

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 726 223**

51 Int. Cl.:

A61K 31/135 (2006.01)

A61K 45/06 (2006.01)

A61K 9/00 (2006.01)

A61P 25/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **14.01.2015 PCT/US2015/011412**

87 Fecha y número de publicación internacional: **23.07.2015 WO15108985**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **14.01.2015 E 15702607 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **13.03.2019 EP 3094312**

54 Título: **Composiciones que comprenden ketamina para el tratamiento de un trastorno del espectro autista**

30 Prioridad:

14.01.2014 US 201461926991 P
03.10.2014 US 201462059306 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
02.10.2019

73 Titular/es:

CHILDREN'S HOSPITAL MEDICAL CENTER
(100.0%)
3333 Burnet Avenue
Cincinnati, Ohio 45229, US

72 Inventor/es:

ERICKSON, CRAIG ANDREW;
WINK, LOGAN KRISTEN y
SCHAEFER, TORI LYNN

74 Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

ES 2 726 223 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

Composiciones que comprenden ketamina para el tratamiento de un trastorno del espectro autista

Antecedentes

5 Durante la última década, ha habido un fuerte aumento en los casos reportados de trastornos del espectro autista (TEA) con una estimación reciente de la prevalencia de CDC en los EE. UU. De 1 de cada 88 niños diagnosticados con TEA. Los niños diagnosticados con un TEA tienen un gasto médico resultante de 4 a 6 veces mayor que los compañeros con desarrollo típico, y soportan déficits de por vida en la comunicación e interacción social y patrones restringidos de comportamiento o intereses. A menudo también presentan síntomas asociados, que incluyen hiperactividad e irritabilidad. A pesar de la extensa investigación farmacéutica, no hay medicamentos aprobados por
10 la FDA para el tratamiento del deterioro social básico asociado con el TEA. Varios factores han contribuido al lento desarrollo de la farmacoterapia dirigida al deterioro básico, incluida la presentación clínica heterogénea del TEA y la disponibilidad limitada de medidas de resultado objetivas de mejora social/comunicación. Sigue habiendo una clara brecha en la base de conocimientos sobre el tratamiento eficaz de los fármacos para el deterioro social y de la comunicación básicos en el ASD.

15 Breve compendio

La presente invención se refiere a una composición que comprende ketamina para uso en un método para tratar un trastorno del espectro autista según las reivindicaciones. Además, se describen métodos para el tratamiento de un sujeto que tiene un trastorno del espectro autista. Las composiciones descritas pueden contener ketamina racémica o S-ketamina. Los métodos descritos para administrar las composiciones incluyen la administración intranasal a un
20 sujeto que tiene un trastorno del espectro autista.

Breve descripción de los dibujos

La figura 1 representa un gráfico que muestra datos clínicos de seguimiento ocular que emplean el conjunto de estimulación NimStim que mide la duración de la fijación de la mirada en la región ocular de expresión facial temerosa, feliz o tranquila, que aumentó significativamente durante el curso del tratamiento en el paciente descrito en el Ejemplo 3.

25 La figura 2 representa un gráfico de la duración de la fijación en los ojos en segundos, antes y después de la dosis, antes de la dosis: 4,09, después de la dosis: 8,33 por ejemplo 4.

La figura 3 representa un gráfico de la duración de la fijación en la cara en segundos, antes y después de la dosis, antes de la dosis: 14,01, después de la dosis: 21,7 por el ejemplo 4.

30 La figura 4 representa un gráfico de la duración de la fijación en los ojos en segundos, antes y después de la dosis, antes de la dosis: 2,92, después de la dosis: 12,79 por ejemplo 5.

La figura 5 representa los resultados del ensayo social de cámara del ejemplo 6.

Descripción detallada

Definiciones

35 Los términos y expresiones utilizados en el presente documento tienen el significado ordinario que se otorga a dichos términos y expresiones con respecto a sus respectivas áreas de investigación y estudio respectivas, excepto en los casos en que se han establecido significados específicos en el presente documento.

40 Como se usa en el presente documento y en las reivindicaciones adjuntas, las formas singulares "un", "y" y "el" incluyen referentes plurales a menos que el contexto indique claramente lo contrario. Así, por ejemplo, la referencia a "un método" incluye una pluralidad de dichos métodos y la referencia a "una dosis" incluye una referencia a una o más dosis y equivalentes de los mismos conocidos por los expertos en la técnica, y así sucesivamente.

45 El término "aproximadamente" o "alrededor de" significa dentro de un intervalo de error aceptable para el valor particular determinado por un experto en la técnica, que dependerá en parte de cómo se mide o determina el valor, por ejemplo, las limitaciones de sistema de medida. Por ejemplo, "aproximadamente" puede significar dentro de 1 o más de 1 de desviación estándar, por la práctica en la técnica. Alternativamente, "aproximadamente" puede significar un intervalo de hasta el 20%, o hasta el 10%, o hasta el 5%, o hasta el 1% de un valor dado. Alternativamente, particularmente con respecto a los sistemas o procesos biológicos, el término puede significar dentro de un orden de magnitud, preferiblemente dentro de 5 veces, y más preferiblemente dentro de 2 veces, de un valor. Cuando se describan valores particulares en la solicitud y las reivindicaciones, a menos que se indique lo contrario, se debe asumir el término "aproximadamente" dentro de un intervalo de error aceptable para el valor particular.

50 Los términos "individuo", "huésped", "sujeto" y "paciente" se usan indistintamente para referirse a un animal que es objeto de tratamiento, observación y/o experimento. "Animal" incluye vertebrados e invertebrados, tales como peces, mariscos, reptiles, aves y, en particular, mamíferos. Mamífero incluye, sin limitación, ratones, ratas, conejos, cobayas,

perros, gatos, ovejas, cabras, vacas, caballos, primates, tales como monos, chimpancés y simios y, en particular, seres humanos.

5 El término "cantidad efectiva" significa que la cantidad de la formulación que será efectiva en el tratamiento de un sujeto en particular dependerá del sujeto en particular y del estado del sujeto, y puede determinarse mediante técnicas clínicas estándar. Además, los ensayos *in vitro* o *in vivo* pueden emplearse opcionalmente para ayudar a identificar los intervalos de dosificación óptimos. La dosis precisa que se empleará también dependerá del estado del paciente y debe decidirse según el criterio del médico y las circunstancias de cada paciente.

10 El término "farmacéuticamente aceptable" significa aprobado por una agencia reguladora del gobierno federal o estatal o que figura en la Farmacopea de los EE. UU. u otra farmacopea generalmente reconocida o, de lo contrario, probado como seguro para uso en animales, mamíferos, y más particularmente en seres humanos.

15 Como se usa en el presente documento, el lenguaje "vehículo farmacéuticamente aceptable" pretende incluir cualquiera y todos los disolventes, medios de dispersión, recubrimientos, agentes antibacterianos y antifúngicos, agentes isotónicos y de absorción, y similares, compatibles con la administración farmacéutica. Los vehículos farmacéuticamente aceptables incluyen un amplio intervalo de diluyentes conocidos (es decir, disolventes), rellenos, agentes de extensión, aglutinantes, agentes de suspensión, desintegrantes, tensioactivos, lubricantes, excipientes, agentes humectantes y similares comúnmente utilizados en este campo. Estos vehículos pueden usarse individualmente o en combinación según la forma de la preparación farmacéutica, y pueden abarcar además "excipientes farmacéuticamente aceptables" como se define en el presente documento.

20 El término "compromiso social", como se usa en el presente documento, es sinónimo de relación social, es decir, el interés de uno en la actividad social, la capacidad y el interés en participar en situaciones sociales, participar con estímulos sociales, etc. Al mirar las caras, se representa el compromiso social en su mayoría, mirar a los ojos, algo que falta sustancialmente en las personas con autismo/TEA.

25 El antagonista del receptor de glutamato N-metil-D-aspartato (NMDA) ketamina, ha demostrado en ensayos clínicos controlados que disminuye rápidamente los síntomas de la depresión en individuos con depresión mayor y depresión bipolar mediante inyección intravenosa y/o IM. A randomized trial of an N-methyl-D-aspartate antagonist in treatment-resistant major depression. Arch Gen Psychiatry, 2006. 63(8): p. 856-64; Zarate, C.A., Jr., et al., Replication of ketamine's antidepressant efficacy in bipolar depression: a randomized controlled add-on trial. Biol Psychiatry, 2012. 71(11): p. 939-46. Se ha explorado la administración intranasal (IN) en adolescentes con trastorno bipolar con resultados prometedores. Papolos, D.F., et al., Clinical experience using intranasal ketamine in the treatment of pediatric bipolar disorder/fear of harm phenotype. J Affect Disord, 2013. 147(1-3): p. 431-6. Hasta la fecha, sin embargo, no se han publicado informes sobre el tratamiento con ketamina en individuos con TEA. Además, aunque se ha sugerido que la ketamina es un posible tratamiento para el autismo, dichas enseñanzas se limitan al uso de niveles de ketamina en niveles tan altos como para inducir un efecto anestésico. (Zimmerman, documento U.S. 4,994,467). Dichos niveles son peligrosamente altos para uso no esencial y no son prácticos para el tratamiento de individuos con este trastorno debido a los altos riesgos involucrados en dichos niveles de dosificación. Además, no ha habido pruebas hasta la fecha de que se pudieran administrar niveles bajos de ketamina por vía intranasal para lograr un efecto positivo en pacientes con TEA, ni se esperaría tal resultado en vista del conocimiento en la técnica.

40 Si bien aún no se ha desarrollado una comprensión detallada de la fisiopatología del TEA, la desregulación de la neurotransmisión de glutamato se ha implicado de manera consistente en desempeñar un papel potencial en la TEA. El glutamato es el neurotransmisor excitador primario y el glutamato desempeña un papel en el desarrollo neuronal y la plasticidad sináptica. Estudios recientes han identificado niveles anormales de glutamato periférico, expresión anormal de glutamato en el cerebro post mortem y anomalías genéticas en los genes de señalización de glutamato en individuos con TEA³. La atenuación de la neurotransmisión de glutamato específica de N-metil-D aspartato (NMDA) ha sido objeto de importantes esfuerzos de desarrollo de fármacos hasta la fecha en el TEA. Los inhibidores dependientes del uso de la neurotransmisión de NMDA d-cicloserina (DCS), amantadina y memantina han sido objeto de estudio en TEA. DCS y amantadina fueron sujetos de ensayos negativos controlados con placebo en TEA^{4,8}. Los resultados de un estudio de memantina controlado con placebo y patrocinado por la industria en ASD permanecen sin revelar. La irritabilidad que promueve los efectos de la memantina en el TEA ha sido descrita,^{6,7} debido a la acción adicional de la memantina como agonista del receptor de dopamina D2⁹.

50 La ketamina (2-(2-clorofenil)-2-(metilamino)-ciclohexanona) es un agente anestésico aprobado por la FDA utilizado desde la década de 1970 mediante administración intravenosa intramuscular (IM) para la inducción rápida de anestesia disociativa. La ketamina es un antagonista de NMDA no competitivo único que bloquea el canal abierto de NMDA para disminuir el tiempo de apertura del canal y también utiliza la modulación alostérica para reducir la frecuencia media de apertura del canal⁸. También se ha demostrado que la ketamina mejora la maduración inducida por glutamato de las redes sinápticas y la plasticidad sináptica en los modelos preclínicos¹⁰. Además, en ensayos clínicos se ha demostrado que la ketamina proporciona un alivio rápido de la depresión en adultos a través de una sola dosis intravenosa¹¹. Históricamente, el uso de ketamina para el tratamiento clínico se ha visto limitado por la dosificación intravenosa. Sin embargo, recientemente se ha investigado la ketamina intranasal (IN) para su uso en niños con trastorno bipolar. La evidencia emergente apoya el uso de ketamina IN para el tratamiento del estado de ánimo, la ansiedad y los síntomas agresivos en niños con trastorno bipolar¹². Hasta la fecha, ningún estudio ha investigado el uso de ketamina en TEA.

La ketamina tiene un perfil farmacodinámico único claramente diferenciado de otros moduladores glutamatérgicos estudiados en TEA hasta la fecha. Este perfil, junto con el largo historial de seguridad de ketamina y el novedoso sistema de administración IN, hacen de la ketamina la siguiente etapa esencial en la investigación farmacológica para el tratamiento de las características básicas del TEA. Como un fármaco de bajo coste disponible genéricamente, la ketamina tiene una gran promesa de tratar ampliamente los deterioros sociales y de comunicación que son el sello distintivo del TEA. El desarrollo de ketamina IN para su uso en TEA aborda la importante brecha en la base de conocimientos de una farmacología efectiva de TEA mientras que utiliza un fármaco con un perfil de seguridad demostrado que está preparado para un uso rentable generalizado durante toda la vida.

La falta de una medida cuantitativa y objetiva del deterioro social básico ha plagado el desarrollo previo del tratamiento farmacológico en TEA. Nuestro grupo ha abordado esta brecha del estudio del fármaco del TEA trabajando con una medida novedosa de preferencia social anormal. El solicitante ha desarrollado una tarea de seguimiento ocular de la preferencia social de un minuto en jóvenes y adultos jóvenes con TEA que ha demostrado una preferencia reducida en las personas con TEA para ver escenas sociales de personas que interactúan en lugar de ver objetos geométricos en movimiento (relación de visión social/geométrica en personas con TEA = 2,3 frente a 3,9 para personas sin TEA; $p=0,03$)¹⁴. Se cree que esta novedosa tarea de seguimiento ocular cuantitativo proporcionará un medio objetivo para evaluar el cambio en la preferencia social con tratamiento en la investigación del TEA.

Los biomarcadores en la investigación del TEA son prometedores tanto para ayudar a comprender la fisiopatología del TEA como para actuar como marcadores/predictores de la respuesta al tratamiento dirigido¹⁵. La quinasa relacionada con la señal extracelular (ERK) es un punto nodal para varias cascadas de señalización, y numerosos hallazgos recientes vinculan la posible desregulación de ERK con la fisiopatología del TEA idiopático¹⁶⁻²⁰. Se ha demostrado que los ratones knockout condicionales de la isoforma 2 de ERK (ERK2) exhiben varias características relevantes para el TEA, que incluyen una reducción del comportamiento social, déficits en la construcción de nidos y déficits de memoria²¹. La delección en el cromosoma 16p11.2 en el que se encuentra ERK1¹⁹, y la delección en el cromosoma 22q11.2, donde se encuentra el gen para ERK2^{18,20}, se han asociado con TEA. Se ha demostrado que la actividad de señalización ERK está regulada al alza en el modelo de ratón BTBR de autismo¹⁷. En el estudio post mortem, se ha demostrado que la expresión de proteínas y las actividades de las isoformas ERK1 y ERK2 están reguladas al alza en la corteza frontal de las personas con autismo¹⁶.

La actividad ERK anormal también se ha observado en el Síndrome X Frágil (SXF), una causa común de un solo gen de TEA (2 de cada 3 hombres con SXF cumplen con los criterios de ASD)²²⁻²⁴. Recientemente, se ha demostrado que la activación de ERK se retrasa en los linfocitos periféricos de seres humanos con SXF^{25,26}. Además de SXF, la regulación anormal de ERK es evidente en otros trastornos definidos asociados con TEA que incluyen esclerosis tuberosa y neurofibromatosis tipo 1²⁷.

