1, AAQ14901.1, AAQ14898.1, AAQ14897.1, AAQ14896.1, AAF18980.1, AAH15969.1, EFB12989.1, AAI13141.1, AAH30132.2, AAH08626.1, ADA18203.1, ADA18202.1, AAP36234.1, AAP35500.1, AA030128.1, AAH26338.1, AAS89259.1, AAH03097.1, AAF81280.1, AAB17532.1, AAA69862.1, AAA80011.1, AAB60661.1, AAA16920.1, AAA36035.1, EAW84091.1, EAW84086.1, 1H2Q_P, 1H2P_P, 1H03_Q, 1H03_P, 1IJ9_A, 1D3I_4, 1D3I_3, 1D3I_2, 1D3I_1, 1A5F_H, 1A5F_L, 1A6T_D, 1A6T_C, 1A6T_B, 1A6T_A, ACQ15346.1, ACQ15344.1, ACP57322.1, CAY39147.1, CAY39146.1, CAY39145.1, CAX14828.1, CAX14826.1, CAQ14148.1, CAQ14147.1, CAQ14145.1, CAG46633.1, CAG46611.1, BAG73299.1, CAJ18510.1, CAJ18454.1, 1Z7S_4, 1Z7S_3, 1Z7S_2, 1Z7S_1, BAG60348.1, BAG35520.1, ABM85957.1, ABM84711.1, DAA06142.1, DAA06141.1, CAP72055.1, BAF85799.1, BAD96939.1, BAD93115.1, ABU37676.1, ABU37675.1, ABU37674.1, EDL78332.1, EDL25153.1, EDL25151.1, CAM73181.1, ABM92232.1, ABM82769.1, AAQ_14922.1, AAQ14905.1, AAQ14904.1, AAQ14902.1, ABL30031.1, ABL13876.1, CAA40441.1, CAL47730.1, CAE84094.1, CAE84091.1, CAA34622.1, AAX42182.1, AAX42181.1, AAX29641.1, AAX29640.1, AAX37087.1, AAX36636.1, AAX04661.1, AAQ80664.1, AAQ71936.1, AAQ70987.1, AAQ53651.1, AAQ53650.1, AAQ53649.1, AAQ53648.1, AAQ53647.1, AAQ53646.1, CAD97562.1, CAD97565.1, AAE22204.1, AAE22202.1, AAE20921.1, AAE20920.1, AAE20919.1, AAE10139.1, AAC89984.1, AAC89982.1, AAC87796.1, AAC87794.1, AAC19905.1, AAC19903.1, AAC19660.1, 225938, AAA55744.1, NP_570116.2, Q5NKV2.1, Q5NKV1.1, NP_570118.1, P41323.1, NP_001029170.1, 2V7D_S, 2V7D_R, 2V7D_Q, 2V7D_P, 2V7D_D, 2V7D_C, 2V7D_B, 2V7D_A, 2JF1_T, 2JF1_A, AAE18933.1, AAE18932.1, AAE18931.1, AAE18930.1, AAE18929.1, AAE18928.1, AAE18927.1, AAE18926.1, AAE18925.1, AAE18924.1, AAE18923.1, AAE18922.1, AAE18921.1, AAE18920.1, AAE18919.1, AAE18918.1, AAE18917.1, AAE18916.1, AAE18915.1, 3M6F_A, AAA60393.1 y AAA60392.1.

60 En un aspecto, una ICAM-1 útil para las composiciones y los procedimientos que se describen en el presente documento está glucosilada. En otro aspecto, una ICAM-1 útil para las composiciones y los procedimientos que se describen en el presente documento no está glucosilada. En una realización, una glucosilación puede ser de origen natural. En otra realización, una glucosilación puede introducirse artificialmente a la ICAM-1 a través de tecnología de ADN recombinante conocida en general en la técnica.

En un aspecto, una ICAM-1 útil para las composiciones y los procedimientos que se describen en el presente documento está modificada de forma natural. En una realización, una modificación natural es una modificación post-traducciona. En una realización, una ICAM-1 comprende un polipéptido que contiene la porción de péptido señal de una ICAM-1. En otra realización, una ICAM-1 comprende un polipéptido que carece la porción de péptido señal de una ICAM-1.

En un aspecto, una ICAM-1 útil para las composiciones y los procedimientos que se describen en el presente documento tiene la secuencia de aminoácido de la SEQ. ID. NO.: 1 (Número de Referencia de GenBank AAQ14901):

MAPSSPRPALPALLVLLGALFPGPGNAQTSVSPSKVILPRGGSVLVTCSTSCDQPKLLGIETPLPKKELLPGNNRK
 VYELSNVQEDSQPMCYSNCPDGGSTAKFTLVYWTPERVELAPLPSWQPVGKNLTLRCQVEGGAPRANLTVVL
 LRGEKELKREPAVGEPAEVTTTTLVRRDHHGANFSCRTELDRLPQGLELFENTSAPYQLQTFVLPATPPQLVSPR
 VLEVDTQGTVVCSLDXLFVSEAVHLALGDQRLNPTVYGNDSFSAKASVSVTAEDGTQRLTCAVILGNQSQ
 ETLQTVTIYSFPAPNVILTKPEVSEGTEVTKCEAHPRAKVTLNGVPAQPLGPRAQLLLKATPEDNGRSFSCSATL
 EVAGQLIHKNTRELRLVLYGPRLDERDCPGNWTWPENSQQTPMCQAWGNPLPELKCKLDGTFPLPIGESVTVTR
 DLEGTYLCCRARSTQGEVTREVTNVLSPRYEIVITVVAAVIMGTAGLSTYLYNRQRKIKKYRLQQAQKGTMP KP-
 NTQATPP (SEQ. ID. NO.: 1). En otra realización, una ICAM-1 es un péptido que corresponde a la secuencia de aminoácidos AAQ14901, pero que carece de un péptido señal, que corresponde a los restos de aminoácidos 1° a 27° de la SEQ. ID. NO.: 1. En otra realización, una ICAM-1 es una proteína ICAM-1 de chimpancé. En otra realización, una ICAM-1 tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ. ID. NO.: 10 (N.º de Referencia de GenBank AAQ14896).

En una realización, una ICAM-1 útil para las composiciones y los procedimientos que se describen en el presente documento es un fragmento de una proteína ICAM-1. En una realización, un fragmento de proteína ICAM-1 tiene una actividad biológica equivalente a la de la proteína ICAM-1. En otra realización, un fragmento de proteína ICAM-1 no tiene una actividad biológica equivalente a la de la proteína ICAM-1. En otra realización, un fragmento de proteína ICAM-1 es inactivo biológicamente.

