



- (51) Clasificación Internacional de Patentes:
G01N 33/536 (2006.01) *G01N 33/68* (2006.01)
- (21) Número de la solicitud internacional:
PCT/ES2016/070473
- (22) Fecha de presentación internacional:
23 de junio de 2016 (23.06.2016)
- (25) Idioma de presentación: español
- (26) Idioma de publicación: español
- (30) Datos relativos a la prioridad:
P 201530918 26 de junio de 2015 (26.06.2015) ES
- (71) Solicitantes: **CENTRO DE INVESTIGACIÓN BIOMÉDICA EN RED** [ES/ES]; C/ Monforte de Lemos, 3-5, Pabellón 11, 28029 Madrid (ES). **UNIVERSIDAD DEL PAÍS VASCO/EUSKAL HERRIKO UNIBERTSITATEA** [ES/ES]; Barrio Sarriena, s/n, 48940 Leioa (Vizcaya) (ES). **ADMINISTRACIÓN GENERAL DE LA COMUNIDAD AUTÓNOMA DE EUSKADI** [ES/ES]; C/ Donostia-San Sebastián, 1, 01010 Gasteiz (Álava) (ES). **HOSPITAL CLINIC** [ES/ES]; C/ Villarroel, 170, 08036 Barcelona (ES). **UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID** [ES/ES]; C/ Donoso Cortés, 65 1º, 28015 Madrid (ES). **UNIVERSITAT DE BARCELONA** [ES/ES]; Centro de Patentes UB, Baldiri Reixac, 4, 08028 Barcelona (ES). **UNIVERSIDAD DE CÁDIZ** [ES/ES]; C/ Ancha, 16, 11001 Cádiz (ES). **UNIVERSIDAD DE OVIEDO** [ES/ES]; C/ San Francisco, 3, 33003 Oviedo (Asturias) (ES). **UNIVERSIDAD DE ZARAGOZA** [ES/ES]; Campus Plz. San Francisco, (Edif. Interfacultades), C/ Pedro Cerbuna, 12, 50009 Zaragoza (ES).
- (72) Inventores: **MARTÍNEZ CENGOTITABENGOA, Mónica**; Cibersam, C/ Monforte de Lemos, 3-5, Pabellón 11, 28029 Madrid (ES). **GONZÁLEZ-PINTO, Ana María**; Universidad Del País Vasco/euskal Herriko Unibertsitatea, Barrio Sarriena, s/n, 48940 Leioa (Vizcaya) (ES). **ALBERICH MESA, Susana**; Cibersam, C/ Monforte de Lemos, 3-5, Pabellón 11, 28029 Madrid (ES). **LEZA CERRO, Juan Carlos**; Universidad Complutense De Madrid, C/ Donoso Cortés, 65 1º, 28015 Madrid (ES).

MACDOWELL MATA, Karina; Cibersam, C/ Monforte de Lemos, 3-5, Pabellón 11, 28029 Madrid (ES). **PARELLADA REDONDO, María José**; Universidad Complutense De Madrid, C/ Donoso Cortés, 65 1º, 28015 Madrid (ES). **RODRÍGUEZ JIMÉNEZ, Roberto**; Universidad Complutense De Madrid, C/ Donoso Cortés, 65 1º, 28015 Madrid (ES). **BERNARDO ARROYO, Miguel**; Hospital Clinic, C/ Villarroel, 170, 08036 Barcelona (ES). **SÁIZ MARTÍNEZ, Pilar Alejandra**; Universidad De Oviedo, C/ San Francisco, 3, 33003 Oviedo (Asturias) (ES). **MICÓ SEGURA, Juan Antonio**; Universidad De Cádiz, C/ Ancha, 16, 11001 Cádiz (ES). **LOBO SATUÉ, Antonio**; Universidad De Zaragoza, Campus Plz. San Francisco (Edif. Interfacultades), C/ Pedro Cerbuna, 12, 50009 Zaragoza (ES). **MATUTE ALMAU, Carlos**; Universidad Del País Vasco/euskal Herriko Unibertsitatea, Barrio Sarriena, s/n, 48940 Leioa (Vizcaya) (ES).

(74) Mandatario: **PONS ARIÑO, Ángel**; Glorieta de Rubén Darío, 4, 28010 Madrid (ES).

(81) Estados designados (*a menos que se indique otra cosa, para toda clase de protección nacional admisible*): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) Estados designados (*a menos que se indique otra cosa, para toda clase de protección regional admisible*): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), euroasiática (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), europea (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

[Continúa en la página siguiente]

(54) Title: *IN VITRO* METHOD AND KIT FOR THE PROGNOSIS OR PREDICTION OF THE RESPONSE TO TREATMENT WITH ANTI-PSYCHOTIC AGENTS IN PATIENTS WHO HAVE SUFFERED FIRST EPISODE PSYCHOSIS

(54) Título: MÉTODO *IN VITRO* Y KIT PARA EL PRONÓSTICO O PREDICCIÓN DE LA RESPUESTA AL TRATAMIENTO CON AGENTES ANTIPSICÓTICOS POR PARTE DE PACIENTES QUE HAN SUFRIDO UN PRIMER EPISODIO PSICÓTICO

(57) Abstract: The present invention relates to an *in vitro* method for the prognosis or prediction of the response to treatment with anti-psychotic drugs in subjects who have suffered first episode psychosis (FEP), and specifically to the use of the expression value, in a biological sample isolated from said subjects, of the ratio formed by two of the isoforms – active isoform and truncated isoform – of the receptor (TrkB) of the nerve growth factor BDNF, named TrkB-FL and TrkB-T, respectively. The present invention also describes kits and uses of same to implement the method of the invention.