Entre los factores biológicos asociados con el TEA, la macrocefalia es un hallazgo sistemáticamente repetido que afecta hasta al 20% de los niños con autismo²⁸⁻³⁰. Los estudios de imágenes de resonancia magnética (IRM) cerebral en TEA han señalado un aumento anormal del volumen cerebral total en bebés y niños pequeños³¹⁻³⁴. Además, el agrandamiento cerebral temprano marcado por un crecimiento excesivo del área de superficie que se observa en jóvenes con autismo puede estar asociado con una interrupción en la adhesión celular³⁵. Entre los factores que contribuyen a la teoría del crecimiento excesivo del cerebro de TEA, la fisiopatología, se ha propuesto la contribución potencial de la desregulación en el metabolismo de la proteína precursora de β -amiloide (APP)³⁶⁻³⁹. La APP se ha asociado con la enfermedad de Alzheimer (EA) donde la ruta amiloidogénica del procesamiento de la APP favorece la escisión de la APP por medio de la enzima que escinde la APP del sitio β o la β -secretasa (BACE1), lo que da como resultado péptidos de β -amiloide ($A\beta$) neurotóxicos con 40 y 42 residuos de aminoácidos⁴⁰. $A\beta$ 40 y $A\beta$ 42 son los componentes principales de las placas seniles asociadas con atrofia cerebral en AD. La APP se localiza predominantemente en la sinapsis⁴¹, producida en microglía cerebral, astrocitos, oligodendrocitos y neuronas⁴², y se libera de una manera impulsada por la actividad⁴³. La activación del receptor metabotrópico de glutamato tipo 1 y tipo 5 (mGluR1/5) aumenta la secreción de APP en el cultivo celular⁴³. Los niveles más altos de APP ocurren temprano en la sinaptogénesis⁴⁴ y alcanzan su máximo antes de 1 mes de edad en roedores⁴⁵. La APP se ha implicado en el crecimiento de las neuritas^{41,42} y promueve el desarrollo del cono de crecimiento que actúa en oposición a los efectos de recorte los receptores de glutamato (N-metil-D-aspartato) NMDA y (ácido α -amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazol propiónico) AMPA sobre los conos de crecimiento⁴¹. Como se muestra en los estudios de cultivos celulares, la APP puede bloquear y revertir la inhibición glutamatérgica del crecimiento de dendritas⁴⁶. La APP se ha relacionado con la supresión de la adhesión de las células neuronales⁴⁷ y la sobreexpresión de la APP acelera la migración de las células precursoras neuronales hacia la corteza⁴⁸. La ruta de procesamiento de APP no amiloidogénica que implica la escisión por la familia de enzimas α -secretasa (tales como ADAM 9, 10 y 17) es la ruta de procesamiento de APP predominante que conduce a la liberación de APP α secretada no amiloidogénica (sAPP α)^{37,46}. Varios informes han señalado los efectos neurotróficos de la sAPP α , incluida la actividad para inducir la proliferación celular, incluida la proliferación de células progenitoras neurales⁴⁹⁻⁵¹. Cabe destacar que la sAPP α también activa microglia⁵². En general, la APP y específicamente la sAPP α son candidatas principales para contribuir a la interrupción sináptica y el crecimiento excesivo del cerebro en ASD, dado el aumento de proteínas de la proliferación neuronal. Se ha demostrado que la modulación de APP y $A\beta$ son un objetivo de varios fármacos, incluidos los inhibidores de la colinesterasa y un antagonista parcial del receptor de NMDA (memantina)⁵³⁻⁵⁵.

Ha habido varios informes sobre anomalías en la APP secretada y específicamente sAPP α en la sangre de jóvenes

con autismo, incluido un trabajo significativo realizado por el Solicitante en colaboración con el laboratorio de Deb Lahiri PhD en la Universidad de Indiana^{36-38, 56}. Se identificaron niveles más altos de sAPP y sAPPa plasmáticos totales en una pequeña muestra de niños pequeños con autismo y comportamiento agresivo en comparación con los jóvenes menos discapacitados con autismo sin comportamiento agresivo y sujetos de control³⁸. En un informe de seguimiento que incluyó a 16 jóvenes con autismo y 18 sujetos de control, se encontró un aumento similar en sAPPa en niños con autismo grave en comparación con los jóvenes con casos más leves de autismo y sujetos de control neurotípico³⁷. En el mismo estudio, se identificaron niveles reducidos de Aβ40 y Aβ42 en los jóvenes con autismo grave en comparación con los sujetos de control. En un estudio que incluyó a 25 jóvenes con autismo de 2 a 5 años de edad y sujetos de control emparejados, la PAAP plasmática media fue significativamente mayor en aquellos con autismo; el 60% de las personas con autismo tenían elevaciones en sAPPα⁵⁶. Teniendo en cuenta estos resultados, la elevación de la sAPP en plasma (total) y específicamente de la sAPPa podría ser un marcador de desregulación molecular que contribuya a la fisiopatología del autismo.

Las composiciones farmacéuticas actuales de ketamina son mezclas racémicas de S- y R-ketamina, aunque se ha encontrado que la S-ketamina es dos o tres veces más potente que la R-ketamina que la mezcla racémica. (Véase, por ejemplo, el documento EP 1567145 B1). La ketamina S también se usa en países extranjeros como anestésico IV, bajo los siguientes nombres comerciales: Ketanest S, Ketanest-S, Keta-S y S-Ketamin Pfizer.

El solicitante ha encontrado sorprendentemente que la ketamina, en forma intranasal, es capaz de mitigar los efectos del autismo en seres humanos. En particular, el solicitante ha encontrado un efecto beneficioso con respecto a los aspectos de comportamiento en pacientes con TEA en respuesta a la administración intranasal de ketamina. Además, el solicitante ha observado una mitigación similar de los comportamientos asociados con el autismo en un modelo de ratón con autismo.

La invención se refiere a una composición que comprende ketamina y un excipiente y/o vehículo farmacéuticamente aceptable para uso en un método de tratamiento de trastorno del espectro autista en un sujeto que lo necesite, que comprende la etapa de administración intranasal a dicho sujeto, según las reivindicaciones. Realizaciones adicionales de la composición se describen en el presente documento.

Además, se describe un método para tratar un trastorno del espectro autista en un sujeto que lo necesite. El método puede comprender la etapa de administrar intranasalmente una composición que comprende ketamina y un excipiente y/o vehículo farmacéuticamente aceptable a dicho sujeto que lo necesite.

En un aspecto, la composición puede comprender ketamina racémica. En un aspecto, la composición puede comprender S-ketamina. En un aspecto, la composición puede comprender más de aproximadamente 50%, o más de aproximadamente 60%, o más de aproximadamente 70%, o más de aproximadamente 80% o más de aproximadamente 90%, o más de aproximadamente 95%, o más del 99% del enantiómero S de la ketamina. En un aspecto, la composición puede estar sustancialmente libre de R-ketamina.

En ciertos aspectos, la composición puede comprender un segundo agente activo. Por ejemplo, la composición puede comprender además un agente para tratar el autismo. Tales agentes pueden incluir cualquier agente conocido en la técnica, por ejemplo, antipsicóticos atípicos, estimulantes, inhibidores de la recaptación de serotonina, agonistas alfa 2 o combinaciones de los mismos.

En un aspecto, la composición puede administrarse semanalmente. En otros aspectos, la composición puede administrarse cada dos a siete días o, en otros aspectos, a diario. La composición puede administrarse en una dosis creciente.

La composición se administra en una dosis de aproximadamente 20 a aproximadamente 120 mg de ketamina. La composición puede administrarse en una dosis de aproximadamente 50 a aproximadamente 100 mg, o de aproximadamente 70 a aproximadamente 80 mg. Las dosis adecuadas pueden determinarse sobre una base de mg/kg. Por ejemplo, la dosis puede ser de aproximadamente 0,25 mg/kg a aproximadamente 3 mg/kg, o de aproximadamente 0,5 mg/kg a aproximadamente 2 mg/kg, o de aproximadamente 0,75 mg/kg a aproximadamente 1,5 mg/kg, o aproximadamente 1 mg/kg. Dicha dosis se puede administrar a intervalos regulares, por ejemplo, diariamente, semanalmente o cada 1 a 7 días, cada 2 a 6 días, cada 3 a 5 días, o cualquier combinación de los mismos. La dosis puede variar entre individuos y generalmente puede ser una dosis semanal con una dosis suplementaria según sea necesario.

Las composiciones descritas en el presente documento pueden comprender además otros agentes adecuados para una administración mejorada a través de la mucosa nasal. Por ejemplo, en ciertos aspectos, se pueden incluir en la composición agentes tales como un potenciador de la permeación, un polímero capaz de aumentar la adhesión de la mucosa de la composición, o una combinación de los mismos.

Además, se describe un dispositivo de administración intranasal que comprende una composición que comprende ketamina, preferiblemente S-ketamina, y un vehículo farmacéuticamente aceptable. La composición del dispositivo puede comprender cualquier composición como se describe anteriormente.

Además, se describen métodos para mejorar el compromiso social, que comprenden la etapa de administrar una

composición como se describe en el presente documento a un sujeto que tiene autismo/TEA, en donde dicha etapa de administración es a través de la administración intranasal.

Además, se describe un método para medir la respuesta al tratamiento que comprende el paso de usar las caras de Nim Stim como medida del cambio en la relación social. Dado que la disminución de la visión de los ojos se ha informado con frecuencia en personas con autismo y que esta reducción es una medida aceptada de la reducción de la relación social, la visualización de las regiones de los ojos antes y después del tratamiento con ketamina utilizando una selección de caras del conjunto Nim Stim puede ser juzgada.

Ejemplos

Ejemplo 1

La ketamina se combina en un dispositivo de atomización de la mucosa que administra 20 mg de ketamina atomizada por 0,1 cc en pulverización. El sujeto se auto administrará (o administrará con la ayuda de un cuidador) ketamina cada cuatro a siete días. En la primera administración, se administran 2 pulverizaciones. En los días posteriores de administración, se agregará un pulverizador a la dosis, a menos que el sujeto alcance la respuesta al tratamiento como se describe en el presente documento. Cuando se obtiene una respuesta al tratamiento, la dosis permanecerá constante a esta dosis mínimamente efectiva durante todo el tratamiento. Si se observa un efecto adverso, la dosis se reducirá a una dosis tolerable previa para el resto del tratamiento.

La respuesta al tratamiento se define como una puntuación de 1 "mucho" o 2 "muy mejorada" en la escala de mejora CGI (CGI-I) y una mejora del ,25% en el ABC-SW. Las medidas adicionales del informe del sujeto y/o cuidador incluirán la Escala de Responsabilidad social (SRS), Escala de la depresión, ansiedad y estado de ánimo (ADAMS), la Escala obsesiva compulsiva de Yale-Brown para los trastornos generalizados del desarrollo (YBOCS-PDD) y la CGI-S. Todas las medidas se completarán al inicio y en cada visita.

El seguimiento ocular se completará utilizando un seguidor ocular manos libres Tobii T120 como lo hizo anteriormente nuestro grupo. Los sujetos verán videos de interacción social colocados al lado del video de objetos geométricos en movimiento, así como imágenes de caras emocionales que durarán un total de 5 minutos, la salida del seguimiento ocular se informará como la relación entre el tiempo de visualización social y geométrico y la duración media de la fijación de la mirada en las regiones de ojos, nariz y boca de caras emocionales. El seguimiento ocular se completará al inicio del estudio y cada visita antes de la dosificación del medicamento.

Ejemplo 2

La ketamina se combina en un dispositivo de atomización de la mucosa que administra 20 mg de ketamina atomizada por 0,1 cc en pulverizador. El sujeto se auto administrará (o administrará con la ayuda de un cuidador) dosis ascendentes de 20 mg en la semana 1, 40 mg semana 2, 60 mg semana 3, 80 mg semana 4, a menos que el sujeto alcance la respuesta al tratamiento como se describe anteriormente o experimenta efectos adversos antes de alcanzar la dosis de 80 mg. En caso de respuesta al tratamiento, la dosis permanecerá constante a la dosis mínimamente efectiva durante todo el tratamiento. En caso de un evento adverso, la dosis se reducirá a la dosis tolerable anterior.

Ejemplo 3

La paciente es una mujer de 29 años con TEA, anorexia nerviosa, trastorno obsesivo compulsivo y trastorno depresivo mayor. Ella tiene una historia de 15 años de enfermedad psiquiátrica debilitante, con más de 30 ensayos de medicación psicotrópica, múltiples hospitalizaciones psiquiátricas, tratamiento residencial, terapia electroconvulsiva, terapia de recuperación de peso y un intento de suicidio. Los síntomas en la presentación incluyeron deterioro social, comportamientos repetitivos, necesidad de monotonía, sensibilidad sensorial, temores de contaminación, bajo peso, ciclos menstruales ausentes, purga crónica, estado de ánimo depresivo, anhedonia, baja energía, poca concentración y tendencia al suicidio crónica. Los medicamentos diarios incluyeron selegilina transdérmica, lamotrigina, naltrexona y clonazepam. A pesar del tratamiento extenso, ella permaneció significativamente discapacitada y recientemente había tomado una licencia médica de la escuela de posgrado. Después de discutir los riesgos potenciales, el paciente eligió someterse a un tratamiento con ketamina IN.

La evaluación integral inicial incluyó una entrevista clínica realizada por un psiquiatra con experiencia en TEA (LKW), el Módulo 4 del Programa de observación diagnóstica del autismo (ADOS) realizado por un psicólogo de investigación confiable (RCS), signos vitales, electrocardiograma (EKG), hemograma completo, y panel metabólico completo. El pulverizador nasal de ketamina combinado para administrar 20 mg por 0,1 cc de pulverizador se obtuvo de una composición de farmacia. Todas las visitas se realizaron en una clínica psiquiátrica ambulatoria, con visitas para la administración de ketamina IN los días 1, 7, 14, 17 y 21. Antes de la administración de medicamentos en cada visita, se completó la Escala de Clasificación de Depresión de Montgomery-Asberg (MADRS), el Inventario de Depresión de Beck (BDI), la Escala Obsesiva Compulsiva de Yale-Brown (Y-BOCS), la Prueba de Actitudes al Comer (EAT-26) y un paradigma de seguimiento ocular de las caras emocionales del Conjunto de Estímulos NimStim. Tottenham, N., et al., Categorization of facial expressions in children and adults: establishing a larger stimulus set. Reunión Anual de la Sociedad de Neurociencia Cognitiva, 2002. Tras la administración de la medicación, se monitorizaron los signos vitales durante 60 minutos. Además, el MADRS y el BDI se completaron a intervalos irregulares entre las visitas.

Al inicio del estudio, la entrevista clínica y ADOS-2 confirmaron el diagnóstico de TEA. Los signos vitales, los laboratorios y el EKG no revelaron anomalías, excepto un peso bajo (IMC = 15). La puntuación MADRS fue 44 y BDI 35 indicando síntomas de depresión severa. Las subescalas Y-BOCS se elevaron significativamente. La puntuación EAT-26 indicó síntomas de trastorno alimenticio significativos.

5 El paciente se auto administró 20 mg de ketamina IN el día 1 de tratamiento y 40 mg los días 7, 14, 17 y 21. El aumento de la dosificación entre el día 1 y el 7 se basó en la tolerancia de la dosis inicial y la mejora breve pero significativa en el estado de ánimo resultante. La frecuencia de dosificación se incrementó a cada 3 días en función del retorno al estado de ánimo inicial a los 3-4 días posteriores a las dosis 1, 7 y 14. Inmediatamente después de la administración de ketamina, el paciente notificó sedación transitoria, mareos, adormecimiento de las extremidades y la cara y visión borrosa que duró aproximadamente 90 minutos después de la dosis. La presión arterial, la frecuencia cardíaca y la temperatura se mantuvieron estables en todo momento. Ella experimentó dolores de cabeza leves que duraron de 6 a 10 horas después de cada dosis. La paciente informó una mejoría significativa en el estado de ánimo y mejoró drásticamente las puntuaciones de BDI y MADRS dentro de las 24 horas posteriores a cada dosis. También informó de una mayor facilidad para interactuar con los demás, una menor necesidad de purgar y más flexibilidad y tolerancia al cambio de rutina. Cabe destacar que el día 2 aceptó el tratamiento hospitalario de su trastorno alimenticio, tratamiento que había rechazado durante los meses anteriores a la administración de ketamina. Esto fue visto por su equipo de tratamiento como un signo de mejora en la perspectiva y reducción de la rigidez en su pensamiento. La paciente permaneció hospitalizada durante el resto del tratamiento descrito en el presente documento.