En un aspecto, un efecto de una ICAM-1 sobre la expresión de neprilisina se usa para medir la actividad biológica de una ICAM-1. En una realización, un efecto es un nivel de un aumento en la expresión de neprilisina. En otra realización, un efecto es una disminución en la expresión de neprilisina. En una realización, una actividad biológica de un fragmento de ICAM-1 se mide como un porcentaje de la actividad de otra ICAM-1 que sirve como un patrón para la comparación. Un patrón de ICAM-1 para la comparación puede ser una ICAM-1 de longitud completa, una ICAM-1 truncada, una ICAM-1 mutada, una ICAM-1 modificada postraduccionalmente o un fragmento de una ICAM-1 diferente de la ICAM-1 comparada. Cualquier proteína ICAM-1 o polipéptido que se describa en el presente documento puede usarse como una proteína en la comparación. Un porcentaje de diferencia en la actividad biológica puede ser de aproximadamente el 5 %, el 10 %, el 15 %, el 20 %, el 25 %, el 30 %, el 35 %, el 40 %, el 45 %, el 50 %, el 55 %, el 60 %, el 65 %, el 70 %, el 75 %, el 80 %, el 85 %, el 90 %, el 95 %, el 100 %, el 105 %, el 110 %, el 115 %, el 120 %, el 125 %, el 130 %, el 135 %, el 140 %, el 145 %, el 150 %, el 155 %, el 160 %, el 165 %, el 170 %, el 175 %, el 180 %, el 185 %, el 190 %, el 195 % o el 200 %. En una realización, una actividad biológica de un fragmento de ICAM-1 se mide como un aumento o disminución en número de veces de la actividad de otra ICAM-1 que sirve como un patrón para la comparación. Un aumento o disminución en número de veces puede ser de aproximadamente 2 veces, 2,5 veces, 3 veces, 4 veces, 5 veces, 7 veces, veces, 10 veces, 20 veces, 30 veces, 50 veces, 100 veces, 200 veces, 500 veces, 800 veces o 1000 veces.

En una realización, un fragmento de ICAM-1 comprende los aminoácidos 28° a 483° de la SEQ. ID. NO.: 1. En otra realización, un fragmento de ICAM-1 comprende los aminoácidos 28° a 380° de la SEQ. ID. NO.: 1. En otra realización, un fragmento de ICAM-1 comprende los aminoácidos 28° a 300° de la SEQ. ID. NO.: 1. En otra realización, un fragmento de ICAM-1 comprende los aminoácidos 28° a 200° de la SEQ. ID. NO.: 1.

En el presente documento se describe una variante de ICAM-1 de la SEQ. ID. NO.: 1 útil para un tratamiento de un trastorno neurológico. En una realización, una variante de la SEQ. ID. NO.: 1 es un polipéptido que tiene uno o más aminoácidos sustituidos, deletados o insertados. En otra realización, la identidad de secuencia de una variante con la SEQ. ID. NO.: 1 es de al menos el 80 %, el 82 %, el 85 %, el 87 %, el 89 %, el 90 %, el 93 %, el 95 %, el 96 %, el 97 %, el 98 % o el 99 %. En otra realización, la identidad de secuencia del dominio extracelular de una variante con el de la SEQ. ID. NO.: 1 es de al menos el 80 %, el 82 %, el 85 %, el 87 %, el 89 %, el 90 %, el 93 %, el 95 %, el 96 %, el 97 %, el 98 % o el 99 %. En otra realización, la identidad de secuencia del dominio intracelular de una variante con el de la SEQ. ID. NO.: 1 es de al menos el 80 %, el 82 %, el 85 %, el 87 %, el 89 %, el 90 %, el 93 %, el 95 %, el 96 %, el 97 %, el 98 % o el 99 %. En otra realización, la identidad de secuencia del dominio transmembrana de una variante con el de la SEQ. ID. NO.: 1 es de al menos el 80 %, el 82 %, el 85 %, el 87 %, el 89 %, el 90 %, el 93 %, el 95 %, el 96 %, el 97 %, el 98 % o el 99 %.

En un aspecto, las composiciones y los procedimientos que se describen en el presente documento comprenden uno o más polipéptidos aislados de ICAM-1. En una realización, uno o más polipéptidos aislados de ICAM-1 son ICAM-1 de diferentes secuencias de aminoácidos. En otra realización, uno o más polipéptidos aislados de ICAM-1 son ICAM-1 procesadas de forma diferente mediante procedimientos de modificación postraduccionales.

En otro aspecto, las composiciones y los procedimientos que se describen en el presente documento comprenden uno o más polipéptidos de ICAM-1 unidos a una célula. En una realización, uno o más polipéptidos de ICAM-1 se unen covalentemente a una célula. En otra realización, los polipéptidos se embeben en la membrana celular. Una célula incluye, pero no se limita a, célula de mamífero, célula bacteriana, célula fúngica o una célula de insecto. En una realización, una célula es una célula humana. En otra realización, una célula es una célula madre humana. En otra realización, una célula es una célula madre mesenquimatosa humana. En otra realización, una célula es una célula del estroma humano. En otra realización, una célula es una célula sanguínea de cordón umbilical. Una célula sanguínea de cordón umbilical útil para las composiciones y los procedimientos que se describen en el presente documento incluye, pero no se limita a, células que normalmente se encuentran en, o se cultivan a partir de, las células que normalmente se encuentran en el cordón umbilical, la sangre de cordón umbilical, el saco amniótico y la placenta.

En otro aspecto, las composiciones y los procedimientos que se describen en el presente documento comprenden uno o más polipéptidos de ICAM-1 y una célula que secreta polipéptidos de ICAM-1.

En otro aspecto, las composiciones y los procedimientos que se describen en el presente documento comprenden uno o más polipéptidos de ICAM-1 conjugados con otro material biológico. Un material biológico incluye, pero no se limita a, diversos péptidos pequeños, otra proteína, un medio químico útil para aislar o identificar polipéptidos conjugados (conocido como "marcador" en la técnica).

En un aspecto, los polipéptidos de ICAM-1 que se describen en el presente documento se aíslan a partir de un organismo, tejidos o células. En una realización, la ICAM-1 se aísla a partir de células madre mesenquimatosas (CMM) o un cultivo de las mismas. Los ejemplos de la fuente de células madre mesenquimatosas incluyen, pero no se limitan a, el saco vitelino embrionario, la placenta, el cordón umbilical, la sangre de cordón umbilical, la piel, la sangre periférica, la médula ósea, el tejido adiposo, el músculo, el hígado, el tejido neural, el perostio, la membrana fetal, la membrana sinovial, el líquido sinovial, la membrana amniótica, el menisco, el ligamento cruzado anterior, los condrocitos articulares, los dientes de leche, los pericitos, el hueso trabecular, la almohadilla de grasa infra patelar, el bazo y el timo. En una realización, una fuente de CMM es una CMM derivada de sangre del cordón umbilical o una CMM derivada de médula ósea.