(57) Resumen: La presente invención se refiere aun método *in vitro* de pronóstico o predicción de la respuesta al tratamiento con fármacos antipsicóticos, por parte de sujetos que han sufrido un primer episodio psicótico (FEP), y en concreto, al empleo del valor de expresión, en una muestra biológica aislada de dichos sujetos, del ratio formado por dos de las isoformas -isoforma activa e isoforma truncada-, del receptor (TrkB) del factor de crecimiento neuronal BDNF, denominadas TrkB-FL y TrkB-T, respectivamente. La presente invención describe además kits y usos de los mismos para llevar a cabo el método de la invención.





Publicada:

— *con informe de búsqueda internacional (Art. 21(3))*

MÉTODO *IN VITRO* Y KIT PARA EL PRONÓSTICO O PREDICCIÓN DE LA RESPUESTA AL TRATAMIENTO CON AGENTES ANTIPSICÓTICOS POR PARTE DE PACIENTES QUE HAN SUFRIDO UN PRIMER EPISODIO PSICÓTICO.

5

DESCRIPCIÓN

La presente invención se encuentra dentro del campo de la medicina y la biología molecular, y se refiere a un método *in vitro* de pronóstico o predicción de la respuesta a un tratamiento con fármacos antipsicóticos, por parte de sujetos que han sufrido un primer episodio psicótico, y en concreto al empleo del valor de expresión del ratio formado por las formas activa y trunca

10 da del receptor (TrkB) del factor de crecimiento neuronal BDNF, denominadas TrkB-FL y TrkB-T, respectivamente.

ESTADO DE LA TÉCNICA

15

Un primer episodio de psicosis (FEP, siglas del inglés *First-Episode Psycosis*) ocurre en aproximadamente el 3% de la población y supone una enfermedad mental grave en la que el paciente suele sufrir alucinaciones y delirios que normalmente se acompañan de otros síntomas (síntomas maníacos, síntomas depresivos, disfunciones cognitivas, alteraciones de comportamiento, etc.) e incluso puede llegar a representar el inicio de una enfermedad mental grave y crónica como puede ser la esquizofrenia o el trastorno bipolar. El FEP, en determinados casos, mejora completamente con el tratamiento, especialmente con el uso de medicamentos antipsicóticos, aunque no siempre sucede así. De hecho, en comparación con la población general sana, los pacientes con un

20 primer episodio de psicosis tienen una tasa muy alta de mortalidad.

25

El estudio de las fases tempranas de un FEP tiene el objetivo de captar los cambios fisiopatológicos presentes en el paciente cuando la sintomatología aparece por primera vez, permitiendo así estudiar esta compleja enfermedad antes de que la misma progrese evitando potenciales factores de confusión, tales como el tratamiento prolongado con antipsicóticos o la aparición de patologías concomitantes. Además, es de particular importancia cuando se produce un FEP, en primer lugar llevar a cabo el diagnóstico correcto del paciente y por otro lado, aplicarle un tratamiento específico y adecuado, ya que la aplicación de un tratamiento inadecuado puede conducir a

30

alteraciones neuroanatómicas y cognitivas, así como a un peor resultado funcional del paciente.

- Los criterios diagnósticos más empleados en un FEP son los criterios del DSM (siglas del inglés *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders*) de la Asociación Americana de Psiquiatría (APA) y de la Organización Mundial de la Salud (OMS), cuya última versión es la DSM-V. En dicha versión de las guías diagnósticas utilizadas actualmente no se incluyen marcadores biológicos con valor pronóstico para dicha patología. Recientemente, el *National Institute of Mental Health* (NIMH) estadounidense, ha recalcado la necesidad de buscar raíces neurobiológicas en las enfermedades psiquiátricas, pidiendo a la comunidad científica un esfuerzo para intentar comprender los fundamentos fisiopatológicos de esta enfermedad (Reardon S. *Nature*. 2014;507:288).
- El pronóstico de los pacientes que han sufrido un FEP se puede dividir en 3 categorías: 25% de los pacientes muestra una respuesta completa al tratamiento que lleva a una recuperación completa tras el FEP, el 50% de los pacientes es recurrente sufriendo exacerbaciones y remisiones, y el último 25% de los pacientes muestran una evolución desfavorable con respuesta y una recuperación incompleta tras sufrir el FEP. Así, la falta de respuesta o una respuesta parcial al tratamiento sigue siendo común, y dicha falta de respuesta se asocia con una mayor duración de la hospitalización, además de la obtención de pobres resultados a largo plazo. En este sentido, dado que un FEP puede derivar, en muchos casos en una patología grave y crónica tal como esquizofrenia, psicosis, trastorno bipolar, etc., es de gran relevancia realizar un abordaje temprano de la enfermedad para luchar por el mejor pronóstico posible para el paciente. La importancia de una rápida intervención está ampliamente aceptada pero no siempre la misma intervención es igualmente efectiva para todos los pacientes con un FEP. Por dicho motivo, es necesario focalizar en los distintos endofenotipos de la enfermedad en esta etapa temprana a fin de diseñar el abordaje terapéutico más apropiado, ya que el éxito del tratamiento de un FEP es uno de los principales factores que afecta el pronóstico a largo plazo. Este hecho pone de relieve la necesidad de encontrar biomarcadores capaces de pronosticar o predecir, en fases muy tempranas de la enfermedad, específicamente en el momento en el que se produce el primer brote psicótico, con una alta especificidad y sensibilidad, la

respuesta al tratamiento en dichos sujetos, para en consecuencia, diseñar y aplicar el tratamiento más adecuado para cada caso particular.