20 Entre las visitas del día 21 y 43, la paciente continuó auto administrándose ketamina IN fuera de nuestra clínica. La dosificación se aumentó a 60 mg en el día 30 debido a la disminución de la respuesta percibida a la dosis anterior. El paciente continuó tolerando la ketamina sin dificultad. En el día 43, informó que mejoró significativamente el estado de ánimo, aumentó la motivación, mejoró la concentración, disminuyó los pensamientos suicidas y se sintió más conectada con los demás. Las puntuaciones MADRS y BDI continuaron mejorando significativamente (Día 43 MADRS = 15; Día 43 BDI = 5). Además, los datos de seguimiento ocular que miden la duración de la fijación de la mirada en la región ocular de las caras que muestran expresiones de temor, felicidad o calma aumentaron significativamente a lo largo del tratamiento (FIG. 1). Repetir ADOS a las seis semanas no demostró ningún cambio en la puntuación ADOS, aunque subjetivamente el administrador sintió que la paciente era más simpática. Hubo pocos cambios en las puntuaciones Y-BOCS o EAT-26 a lo largo del tratamiento.

30 En conclusión, se observó que esta paciente complicada con una enfermedad de desarrollo significativo y psiquiátrica experimentó una mejoría notable en los síntomas de depresión con el tratamiento con ketamina IN. Además, se observó un cambio significativo en el paradigma del seguimiento ocular con el tratamiento. Los individuos con TEA tienden a pasar menos tiempo mirando la región ocular de las caras emocionales que los compañeros típicos, y el aumento significativo en la duración de la fijación de este paciente sugiere un interés social mejorado. Falck-Ytter, T., S. Bolte y G. Gredeback, Eye tracking in early autism research. *J Neurodev Disord*, 2013. 5 (1): p. 28. Este hallazgo no se explica por el alivio de sus síntomas de depresión, ya que con la mejoría sintomática, las personas deprimidas tienden a pasar menos tiempo mirando estímulos disfóricos. Armstrong, T. y BO Olatunji, Eye tracking of attention in the affective disorders: a meta-analytic review and synthesis. *Clin Psychol Rev*, 2012. 32(8): p. 704-23. Por el contrario, este paciente demostró una mayor duración de la fijación en la región del ojo de rostros temerosos con mejoría en los síntomas de depresión. Este es un hallazgo clave en un individuo con TEA, que sugiere un posible tratamiento del deterioro social básico con ketamina. Este trabajo es limitado debido la paciente única y complicada. Sin embargo, la tolerabilidad general de la ketamina IN combinada con una mejora significativa del estado de ánimo y un cambio potencial en el interés social sugieren la utilidad de la ketamina para el tratamiento en la población con TEA.

Ejemplo 4

45 Un segundo paciente tratado clínicamente con ketamina intranasal fue un varón de 15 años con trastorno autista. Este paciente fue tratado con una dosis inicial de 20 mg, con dosis posteriores de 40 mg por semana durante las siguientes 3 semanas. Este paciente experimentó una sedación menor, pero por lo demás toleró bien la ketamina.

50 Este paciente tiene los datos de seguimiento anteriores y posteriores de la dosis, antes y después de 40 mg de dosis de ketamina intranasal administradas semanalmente como se muestra en las Figuras 2 y 3. En la figura 2, antes de la dosis: 4.09; Después de la dosis: 8.33. En la figura 3, antes de la dosis: 14.01; Después de la dosis: 21.7. Del conjunto de estímulos NimStim, doce caras se presentan en cuatro series de tres caras separadas por videos de 20 segundos. Cada cara está precedida por una cara revuelta. Hay 3 emociones dispersas aleatoriamente de miedo, feliz y neutral, cada una presentada cuatro veces. Cambios de género con cada rostro.

Ejemplo 5

55 Un tercer paciente tratado clínicamente con ketamina intranasal fue un varón de 17 años con trastorno autista. Este paciente fue tratado con una dosis inicial de 20 mg una vez hasta la fecha.

Este paciente tiene los datos de seguimiento ocular anteriores y posteriores de la dosis inicial de 20 mg de ketamina intranasal administrada como se muestra en la FIG. 4. En la Figura 4, visualización previa a la dosis de la región ocular: 2.92; Después de la dosis: 12.79. Del conjunto de estímulos NimStim, doce caras se presentan en cuatro series de

tres caras separadas por videos de 20 segundos. Cada cara está precedida por una cara revuelta. Hay 3 emociones dispersas aleatoriamente de miedo, feliz y neutral, cada una presentada cuatro veces. Cambios de género con cada rostro. Los resultados que observaron la región del ojo fueron sorprendentes 1 hora después de la dosis.

Ejemplo 6

5 Los ratones hembra B6 (WT; control) y BTBR (modelo autista) se aparearon con machos de sus respectivas cepas. Los cachorros de estas estrategias de apareamiento fueron utilizados como sujetos. En el día postnatal 60 ratones fueron dosificados con un vehículo de solución salina (VEH) o 10 mg/ g de ketamina HCL racémica (10 KET) una vez a la semana durante 5 semanas. En la quinta semana, los ratones se probaron en la prueba social de 3 cámaras 24 h después de la dosificación. Los ratones se aclimataron a la cámara central durante 5 minutos y después se les permitió explorar las tres cámaras vacías durante 10 minutos. La fase de prueba siguió inmediatamente en la que se colocó un ratón extraño dentro de una cámara de barras metálicas (extraño) en una cámara lateral y una cámara vacía (objeto nuevo) se colocó en la otra cámara exterior. Los ratones BTBR expuestos a VEH evitaron la cámara que contiene el ratón extraño, que es un comportamiento que se describe en la literatura y que recuerda el autismo como la evitación social o el desinterés. Los ratones BTBR expuestos a la ketamina parecen tener una mayor preferencia por el ratón extraño en esta cohorte. La ketamina no alteró el comportamiento motor en el WT o en los ratones BTBR. Los resultados de la prueba social de cámara se muestran en la figura 4.

Ejemplo 7 Protocolo de estudio 1, placebo controlado

20 Para abordar la importante necesidad de un tratamiento eficaz de los síntomas básicos de la ASD, se propone un estudio piloto doble ciego de grupos paralelos controlados con placebo de ketamina intranasal (IN) en 12 individuos con agentes de TEA de 12 a 30 años que utilizan una medida de resultado cuantitativa novedosa de deterioro social. Para desarrollar un enfoque de medicina personalizada centrada en la ketamina en el ASD, se pueden incorporar evaluaciones farmacocinéticas (PK) y farmacodinámicas moleculares (PD) al estudio sistemático inicial al abordar los siguientes objetivos específicos:

25 **Objetivo #1:** Determinar si la ketamina IN muestra evidencia inicial de eficacia, seguridad y tolerabilidad en individuos con TEA. Sin pretender estar limitados por la teoría, se plantea la hipótesis de que la ketamina IN será segura y mostrará signos iniciales de eficacia dirigidos al deterioro social básico en el TEA.

30 **Objetivo #2:** Promover el desarrollo de la medición cuantitativa y objetiva del cambio social en el TEA utilizando un paradigma de seguimiento ocular. Sin pretender estar limitado por la teoría, se plantea la hipótesis de que los individuos con TEA exhibirán una mayor preferencia por ver escenas sociales y una mayor duración media de la fijación de la mirada en la región ocular de las caras emocionales con el uso de ketamina IN.

35 **Objetivo #3:** Examinar el impacto a corto y largo plazo de la administración de ketamina IN en la activación de la quinasa regulada con la señal extracelular (ERK) linfocítica y los niveles derivados de proteína precursora de amiloide en plasma (APP) en 12 individuos con TEA. Sin pretender limitarse a la teoría, se plantea la hipótesis de que el uso de ketamina se asociará con una reducción a corto y más largo plazo de las tasas elevadas de activación de ERK linfocítica y una reducción en la APP y SAPPa totales. Además, se plantea la hipótesis de que el uso de ketamina IN restaurará las tasas de activación de ERK y los niveles de derivados de APP en plasma en aquellos que concuerden con sus pares neurotípicos. Se plantea la hipótesis de que el grado de activación de ERK excesiva y la elevación de sAPPa en el inicio se correlacionan con el grado de respuesta al tratamiento clínico.

40 **Objetivo #4:** Sin pretender estar limitado por la teoría, se plantea la hipótesis de que la administración de ketamina IN exhibirá una farmacocinética lineal. El aumento de la concentración máxima de ketamina y la exposición sistémica (según lo medido por el área bajo la curva; AUC) se asociará con los efectos de los medicamentos, que incluyen el impacto sobre la ERK, la tolerabilidad y la respuesta clínica.

Diseño y Métodos de Investigación - Criterios de Inclusión

Edad ≥ 12 y <31 años.

45 Peso superior a 40 kg.

Buena salud general según lo determinado por el examen físico, la historia clínica, el trabajo de laboratorio y el EKG.

Diagnóstico DSM-V del trastorno del espectro autista (no asociado con el síndrome de X frágil u otro síndrome genético conocido) según lo confirmado por el Programa de observación diagnóstica del autismo (ADOS) en la pantalla o anterior (dentro de los últimos 5 años) si está disponible.

50 La puntuación de IQ válida ≥ 50 se confirmó a través de la prueba (Escala de Habilidades Diferenciales (DAS)) en pantalla o anterior (en los últimos 5 años, cualquier prueba válida es aceptable).

Escala de impresión clínica global Puntuación de gravedad (CGI-S) de ≥ 4 (moderadamente enferma)

Puntuación de ≥ 10 en la subescala de retiro social de la Lista de verificación de comportamiento anormal (ABC-SW)

en la pantalla y en el inicio

Dosis estable de todos los medicamentos psicotrópicos concomitantes durante cinco vidas medias antes de la visita de selección y durante el estudio.

5 Presencia del padre/madre/tutor o persona importante o cuidador que esté dispuesto a servir como informante para las medidas de resultados de comportamiento.

Diseño y métodos de investigación - Criterios de exclusión

Presencia de esquizofrenia comórbida, trastorno esquizoafectivo, trastorno bipolar con psicosis, trastorno bipolar o psicosis no especificado de otro modo. Diagnósticos comórbidos determinados por la entrevista clínica de psiquiatras y el uso de los criterios diagnósticos DSM-5.

10 Historial de abuso de drogas o alcohol.

Presencia de enfermedad cardíaca, incluida enfermedad arterial coronaria, insuficiencia cardíaca congestiva o hipertensión no controlada según el historial médico.

Historial de inestabilidad de las vías respiratorias, cirugía traqueal o estenosis traqueal según el historial médico.

Masas del sistema nervioso central o hidrocefalia según historial médico.

15 Porfiria, trastorno de la tiroides, uso de medicamentos para la tiroides según el historial médico.

Glaucoma u otra causa de aumento de la presión intraocular según el historial médico.

Alergia a la ketamina.

Uso actual de fármacos con modificación concomitante de la actividad del glutamato NMDA (amantadina, memantina, d-cicloserina, etc.)

20 Para las mujeres con riesgo de embarazo, una prueba de embarazo con suero positiva.

Cualquier enfermedad médica crónica o respiratoria crónica importante identificada por el historial médico y considerada como no controlada por el Investigador Principal.

Probable incapacidad de tolerar los procedimientos del estudio o el medicamento del estudio a discreción del investigador principal.

25 Diseño del estudio

El estudio propuesto incluirá un estudio piloto doble ciego aleatorizado controlado con placebo, de grupos paralelos de cuatro dosis ascendentes de ketamina intranasal con extensión abierta. Véase la figura 6

Estudio de dosis de fármacos

30 El fármaco del estudio se administrará en las visitas de investigación y los sujetos permanecerán en el lugar durante un mínimo de 75 minutos después de la dosis del fármaco del estudio. Los sujetos no llevarán a casa el medicamento del estudio en ningún momento del estudio. Todas las visitas se realizarán con al menos 4 días de diferencia, con un máximo de 8 +/- 2 días entre visitas (objetivo 7 días).

35 La ketamina se combinará en un dispositivo de atomización de la mucosa que administra 10 mg de ketamina atomizada por 0,1 cc en pulverizador. Placebo administrará 0,1 cc de solución salina atomizada por pulverización. En la Fase 1, los participantes se auto administrarán (o administrarán con la ayuda de un cuidador) 2 pulverizaciones en la visita 1, 4 pulverizaciones en la visita 2, 6 pulverizaciones en la visita 3 y 8 pulverizaciones en la visita 4, a menos que el sujeto alcance la respuesta al tratamiento (véase la medida de resultado primaria a continuación) o experimente un efecto adverso significativo antes de alcanzar 8 pulverizaciones. En caso de respuesta al tratamiento, la dosis permanecerá constante a la dosis mínimamente efectiva/tolerada durante el resto de la Fase 1. En caso de que el Investigador principal determine que el evento adverso tiene un impacto potencial negativo en la salud o la seguridad del paciente (véase la información de seguridad a continuación para conocer los posibles efectos adversos), la dosis se reducirá a la dosis tolerable anterior durante el resto de la Fase 1 o la participación en el estudio se terminará dependiendo de la gravedad y la relación médica del efecto adverso. Antes de la Fase 2, todos los sujetos se someterán a un período de lavado de 2 semanas. En la Fase 2, todos los pacientes recibirán el fármaco activo en dosis ascendentes de 20 mg en la semana 1, 40 mg semana 2, 60 mg semana 3, 80 mg semana 4, a menos que el sujeto alcance la respuesta al tratamiento (véase la medida de resultado primaria a continuación) o experimente un efecto adverso antes de alcanzar la dosis de 80 mg. En caso de respuesta al tratamiento, la dosis permanecerá constante a una dosis mínimamente efectiva durante el resto de la Fase 2. En caso de evento adverso, la dosis se reducirá a la dosis tolerable anterior durante el resto de la Fase 2 o la participación en el estudio se terminará según la gravedad y la relación médica del efecto adverso.

40

45

50

Ceguera y romper el ciego

El estudio ciego se mantendrá durante toda la duración del ensayo clínico. Solo la Farmacia de Investigación del Centro Médico del Hospital Infantil de Cincinnati estará al tanto de la asignación de medicamentos del estudio. El ciego se romperá solo a discreción de un médico participante del estudio o un Monitor Médico en los casos necesarios para garantizar la seguridad del paciente. Dichos eventos de seguridad significativos incluirían, pero no se limitan a, cualquier circunstancia donde un efecto adverso documentado como posiblemente, probablemente, relacionado definitivamente con el tratamiento del estudio y de intensidad moderada o más severa resulte en la necesidad de intervención médica adicional (hospitalización, visita a la sala de atención de urgencias/emergencias, prescripción adicional para pacientes ambulatorios / otra gerencia, etc.).

10 Medidas de resultado primarias y secundarias

La respuesta al tratamiento se definirá como una puntuación de 1 "mucho" o 2 "muy mejorada" en la escala de mejora CGI (CGI-I) y una mejora de $\geq 25\%$ en el ABC-SW. Una definición dicotómica de la respuesta al tratamiento como se señaló anteriormente servirá como la medida de resultado primaria del estudio. Las medidas de resultado continuo secundario clave serán el ABC-SW. Las medidas de resultado secundarias informadas por el sujeto y/o cuidadores adicionales incluirán la Escala de sensibilidad social (SRS), la Escala de la depresión, ansiedad y estado de ánimo (ADAMS), la Escala de comportamiento repetitivo revisada y CGI-S. Todas las medidas se completarán al inicio y en cada visita.