En el presente documento se describe un procedimiento de aislamiento de CMM de sangre del cordón umbilical. En una realización, la ICAM-1 se aísla recogiendo CMM derivadas de sangre de cordón umbilical. En una realización, se aíslan CMM derivadas de sangre del cordón umbilical mediante centrifugación. En otra realización, se aíslan CMM derivadas de sangre del cordón umbilical mediante clasificación de células activada por fluorescencia. En otra realización, se aíslan CMM derivadas de sangre del cordón umbilical mediante el uso de diversos marcadores incluyendo perlas magnéticas. En otra realización, se aíslan CMM derivadas de sangre del cordón umbilical mediante el uso de anticuerpos específicos de CMM. En algunos aspectos, pueden usarse otros procedimientos de separación y aislamiento de células. Estos procedimientos, que son bien conocidos en la técnica, incluyen, pero no se limitan a, separación por tamaño, peso o forma de una célula, diferencias en los tipos de moléculas de superficie celular, resistencia o atracción a productos químicos, proteínas u otras células y otras propiedades físicas o químicas útiles para distinguir las CMM de la no CMM.

En un aspecto, la ICAM-1 se produce mediante una tecnología de ADN recombinante. En una realización, se clonan ácidos nucleicos que codifican ICAM-1 o un fragmento de la misma en un sistema de expresión recombinante adecuado. En una realización, un sistema de expresión recombinante es un sistema de expresión bacteriano. En otra realización, un sistema de expresión recombinante es un sistema de expresión de células de insectos. En otra realización, un sistema de expresión recombinante es un sistema de expresión de mamífero. En una realización, un sistema de expresión recombinante bacteriano es un sistema de expresión de vector pET. En una realización, un vector pET útil para expresar ICAM-1 que se describe en el presente documento es el ADN plasmídico pET-28a. En otra realización, un sistema de expresión recombinante bacteriano útil para composiciones que se describen en el presente documento es un vector pET que contiene ácidos nucleicos que codifican una ICAM-1 que tiene la secuencia de nucleótidos de la SEQ. ID. NO.: 2 (N.º de Referencia de GenBank NM_000201) o un fragmento de la misma:

```

caagcttagcctggccgggaaacgggaggcgtggaggccgggagcagccccggggtcatgccctgccaccgcccgccgattgctt
agctggaaattccggagctgaagcggccagcgaggaggatgacctctggccccgggaccctgtcagtcggaaataactgcagca
ttgttccggagggaaggcgcgaggttccgggaagcagcaccgccccctggccccaggctagcgcctataaaggatcacgcgc
ccagctcagcgtgagctcctctgctactcagagttgcaacctcagcctcgtctgctccagcagccccggccccgctgccccgact
cctggtcctgctcgggctctgttccaggacctggaatgccagacatctgtgtccccctcaaaagtcatcctgccccggggaggctcc
gtgctggtgacatgcagcacctcctgtgaccagccaagtgtgtgggcatagagacccccgttgcctaaaaaggaggtgctcctgctggga
acaaccggaaggtgtgaactgagcaatgtgcaagaagatagccaaccaatgtgctatfcaaaactgcccctgatgggagtgcaacagctaa
aaccttctcaccgtgtactggactccagaacgggtggaactggcacccccctcttggcagccagtgggcaagaaccttaccctacgc
tgccaggtggagggtggggcaccgccggcaacctcaccgtggtgctgctcctggtgggagaaggagctgaaacgggagccagctgtg
ggggagccccgctgaggtcacgaccaggtgctggtgaggagatccatggagccaatttctgctgcccactgactgacactgctg
gccccagggtgtagctgttggagaacacctggccccctaccagctccagaccttctcctgcccagcagcactcccccaactgtcagc
ccccgggtcctagaggtggacagcaggggacctggtctgttccctggacgggctgttccagctcggaggcccagggtccacctggc
actgggggaccagaggttgaacccacagtcacctatggcaacgactcctctcggccaaggcctcagtcagtgtagccgagaggagc
agggcaccagcggctgagctgtgcagtaatactgggaaccagagaccagagactgcagacagtgaccatctacagcttccggcg
ccaacagtgatctgacgaagccagaggtctcagaaggaccagaggtgacagtgaaagtgtgaggccccactagagccaaggtgacgct

```

gaatggggtccagcccagccactgggcccagggccagctcctgctgaaggccaccagaggacaacgggagcagcttctcctgc
 tctgcaaccctggaggtggccggccagcttatacacaagaaccagaccgggagctcgtgctcgtatggccccgactggacgagag
 ggatgtccgggaactggacgtggccagaaaattcccagcagactccaatgtgccaggcttggggaacccattgccgagctcaagt
 tctaaaggatggcacttcccactgcccactcgggaatcagtgactgctcactcagatcttgaggccactacctcgtcggccagagca
 5 ctcaaggggaggtcaccgcaagtgaccgtgaatgtgctccccggatgatgattgtcatcatcactgtgtagcagccgagctcata
 atgggactgcaggcctcagcactacctctataaccgcccagcgggaagatcaagaaatacagactacaacaggccaaaaagggacccc
 catgaacccaacacagaagccagcctcctgaacctatcccgggacagggcctctcctcggcctccatattggtggcagctggtgccc
 aactgaaacagagtggaagacatatgccatgacgctacactaccggcctgggacggcggaggacagggcattgctcctcagtcagata
 caacagcattggggccatggtactgcacacctaaactagggcacgcacatctgatcataactaagccgaggaaggag
 10 caagactcaagacatgattgatggtatgaaagtctagcctgatgagaggggaagtggtgggggagacatagccccacatgaggacata
 caactgggaaatactgaaactgctgcctattgggtatgctgaggccccacagacttacagaagaagtgccctccatagacatgtgtagca
 tcaaaacacaaaggcccacactcctgacggatgccagcttgggactgctgctactgaccccaaccctgatgatatttattcattgtt
 atttaccagctatttattgagtgctttatgtaggctaaatgaacataggtctctggcctcagggagctcccagctcctaatcattcaaggtca
 ccaggtacagttgtacaggtgtacagcagggagagtgctggcaaaaagatcaaatgggctgggactctcattggccaacctgctt
 15 cccagaaaggagtgattttctatcggcacaagaagcactatagactggccttaaggttacaggttcagagattaccagtgagccattcct
 ccttcccccaaaaactgacaccttggtagccacctccccaccacatacttctgcccagtggtcacaatgacactcagcggctatgctgg
 acatgagtgcccaggaatagcccaagctatgcttctcttctgcttctgcttctcatttctcagggagctgactatgacactcagctccagttctg
 cagtgatcagggctcctgcaagcagtggggaaggggccaaggtattggaggactcctcccagcttgaagcctcatccgctgtgtgt
 gtgtgtatgtgtagacaagctcgtcctgtcaccagcgtgagtgagtggtgcaatcatggtcactgagcttgcacttgggctca
 20 agtgcctcccacctcagcctcctgagtagctgggacataggtcacaacaccacacactggcaattgattttttttccagagacgg
 ggtcctgcaacattgccagacttcttggtagtaataaagcttctcaactgcaaa (SEQ. ID. NO.: 2). En una realización, una célula

bacteriana útil para expresar ICAM-1 es variantes *E. coli* BL21. En una realización, una variante es *E. coli* BL21 (DE3). En una realización, la expresión bacteriana de ICAM-1 recombinante se induce mediante el tratamiento de las células bacterianas transformadas con IPTG.