En este sentido, en los últimos años el foco se ha centrado principalmente en la
5 detección de biomarcadores relacionados con el componente inflamatorio de dichos procesos, aunque también con componentes de estrés oxidativo y marcadores genéticos, entre otros (Fond G, et al. Schizophr Bull. 2015;41(3):559-73). El daño causado por los procesos inflamatorios y oxidativos durante el proceso de un FEP tiende a ser contrarrestado o compensado por varios sistemas protectores o de
10 reparación (Meyer U. Brain Behav Immun. 2011;25(8):1507-18; Gomes JR, et al. J Neurosci Off J Soc Neurosci. 2012;32(13):4610-22; Miller BJ, et al. Biol Psychiatry. 2011;70(7):663-71), como por ejemplo, las neurotrofinas, específicamente las neurotrofinas *Brain Derived Neurotrophic Factor* (BDNF) y *Nerve Growth Factor* (NGF), que juegan un papel relevante en el neurodesarrollo y plasticidad cerebral adulta, en la
15 supervivencia y diferenciación de neuronas, en el funcionamiento neuronal y en los mecanismos de reparación. Dichas neurotrofinas ejercen sus acciones a través de la activación de sus receptores de tipo tirosin-quinasa, TrKB en el caso del BDNF y TrKA, en el caso del NGF. Diversos estudios preclínicos y clínicos desarrollados en los últimos 10 años han encontrado cambios en los niveles plasmáticos de neurotrofinas,
20 así como un descenso de su expresión en determinadas áreas cerebrales en pacientes con esquizofrenia (Wong J, et al. Schizophr Bull. 2013;39(1):130-40; Mondelli V, et al. J Clin Psychiatry. 2011;72(12):1677-84; Weickert CS, et al. Mol Psychiatry. 2005;10(7):637-50). Dichos estudios han puesto de manifiesto que los niveles de BDNF generalmente se encuentran disminuidos en pacientes con un primer
25 episodio de psicosis (Toll A, Mané A. World J Psychiatry. 2015; 5(1):154-9). Por otro lado, también se ha descrito que el desequilibrio entre las isoformas activa (TrKB-FL) y truncada (TrKB-T) del receptor de BDNF, se asocia tanto con muerte neuronal (Vidaurre OG, et al. Cell Death Dis. 2012; 3:e256) como con esquizofrenia (Wong J, et al. Schizophr Bull. 2013;39(1):130-40). Así, a pesar de que se han propuesto un gran
30 número de biomarcadores para el diagnóstico y/o pronóstico del FEP, ninguno de ellos se aplica en la actualidad en la rutina clínica diaria.

Por lo tanto, no existe en el estado de la técnica biomarcadores útiles para pronosticar o predecir la respuesta de pacientes que han sufrido un FEP a un tratamiento con
35 fármacos antipsicóticos. En consecuencia, existe en el estado de la técnica una clara y

urgente necesidad de buscar biomarcadores, con una alta especificidad y sensibilidad, que los haga extrapolables a la práctica clínica, y que sean útiles para predecir la respuesta al tratamiento antipsicótico en pacientes tras sufrir un FEP.

5 DESCRIPCIÓN DE LA INVENCION

La presente invención se refiere a un método *in vitro* para el pronóstico o predicción de la respuesta al tratamiento con al menos un agente antipsicótico, por parte de pacientes que han sufrido un FEP, donde el pronóstico se realiza atendiendo al valor de expresión resultante del ratio TrKB-FL/TrKB-T, en una muestra biológica aislada de dichos pacientes en el momento del debut de la enfermedad. En una realización preferida del método *in vitro* de la invención, este se caracteriza por que cuando el valor de expresión resultante del ratio es ≥ 0.70 , dicho valor es indicativo de que el paciente va a presentar un buen pronóstico de respuesta al tratamiento con al menos un fármaco antipsicótico, es decir, va a ser un paciente respondedor al tratamiento antipsicótico. En cambio, cuando el valor resultante del ratio es < 0.70 , dicho valor es indicativo de que el paciente va a presentar un mal pronóstico de respuesta al tratamiento con al menos un fármaco antipsicótico, es decir, va a ser un paciente no-respondedor al tratamiento antipsicótico. Por lo tanto, una baja expresión de la forma truncada (TrKB-T) del receptor TrkB, respecto de la forma activa (TrKB-FL) del mismo, se relaciona con una buena respuesta al tratamiento. Consecuentemente, evaluar la expresión de las formas del receptor de BDNF, y obtener su ratio de expresión, en una muestra de fluido biológico, preferentemente en una muestra de sangre, plasma o suero, más preferentemente en una muestra de células mononucleares de sangre periférica (PBMC), nos proporciona una herramienta para predecir si un paciente que acaba de sufrir su FEP responderá bien o no al tratamiento antipsicótico. La determinación del valor de dicho ratio en el momento del debut de la enfermedad resulta de gran importancia debido a que nos permite establecer un tratamiento adecuado que pueda mejorar la evolución a largo plazo de dichos pacientes.

Por lo tanto, en la presente invención se describe el uso de la proporción relativa de las dos isoformas del receptor TrKB, TrKB-FL (isoforma activa) respecto a TrKB-T (isoforma truncada), medido en el momento del debut de la enfermedad, como biomarcador para el pronóstico o predicción de la respuesta al tratamiento con al menos un agente antipsicótico por parte de pacientes que han sufrido un FEP, ya que

dicho valor de expresión del ratio se relaciona significativamente con pacientes respondedores al tratamiento antipsicótico, obteniéndose en dichos pacientes muy buenos resultados funcionales en su recuperación seis meses después de haber sufrido el primer episodio psicótico. Es más, como se muestran en los ejemplos que
5 acompañan a la presente invención, los niveles de expresión del ratio aquí descrito, durante los seis primeros meses de seguimiento tras el debut de la enfermedad, llega a ser estadística y significativamente más alto incluso que el nivel de expresión de dicho ratio en sujetos control que no padecen la enfermedad.

10 Así, el problema técnico resuelto por la presente invención se refiere a un método *in vitro* para el pronóstico o predicción de la respuesta al tratamiento con al menos un agente antipsicótico, por parte de pacientes que han sufrido un FEP, a partir de una muestra biológica obtenida de dichos pacientes en el momento del debut de la enfermedad, que es sencillo (se basa en el análisis de dos proteínas concretas y/o de
15 los genes que las codifican), poco invasivo para el paciente y que además presenta una sensibilidad (79.1%) y especificidad (61.1%) muy altas, permitiendo por tanto su uso en la práctica clínica diaria.