El seguimiento ocular se completará con un seguidor ocular manos libres Tobii T120. Los sujetos verán videos de interacción social colocados al lado de videos de objetos geométricos en movimiento, así como imágenes de caras emocionales que no durarán más de 7 minutos. El seguimiento ocular se completará al inicio del estudio y en cada visita antes y después de la dosificación del medicamento. Se intentarán todas las mediciones de seguimiento ocular, pero no se requieren para la participación en el estudio.

La electroencefalografía (EEG) se utilizará como una medida exploratoria para evaluar los efectos del tratamiento con ketamina. La EEG se grabará con una matriz densa completa (dEEG) con un sistema de EEG de grabación continua de tapa de electrodo de 128 o 256 canales (HydroCel Geodesic Sensor Net) (Electrical Geodesics, Inc. (EGI), Eugene, OR, EE. UU.). La red del sensor utiliza una solución salina suave, sin fragancia, para entrar en contacto con el cuero cabelludo, requiere aproximadamente 10 minutos para colocar la red y no requiere abrasión de la piel, ya que los amplificadores EGI están diseñados para tolerar las impedancias normales de la piel. La EEG se completará al principio y al final de las fases de estudio 1 y 2. Se intentarán todas las mediciones de EEG, pero no se requieren para la participación en el estudio.

Evaluaciones de estudio

Las disposiciones de seguimiento de seguridad incluirán: Panel metabólico completo, hemograma completo, análisis de orina, prueba de embarazo en suero en mujeres participantes en edad fértil, examen físico, signos vitales y EKG en la visita de selección. En cada visita de dosificación, se controlarán los signos vitales antes de recibir la dosis del fármaco del estudio y cada 15 minutos durante un total de 60 minutos después de la dosis del fármaco del estudio. En general, los sujetos permanecerán en la clínica durante un mínimo de 75 minutos después de la dosis. El formulario de revisión de efectos secundarios se administrará en todas las visitas después de la visita inicial.

Seguimiento de datos y seguridad

Seguimiento de datos

Los datos se recopilarán en formularios impresos y después serán verificados por el personal de ingreso de datos. Se capacitará al personal de datos para buscar posibles errores y cualquier información cuestionable o ilegible se pondrá en conocimiento de la fuente de información del formulario y/o del Coordinador de Investigación. Todas estas entradas cuestionables o ilegibles serán abordadas de inmediato. Todos los datos de investigación en papel se guardan en archivadores cerrados en el Centro Médico del Hospital Infantil de Cincinnati. Solo el PI y los miembros del equipo de investigación tendrán acceso a estos archivos, lo que garantiza la seguridad de los registros en papel. Además, otros procedimientos para garantizar la confidencialidad seguirán las normas y políticas del Centro Médico del Hospital Infantil de Cincinnati.

El coordinador del estudio ingresará los datos (como los valores de laboratorio, los signos vitales y los datos de medición de resultados) desde los documentos de origen hasta los formularios de informe de casos (CRF). El PI y/u otros miembros del equipo de estudio revisarán las entradas de los formularios de informes de casos para verificar su exactitud en comparación con los documentos de origen. Los registros de investigación y los documentos de origen se mantendrán en un cuadro de investigación y se almacenarán en el archivador cerrado con llave del investigador, o en archivos electrónicos protegidos por contraseña. Los registros se mantendrán seguros y la información de identificación individual no se incluirá en ningún informe o conjunto de datos.

A cada sujeto se le asignará un código alfanumérico único y esto servirá como la única conexión entre los formularios impresos y la base de datos electrónica de REDcap. La base de datos electrónica utilizada para alojar los datos estará

protegida por contraseña y solo los miembros del equipo de estudio tendrán acceso a la base de datos. Esto protegerá los datos electrónicos contra cualquier persona no autorizada para que no ingresen al conjunto de datos y pongan en peligro la integridad de los datos.

Análisis estadístico y cálculo de potencia

- 5 Los datos se consultarán y exportarán a software estadístico, en la mayoría de los casos SPSS o SAS, para el análisis de datos. A pesar de la naturaleza piloto de este proyecto, tal como se diseñó, este estudio tendrá un poder del 70% para detectar una diferencia en la proporción de pacientes que responden al tratamiento entre el tratamiento activo y el tratamiento con placebo de 0,5. El estudio tendrá además un poder del 80% para detectar un tamaño de efecto de 1,2 en cualquier medida de resultado secundaria continua. El tamaño de la muestra se elige según la recomendación para el muestreo en estudios piloto donde se sabe poco sobre las tasas de respuesta al tratamiento.⁷² El análisis del punto final primario se completará utilizando la prueba exacta de Fisher para comparar el número de pacientes que respondieron al tratamiento durante el tratamiento con fármaco frente a placebo. La prueba exacta de Fisher también se utilizará para analizar la aparición de efectos adversos en los dos grupos. Se aplicarán pruebas t de muestra independientes para el análisis de variables continuas. No se realizarán ajustes por multiplicidad en el análisis estadístico dada la naturaleza piloto del proyecto. Además, utilizaremos un modelo mixto lineal generalizado (específicamente regresión logística) para analizar el impacto del orden de tratamiento en el resultado. En general, los resultados de este proyecto informarán el diseño del ensayo futuro, incluido el suministro de los datos necesarios para el futuro cálculo de poder de estudio a gran escala y la elección de la medida de resultado primaria.

Seguimiento de seguridad

- 20 Se utilizará un monitor médico del estudio independiente para el estudio. El PI y los investigadores conjuntos serán los principales responsables del seguimiento de la calidad de los datos y los eventos adversos. El análisis interino trimestral se centrará en el seguimiento de las tasas de acumulación y abandono. El monitor revisará el reclutamiento y los eventos adversos cada 6 meses e informará la evaluación al PI. El monitor independiente revisará las SAE y los eventos significativos no anticipados a medida que se produzcan.

25 Definiciones y clasificaciones de eventos adversos

- 30 Un evento adverso para el propósito de este protocolo es la aparición o el empeoramiento de cualquier signo, síntoma o condición médica no deseables que ocurra después de comenzar el fármaco del estudio, incluso si el evento no se considera relacionado con el fármaco del estudio. Las afecciones/enfermedades médicas presentes antes de comenzar el fármaco del estudio (pero después de firmar el consentimiento informado) solo se consideran eventos adversos si empeoran después de comenzar el fármaco del estudio. Los valores anormales de laboratorio o los resultados de las pruebas constituyen eventos adversos solo si inducen signos o síntomas clínicos, se consideran clínicamente significativos o requieren terapia.

- 35 La aparición de eventos adversos se buscará mediante un interrogatorio no directivo del sujeto. Los eventos adversos también pueden detectarse cuando son ofrecidos por el sujeto durante o entre las visitas o mediante un examen físico, una prueba de laboratorio u otras evaluaciones. En la medida de lo posible, cada evento adverso debe ser evaluado para determinar:

1. Gravedad: leve, moderada, grave, potencialmente mortal, muerte o grado 1-5
2. Atribución al(a los) fármaco(s) del estudio: definido, probable, posible, improbable, no relacionado
3. Duración: fechas de inicio y finalización o si continúa en la evaluación final
- 40 4. Si constituye un evento adverso grave (SAE)
5. Acción tomada

Descriptores de gravedad

Los eventos adversos se calificarán de la siguiente manera:

Gravedad	Valor numérico	Descripción
Leve	1	Consciente de la señal, síntoma o evento, pero fácilmente tolerado; No interfiere con la rutina diaria.
Moderada	2	Malestar suficiente para interferir con la rutina diaria y puede requerir alguna intervención terapéutica
Grave	3	Incapacitante, afecta significativamente el estado clínico; requiere intervención terapéutica
Amenaza de vida	4	Que amenaza la vida; se requiere intervención inmediata
Muerte	5	El evento adverso causa la muerte.

Definiciones de atribución

- 5 El investigador es responsable de la atribución de eventos adversos para determinar la relación del evento con el estudio del fármaco o los procedimientos del estudio. La atribución se determinará de la siguiente manera:

No relacionado	El evento no está relacionado.
Improbable	El evento es poco probable que esté relacionado
Posiblemente relacionado	El evento o la gravedad del evento no suele estar asociado, pero no hay evidencia sólida para vincular el evento.
Probablemente relacionado	El evento o la gravedad del evento es tal que es probable que se pueda correlacionar.
Definitivamente relacionado	Hay una fuerte correlación con el evento.

Eventos adversos esperados

- 10 Los eventos adversos esperados son aquellos que son un síntoma conocido o una condición asociada relacionada con la ketamina o los procedimientos de estudio.

Eventos adversos inesperados

Los eventos adversos inesperados se definen como cualquier evento adverso cuya naturaleza, frecuencia o gravedad es inconsistente con la enfermedad, trastorno o condición subyacente del sujeto o no se identifica en el Consentimiento informado o Protocolo.

- 15 Eventos adversos graves

Los eventos adversos graves (SAE) son aquellos que:

Resultan en muerte

Son potencialmente mortales (un evento en el que el sujeto estaba en riesgo de muerte en el momento del evento; no se refiere a un evento que hipotéticamente podría haber causado la muerte si fuera más grave)

- 20 Requieren hospitalización (más de 24 horas) o prolongación de la hospitalización existente. Esto no incluye visitas de estudio durante la noche para procedimientos relacionados con el estudio. Las hospitalizaciones programadas electivas, no relacionadas con la enfermedad en estudio ni con el estudio (por ejemplo, para la amigdalectomía), no se considerarán eventos adversos graves.

- 25 Resultan en una discapacidad/incapacidad persistente o significativa mayor que la que existía al inicio del estudio
Resultan en una anomalía congénita/defecto de nacimiento

Son, en opinión del investigador, un acontecimiento médico importante.

El personal del estudio seguirá los eventos adversos hasta que se resuelva, si es posible. La duración del evento se registrará (fechas de inicio y finalización o si continúa en la evaluación final). Cualquier acción tomada para tratar el

evento también será registrada.

Informe de eventos adversos

Informes urgentes

Las SAE requieren informes urgentes cuando se cumplen los siguientes criterios:

5 Grave

Inesperado

Al menos posiblemente relacionado con el agente de estudio u otra actividad específica del protocolo.

Los SAE que cumplan con los criterios anteriores deben informarse a la FDA de la siguiente manera:

10 Si se lo caracteriza como fatal o potencialmente mortal, dentro de los 7 días del calendario posteriores a la recepción inicial de la información por parte del patrocinador.

Si no es fatal o no amenaza la vida, dentro de los 15 días del calendario.

El Monitor Médico revisará las SAE dentro de las 48 horas posteriores a la recepción inicial de la información por parte del(los) investigador(es) para revisar la asignación de los PI de la SAE como relacionada o no relacionada con el tratamiento; para confirmar la calificación de la toxicidad y asegurar que el estudio pueda continuar.

15 Las SAE que requieren informes urgentes se informarán al IRB simultáneamente.

Las desviaciones no planificadas significativas del protocolo también se informarán como se estipuló anteriormente.

Todos los demás eventos adversos graves y eventos adversos no graves se informarán en el momento de la presentación de los informes anuales. Del mismo modo, las desviaciones menores se informarán en los informes anuales.

20 Plan de seguimiento del estudio

El seguimiento será realizado por un equipo independiente de seguimiento del estudio (personal capacitado de la oficina de ensayos clínicos del Centro Médico del Hospital Infantil de Cincinnati) para garantizar que el estudio se realice, documente e informe según el protocolo aprobado por el IRB, la Conferencia Internacional sobre Armonización (ICH) guía de la Buena Práctica clínica (GCP) y requisitos reglamentarios aplicables de la FDA.

25 El seguimiento dirigido se realizará al menos una vez al año, y el programa de seguimiento se determinará por la tasa de inscripción, el nivel general de riesgo del estudio, los riesgos identificados a nivel del sitio y los problemas que pueden surgir durante el curso del estudio.

30 El seguimiento incluirá la verificación de los datos de origen y la revisión de los datos de origen según lo especificado en el Plan de seguimiento. El monitor del estudio puede requerir acceso a los registros médicos del sujeto y otros documentos de origen necesarios para verificar las entradas en los CRF/eCRF. El monitor del estudio realizará la verificación y/o revisión de los procesos críticos del sitio como se indica, incluyendo:

Elegibilidad de los participantes de investigación inscritos

Cumplimiento del protocolo e informe apropiado del Patrocinador/IRB de cualquier desviación del protocolo

Información de seguridad e informes de seguridad

35 Proceso de consentimiento y documentación

Responsabilidad, almacenamiento y conciliación de fármacos

Mantenimiento de registros de documentos esenciales

Integridad y precisión de la entrada de datos y la resolución de consultas de datos

Supervisión del investigador.

40 Sujetos humanos

Un total de 24 personas de 12 a 30 años con trastorno del espectro autista participarán en el ensayo de tratamiento con ketamina.

No hay restricciones de género, etnicidad o antecedentes sociales. Las mujeres, los niños y los miembros de grupos

minoritarios y sus subpoblaciones en esta investigación se incluirán como disponibles.

Consentimiento informado

5 Todos los sujetos femeninos en edad fértil tendrán una prueba de embarazo en suero y serán excluidos del estudio si esto es positivo. Para cada sujeto, incluyendo los sujetos mayores de 18 años, se requerirá que su(s) padre(s)/tutor(es) legal(es) den un consentimiento informado voluntario por escrito para participar. Para individuos ≥ 18 años de edad y con capacidad cognitiva para proporcionar un consentimiento informado, se obtendrá un consentimiento adicional. Dado que aproximadamente 3 de cada 4 personas con trastorno del espectro autista tienen discapacidad intelectual, se anticipa que la mayoría de los sujetos no tendrán la capacidad cognitiva y la comprensión para dar su consentimiento o consentimiento para participar en el proyecto.

10 Además de la participación del individuo con trastorno del espectro autista, cada individuo (incluidos los ≥ 18 años de edad) se necesitará que un padre o tutor acepte participar en el protocolo. El padre/tutor servirá como informante para muchas de las medidas de resultado de comportamiento empleadas en el protocolo. Las medidas de resultado informadas por los padres/cuidadores son práctica estándar en ensayos clínicos de autismo.

15 El consentimiento se obtiene del sujeto (cuando es posible) y el consentimiento formal por escrito se obtiene del(los) padre(s)/tutor(es) legal(es) en el formulario de consentimiento aprobado por la Junta de Revisión Institucional del Centro Médico del del Hospital Infantil de Cincinnati por un miembro de la equipo de estudio. La naturaleza del proyecto, los riesgos, los beneficios y las alternativas a la participación en el proyecto se discuten con el sujeto (cuando sea posible) y el padre o tutor legal del sujeto. Se alentará a todos los sujetos potenciales y sus tutores legales a hacer preguntas sobre cualquier aspecto del estudio que no esté claro. Todas las preguntas serán respondidas y se aclararán las incertidumbres. Todos los tutores legales recibirán copias del formulario de consentimiento para futuras referencias. Se ofrecerá una evaluación clínica adecuada y el tratamiento del problema de referencia, independientemente de las decisiones del sujeto/tutor legal con respecto a la participación en el estudio.

Reclutamiento de sujetos

25 El reclutamiento de sujetos se llevará a cabo a través de anuncios electrónicos y en papel aprobados por el IRB distribuidos a personas con trastorno del espectro autista, a sus familias, a médicos clínicos y agencias a través de la base de referencia de CCHMC y a aquellos que se encuentran dentro de nuestros servicios clínicos existentes, instalaciones residenciales, escuelas y hogares grupales para los discapacitados del desarrollo. Los sujetos también se reclutarán a través de volantes, folletos, otros boletines informativos, charlas hechas por miembros del equipo de investigación y otros anuncios disponibles, incluidos sitios web, redes sociales, periódicos, radio y anuncios de televisión (solo una vez que dichos anuncios estén aprobados individualmente por IRB).