25 En el presente documento se describe una composición farmacéutica útil para la prevención o el tratamiento de un trastorno neurológico de acuerdo con las reivindicaciones adjuntas. El trastorno neurológico es una enfermedad provocada por al menos uno seleccionado entre el grupo que consiste en la formación de placa beta-amiloide en neuronas, la reducción de la expresión de neprilina en neuronas y una combinación de los mismos. El trastorno neurológico se selecciona entre el grupo que consiste en la enfermedad de Alzheimer, la epilepsia y el deterioro cognitivo leve.

30 En un aspecto, se administran polipéptidos de ICAM-1 que se describen en el presente documento a un sujeto para intervenir en el progreso de un trastorno neurológico. En una realización, se administran polipéptidos de ICAM-1 que se describen en el presente documento a un sujeto que padece la enfermedad de Alzheimer para ralentizar o detener o invertir el progreso de la enfermedad de Alzheimer. En una realización, una dosis de polipéptidos de ICAM-1 se administra a un sujeto una sola vez. En otra realización, una dosis de polipéptidos de ICAM-1 se administra a un sujeto en un intervalo regular durante un periodo prolongado de tiempo. Un intervalo puede ser unos pocos días, semanas, meses o años. En otra realización, una dosis inicial de polipéptidos de ICAM-1 se administra a un sujeto y después la dosis de seguimiento se reduce o se aumenta dependiendo de la evolución clínica del sujeto. Un resultado clínico se mide mediante ensayos neuropsicológicos que incluyen, pero no se limitan a, autoevaluación, cuestionarios clínicos, tales como puntuación de demencia clínica o un examen del estado mental.

35 Pueden entregarse composiciones que se describen en el presente documento a través de una administración tópica o una administración sistemática. En una realización, se administran composiciones que se describen en el presente documento en una cantidad eficaz para prevenir o tratar un trastorno neurológico. En una realización, una cantidad eficaz se determina mediante ensayos clínicos. Una dosis eficaz puede variar dependiendo de diversas circunstancias que incluyen, pero no se limitan a, los tipos de afecciones neurológicas, los procedimientos de fabricación, las formulaciones, las vías de administraciones y los tipos de excipientes.

40 Un síndrome de predemencia que presenta deterioro cognitivo leve puede diagnosticarse usando un ensayo neuropsicológico. Se ha notificado que aproximadamente el 12 % de los pacientes con deterioro cognitivo leve progresa a la enfermedad de Alzheimer por año. Sorprendentemente, aproximadamente el 80 % de los pacientes con deterioro cognitivo leve progresa a la enfermedad de Alzheimer después de 6 años en ausencia de cualquier tratamiento. Por tanto, cuando la proteína ICAM-1, o el fragmento o la variante de la misma, de acuerdo con la presente invención se administra a pacientes con deterioro cognitivo leve, el progreso a la enfermedad de Alzheimer puede prevenirse o retrasarse.

45 En un aspecto, se administran composiciones que se describen en el presente documento en combinación con otros remedios o terapias eficaces en la prevención o el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer, la enfermedad de Parkinson, la depresión, la epilepsia, la esclerosis múltiple, la manía, la enfermedad de Lou Gehrig, el deterioro cognitivo leve, la demencia por infartos múltiples o la demencia con cuerpos de Lewy. En una realización, las composiciones que se describen en el presente documento se administran concomitantemente con otras terapias o composiciones terapéuticas. En otra realización, se formulan composiciones que se describen en el presente documento para contener otras composiciones terapéuticas que se sabe que son eficaces en la enfermedad de Alzheimer, la enfermedad de Parkinson, la depresión, la epilepsia, la esclerosis múltiple, la manía, la enfermedad de Lou Gehrig, el deterioro cognitivo leve, la demencia por múltiples infartos o la demencia con cuerpos de Lewy.

Las composiciones que se describen en el presente documento pueden contener aditivos farmacéuticamente aceptables, además de los ingredientes eficaces. Puede usarse una formulación para la administración parenteral, tal como una formulación para inyección o una formulación de administración tópica. Por ejemplo, una formulación para la administración parenteral puede usarse en forma de una formulación para inyección de una solución o suspensión estéril, si es necesario, empleando agua u otros disolventes farmacéuticamente aceptables. Por ejemplo, puede prepararse una formulación de dosificación unitaria usando un vehículo o medio farmacéuticamente aceptable, por ejemplo, agua estéril, solución salina, aceite vegetal, un emulsionante, una suspensión, un agente tensioactivo, un estabilizador, un excipiente, un vehículo, un conservante y un aglutinante. La administración parenteral puede incluir una administración tópica y una administración sistémica. La administración tópica puede realizarse mediante la administración de la formulación farmacéutica directamente en una región de la lesión o regiones periféricas de la región de la lesión, por ejemplo, el cerebro o la médula espinal, las regiones periféricas de los mismos o las regiones opuestas a los mismos. La administración tópica puede incluir la administración intranasal y la administración intraarterial. La administración sistémica puede realizarse mediante la administración de la formulación farmacéutica en el fluido espinal, la vena o la arteria. El fluido espinal incluye el fluido cefalorraquídeo. La arteria puede ser una región para el suministro de sangre a la región de la lesión. En una realización, la administración se realiza de acuerdo con un procedimiento que se desvela en, por ejemplo, Douglas Kondziolka, Pittsburgh, *Neurology*, Vol. 55, págs. 565-569, 2000, que se incorpora en el presente documento en su totalidad. En una realización, se realizó una incisión al cráneo de un sujeto para hacer un agujero que tenía un diámetro de aproximadamente 1 cm y se inyectó una suspensión de ICAM-1 en una solución salina equilibrada de Hank (HBSS) a través del orificio con una jeringa con aguja larga y un marco estereotáctico utilizado para inyectar la suspensión en la región objetivo. Una dosis de la ICAM-1 puede variar de 500 a 1000 ng/kg (peso corporal) por día, que puede administrarse en una sola dosis o en dosis divididas.