En este sentido, la predicción de la respuesta al tratamiento por parte de pacientes
20 que han sufrido un FEP es útil en varios sentidos principales: (1). Predicción de pacientes no-respondedores al tratamiento con al menos un agente antipsicótico (mal pronóstico): de esta forma se podría dirigir al paciente hacia tratamientos alternativos sin necesidad de aplicarle, como primer tratamiento, la terapia antipsicótica. (2). Predicción de pacientes respondedores al tratamiento con al menos un agente
25 antipsicótico (buen pronóstico): esta herramienta es muy útil para empezar el tratamiento de forma muy temprana ya que en el caso particular de los pacientes que han sufrido un FEP se ha demostrado que el tratamiento en fases precoces de la enfermedad pueden ser muy efectivo para evitar el avance de la misma hacia patologías crónicas tales como esquizofrenia o psicosis, además de permitir al
30 paciente llevar una vida normal, definida como un buen funcionamiento general del paciente en su vida diaria.

Así, el primer aspecto de la presente invención se refiere a un método *in vitro*, a partir de aquí lo denominaremos, primer método de la invención, para el pronóstico o
35 predicción de la respuesta a tratamiento con al menos un agente antipsicótico por

parte de pacientes que han sufrido un primer episodio psicótico, donde el pronóstico se realiza atendiendo al valor de expresión del ratio TrkB-FL/TrkB-T, en una muestra aislada de dichos pacientes en el momento del debut de la enfermedad, donde un valor de expresión del ratio ≥ 0.70 es indicativo de un paciente respondedor al tratamiento y un valor de expresión del ratio < 0.70 es indicativo de un paciente no-respondedor al tratamiento. Alternativamente, la presente invención también se refiere, por tanto al uso *in vitro* del valor de la expresión del ratio TrkB-FL/TrkB-T como biomarcador pronóstico o de predicción de la respuesta a tratamiento con al menos un agente antipsicótico, por parte de pacientes que han sufrido un primer episodio psicótico, donde cuando el valor de expresión resultante de dicho ratio es ≥ 0.70 , dicho valor es indicativo de que el paciente va a presentar un buen pronóstico de respuesta al tratamiento con al menos un fármaco antipsicótico, es decir va a ser un paciente respondedor al tratamiento antipsicótico. En cambio, cuando el valor resultante del ratio es < 0.70 , dicho valor es indicativo de que el paciente va a presentar un mal pronóstico de respuesta al tratamiento con al menos un fármaco antipsicótico, es decir va a ser un paciente no-respondedor al tratamiento antipsicótico.

Los términos “Primer Brote Psicótico” o “Primer Episodio Psicótico” o “FEP” o “PEP” utilizados indistintamente a lo largo del presente documento, en muchas ocasiones en el estado de la técnica se utilizan erróneamente como sinónimo de esquizofrenia. Para delimitar dichos términos cabría señalar que la esquizofrenia se caracteriza por “la presencia de ideas delirantes, alucinaciones, lenguaje desorganizado, conducta catatónica y/o desorganizada y síntomas negativos tales como el aplanamiento afectivo, alogia o abulia y al menos, dos de estos síntomas pueden haber estado presentes durante 6 meses (salvo que el paciente se haya tratado previamente) y se asocian a una disfunción laboral y social (Ballesteros, J. Brotes psicóticos. Sección de Psiquiatría Fundación Santa Fe de Bogotá. 2013. pp. 1330-1332). El matiz que pone de manifiesto la diferencia con el brote psicótico se advierte en el hecho de que la esquizofrenia es una forma de psicosis de larga duración, mientras que el brote psicótico sería una manifestación abrupta de lo que se podría considerar la sintomatología positiva de la esquizofrenia durante un breve período de tiempo.

El término “TrkB” (conocido también, entre otros sinónimos como receptor tropomiosin quinasa B, o receptor tirosin quinasa B o receptor de los factores de crecimiento BDNF y NT3 o receptor neurotrófico tirosin quinasa tipo 2) se refiere a una proteína que en

humanos es codificada por el gen NTRK2 localizado en el cromosoma 9 (87.28–87.64 Mb). TrkB actúa como receptor catalítico de alta afinidad de los factores neurotróficos BDNF y NT-3 y -4. Su denominación suele abreviarse con los siguientes modos: NTRK2; GP145-TrkB; TRKB; trk-B. Dicho receptor presenta dos isoformas TrkB-FL y

5 TrkB-T. La isoforma TrkB-FL es la forma activa completa del receptor TrkB. Dicha forma completa transduce la señal de BDNF a través de Ras-ERK, PI3K, and PLCγ. La isoforma TrkB-T es la forma truncada del receptor TrkB que carece de actividad kinasa y se opone a la función de la forma TrkB-FL. Esta forma truncada posee los mismos dominios extracelular y transmembrana que la forma completa pero difiere en

10 la secuencia terminal. El número de acceso del TrkB en la base de datos UniProtKB/Swiss-Prot es Q16620, donde aparecen las secuencias proteicas para la isoforma activa y para la isoforma truncada. El número de acceso para la secuencia genómica de NTRK2 en la base de datos NCBI es NG_012201.2.

15 Para detectar y/o cuantificar los biomarcadores proteicos descritos en la invención es suficiente con detectar uno o más fragmentos de dichas proteínas ya que dichos fragmentos son un constituyente de la secuencia aminoacídica y de la estructura de las proteínas. Es decir, el método de la presente invención contempla la posibilidad de asociar la detección de un fragmento que inequívocamente pertenezca a dicha

20 proteína a la presencia de la proteína en cuestión. Para la detección, y/o cuantificación de dicho fragmento de la proteína o de la proteína completa se puede usar cualquier técnica conocida por el experto en la materia.