30 Se reclutarán muchos sujetos de la base de la población de pacientes clínicos en el Centro Médico del Hospital Infantil de Cincinnati. Los miembros del equipo de investigación también pueden comunicarse con otros proveedores de atención médica para proporcionar información sobre este estudio de investigación. Además, los miembros del equipo del estudio pueden realizar una revisión de los registros médicos electrónicos para la investigación para identificar a los pacientes potencialmente elegibles de la clínica. Un miembro del equipo del estudio puede contactar a los padres/tutores legales de los sujetos potencialmente elegibles para evaluar el interés en participar por teléfono o mediante una carta aprobada por el IRB. Los padres/tutores legales de los sujetos interesados se someterán a una evaluación previa no invasiva en la que se explicarán el propósito del estudio, los procedimientos y los criterios de inclusión/exclusión. Si parece que el sujeto cumpliría con los criterios para el estudio y todavía hay un interés en participar, los sujetos y sus tutores legales serán programados para una visita de consentimiento y selección.

Evaluación de riesgo/beneficio

Tratamiento con ketamina

45 La ketamina es un agente anestésico aprobado por la FDA utilizado desde la década de 1970 mediante administración intravenosa (IV) o intramuscular (IM) para la inducción rápida de anestesia disociativa. Con dosis IV de 1,0 a 1,5 mg/kg o dosis IM de 3 a 4 mg/kg, la ketamina ejerce rápidamente sus efectos disociativos al "desconectar" los sistemas tálamo-corticales y límbicos, lo que produce una disociación del sistema nervioso central del estímulo externo⁷³. Esto da como resultado una analgesia potente, sedación y amnesia mientras se mantiene la estabilidad cardiovascular y se preserva la respiración espontánea y los reflejos respiratorios. Debido a su perfil de seguridad, la ketamina se ha utilizado comúnmente en procedimientos dolorosos de urgencias en niños durante las últimas dos décadas⁷⁴. Además, se ha demostrado que la ketamina es una opción segura y eficaz para la sedación en adultos con discapacidad mental que se someten a procedimientos médicos dolorosos⁷⁵. Aunque la ketamina no está etiquetada por la FDA como analgésico, también se ha usado durante mucho tiempo en dosis inferiores a las necesarias para la anestesia a través de una variedad de sistemas de administración que incluyen IV, IM, oral e intranasal (IN) para el tratamiento del dolor neuropático, dolor postoperatorio, dolor irruptivo y dolor traumático⁷⁶. Las dosis más bajas de ketamina son generalmente bien toleradas con un impacto negativo mínimo en la función cardiovascular o respiratoria⁷⁶. Recientemente se ha investigado la ketamina en dosis bajas para el tratamiento de la depresión mayor y la depresión bipolar en adultos mediante la administración IV y el trastorno bipolar en niños mediante la administración IN^{13,77-79}. Las dosis intravenosas de 0,5 mg/kg mejoran rápidamente los síntomas de depresión, mientras que son relativamente

bien tolerados, con un aumento transitorio de los síntomas disociativos que se resuelven en menos de 90 minutos⁸⁰. La administración IN de dosis de ketamina que osciló entre 30 y 120 mg por dosis en 12 jóvenes de 6 a 19 años en un estudio abierto dio como resultado síntomas mejorados del trastorno bipolar y fue bien tolerada con el efecto adverso principal informado como síntomas disociativos que duraron menos de 60 años -minutos después de la dosis

La ketamina se considera un agente anestésico seguro. La ketamina no ejerce su efecto disociativo a través de un continuo de dosis-respuesta, y una vez que se alcanza la disociación, no se profundiza con la administración de ketamina adicional. Por lo tanto, a diferencia de los opiáceos y otros agentes anestésicos, el aumento de la administración no aumenta el riesgo de depresión respiratoria y rara vez es necesaria la intubación⁷⁴. Un metaanálisis de 2009 de 8282 casos de sedación pediátrica con ketamina informó una incidencia del 3,9% de complicaciones de las vías aéreas o respiratorias⁸¹. La depresión respiratoria con el uso de ketamina es rara, y parece estar más comúnmente asociada con la administración intravenosa rápida que ocurre en el momento de los niveles máximos del sistema nervioso central poco después de la administración⁷⁴. La ketamina es un derivado de fenciclidina con acción psicomimética potencial, y los informes de reacciones de emergencia que incluyen alucinación y agitación después de la administración de ketamina para anestesia han atenuado el uso de este medicamento en algunas instituciones. El metaanálisis del uso de ketamina en niños reveló una incidencia del 1,4% de reacción de emergencia⁸². La incidencia informada de reacciones de emergencia en adultos varía ampliamente, pero sigue siendo relativamente baja, y oscila entre el 0% y el 30%⁷⁴. La información de prescripción para el clorhidrato de ketamina informa un 12% de incidencia de reacciones de emergencia que van desde estados agradables de ensueño a alucinaciones y al delirio que se resuelven en unas pocas horas sin efectos psicológicos residuales. Una serie de casos en 17 adultos con discapacidad mental sometidos a sedación para procedimientos médicos no informó ningún incidente de reacción de emergencia⁷⁵. En general, las reacciones de emergencia con ketamina se consideran relativamente infrecuentes, leves y, por lo general, se resuelven rápidamente. Además, el uso de ketamina en dosificaciones anestésicas tiene un amplio margen de seguridad con varios casos documentados de administración no intencional de sobredosis en niños que varían de 5 a 100 veces la dosis prevista, seguido de una recuperación prolongada pero completa⁸³.

La dosificación repetida a largo plazo de ketamina no se ha estudiado en detalle, ya que las dosis de anestesia generalmente se administran con moderación, y los estudios de tratamiento de depresión de dosis baja generalmente han estado limitados en el tiempo. La ketamina tiene el potencial de abuso y ha sido abusada recreativamente, aunque no se sabe que sea físicamente adictiva. En animales, la exposición prolongada a ketamina a altas dosis puede provocar lesiones neuronales⁸⁴. En seres humanos, se ha demostrado que los abusadores de la ketamina exhiben cambios en la materia blanca, déficit de materia gris cortical y cambios en la conectividad cortical⁸⁴. Además, se ha expresado preocupación con respecto al desarrollo de la dilatación biliar y los síntomas del tracto urinario inferior, incluida la cistitis con el abuso crónico de ketamina en dosis altas^{85,86}.

Otros efectos secundarios conocidos de la ketamina incluyen náuseas, vómitos, fatiga y dolor de cabeza, mientras que los desagradables no son un problema de seguridad significativo. Los efectos adversos específicos de la administración IN incluyen sabor amargo transitorio y sensación de ardor en la garganta.

Los equivalentes de dosificaciones intranasales utilizados en este estudio estarán por debajo de los requeridos para la indicación IV de anestesia disociativa. En un estudio de las concentraciones plasmáticas de ketamina en los niños a través de la administración IN, niños de 2-9 años con un peso de 10-30 kg recibieron 3 mg/kg en lo que resulta en la concentración plasmática máxima media de 496 ng/ml (0,496 µg/ml)⁸⁷. Los niveles plasmáticos generalmente aceptados que se requieren para la anestesia inducida por ketamina son de 0,6-2,0 µg/ml en adultos y de 0,8-4,0 µg/ml en niños. En este proyecto, el niño más pequeño que pesa 40 kg nunca recibirá más de 2 mg/kg de dosis IN y, por lo tanto, se anticipa que ningún sujeto alcanzará niveles plasmáticos de anestesia. No se anticipa depresión respiratoria con tratamiento. Sin embargo, los pacientes serán monitoreados continuamente por un mínimo de 75 minutos después de la dosis. Además, se obtendrán signos vitales cada 15 minutos por un total de 60 minutos después de la dosis.

Procedimientos de venopunción

Los riesgos de la punción venosa son modestos e incluyen malestar leve, infección, sangrado y desmayos. Se utilizarán métodos y precauciones estándar para proteger el lugar de la punción del sangrado y la infección. El Coordinador de Investigación estará familiarizado con los sujetos y acompañará al sujeto y a sus padres al entorno de extracción de sangre. Se anima a los padres a permanecer con el tema en todo momento. Para minimizar la ansiedad y las reacciones fóbicas del sujeto, utilizamos el personal de Child Life cuando sea necesario y esté disponible. También se sugerirá que los padres tranquilicen el tema con respecto a su seguridad. A discreción de la enfermera o el investigador, para ayudar a reducir el dolor en el sitio de la venopunción, se ofrecerá el uso de una crema anestésica tópica.

Procedimientos de protección y minimización de riesgos

Se utilizará una evaluación efectiva para eliminar a los sujetos que corren mayor riesgo debido a afecciones médicas concurrentes. Los sujetos serán evaluados y atendidos en un entorno de investigación neuropsiquiátrica pediátrica avanzado y bien dotado de personal. Por lo tanto, la observación directa por parte del personal de enfermería y los

5 psiquiatras de investigación permitirá un monitoreo cuidadoso de los posibles efectos adversos, incluidos los efectos secundarios de los fármacos. Si las reacciones adversas se vuelven excesivas, el sujeto será tratado y eliminado del estudio. La PI y la Co-I facilitarán la hospitalización psiquiátrica para cualquier sujeto cuyos síntomas sean difíciles de manejar o peligrosos (los gastos de hospitalización cubiertos por la familia del sujeto/su proveedor de seguro). Habrá un monitoreo repetido del comportamiento y los signos vitales que permitirán al equipo de tratamiento evaluar el estado del sujeto y alterar o finalizar el estudio si es necesario.

Beneficios potenciales

10 Los beneficios potenciales para los sujetos que ingresan a este proyecto son varios, entre ellos: los sujetos recibirán una extensa evaluación médica/neurológica psiquiátrica, que se ofrece de forma gratuita; 24 personas con autismo recibirán un ensayo de tratamiento de fármacos con ketamina muy cuidadosamente controlado que puede ser eficaz para mejorar el deterioro social.

Relación riesgo/beneficio

15 Los sujetos estarán expuestos a los riesgos de las muestras de sangre y los posibles efectos secundarios de la ketamina. Para los pacientes, los beneficios que compensarán esto serán una evaluación psiquiátrica y médica más intensiva y exhaustiva, un ensayo de tratamiento objetivo documentado y la posibilidad de una prescripción más precisa del tratamiento diseñado para satisfacer las necesidades del sujeto individual. Dado que algunos de los sujetos habrán tenido ensayos con fármacos anteriores con respuesta deficiente o efectos secundarios intolerables o peligrosos, la oportunidad de una evaluación más completa y un ensayo clínico sería beneficiosa. Por lo tanto, con el riesgo de tratamiento farmacológico minimizado, la evaluación y el tratamiento más intensivos compensarían más que los riesgos negativos. El beneficio general para los miembros de la familia y la sociedad es considerable.

Coste del asunto y pago

25 Los sujetos recibirán 10\$ por visita para participar en este estudio. Además del coste del viaje hacia y desde las visitas y el posible tiempo fuera del trabajo para los cuidadores, no anticipamos otros costes para los sujetos asociados con la participación en el estudio.

25 Ejemplo 8. Protocolo de estudio 2, estudio de etiqueta abierta

30 Para abordar la importante necesidad de un tratamiento efectivo de los síntomas centrales del TEA, se utilizará un estudio piloto abierto de ketamina intranasal (IN) en 12 individuos con TEA de 12 a 30 años de edad que utilicen una medida de resultado cuantitativa novedosa del deterioro social. Además, para desarrollar un enfoque de medicina personalizada centrada en la ketamina en el TEA, se propone la incorporación de evaluaciones farmacocinéticas (PK) y farmacodinámicas moleculares (PD) en un estudio sistemático inicial al abordar los objetivos específicos como se establece en el Ejemplo 7.

Diseño y métodos de investigación: los criterios de inclusión son los mismos que en el Ejemplo 7.

Diseño y métodos de investigación: los criterios de exclusión son los mismos que en el Ejemplo 7.

Diseño del estudio: el diseño del estudio es el que se muestra en la FIG. 7

35 Estudio de dosis de fármacos

El fármaco del estudio se administrará en las visitas de investigación y los sujetos permanecerán en el lugar durante un mínimo de 75 minutos después de la dosis del fármaco del estudio. Los sujetos no llevarán a casa el fármaco del estudio en ningún momento del estudio. Todas las visitas se realizarán con al menos 4 días de diferencia, con un máximo de 10 días entre visitas (objetivo 7 días).

40 La ketamina se combinará en un dispositivo de atomización de la mucosa que administra 10 mg de ketamina atomizada por 0,1 cc en pulverización. Los participantes se auto administrarán (o administrarán con la ayuda de un cuidador) 2 pulverizaciones (20 mg) en la visita 1, 4 pulverizaciones (40 mg) en la visita 2, 6 pulverizaciones (60 mg) en la visita 3, 8 pulverizaciones (80 mg) en la visita 4, y 8 pulverizaciones (80 mg) en la visita 5, a menos que el sujeto alcance la respuesta al tratamiento (véase la medida de resultado primaria a continuación) o experimente un efecto adverso significativo antes de alcanzar 8 pulverizaciones. En caso de respuesta al tratamiento, la dosis permanecerá constante a la dosis mínimamente efectiva/tolerada durante el resto del estudio. En caso de que el Investigador principal determine que el evento adverso tiene un impacto potencial negativo en la salud o la seguridad del paciente (véase la información de seguridad a continuación para analizar los posibles efectos adversos), la dosis se reducirá a la dosis tolerable anterior durante el resto del estudio o la participación en el estudio será terminado dependiendo de la severidad y la relación médica del efecto adverso.

En caso de que ocurran eventos adversos médicos o psiquiátricos entre visitas semanales programadas, se puede ver a los sujetos para evaluar la gravedad de los eventos adversos y garantizar su seguridad. Durante estas visitas no programadas, se realizarán exámenes físicos, laboratorios de seguridad según lo indicado clínicamente y una revisión psiquiátrica de los síntomas.

Medidas de resultado primarias y secundarias: las mismas que en el ejemplo 7.