En el presente documento se describe un procedimiento de aumento de la expresión de neprilina en las neuronas, que comprende cocultivar con neuronas una proteína ICAM-1 (molécula de adhesión intercelular 1), o un fragmento o una variante de la misma. En una realización, la expresión de neprilina aumenta mediante el cultivo de ICAM-1 con neuronas durante menos de un día, dos días, tres días, cuatro días, cinco días, seis días, siete días, nueve días o doce días. En otra realización, la expresión de neprilina aumenta mediante el cultivo con neuronas durante más de doce días. En una realización, se añade ICAM-1 a un medio que contiene neuronas y se cocultivan. En otra realización, se añaden células que expresan ICAM-1 a un medio que contiene neuronas y se cocultivan. En otra realización, se cocultivan ICAM-1 o células que expresan ICAM-1 y las neuronas en un compartimento separado de un dispositivo de cultivo que permite el flujo de nutrientes, pero no de proteínas, ligandos u otros productos celulares, ya sea secretados por las células en el cultivo o añadidos a cada compartimento de un dispositivo de cultivo.

En el presente documento se describe un procedimiento de aumento de la expresión de neprilina en un sujeto, que comprende administrar al sujeto una proteína ICAM-1 (molécula de adhesión intercelular 1), o un fragmento o una variante de la misma. En una realización, la administración es una administración tópica. En otra realización, la administración es una administración sistémica. En una realización, se administra una cantidad eficaz para aumentar la expresión de neprilina. En una realización, una formulación que comprende una cantidad eficaz de ICAM-1 comprende adicionalmente aditivos seleccionados entre el grupo que consiste en agua, medio de cultivo, tampón y un excipiente.

Ejemplos

En lo sucesivo en el presente documento, la presente invención se describe con más detalle. Los siguientes Ejemplos se proporcionan con fines de ilustración solamente y no pretenden limitar el ámbito de la invención.

Ejemplo 1: Eficacia *in vitro* de la proteína ICAM-1 sobre la expresión de NEP

Una proteína ICAM-1 recombinante que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ. ID. NO.: 1 se obtuvo de R&D Systems (EE.UU.) y se obtuvieron células BV2 de la Universidad Nacional de Seúl (Corea). Las células BV2 son células inmortalizadas preparadas mediante la infección de células microgliales de un ratón con un retrovirus recombinante *v-raf/v-myc*, que expresan rasgos de células microgliales activadas. Se cultivaron células BV2 en un medio DMEM sin suero y se trataron con la proteína recombinante ICAM-1 a una concentración de 5, 10 y 50 ng/ml, respectivamente, seguido de la recogida de las células después de 24 horas. Las células recogidas de cada grupo se lisaron usando un aparato de ultrasonidos (Branson Ultrasonics Corp.) y se obtuvo un extracto de proteína a partir de las mismas mediante el empleo de un tampón (urea 9,8 M, CHAPS al 4 %, ditiotreitól 130 mM, Tris-HCl 40 mM y dodecil sulfato de sodio (SDS) al 0,1 %). La proteína extraída se cuantificó usando el kit de ensayo Bradford (Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA) y se resolvieron 20 µg del extracto de proteína en EGPA-DSS y se electrotransferieron a una membrana de nitrocelulosa. Cada membrana de nitrocelulosa se incubó durante la noche con un anticuerpo primario (anticuerpo anti-NEP; R&D Systems, Minneapolis, MN), se lavó tres veces con PBS y se incubó con un anticuerpo secundario (IgG anti-cabra; Santa Cruz, EE.UU.). Después, la proteína se visualizó mediante un kit ECL (Amersham). Se usó beta-actina como control interno para la cuantificación.

Los resultados se muestran en el lado izquierdo de la Figura 1. La imagen superior izquierda de la Figura 1 es un resultado de inmunotransferencia y el gráfico inferior del lado izquierdo de la Figura 1 presenta la fuerza de cada

banda con respecto al control (sin tratamiento), medida mediante un densitómetro (n = 3, P < 0,05).

Como se muestra en los resultados, la expresión de NEP aumentó en los grupos de tratamiento con ICAM-1 en comparación con el control (grupo sin tratamiento). Adicionalmente, el nivel de expresión de NEP fue proporcional a la concentración de proteínas ICAM-1.

- 5 Mientras tanto, con el fin de evaluar la eficacia de las proteínas ICAM-1 en términos de tiempo de tratamiento, se trataron células BV2 con proteína ICAM-1 (20 ng/ml) durante 12, 24 y 36 h, respectivamente, y después se analizó la expresión de NEP como anteriormente.

Los resultados se muestran en el lado derecho de la Figura 1. Como se muestra en los resultados, la expresión de NEP aumentó en proporción con un tiempo de tratamiento con proteína ICAM.

10 **Ejemplo 2: Eficacia *in vivo* de proteína ICAM-1 sobre la expresión de NEP**

Para evaluar la eficacia de la proteína ICAM-1 sobre la expresión de NEP, se administraron 5 µl de PBS (n = 4) o 500 o 1000 ng/kg de proteína ICAM-1 en PBS (5 µl) (n = 4/grupo) en ambos hipocampos de cada ratón normal anestesiado sacrificado (B6C3F1/J, 13 semanas de edad, 30 g) mediante el uso de un aparato estereotáxico. Después de 7 días, los ratones se sacrificaron y se recogió el tejido cerebral. El tejido cerebral se lisó para obtener un extracto de proteína y el extracto se analizó para determinar la expresión de NEP, como en el Ejemplo 1.

15 Los resultados se muestran en la Figura 2. Como se muestra en la Figura 2, la expresión de NEP aumentó en grupos de tratamiento con ICAM-1 en comparación con el control (grupo sin tratamiento). En particular, el nivel de expresión de NEP del grupo tratado con 1000 ng/kg de ICAM-1 fue más del doble que el del control (PBS) (P = 0,005).

20 **Ejemplo 3: Efecto de ICAM-1 sobre el beta-amiloide 42**

Con el fin de investigar el efecto de ICAM-1 sobre la degradación del beta-amiloide 42, se realizaron los siguientes experimentos. Específicamente, se pretrataron células BV2 cultivadas en un medio DMEM sin suero con proteína ICAM-1 (5 o 10 ng/ml) y beta-amiloide 42 (10 µM) al mismo tiempo y se cultivaron adicionalmente durante 24 horas. El nivel de beta-amiloide 42 en el medio de cultivo se midió usando un kit ELISA (Wako Pure Chemical Industries Ltd. Japón). Los resultados se muestran en la Figura 3.