Cualquiera de las proteínas de la presente invención son el producto de la expresión

25 de una secuencia nucleotídica. Esta secuencia nucleotídica puede ser, por ejemplo pero sin limitarse, cualquier ARN como por ejemplo, pero sin limitarse, ARN mensajero (ARNm), o cualquiera de sus fragmentos. La secuencia nucleotídica puede ser también ADN complementario (ADNc) o cualquier de sus fragmentos. El ADNc es un ADN complementario a un ARNm o es también la secuencia nucleotídica que

30 comprende los exones de la secuencia nucleotídica genómica pero no los intrones, es decir, el ADNc es la secuencia codificante. La transcripción de la secuencia nucleotídica genómica del gen que codifica para la proteína y su ADNc codifican para el mismo ARNm y, por tanto, para la misma proteína. En la presente invención también es posible detectar cualquier ARN o cualquier ADN, o cualquiera de sus fragmentos,

35 en lugar de la detección de la proteína, o simultáneamente.

Así, en otra realización preferida del método *in vitro* descrito en la presente invención este se caracteriza por que las proteínas TrKB-FL y TrKB-T o cualquier fragmento de las mismas, es detectado y/o cuantificado por medio de electroforesis, inmunoensayo, cromatografía y/o tecnología de microarray, evaluando además su presencia o ausencia.

La electroforesis es una técnica analítica de separación basada en el movimiento o la migración de macro-moléculas disueltas en un medio (buffer de electroforesis), mediante una matriz o un sólido apoyo como resultado de la acción de un campo eléctrico. El comportamiento de la molécula depende de su movilidad electroforética y esta movilidad depende de la carga, tamaño y forma. Existen numerosas variaciones de esta técnica basadas en el equipamiento usado, soportes y condiciones para llevar a cabo la separación de las proteínas. La electroforesis se selecciona de la lista que comprende, pero sin limitarse, electroforesis capilar, electroforesis en papel, electroforesis en gel de agarosa, electroforesis en gel de poliacrilamida, isoelectroenfoque o electroforesis bidimensional.

Un inmunoensayo es una prueba bioquímica que mide la concentración de una sustancia en un líquido biológico usando la reacción de un anticuerpo o anticuerpos con alguno de sus antígenos. El ensayo aprovecha la especificidad de un anticuerpo con su antígeno. La cantidad de anticuerpo o antígeno puede detectarse por medio de métodos conocidos en el estado de la técnica. Uno de los métodos más comunes es el que se basa en el marcaje del antígeno o de los anticuerpos. El marcaje puede llevarse a cabo, pero sin limitarse, una enzima, radioisótopos (radioinmunoensayo), etiquetas magnéticas (inmunoensayo magnético) o fluorescencia, y también otras técnicas incluidas aglutinación, nefelometría, turbidimetría o Western Blot. Los inmunoensayos heterogéneos pueden ser competitivos o no competitivos. El inmunoensayo puede ser competitivo: la respuesta será inversamente proporcional a la concentración de antígeno en la muestra, o puede ser no competitivo (conocido también como "sandwich assay"): los resultados son directamente proporcionales a la concentración del antígeno. Una técnica de inmunoensayo que puede ser utilizada en la presente invención es el ensayo ELISA (Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay).

Por medio de las técnicas cromatográficas, las moléculas pueden ser separadas, pero sin limitarse, por su carga, tamaño, masa molecular, mediante su polaridad o mediante su potencial redox. La técnica de cromatografía se selecciona, pero sin limitarse, cromatografía de líquidos (cromatografía de partición, cromatografía de adsorción, cromatografía de exclusión o cromatografía de intercambio iónico), cromatografía de gases o cromatografía de fluidos supercríticos.

La tecnología de microarray de la presente invención está basada, por ejemplo, sobre la fijación en un soporte sólido de una molécula que reconoce la proteína de la presente invención. El microarray basado en anticuerpos es el microarray de proteínas más común. En este caso, los anticuerpos se fijan en el soporte sólido (también se puede emplear el término chip para referirse a microarray). Estos anticuerpos son utilizados para capturar moléculas que permiten la detección de proteínas procedentes, pero sin limitarse, de muestras biológicas, de lisados celulares, de sangre, plasma, suero, PBMCs o de orina. El término "soporte sólido" tal como se emplea en la presente invención se refiere a una gran variedad de materiales, por ejemplo, pero sin limitarse, intercambio de iones o resina adsorción, vidrio, plástico, látex, nylon, gel, ésteres de celulosa, esferas paramagnéticas o la combinación de algunos de ellos.

El término "anticuerpo", tal como se utiliza en la presente descripción, se refiere a moléculas de inmunoglobulinas y porciones inmunológicamente activas de moléculas de inmunoglobulinas, es decir, moléculas que contienen un sitio de fijación de antígeno que se une específicamente (inmunorreacciona) con una proteína. Hay cinco isotipos o clases principales de inmunoglobulinas: IgM, IgD, IgG, IgA e IgE. A efectos de la presente invención se puede utilizar cualquier anticuerpo capaz de detectar la expresión de las proteínas TrkB-FL y/ o TrkB-T. Anticuerpos conocidos en el estado de la técnica capaces de detectar las proteínas TrkB-FL y/ o TrkB-T se seleccionan de entre cualquiera de los siguientes: anticuerpos Anti-TrkB de referencias ab18987 y ab33665, anticuerpo Anti-TrkB [EPR1294] de referencia ab134155, de Abcam Inc (Cambridge, MA); anticuerpo TrkB #4606 de Cell Signalling (Cell Signaling Technology, Inc., Beverly, MA, USA); anticuerpo TrkB(C-13) sc-119, anticuerpo TrkB (F-1) sc-377218 y anticuerpo TrkB (794) sc-12 de Santa Cruz Biotechnology Inc. (Santa Cruz, California, USA); anticuerpo anti-TrkB (Ab-705) de Sigma (España).

En una realización preferida del primer método de la invención, es posible también, además de la detección de un fragmento de las proteínas usadas como biomarcadores, la detección y cuantificación de una variante funcionalmente equivalente de los mismos.