Evaluaciones del estudio

- Las disposiciones de monitoreo de seguridad incluirán: Panel metabólico completo, hemograma completo, análisis de orina, prueba de embarazo en suero en mujeres participantes en edad fértil, examen físico, signos vitales y EKG en la visita de selección. En cada visita de dosificación, se controlarán los signos vitales antes de recibir la dosis del fármaco del estudio y cada 15 minutos durante un total de 60 minutos después de la dosis del fármaco del estudio. En general, los sujetos permanecerán en la clínica durante un mínimo de 75 minutos después de la dosis. Se administrará un formulario de monitoreo de eventos adversos basado en el Criterio de Terminología Común para Eventos Adversos (CTCAE) en todas las visitas después de la visita de inicial.
- El seguimiento ocular se completará con un seguidor ocular manos libres Tobii T120. Los sujetos verán videos de interacción social colocados al lado de videos de objetos geométricos en movimiento, así como imágenes de caras emocionales que no durarán más de 7 minutos. El seguimiento ocular se completará al inicio del estudio y en cada visita antes y después de la dosis del medicamento. Se intentarán todas las mediciones de seguimiento ocular, pero no se requieren para la participación en el estudio.
- La electroencefalografía (EEG) se utilizará como una medida exploratoria para evaluar los efectos del tratamiento con ketamina. El EEG se grabará con un sistema de EEG portátil inalámbrico de múltiples canales (sistemas Emotiv EEG, San Francisco, CA). El Emotiv EEG Neuroheadset se conecta de forma inalámbrica a los ordenadores, y sus 14 nombres de canales EEG se basan en las ubicaciones internacionales 10-20. Los 14 canales más 2 referencias ofrecen optimización de resolución espacial precisa. El EEG se completará al principio y al final del estudio. Se intentarán todas las mediciones de EEG, pero no se requieren para la participación en el estudio.
- Los ensayos de biomarcadores de activación ERK se realizarán en la visita de selección, la semana 1 antes de la dosis y la semana 5 antes y después de la dosis. Los ensayos se analizarán en el Laboratorio de Biomarcadores de Traducción Molecular del Dr. Craig Erickson en el Centro Médico del Hospital Infantil de Cincinnati (CCHMC). Para el ensayo de activación ERK, se colocan aproximadamente 5 mL de sangre completa en 3 mL de Histopaque en un tubo de centrífuga de 15 mL y se centrifuga durante 35 minutos a 400 g. La capa celular que contiene linfocitos se retira y se transfiere a RPMI-1640 para el lavado. Después de un segundo lavado en RPMI-1640, las células se resuspenden a 106 por ml y se reposan durante 30 min. Después se estimulan mediante la adición de acetato de miristato de forbol (PMA, final conc. 40 nM) y se extraen alícuotas de la muestra a intervalos cortos, se fijan (paraformaldehído al 2%, 10 min) y se permeabilizan (metanol frío, 30 min.) Se fijan las células permeabilizadas fijas mediante la adición de anticuerpo monoclonal marcado con Alexafluor488 a phospho-ERK en oscuridad durante 30 min. Las células lavadas y resuspendidas se analizan en un citómetro de flujo Coulter; el aumento de brillo, resultante de cantidades crecientes de ERK fosforilada, se mapea en una curva y se obtiene un valor de tiempo hasta la mitad de la fosforilación máxima para cada muestra de sangre.
- Los niveles de sAPP total (total), sAPP α , A β 40 y A β 42 se analizarán a partir de muestras plasmáticas de sujetos extraídos en la visita de selección, la semana 1 posterior a la dosis y la semana 5 antes y después de la dosis. Las muestras de plasma de prueba se prepararán poco después de la recolección. Brevemente, se aislará el plasma de la sangre recién extraída mediante centrifugación a 1000 xg durante 12 minutos. Las muestras de plasma aisladas se centrifugarán aún más a 10000 xg durante 10 minutos para la eliminación completa de las plaquetas. Las muestras de plasma preparadas se dividirán en alícuotas en varios tubos de microcentrífuga y se almacenarán a -80 °C para evitar la repetición de congelación y descongelación. Las muestras de prueba se descongelarán en hielo justo antes de usarlas. Si es necesario, las muestras de plasma se diluirán adecuadamente con el tampón EIA y el análisis se realizará en mediciones duplicadas para las muestras de prueba y los estándares. Se utilizarán muestras de prueba en un intervalo de pH neutro y se tomarán medidas para evitar la contaminación con disolventes orgánicos. Con respecto al estándar para cuantificar los niveles de sAPP α , se preparará una serie de estándares de sAPP α en el tampón EIA por diluciones en serie, desde 0,78 ng/mL a 50 ng/mL. Para determinar los niveles de sAPP α , descongelaremos las muestras de prueba a baja temperatura y las mezclaremos completamente. Con respecto al estándar para cuantificar los niveles de sAPP, prepararemos una serie de estándares de sAPP en el tampón EIA mediante diluciones en serie, desde 0,39 ng/mL a 25 ng/mL. La placa de ELISA se recubrirá previamente con IgG de ratón (IBL) anti-APP humana (R12A1). El ELISA de las muestras de plasma se llevará a cabo según el protocolo del fabricante y similar al método descrito anteriormente. Este kit ELISA utiliza IgG de ratón anti-APP humana (R101A4) marcada con HRP como el anticuerpo de detección. Los niveles de péptidos A β se analizarán en muestras de plasma sin plaquetas mediante un ELISA ultrasensible y específico (Wako Chemical Industries, Japón). Las muestras de plasma se diluirán de 2 a 10 veces para evitar señales no específicas. Los ELISA utilizan anticuerpos de captura altamente específicos BA27 y BC05 para detectar A β (1-40) y A β (1-42), respectivamente. Los procedimientos de ensayo generales se realizarán según las pautas del fabricante. El ELISA de las muestras de plasma se realizará de forma "ciega". La mayoría del procedimiento ha sido reportado recientemente por el Solicitante³⁶ y los procedimientos en CCHMC reflejan el trabajo del Solicitante que se completó inicialmente en la Universidad de Indiana.
- Muestras de sangre de la evaluación farmacocinética extraídas para evaluar la ketamina y su metabolito y las concentraciones de ketamina a los 30 minutos y 180 minutos después de la primera semana, y a los 30, 90 y 240 minutos después de la quinta semana. Las concentraciones de ketamina y norketamina se determinarán en un ensayo

de espectrometría de masas en tándem (LC-MS/MS) de cromatografía líquida validada de bajo volumen en el laboratorio Mass-Spec dirigido por Alexander Vinks y Ken Setchell en CCHMC. Los datos de concentración se analizarán mediante análisis farmacocinético compartimental y no compartimental con el paquete de software WinNonlin (Versión 4.0.1, Pharsight Corporation, Palo Alto, CA) utilizando un algoritmo de mínimos cuadrados ponderado. El análisis de PK de la población se llevará a cabo utilizando la versión 7.2.0 de NONMEM (ICON, Ellicott City, MD) en un sistema operativo Linux de 64 bits con un compilador Fortran de Intel (v 12.0). PDx-Pop (versión 5, ICON, Ellicott City, MD) se utilizará como la interfaz gráfica de usuario para ejecutar NONMEM y para procesar la salida NONMEM. La visualización de la salida NONMEM fue implementada por el paquete Xpose 4 en R (v 2.15.0.). Se utilizará la estimación condicional de primer orden con interacción (FOCE-I) para estimar simultáneamente los parámetros PK típicos de la población, el efecto aleatorio de la variabilidad interindividual y los errores residuales. La selección de la estructura del modelo se basará en los criterios de bondad de ajuste, incluida la convergencia con al menos 3 dígitos significativos, gráficos de diagnóstico, plausibilidad fisiológica de las estimaciones de los parámetros y el criterio de información de Akaike (AIC). La variabilidad interindividual (IIV) se modelará utilizando un modelo exponencial que asume una variable interindividual normalmente distribuida con una media de cero y una variación de ω^2 . Las estimaciones de parámetros generadas incluirán Cmax, depuración corporal total, semividas de distribución y eliminación, volumen de distribución y el área bajo la curva (AUC).

Monitoreo de datos y seguridad

Monitoreo de datos - igual que en el ejemplo 7.

Análisis estadístico

A medida que este proyecto madura en la etapa de análisis de datos, los datos se consultarán y exportarán a un software estadístico, en la mayoría de los casos SPSS o SAS, para el análisis de datos. El tamaño de nuestra muestra se eligió según la recomendación para el muestreo en estudios piloto donde se sabe poco sobre las tasas de respuesta al tratamiento⁷². El tamaño de nuestra muestra nos permitirá estimar el tamaño del efecto que guiará el desarrollo de futuros estudios controlados con placebo. Pruebas t pareadas de muestra se utilizarán en el análisis de variables continuas. La prueba exacta de Fisher se empleará en el análisis de variables categóricas. Los datos se resumirán con las medias y desviaciones estándar reportadas. No haremos ajustes por multiplicidad en el análisis estadístico dada la naturaleza piloto del proyecto. Además, utilizaremos un modelo mixto lineal generalizado (específicamente regresión logística) para analizar el impacto del orden de tratamiento en el resultado. En general, los resultados de este proyecto informarán el diseño del ensayo futuro, incluido el suministro de los datos necesarios para el futuro cálculo de poder de estudio a gran escala y la elección de la medida de resultado primaria.

El análisis de correlación entre la activación de ERK, los derivados de la APP plasmática, la respuesta clínica, los eventos adversos y el PK AUC se modelarán mediante el análisis de regresión en SPSS. La comparación de los niveles plasmáticos de sAPP-total, sAPP α , A β 40, A β 42, así como las proporciones de sAPP α /sAPP y A β 42/A β 40 antes y después del tratamiento con ketamina serán resultados primarios analizados para el biomarcador de la APP. Para el marcador de activación de ERK, los resultados primarios incluirán niveles de p-ERK linfocíticos basales y tiempo hasta la mitad de la fosforilación de ERK máxima después de la activación de los linfocitos. Todos los datos de biomarcadores de sangre se codificarán en IBM SPSS Statistics 21 o SAS 9.4 para su análisis. Las diferencias entre los valores anteriores y posteriores al ensayo para APP y ERK se compararán mediante pruebas t pareadas en la muestra del paciente, mediante un nuevo muestreo de la diferencia media en los grupos de tratamiento individuales y los intervalos de confianza del 95% y la g de Hedge calculada. Se realizará un análisis exploratorio de la correlación de Kendall para evaluar cualquier relación entre el cambio en la APP primaria y/o los resultados de activación de ERK anteriores y el cambio en las medidas de resultados de comportamiento que pueden mostrar cambios durante el curso del ensayo clínico.

Monitoreo de seguridad - igual que en el ejemplo 7.

Definiciones y clasificaciones de eventos adversos, las mismas que en el Ejemplo 7.

Informe de eventos adversos, igual que en el Ejemplo 7.

Informes urgentes: igual que en el Ejemplo 7.

Plan de Monitoreo del Estudio - Igual que en el Ejemplo 7.

Sujetos humanos

Un total de 12 personas de 12 a 30 años con trastorno del espectro autista participarán en el ensayo de tratamiento con ketamina.

No hay restricciones de género, etnicidad o antecedentes sociales. Tenemos la intención de incluir, cuando estén disponibles, mujeres, niños y miembros de grupos minoritarios y sus subpoblaciones en esta investigación.

Consentimiento informado - igual que en el Ejemplo 7.

Reclutamiento de sujetos - igual que en el ejemplo 7.

Procedimientos de venopunción - Igual que en el Ejemplo 7

Procedimientos para protegerse y minimizar el riesgo - igual que en el Ejemplo 7

Beneficios potenciales - Igual que en el Ejemplo 7

5 Relación riesgo/beneficio - Igual que en el Ejemplo 7

Coste y pago del asunto - Igual que en el Ejemplo 7

Referencias:

1. Prevention CfDca. Autism Spectrum Disorder, Data and Statistics. 2014; <http://www.cdc.gov/ncbddd/autism/data.html>
- 10 2. American PA. Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, Fifth Edition. Arlington, VA: American Psychiatric Association; 2013.
3. Wink LK, Erickson CA, McDougle CJ. Pharmacologic treatment of behavioral symptoms associated with autism and other pervasive developmental disorders. *Curr Treat Options Neurol*. Nov 2010; 12(6): 529-538.
- 15 4. Erickson CA, McDougle CJ, Stigler KA, Posey DJ. Glutamatergic function in autism. In: Heresco-Levy U, ed. *Glutamate in Neuropsychiatric Disorders*. Trivandrum, Kerala, India: Research Signpost; 2008.
5. King BH, Wright DM, Handen BL, et al. Double-blind, placebo-controlled study of amantadine hydrochloride in the treatment of children with autistic disorder. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry*. Jun 2001;40(6):658-665.
6. Posey D, Stigler K, Erickson CA, et al. A double-blind, placebo-controlled study of D-Cycloserine in children with autistic disorder. Documento presentado en 2008: Annual Meeting of the American Academy of Child and Adolescent Psychiatry 2008; Chicago, Illinois.
- 20 7. Erickson CA, Mullett JE, McDougle CJ. Open-Label Memantine in Fragile X Syndrome. *J Autism Dev Disord*. Jul 16 2009.
8. Erickson CA, Posey DJ, Stigler KA, Mullett J, Katschke AR, McDougle CJ. A retrospective study of memantine in children and adolescents with pervasive developmental disorders. *Psychopharmacology*. Mar 2007; 191(1): 141-147.
- 25 9. Seeman P, Caruso C, Lasaga M. Memantine agonist action at dopamine D2High receptors. *Synapse*. Feb 2008; 62(2): 149-153.
10. Orser BA, Pennefather PS, MacDonald JF. Multiple mechanisms of ketamine blockade of N-methyl-D-aspartate receptors. *Anesthesiology*. Apr 1997; 86(4): 903-917.
- 30 11. Kavalali ET, Chung C, Khvotchev M, et al. Spontaneous neurotransmission: an independent pathway for neuronal signaling? *Fisiología (Bethesda)*. Feb 2011; 26(1): 45-53.
12. Aan Het Rot M, Zarate CA, Jr., Charney DS, Mathew SJ. Ketamine for depression: where do we go from here? *Biol Psychiatry*. Oct 1 2012;72(7):537-547.
13. Papolos DF, Teicher MH, Faedda GL, Murphy P, Mattis S. Clinical experience using intranasal ketamine in the treatment of pediatric bipolar disorder/fear of harm phenotype. *J Affect Disord*. Mayo 2013; 147(1-3): 431-436.
- 35 14. Shaffer R, Wink LK, Gaietto K, Bowers K, Erickson CA. Novel Social Preference Eye Tracking Task in Autism Spectrum Disorder. *Journal of Autism and Developmental Disorders*. 2013.
15. The_Interagency_Autism_Coordinating_Committee. 2011 Strategic Plan for Autism Spectrum Disorder Research. NIH Publication No. 10-7573: Department of Health & Human Services USA; 2011.
- 40 16. Hurko O, Walsh FS. Novel drug development for amyotrophic lateral sclerosis. *J Neurol Sci*. Nov 1 2000; 180(1-2):21-28.
17. Uenishi H, Huang CS, Song JH, Marszalec W, Narahashi T. Ion channel modulation as the basis for neuroprotective action of MS-153. *Ann NY Acad Sci*. 1999; 890: 385-399.
18. Bushell T, Clarke C, Mathie A, Robertson B. Pharmacological characterization of a non-inactivating outward current observed in mouse cerebellar Purkinje neurones. *Br J Pharmacol*. Feb 2002; 135(3): 705-712.
- 45 19. Niebroj-Dobosz I, Janik P, Kwiecinski H. Effect of Riluzole on serum amino acids in patients with amyotrophic lateral