25 Como se muestra en la Figura 3, los niveles de Aβ42 se redujo significativamente en los grupos tratados con proteína ICAM-1 en comparación con el control. En particular, para los grupos tratados con ICAM-1, la reducción de Aβ42 fue proporcional a la concentración de proteína ICAM-1. Los resultados indican que la NEP inducida por la proteína ICAM-1 degrada Aβ42.

30 **Ejemplo 4: Preparación de fragmentos de ICAM-1 y evaluación de sus actividades**

Con el fin de investigar un dominio activo responsable de la actividad de ICAM-1, se diseñaron cuatro fragmentos basándose en la ubicación de dominios de ICAM-1 con un péptido señal eliminado (Figura 4). En una pre-PCR para inducir una amplificación precisa del gen ICAM-1, se sintetizaron cebadores para amplificar un gen ICAM-1 de longitud completa y cebadores para amplificar cada fragmento de gen en el que se insertaron los sitios de reconocimiento para enzimas de restricción *NdeI* (NEB, EE.UU.) y *βamHI* (NEB, EE.UU.).

35 Las condiciones de Pfu-PCR fueron como se indican a continuación: 40 ciclos de 94 °C durante 30 s; 58 ~ 60 °C durante 45 s; 72 °C durante 40 s. Los fragmentos de ICAM-1 obtenidos de este modo y el ADN plasmídico pET-28a (Novagen®, EE.UU.) se volvieron a digerir con *NdeI* y *βamHI*. Las secuencias de cebadores, las temperaturas de hibridación y los tamaños de productos de PCR se muestran en la Tabla 1.

<Tabla 1>

Gen diana	Secuencia de cebador	Temperatura de hibridación (°C)	Tamaño del producto de PCR (pb)
ICAM-1	5'-CCCCCAGGTGGCTAGCGCTA-3' (SEQ ID NO: 3) 5'-GTGCCCAAGCTGGCATCCGT-3' (SEQ ID NO: 4)	58	2153
Fragmento A	5'-CCGCCGCATATGCAGACATCTGTGTCCCC-3' (SEQ ID NO: 5) 5'-CCCCCCCCCGGGATCCTCATCAGATGACAATCTC-3' (SEQ ID NO: 6)	60	1404
Fragmento B	5'-CCGCCGCATATGCAGACATGTGTGTCCCC 3' (SEQ ID NO: 5) 5'-CATTCGGGATCCTCATCACTGGCCGGCCACCTC-3' (SEQ ID NO: 7)	60	1089

40

(continuación)

Gen diana	Secuencia de cebador	Temperatura de hibridación (°C)	Tamaño del producto de PCR (pb)
Fragmento C	5'-CCGCCGCATATGCAGACATCTGTGTCCCC-3' (SEQ ID NO: 5) 5'-CGGGGATCCTCATCACTCCTGGCTCTGGTCCCC-3' (SEQ ID NO: 8)	60	846
Fragmento D	5'-CCGCCGCATATGCAGACATCTGTGTCCCC-3' (SEQ ID NO: 5) 5'-CGGCGGGGATCCTCATCAAAACAGCTCCAGCCC-3' (SEQ ID NO: 9)	60	549

El fragmento A preparado de este modo codifica los aminoácidos 28° a 483° en la secuencia de aminoácidos de la proteína ICAM-1; el fragmento B, los aminoácidos 28° a 380°; el fragmento C, los aminoácidos 28° a 300°; y el fragmento D, los aminoácidos 28° a 200°.

- 5 Los tamaños de los fragmentos de ICAM-1 preparados se confirmaron mediante una electroforesis en gel de agarosa al 2 % (Invitrogen, EE.UU.). Los resultados de la electroforesis se muestran en la Figura 5. Como se muestra en la Figura 5, se confirmó que cuatro fragmentos tenían los tamaños precisos.

10 Los fragmentos se purificaron usando un Kit de Extracción en Gel (QIAGEN, EE.UU.) y se mezclaron con ADN plasmídico pET-28a (Novagen®, EE.UU.) tratado con *NdeI*/*βamHI*, seguido de ligadura con ADN ligasa T4 (NEB, EE.UU.). Se transformó *E. coli* BL21 (DE3) (Sigma, EE.UU.) con el plásmido ligado y el transformante se cultivó en medio de agar LB (BD, EE.UU.). Se recogieron las colonias individuales proliferadas, se colocaron en cada tubo de PCR y después se sometieron a una reacción PCR. Los insertos amplificados se confirmaron mediante una electroforesis como anteriormente (Figura 6), para seleccionar colonias. Las colonias escogidas se cultivaron en caldo LB (BD, EE.UU.) y se purificaron usando un Kit de Purificación de Plásmidos QIAGEN® (QIAGEN, EE.UU.) para obtener ADN. Los ADN purificados se digirieron con *NdeI* y *βamHI* y después se confirmaron de nuevo colonias individuales que contenían los genes deseados en gel de agarosa al 2 % con EtBr. Los ADN se purificaron usando un Kit de Purificación por PCR (QIAGEN, EE.UU.) y se confirmaron las secuencias precisas de los fragmentos insertados. Las colonias de las que se confirmó la secuencia de ADN se cultivaron en caldo LB en presencia de IPTG (Promega, EE.UU.). El cultivo resultante se centrifugó y las células precipitadas se trataron con urea 8 M (pH 8,0) para lisar las células. La proteína recombinante se separó usando agarosa Ni-NTA (níquel-ácido nitrilotriacético) (QIAGEN, EE.UU.) basándose en la unión entre 6X His unida al extremo N de la proteína recombinante y Ni-NTA, y se confirmó mediante EGPA-DDS y transferencia western.

Ejemplo de Preparación 1: Formulación para inyección

25 Para preparar una formulación para inyección, se disolvieron 100 mg de proteína ICAM-1 en agua y después se mezclaron con 10 ml de solución salina estéril al 0,9 %. La mezcla se incorporó en una forma de dosificación unitaria adecuada para la inyección.

Ejemplo de Preparación 2: Formulación para inhalación

30 Para preparar una formulación para la administración por inhalación, se mezclaron 20 mg de proteína ICAM-1 con 50 mg de ácido cítrico anhidro y 100 ml de solución de cloruro de sodio al 0,9 %. La mezcla se incorporó en una unidad de entrega por inhalación, tal como un nebulizador, que es adecuada para la administración por inhalación.

Ejemplo de Preparación 3: Formulación para entrega nasal

35 Para preparar una solución de pulverización nasal, se mezclaron 10 g de proteína ICAM-1 con 30 ml de una solución de tampón fosfato 0,05 M (pH 4,4). La solución se colocó en un administrador nasal diseñado para entregar 100 µl de pulverización para cada aplicación.