5

En el sentido utilizado en esta descripción, el término "variante" se refiere a proteínas sustancialmente homólogas a las proteínas TrKB-FL y TrKB-T. En general, una variante incluye adiciones, deleciones o sustituciones de aminoácidos, siempre con la condición de que dichas variantes son funcionalmente equivalentes a la proteína original. El término "variante" incluye también a las proteínas resultantes de modificaciones postranslacionales como, por ejemplo, pero sin limitarse, glicosilación, fosforilación o metilación.

10

La expresión "funcionalmente equivalente", tal como aquí se utiliza, significa que la proteína o el fragmento de la proteína en cuestión mantiene esencialmente las propiedades inmunológicas descritas en este documento. Dichas propiedades inmunológicas se pueden determinar mediante métodos convencionales tales como los descritos en los ejemplos que acompañan a esta descripción.

15

El término "fragmento", tal y como se utiliza en la presente descripción se refiere a una porción de las proteínas TrKB-FL y TrKB-T o de una sus variantes.

20

A efectos de la presente invención, el término "pronóstico" o "predicción", se entiende como la evolución esperada de una enfermedad y se refiere a la valoración de la probabilidad según la cual un sujeto padece una enfermedad así como a la valoración de su inicio, estado de desarrollo, evolución, o de su regresión, y/o el pronóstico del curso de la enfermedad en el futuro. Como entenderán los expertos en la materia, tal valoración, aunque se prefiere que sea, normalmente puede no ser correcta para el 100% de los sujetos que se va a diagnosticar. El término, sin embargo, requiere que una parte estadísticamente significativa de los sujetos se pueda identificar como que padecen la enfermedad o que tienen predisposición a la misma. Si una parte es estadísticamente significativa se puede determinar sin más por el experto en la materia usando varias herramientas de evaluación estadística bien conocidas, por ejemplo, determinación de intervalos de confianza, determinación de valores p, prueba t de Student, prueba de Mann-Whitney, o funciones discriminantes de Fisher, medidas no

25

30

35

paramétricas de Mann Whitney, correlación de Spearman, regresión logística, regresión lineal, área bajo la curva de ROC (AUC), etc. Los intervalos de confianza preferidos son al menos del 50%>, al menos del 60%>, al menos del 70%>, al menos del 80%>, al menos del 90%, al menos del 95%, al menos del 97%, al menos del 98%
5 o al menos del 99%. Los valores de p son, preferiblemente, 0,1, 0,05, 0,01, 0,005 o 0,0001. etc.

Por 'predicción de la respuesta' se entiende, en el contexto de la presente invención, la determinación de la probabilidad de que el paciente responda de forma favorable o
10 desfavorable a una terapia o a un tratamiento determinado. Especialmente, el término 'predicción', como se usa aquí, se refiere a una evaluación individual de cualquier parámetro que pueda ser útil en determinar la evolución de un paciente. Como entenderán los expertos en la materia, la predicción de la respuesta clínica al tratamiento, aunque se prefiere que sea, no necesita ser correcta para el 100% de los
15 sujetos a ser diagnosticados o evaluados. El término, sin embargo, requiere que se pueda identificar una parte estadísticamente significativa de los sujetos como que tienen una probabilidad aumentada de tener una respuesta positiva. El experto en la materia puede determinar fácilmente si un sujeto es estadísticamente significativo usando varias herramientas de evaluación estadística bien conocidas, por ejemplo,
20 determinación de intervalos de confianza, determinación de los valores de p, prueba t de Student, prueba de Mann Whitney, o funciones discriminantes de Fisher, medidas no paramétricas de Mann Whitney, correlación de Spearman, regresión logística, regresión lineal, área bajo la curva de ROC (AUC), etc. Los intervalos de confianza preferidos son al menos del 50%>, al menos del 60%>, al menos del 70%>, al menos del 80%>, al menos del 90%, al menos del 95%, al menos del 97%, al menos del 98%
25 o al menos del 99%.. Los valores de p son, preferiblemente, 0,1, 0,05, 0,01, 0,005 o 0,0001. Preferiblemente, la presente invención permite predecir la respuesta al tratamiento de forma diferencial en al menos el 60%, más preferiblemente en al menos el 70%, mucho más preferiblemente en al menos el 80%, o aún mucho más
30 preferiblemente en al menos el 90% de los sujetos de un determinado grupo o población analizada. La predicción de la respuesta clínica se puede hacer utilizando cualquier criterio de valoración usado en psiquiatría y conocido por el experto en la materia.

A efectos de la presente invención el término “buen pronóstico” o “pacientes respondedores” se refiere a aquéllos pacientes que tras sufrir un FEP y comenzar un tratamiento con al menos un fármaco antipsicótico, se recuperan de la enfermedad, teniendo una vida funcional satisfactoria. Por otro lado, el término “mal pronóstico” o “pacientes no-respondedores” se refiere a aquéllos pacientes que tras sufrir un FEP el comenzar un tratamiento antipsicótico no va a hacer que se recuperen de la enfermedad y su funcionamiento en la vida diaria va a verse deteriorado.

A efectos de la presente invención, el término “especificidad” se refiere a la capacidad de un método o prueba diagnóstica y/o pronóstica de clasificar correctamente a un individuo sano (p.e. diagnóstico negativo de carcinoma, cuando el paciente no está afectado de carcinoma), es decir, la probabilidad de que para un sujeto sano se obtenga un resultado negativo; una especificidad del 100% significa que no hay falsos positivos. La especificidad que muestra el método descrito en la presente invención es del 79.1%. Así, una especificidad del 79.1% significa que el valor del ratio TrkB-FL/TrkB-T obtenido pronostica correctamente al 79.1% de los sujetos con mala funcionalidad.