- sclerosis. *Acta Neurol Scand.* Jul2002; 106(1): 39-43.
20. He Y, Benz A, Fu T, et al. Neuroprotective agent riluzole potentiates postsynaptic GABA(A) receptor function. *Neuropharmacology.* Feb 2002; 42(2): 199-209.
- 5 21. Westphalen RI, Hemmings HC, Jr. Selective depression by general anesthetics of glutamate versus GABA release from isolated cortical nerve terminals. *J Pharmacol Exp Ther.* Mar 2003; 304 (3): 1188-1196.
22. Cook EH, Jr. Genetics of autism. *Child Adolesc Psychiatr Clin N Am.* Apr 2001;10(2):333-350.
23. Bailey DB, Jr., Hatton DD, Skinner M, Mesibov G. Autistic behavior, FMR1 protein, and developmental trajectories in young males with fragile X syndrome. *J Autism Dev Disord.* Apr 2001; 31(2): 165-174.
- 10 24. Hatton DD, Sideris J, Skinner M, et al. Autistic behavior in children with fragile X syndrome: prevalence, stability, and the impact of FMRP. *Am J Med Genet A.* Sep 1 2006;140A(17):1804-1813.
25. Kim SH, Markham JA, Weiler IJ, Greenough WT. Aberrant early-phase ERK inactivation impedes neuronal function in fragile X syndrome. *Proc Natl Acad Sci U S A.* Mar 18 2008;105(11):4429-4434.
26. Weng N, Weiler IJ, Sumis A, Berry-Kravis E, Greenough WT. Early-phase ERK activation as a biomarker for metabolic status in fragile X syndrome. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet.* Oct 5 2008;147B(7):1253-1257.
- 15 27. Levitt P, Campbell DB. The genetic and neurobiologic compass points toward common signaling dysfunctions in autism spectrum disorders. *J Clin Invest.* Apr 2009;119(4):747-754.
28. Aylward EH, Minshew NJ, Field K, Sparks BF, Singh N. Effects of age on brain volume and head circumference in autism. *Neurology.* Jul 23 2002;59(2):175-183.
- 20 29. Davidovitch M, Patterson B, Gartside P. Head circumference measurements in children with autism. *J Child Neurol.* Sep 1996; 11(5): 389-393.
30. McCaffery P, Deutsch CK. Macrocephaly and the control of brain growth in autistic disorders. *Prog Neurobiol.* Sep-Oct 2005;77(1-2):38-56.
31. Courchesne E, Carper R, Akshoomoff N. Evidence of brain overgrowth in the first year of life in autism. *JAMA* Jul 16 2003;290(3):337-344.
- 25 32. Courchesne E, Kams CM, Davis HR, et al. Unusual brain growth patterns in early life in patients with autistic disorder: an MRI study. *Neurology.* Jul 24 2001;57(2):245-254.
33. Courchesne E, Pierce K. Brain overgrowth in autism during a critical time in development: implications for frontal pyramidal neuron and interneuron development and connectivity. *Int J Dev Neurosci.* Abr-mayo 2005; 23(2-3): 153-170.
- 30 34. Sparks BF, Friedman SD, Shaw DW, et al. Brain structural abnormalities in young children with autism spectrum disorder. *Neurology.* Jul 23 2002;59(2):184-192.
- 35 35. Hazlett HC, Poe MD, Gerig G, et al. Early brain overgrowth in autism associated with an increase in cortical surface area before age 2 years. *Arch Gen Psychiatry.* Mayo 2011; 68(5): 467-476.
36. Lahiri DK, Sokol DK, Erickson C, Ray B, Ho CY, Maloney B. Autism as early neurodevelopmental disorder: evidence for an sAPPalpha-mediated anabolic pathway *Frontiers in cellular neuroscience.* 2013; 7: 94.
37. Ray B, Long JM, Sokol DK, Lahiri DK. Increased secreted amyloid precursor protein-alpha (sAPPalpha) in severe autism: proposal of a specific, anabolic pathway and putative biomarker. *PLoS ONE.* 2011; 6(6): e20405.
38. Sokol DK, Chen D, Farlow MR, et al. High levels of Alzheimer beta-amyloid precursor protein (APP) in children with severely autistic behavior and aggression. *J Child Neurol.* Jun 2006; 21 (6): 444-449.
- 40 39. Sokol DK, Maloney B, JM Iargo, Ray B, Lahiri DK. Autism, Alzheimer disease, and fragile X: APP, FMRP, and mGluR5 are molecular links. *Neurology.* Apr 12 2011;76(15):1344-1352.
40. Lahiri DK, Farlow MR, Sambamurti K, Greig NH, Giacobini E, Schneider LS. A critical analysis of new molecular targets and strategies for drug developments in Alzheimer's disease. *Current drug targets.* Feb 2003; 4 (2): 97-112.
- 45 41. Mattson MP, Furukawa K. Signaling events regulating the neurodevelopmental triad. Glutamate and secreted forms of beta-amyloid precursor protein as examples. *Perspectives on developmental neurobiology.* 1998; 5(4): 337-352.
42. Mullan M, Crawford F. Genetic and molecular advances in Alzheimer's disease. *Trends Neurosci.* Oct 1993; 16(10): 398-403.

43. Jolly-Tornetta C, Gao ZY, Lee VM, Wolf BA. Regulation of amyloid precursor protein secretion by glutamate receptors in human Ntera 2 neurons. *J Biol Chem*. May 29 1998;273(22):14015-14021.
44. Priller C, Bauer T, Mitteregger G, Krebs B, Kretzschmar HA, Herms J. Synapse formation and function is modulated by the amyloid precursor protein. *J Neurosci*. Jul 5 2006;26(27):7212-7221.
- 5 45. Lahiri DK, Nall C, Chen D, Zaphiriou M, Morgan C, Nurnberger JI, Sr. Developmental expression of the betaamyloid precursor protein and heat-shock protein 70 in the cerebral hemisphere region of the rat brain. *Ann NY Acad Sci*. Jun 2002; 965: 324-333.
46. Mattson MP. Secreted forms of beta-amyloid precursor protein modulate dendrite outgrowth and calcium responses to glutamate in cultured embryonic hippocampal neurons. *J Neurobiol*. Apr 1994;25(4):439-450..
- 10 47. Schubert D, Jin LW, Saitoh T, Cole G. The regulation of amyloid beta protein precursor secretion and its modulatory role in cell adhesion. *Neuron*. Dic 1989;3(6):689-694.
48. Young-Pearse TL, Bai J, Chang R, Zheng JB, LoTurco JJ, Selkoe DJ. A critical function for beta-amyloid precursor protein in neuronal migration revealed by in utero RNA interference. *J Neurosci*. Dic 26 2007;27(52):14459-14469.
49. Mattson MP. Cellular actions of beta-amyloid precursor protein and its soluble and fibrillogenic derivatives. *Physiological reviews*. Oct 1997; 77 (4): 1081-1132.
- 15 50. Stein TD, Johnson JA. Genetic programming by the proteolytic fragments of the amyloid precursor protein: somewhere between confusion and clarity. *Reviews in the neurosciences*. 2003; 14(4): 317-341.
51. Turner PR, O'Connor K, Tate WP, Abraham WC. Roles of amyloid precursor protein and its fragments in regulating neural activity, plasticity and memory. *Prog Neurobiol*. Mayo 2003; 70(1): 1-32.
- 20 52. Barger SW, Harmon AD. Microglial activation by Alzheimer amyloid precursor protein and modulation by apolipoprotein E. *Nature*. Ag 28 1997; 388(6645): 878-881.
53. Greig NH, Utsuki T, Ingram DK, et al. Selective butyrylcholinesterase inhibition elevates brain acetylcholine, augments learning and lowers Alzheimer beta-amyloid peptide in rodent. *Proc Natl Acad Sci USA*. Nov 22 2005;102(47):17213-17218.
- 25 54. Lahiri DK, Lewis S, Farlow MR. Tacrine alters the secretion of the beta-amyloid precursor protein in cell lines. *J Neurosci Res*. Apr 15 1994;37(6):777-787.
55. Lahiri DK, Farlow MR, Sambamurti K. The secretion of amyloid beta-peptides is inhibited in the tacrine-treated human neuroblastoma cells. *Brain Res Mol Brain Res*. Nov 20 1998;62(2):131-140.
- 30 56. Bailey AR, Giunta BN, Obregon D, et al. Peripheral biomarkers in Autism: secreted amyloid precursor protein alpha as a probable key player in early diagnosis. *International journal of clinical and experimental medicine*. 2008; 1(4): 338-344.
57. McFarlane HG, Kusek GK, Yang M, Phoenix JL, Bolívar VJ, Crawley JN. Autism-like behavioral phenotypes in BTBR T+tf/J mice. *Genes Brain Behav*. Mar 2008; 7(2): 152-163.
- 35 58. Moy SS, Nadler JJ, Young NB, et al. Mouse behavioral tasks relevant to autism: phenotypes of 10 inbred strains *Behav Brain Res*. Ene 10 2007;176(1):4-20.
59. Yang M, Zhodzishsky V, Crawley JN. Social deficits in BTBR T+tf/J mice are unchanged by cross-fostering with C57BL/6J mothers. *Int J Dev Neurosci*. Dic 2007; 25 (8): 515-521.
60. Chadman KK. Fluoxetine but not risperidone increases sociability in the BTBR mouse model of autism. *Pharmacol Biochem Behav*. Ene 2011; 97 (3): 586-594.
- 40 61. Silverman JL, Oliver CF, Karras MN, Gastrell PT, Crawley JN. AMPAKINE enhancement of social interaction in the BTBR mouse model of autism. *Neurofarmacology*. Ene 2013; 64: 268-282.
62. Silverman JL, Tolu SS, Barkan CL, Crawley JN. Repetitive self-grooming behavior in the BTBR mouse model of autism is blocked by the mGluR5 antagonist MPEP. *Neuropsychopharmacology*. Mar 2010; 35(4): 976-989.
- 45 63. Mayer S, Harris B, Gibson DA, et al. Acamprosate has no effect on NMDA-induced toxicity but reduces toxicity induced by spermidine or by changing the medium in organotypic hippocampal slice cultures from rat. *Alcohol Clin Exp Res*. Mayo 2002; 26(5): 655-662.
64. Naassila M, Hammoumi S, Legrand E, Durbin P, Daoust M. Mechanism of action of acamprosate. Part I. Characterization of spermidine-sensitive acamprosate binding site in rat brain. *Alcohol Clin Exp Res*. Jun 1998; 22(4): 802-809.

65. Palucha-Poniewiera A, Pile A. Involvement of mGlu5 and NMDA receptors in the antidepressant-like effect of acamprosate in the tail suspension test. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. Oct 1 2012;39(1):102-106.
66. Fumagalli E, Funicello M, Rauen T, Gobbi M, Mennini T. Riluzole enhances the activity of glutamate transporters GLAST, GLT1 and EAAC1 *Eur J Pharmacol*. Ene 14 2008;578(2-3):171-176.
- 5 67. Doble A. The pharmacology and mechanism of action of riluzole. *Neurology*. Dic 1996;47(6 Suppl 4):S233-241.
68. Wang SJ, Wang KY, Wang WC. Mechanisms underlying the riluzole inhibition of glutamate release from rat cerebral cortex nerve terminals (synaptosomes). *Neuroscience*. 2004; 125 (1): 191-201.
69. Erickson CA, Weng N, Weiler IJ, et al. Open-label riluzole in fragile X syndrome. *Brain Res*. Mar 22 2011; 1380:264-270.
- 10 70. Erickson C, Schaefer TL, Wink LK, et al. Acamprosate on Amyloid Precursor Protein in Youth with Idiopathic and Fragile X Syndrome-Associated Autism Spectrum Disorder. Documento presentado en: American Academy of Child and Adolescent Psychiatry Annual Meeting 2013; Orlando, Florida.
71. Kalk N, Lingford-Hughes A. The Clinical Pharmacology of Acamprosate. *Br J Clin Pharmacol*. 2012.
72. Julious S. Sample size of 12 per group rule of thumb for a pilot study. *Pharmaceutical Statistics*. 2005; 4: 287-291.
- 15 73. Green SM, Krauss B. Clinical practice guideline for emergency department ketamine dissociative sedation in children. *Ann Emerg Med*. Nov 2004; 44 (5): 460-471.
74. Green SM, Roback MG, Kennedy RM, Krauss B. Clinical practice guideline for emergency department ketamine dissociative sedation: 2011 update. *Ann Emerg Med*. Mayo 2011; 57 (5): 449-461.
- 20 75. Green SM, Rothrock SG, Hestdalen R, Ho M, Lynch EL. Ketamine sedation in mentally disabled adults. *Academic emergency medicine: official journal of the Society for Academic Emergency Medicine*. Ene 1999; 6 (1): 86-87.
76. Carr DB, Goudas LC, Denman WT, et al. Safety and efficacy of intranasal ketamine for the treatment of breakthrough pain in patients with chronic pain: a randomized, double-blind, placebo-controlled, crossover study. *Pain*. Mar 2004; 108 (1-2): 17-27.
- 25 77. Zarate CA, Jr., Singh JB, Carlson PJ, et al. A randomized trial of an N-methyl-D-aspartate antagonist in treatment-resistant major depression. *Arch Gen Psychiatry*. Ag 2006; 63 (8): 856-864.
78. Zarate CA, Jr., Brutsche NE, Ibrahim L, et al. Replication of ketamine's antidepressant efficacy in bipolar depression: a randomized controlled add-on trial. *Biol Psychiatry*. Jun 1 2012;71(11):939-946.
79. Berman RM, Cappiello A, Anand A, et al. Antidepressant effects of ketamine in depressed patients. *Biol Psychiatry*. Feb 15 2000;47(4):351-354.
- 30 80. Ibrahim L, Diazgranados N, Luckenbaugh DA, et al. Rapid decrease in depressive symptoms with an N-methyl- d-aspartate antagonist in ECT-resistant major depression. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. Jun 1 2011;35(4):1155-1159.
81. Green SM, Roback MG, Krauss B, et al. Predictors of airway and respiratory adverse events with ketamine sedation in the emergency department: an individual-patient data meta-analysis of 8,282 children. *Ann Emerg Med*. Ag 2009; 54 (2): 158-168 e151-154.
- 35 82. Green SM, Roback MG, Krauss B, et al. Predictors of emesis and recovery agitation with emergency department ketamine sedation: an individual-patient data meta-analysis of 8,282 children. *Ann Emerg Med*. Ag 2009; 54 (2): 171-180 e171-174.
83. Green SM, Clark R, Hostetler MA, Cohen M, Carlson D, Rothrock SG. Inadvertent ketamine overdose in children: clinical manifestations and outcome. *Ann Emerg Med*. Oct 1999; 34 (4 Pt 1): 492-497.
- 40 84. Krystal JH, Sanacora G, Duman RS. Rapid-acting glutamatergic antidepressants: the path to ketamine and beyond. *Biol Psychiatry*. Jun 15 2013;73(12):1133-1141.
85. Chen LY, Chen KP, Huang MC. Cystitis associated with chronic ketamine abuse. *Psiquiatria Clin Neurosci*. Ag 2009;63(4):591.
- 45 86. Wong SW, Lee KF, Wong J, Ng WW, Cheung YS, Lai PB. Dilated common bile ducts mimicking choledochal cysts in ketamine abusers. *Hong Kong Med J*. Feb 2009; 15 (1): 53-56.
87. Malinovsky JM, Servin F, Cozian A, Lepage JY, Pinaud M. Ketamine and norketamine plasma concentrations after i.v., nasal and rectal administration in children. *H. J Anaesth*. Ag 1996; 77 (2): 203-207.

Todos los porcentajes y relaciones se calculan en peso, a menos que se indique lo contrario.

Todos los porcentajes y relaciones se calculan en función de la composición total, a menos que se indique lo contrario.

5 Debe entenderse que cada limitación numérica máxima dada a lo largo de esta memoria descriptiva incluye cada limitación numérica inferior, como si dichas limitaciones numéricas inferiores estuvieran expresamente escritas en el presente documento. Cada limitación numérica mínima dada a lo largo de esta memoria descriptiva incluirá cada limitación numérica superior, como si dichas limitaciones numéricas superiores estuvieran expresamente escritas en el presente documento. Cada intervalo numérico dado a lo largo de esta memoria descriptiva incluirá cada intervalo numérico más estrecho que caiga dentro de un intervalo numérico más amplio, como si dichos intervalos numéricos más estrechos estuvieran expresamente escritos en el presente documento.