REIVINDICACIONES

- 5 1. Una composición farmacéutica para su uso en la prevención o el tratamiento de una enfermedad neurológica, que comprende una proteína ICAM-1 (molécula de adhesión intercelular 1), o un fragmento o una variante de la misma, como ingrediente activo, en la que la enfermedad neurológica es una enfermedad seleccionada entre el grupo que consiste en enfermedad de Alzheimer, epilepsia y deterioro cognitivo leve, y es provocada por al menos uno seleccionado entre el grupo que consiste en la formación de placa beta-amiloide en neuronas, la reducción de la expresión de neprilisina en neuronas y una combinación de los mismos.
- 10 2. La composición farmacéutica para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en la que la proteína ICAM-1 tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ. ID. NO.: 1 o la secuencia de aminoácidos de la que se elimina un péptido señal que corresponde a los restos de aminoácidos 1° a 27°.
3. La composición farmacéutica para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en la que el fragmento de la proteína ICAM-1 tiene una actividad biológica equivalente a la de la proteína ICAM-1.
- 15 4. La composición farmacéutica para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en la que la variante de la proteína ICAM-1 tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ. ID. NO.: 1 en la que se sustituyen, se delecionan, se insertan y/o se añaden uno o más aminoácidos, y tiene una actividad biológica equivalente a la de la proteína ICAM-1.
5. La composición farmacéutica para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en la que la variante de la proteína ICAM-1 tiene una secuencia de aminoácidos idéntica en al menos el 90 %, el 93 %, el 95 %, el 96 %, el 97 %, el 98 % o el 99 % a la proteína ICAM-1 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ. ID. NO.: 1, y tiene una actividad biológica equivalente a la de la proteína ICAM-1.
- 20 6. La composición farmacéutica para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en la que la proteína ICAM-1, o el fragmento o la variante de la misma, induce la expresión de neprilisina (NEP) para promover la degradación de beta-amiloide (A β).

FIG. 1

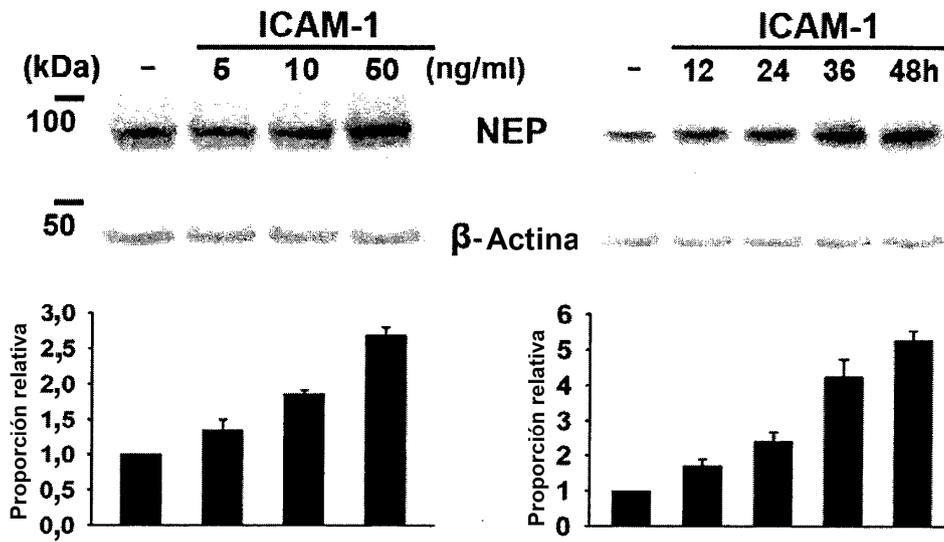


FIG. 2

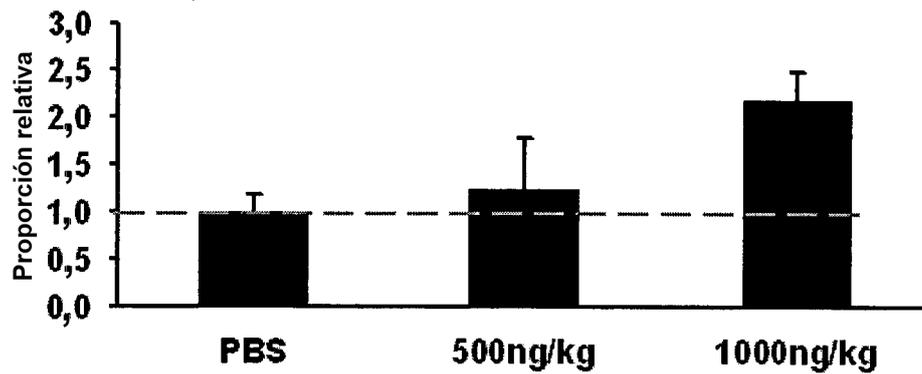
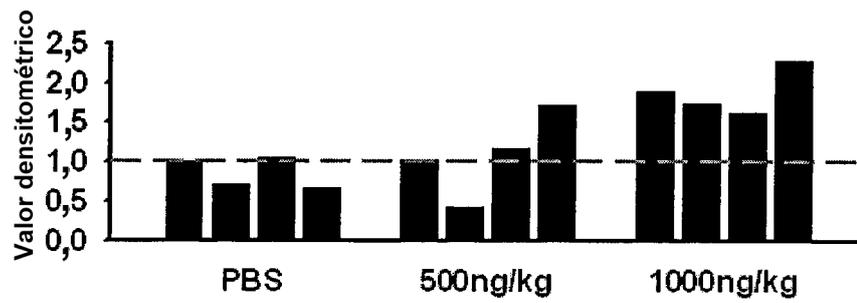
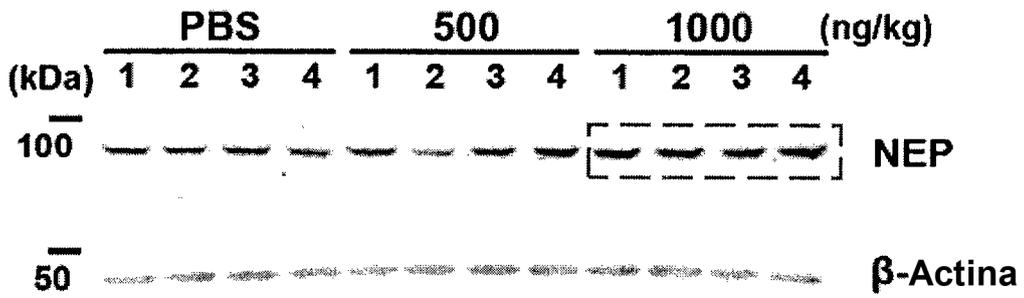