A efectos de la presente invención, el término “sensibilidad” se refiere a la capacidad de un método o prueba diagnóstica y/o pronóstica de clasificar correctamente a un individuo enfermo (p.e. diagnóstico positivo de carcinoma, cuando el paciente está afectado de carcinoma), es decir, la probabilidad de que para un sujeto enfermo se obtenga un resultado positivo; una sensibilidad del 100% significa que no hay falsos negativos. La sensibilidad que muestra el método descrito en la presente invención es del 61.1%. Así, una sensibilidad del 61.1% significa que el método pronostica correctamente al 61.1% de los sujetos con buena funcionalidad.

A efectos de la presente invención, el término “valor predictivo positivo” o “VPP” se refiere a la probabilidad de que un paciente esté enfermo si el método de pronóstico o predicción resulta positivo (p.e. estar afectado de carcinoma cuando el diagnóstico/pronóstico de la prueba es positivo), es decir, la proporción de pacientes con un resultado positivo en el método de diagnóstico y/o pronóstico que finalmente resultaron estar enfermos. En el caso particular del método de la invención, el VPP es del 85.3% lo que significa que el 85.3% de los sujetos que mediante el método de la

invención se pronostican como pacientes respondedores, serán pacientes respondedores y presentarán una buena funcionalidad.

5 A efectos de la presente invención, el término “valor predictivo negativo” o “VPN” se refiere a la probabilidad de que un paciente esté sano si el método de pronóstico o predicción resulta negativo (p.e. no estar afectado de carcinoma cuando el diagnóstico/pronóstico de la prueba es negativo), es decir, la proporción de pacientes con un resultado negativo en el método de diagnóstico y/o pronóstico que finalmente resultaron estar sanos. En el caso particular del método de la invención, el VPN es del
10 57.9% lo que significa que el 57.9% de los sujetos que mediante el método de la invención se pronostican como no respondedores y que presentarían mala funcionalidad si fuesen tratados con fármacos antipsicóticos, serán finalmente pacientes no respondedores que tendrán mal funcionamiento.

15 A efectos de la presente invención el término “agente antipsicótico” o “compuesto antipsicótico” o “fármaco antipsicótico” se refiere a aquellas sustancias capaces de tratar los síntomas psicóticos del paciente tales como delirios y/o alucinaciones. El término antipsicótico hace referencia a una amplia familia de fármacos clasificados tradicionalmente en dos grupos, en función de su perfil de seguridad y su eficacia
20 sobre los síntomas depresivos de la esquizofrenia. Así los grupos principales de antipsicóticos son los antipsicóticos típicos (AT) y los antipsicóticos atípicos (AA). Los AT son los fármacos antipsicóticos más antiguos, con acción fundamentalmente antidopaminérgica y caracterizados por su eficacia en el control de síntomas psicóticos positivos (delirios, alucinaciones), pero que son poco eficaces sobre los síntomas
25 negativos (depresión, aislamiento social). Su uso se asocia frecuentemente con síntomas extrapiramidales (SEP) e hiperprolactinemia. A efectos de la presente invención, los fármacos AT que pueden utilizarse en el tratamiento de un FEP se seleccionan de entre cualquiera de los siguientes: clorpromazina, flufenazina, levomepromazina, perfenazina, trifluoperazina, haloperidol, zuclopentixol, pimozida,
30 supirida, tiaprida, o combinaciones de los mismos. Los fármacos antipsicóticos atípicos se caracterizan por bloquear simultáneamente los receptores dopaminérgicos y serotoninérgicos y ser eficaces tanto en los síntomas positivos como en los negativos. Globalmente, los AA se asocian con menos síntomas extrapiramidales (efecto secundario) que los AT; sin embargo, no están exentos de problemas ya que el uso de
35 AA se ha asociado con una mayor incidencia de reacciones adversas metabólicas

- (hiperglucemia, aumento de peso,...) que en ocasiones limitan su uso. A efectos de la presente invención, los fármacos AA que pueden utilizarse en el tratamiento de un FEP se seleccionan de entre cualquiera de los siguientes: clozapina, risperidona, olanzapina, quetiapina, ziprasidona, aripiprazol, paliperidona, asenapina, sertindol, amisulprida, o combinaciones de los mismos. Por otro lado, también es posible combinar en un mismo tratamiento antipsicótico cualquiera de los fármacos AT o combinaciones de los mismos con cualquiera de los fármacos AA o combinaciones de los mismos.
- 10 A efectos de la presente invención, el término "muestra biológica aislada" incluye, pero sin limitarnos a, células, tejidos y/o fluidos biológicos de un organismo, obtenidos mediante cualquier método conocido por un experto en la materia. Preferiblemente, la muestra biológica aislada es un fluido biológico. Más preferiblemente, el fluido biológico es sangre o plasma o suero sanguíneo. Más preferiblemente aún, el fluido
- 15 biológico es sangre y preferentemente, células mononucleares de sangre periférica (PBMCs). Las "células mononucleares de sangre periférica" o "PBMC" incluyen linfocitos, monocitos y macrófagos. Los métodos para aislar estas PBMC de una muestra de sangre se conocen bien en la técnica.
- 20 El término "individuo" o "sujeto", tal y como se utilizan en la descripción, se refiere a animales, preferiblemente mamíferos, y más preferiblemente, humanos. Dichos términos no pretenden ser limitativos en ningún aspecto, pudiendo ser éstos de cualquier edad, sexo y condición física.
- 25 Otro aspecto de la presente invención se refiere a un kit o dispositivo, de aquí en adelante kit o dispositivo de la invención, que comprende los elementos necesarios para detectar y/o cuantificar los niveles de expresión de las isoformas TrKB-FL y TrKB-T, o de una variante de las mismas o de un fragmento de las mismas, en una muestra biológica aislada de un sujeto. En una realización preferida los elementos necesarios
- 30 para la detección y/o cuantificación de las isoformas TrKB-FL y TrKB-T, o de una variante de las mismas o de un fragmento de las mismas se seleccionan preferentemente de entre: oligonucleótidos, sondas y/o anticuerpos.
- En una realización más preferida del kit de la invención, este comprende anticuerpos
- 35 capaces de detectar la expresión de las isoformas TrKB-FL y TrKB-T o de un

fragmento de las mismas o de cualquiera de sus variantes.