10

REIVINDICACIONES

- 5 1. Una composición que comprende ketamina y un excipiente y/o vehículo farmacéuticamente aceptable para uso en un método para tratar un trastorno del espectro autista en un sujeto que lo necesite, que comprende la etapa de administración intranasal a dicho sujeto de dicha composición, en donde dicha composición se administra en una dosis que comprende de aproximadamente 20 mg a aproximadamente 120 mg de ketamina.
2. La composición para uso según la reivindicación 1, en donde dicha composición comprende ketamina racémica y/o el enantiómero S de ketamina.
- 10 3. La composición para su uso según la reivindicación 2, en donde dicha composición comprende más de aproximadamente el 50%, o más de aproximadamente el 60%, o más de aproximadamente el 70%, o más de aproximadamente el 80% o más de aproximadamente el 90%, o más de aproximadamente el 95%, o más del 99% del enantiómero S de la ketamina.
4. La composición para uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en donde dicha composición está sustancialmente libre de R-ketamina.
- 15 5. La composición para uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en donde dicha composición comprende además un agente para tratar el autismo seleccionado de antipsicóticos atípicos, estimulantes, inhibidores de la recaptación de serotonina, agonistas alfa 2 y una combinación de los mismos.
6. La composición para uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en donde dicha composición se administra semanalmente, más preferiblemente entre cada dos a siete días.
- 20 7. La composición para uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en donde dicha composición se administra diariamente.
8. La composición para uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en donde dicha composición se administra en una dosis creciente.
- 25 9. La composición para uso de según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, donde dicha composición se administra en una dosis que comprende de aproximadamente 50 a aproximadamente 100 mg de ketamina, o de aproximadamente 70 a aproximadamente 80 mg de ketamina.
10. La composición para uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, en donde dicha composición comprende además un agente seleccionado de un potenciador de la permeación, un polímero capaz de aumentar la adhesión de la composición a la mucosa, o una combinación de los mismos.
- 30 11. La composición para uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, para uso en un método para mejorar el compromiso social en un sujeto que lo necesite, en donde dicha composición se administra por vía intranasal.
12. La composición para uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, para uso en un método para mejorar el compromiso social en un sujeto diagnosticado con TEA.
13. La composición para su uso según la reivindicación 11, en donde la respuesta al tratamiento se mide comprendiendo la etapa de usar las caras de Nim Stim como medida del cambio en el compromiso social.
- 35 14. Una composición para uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 13, en donde dicha composición está disponible en forma de un dispositivo de administración intranasal que comprende dicha composición, en donde dicho dispositivo de administración es capaz de administrar una dosis unitaria de aproximadamente 20 a aproximadamente 120 mg, o de aproximadamente 50 a aproximadamente 100 mg, o de aproximadamente 70 a aproximadamente 80 mg.

FIGURA 1

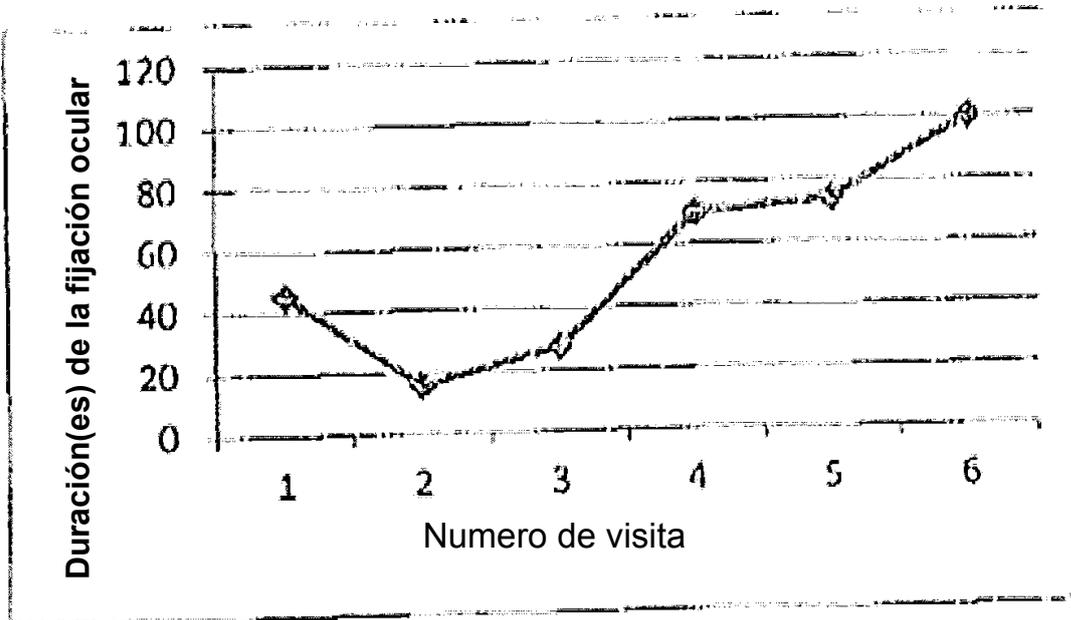


FIGURA 2

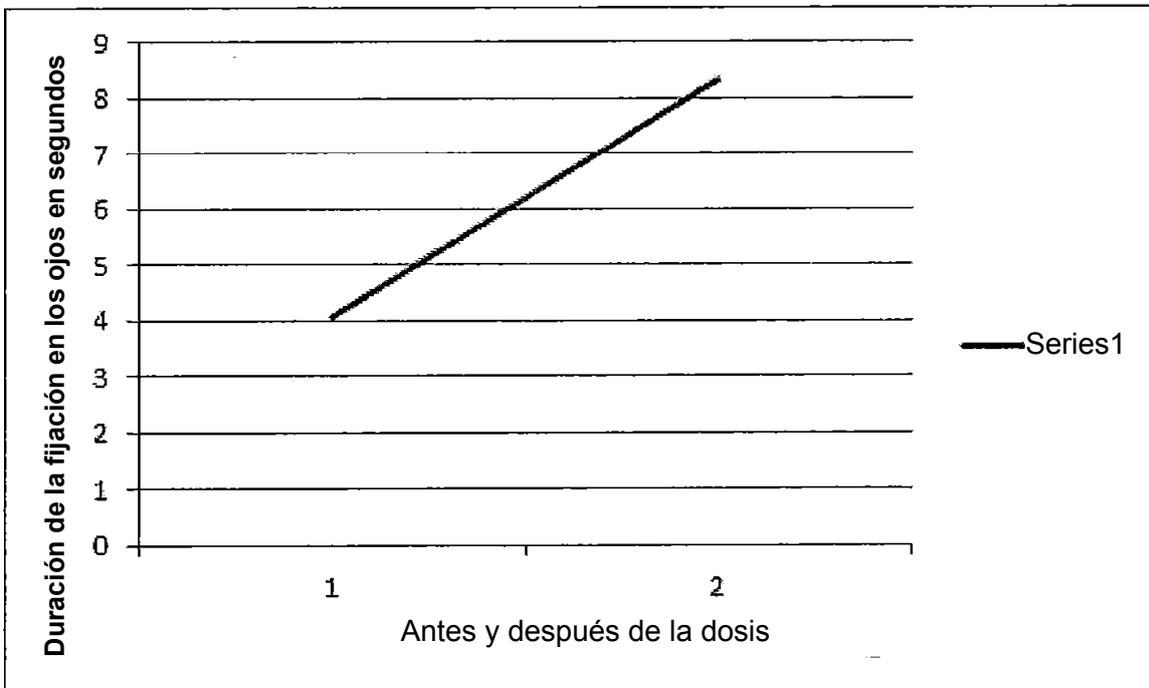


Figura 3

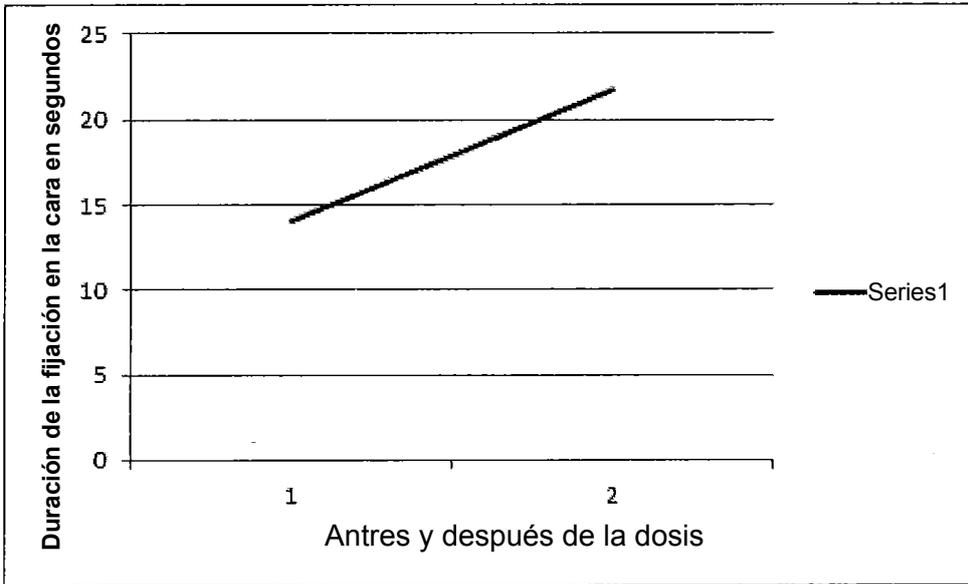


Figura 4

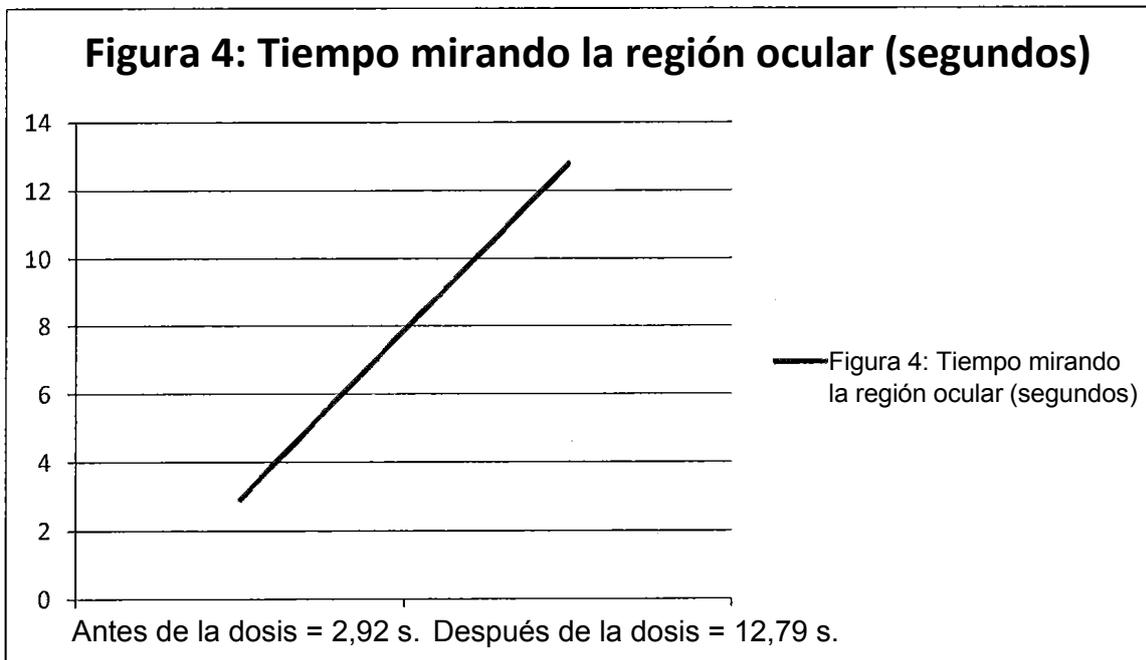


Figura 5

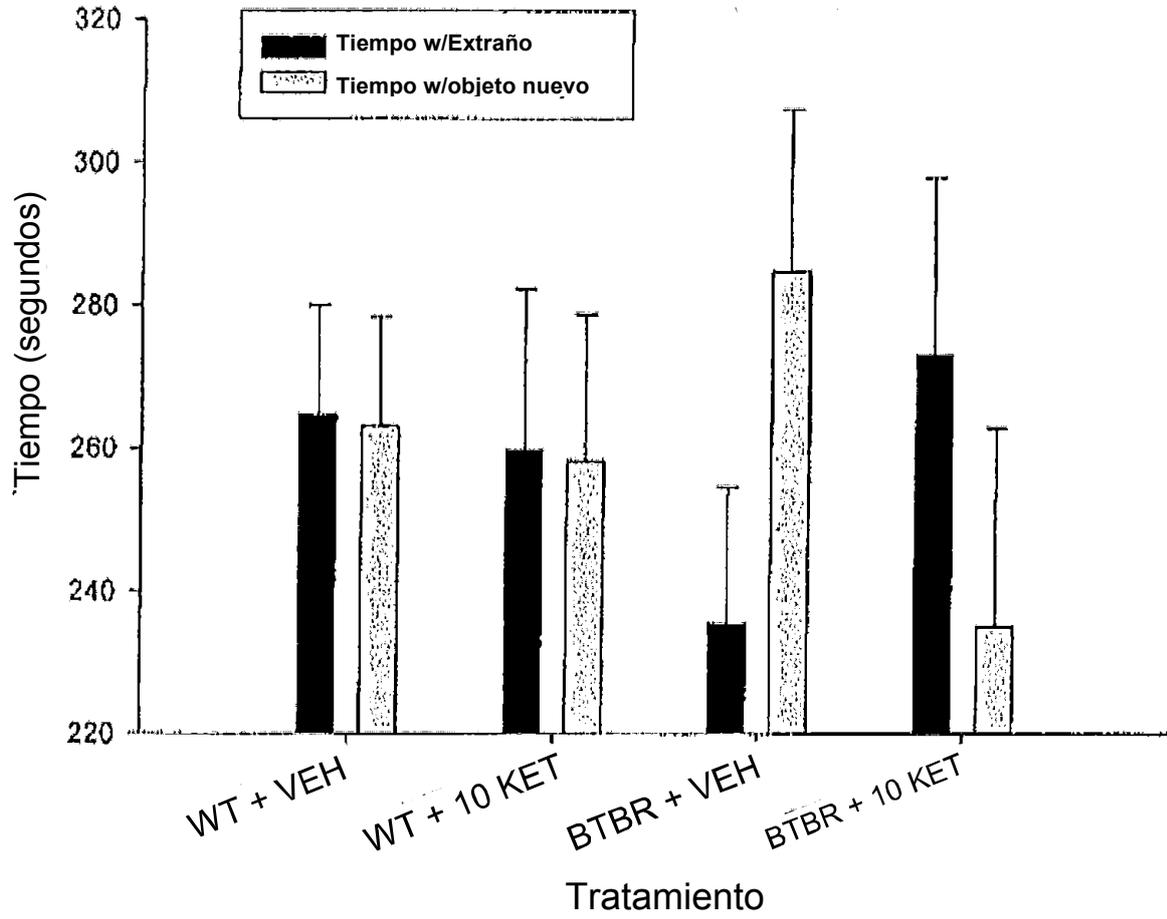


Figura 6

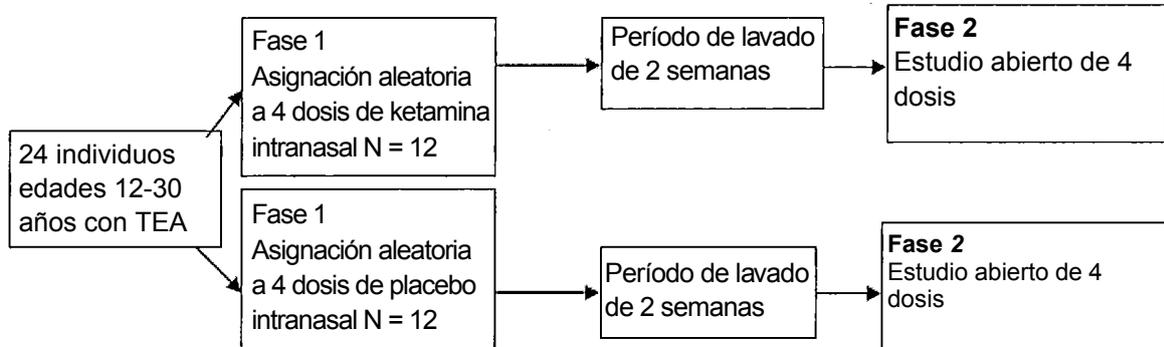


Figura 7