FIG. 3

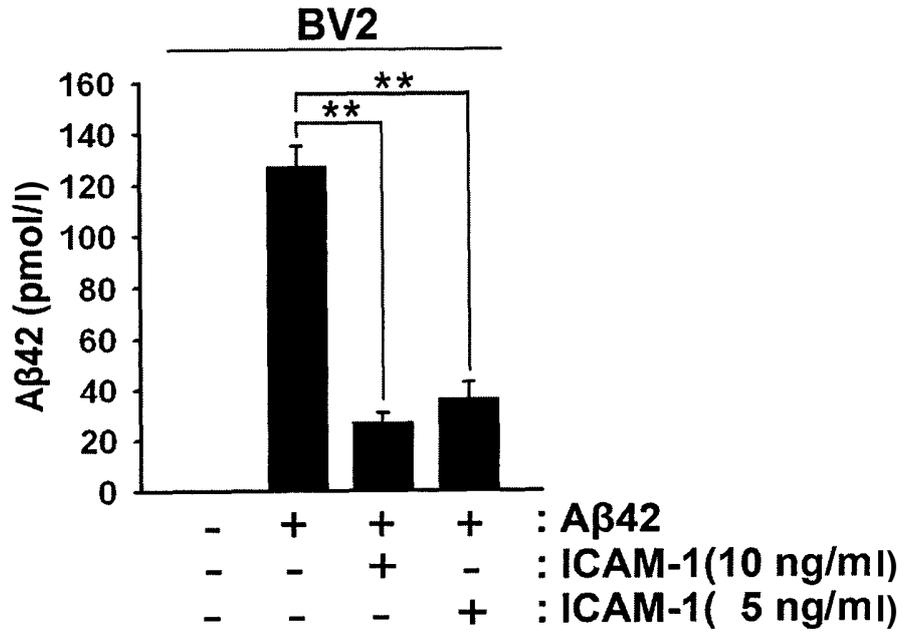


FIG. 4

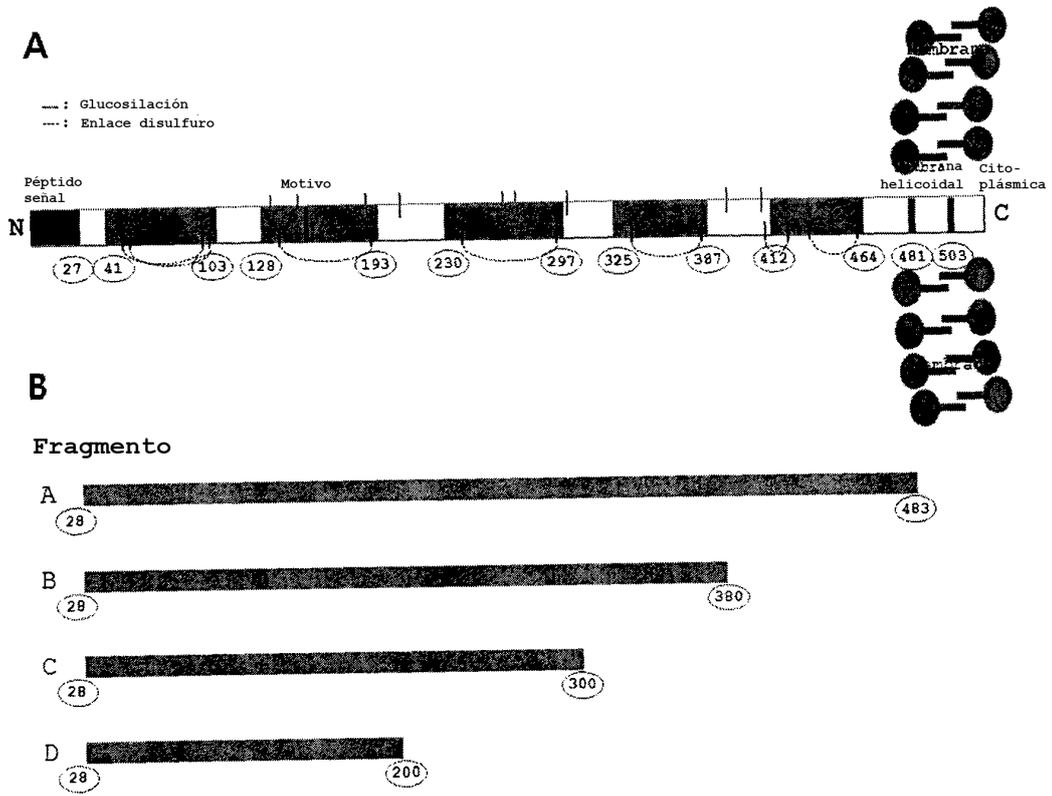


FIG. 5

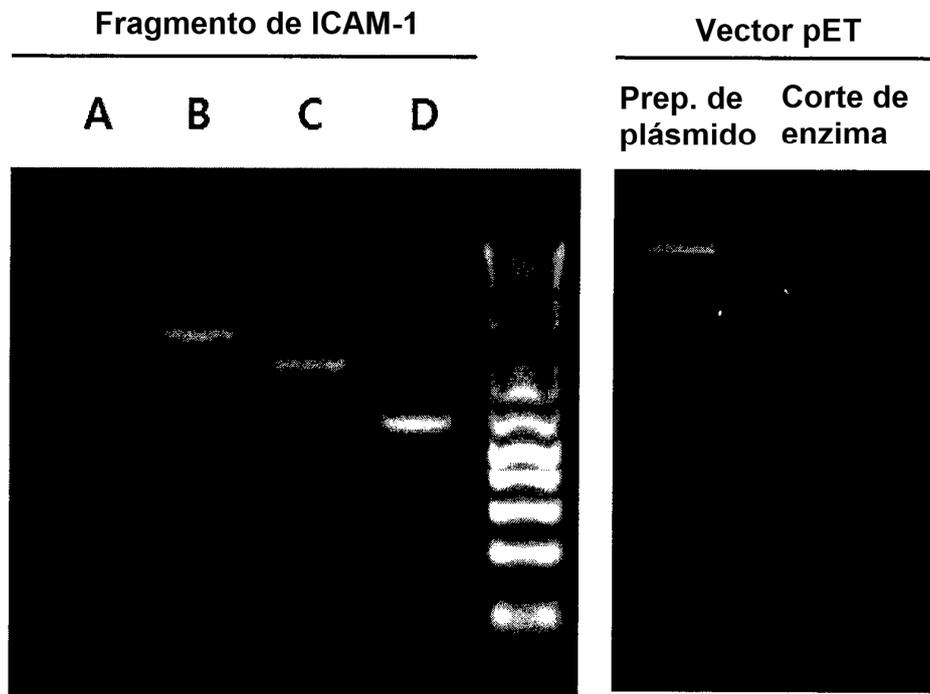


FIG. 6