Dicho kit puede contener todos aquellos reactivos necesarios para analizar la cantidad de proteína TrKB-FL y TrKB-T por medio de cualquiera de los métodos descritos anteriormente en este documento como, por ejemplo, pero sin limitarse, anticuerpos
5 específicos de dichas proteínas, anticuerpos secundarios o controles positivos y/o negativos. El kit además puede incluir, sin ningún tipo de limitación, tampones, soluciones de extracción de proteínas, agentes para prevenir la contaminación, inhibidores de la degradación de las proteínas, etc. En el caso de la detección por
10 RTqPCR puede contener, pero sin limitarse, cebadores, sondas y todos aquellos reactivos necesarios para determinar la expresión de las proteínas TrKB-FL y TrKB-T. El kit además puede incluir, sin ningún tipo de limitación, el uso de tampones, polimerasas, cofactores para obtener una actividad óptima de éstas, agentes para prevenir la contaminación, etc. Por otro lado, el kit puede incluir todos los soportes y
15 recipientes necesarios para su puesta en marcha y optimización. Preferiblemente, el kit comprende además las instrucciones para llevar a cabo los métodos de la invención.

A lo largo de la descripción y las reivindicaciones la palabra "comprende" y sus
20 variantes no pretenden excluir otras características técnicas, aditivos, componentes o pasos. Para los expertos en la materia, otros objetos, ventajas y características de la invención se desprenderán en parte de la descripción y en parte de la práctica de la invención. Los siguientes ejemplos y figuras se proporcionan a modo de ilustración, y no se pretende que sean limitativos de la presente invención.

25

BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

FIG. 1. Análisis de la expresión de las isoformas de los receptores TrKB-FL **(A)** y TrKB-T **(B)** en las células PBMCs aisladas de pacientes en el momento del debut de la
30 enfermedad y 6 meses después, y en sujetos control sanos. **(C)** Gráfica donde se muestra el valor del ratio TrKB-FL/TrKB-T en sujetos control sanos y en sujetos que han sufrido un FEP, en el momento del debut de su enfermedad y tras 6 meses de seguimiento de los mismos. Los datos densitométricos de las respectivas bandas de interés han sido normalizados utilizando la expresión obtenida para la β -actina. Los

datos representan la media $\pm$ desviación estándar. Prueba t para muestras pareadas.

* $p < 0.05$ vs. Control; # $p < 0.05$, ## $p < 0.01$ vs debut del FEP.

EJEMPLOS

5

A continuación se ilustrará la invención mediante la exposición de los resultados obtenidos por los inventores. Estos ponen de manifiesto la especificidad, sensibilidad y eficacia del biomarcador de predicción de respuesta a un tratamiento antipsicótico en pacientes que han sufrido un FEP, descrito en la presente invención.

10

Pacientes

En el estudio se han incluido muestras de sangre de 94 pacientes obtenidas durante su primer año tras debutar con un primer episodio psicótico y como controles sanos se han incluido 80 muestras de sangre de sujetos control, sanos pareados por sexo, raza y edad.

Los criterios de inclusión en el estudio para los sujetos que habían sufrido un FEP fueron:

- 20
- a) Síntomas psicóticos positivos de menos de 12 meses de duración,
 - b) Edad de 9 a 35 años en el momento de debutar con la enfermedad,
 - c) Hablar español correctamente,
 - d) Firmar el consentimiento informado del estudio.

25 Y los criterios de exclusión:

- a) Retraso mental según criterios DSM-IV,
- b) Historia de traumatismo craneoencefálico con pérdida de conciencia,
- c) Enfermedad sistémica con repercusión mental.

30 Para evaluar la sintomatología psicótica utilizamos la escala PANSS (Escala de síndrome positivo y negativo, en sus siglas en inglés, *Positive And Negative Symptoms Scale*) (Kay SR, et al. Schizophr Bull. 1987;13(2):261-76)

Por otro lado, los criterios de inclusión en el estudio para los sujetos control fueron:

- 35
- a) Ausencia actual o previa de patología psiquiátrica según criterios DSM-IV,

- b) Hablar español correctamente,
- c) Firmar el consentimiento informado del estudio.

Y los criterios de exclusión fueron los mismos que los anteriormente mencionados para los pacientes y además:

- d) Historia de cuadros psicóticos en familiares de primer grado.

Ni los pacientes ni los sujetos sanos tenían cuadros febriles o alérgicos, infecciones u otra condición médica importante, y no habían recibido medicación inmunosupresora o vacunas en los 6 meses previos o medicación antiinflamatoria en los dos días previos a la extracción de las muestras de sangre. En la Tabla 1 se muestran las características clínicas de los pacientes y de los sujetos control sanos.

El estudio fue aprobado por el Comité de Ética en la Investigación Clínica de los centros participantes. Todos los sujetos incluidos en el estudio firmaron un informe de consentimiento para participar en el mismo. En el caso de los sujetos menores de 18 años, se obtuvo el consentimiento de sus padres o representantes legales y los propios pacientes consintieron en participar.

20 Muestras

Las muestras de sangre venosa obtenidas de los sujetos que participan en el estudio se extrajeron estando los sujetos en ayunas, en el momento del debut de la enfermedad y a los 6 meses tras sufrir el FEP. Dichas muestras de sangre fueron centrifugadas (641g x 10 min a una temperatura de 4° C) y el plasma obtenido se almacenó a -80°C para su estudio posterior. El resto de la muestra se utilizó para aislar las células mononucleares de sangre periférica, conocidas como PBMCs, que una vez obtenidas se almacenaron a -80°C para su estudio posterior.

30 Medida de la expresión de los receptores TrKB-FL y TrKB-T en PBMCs

La expresión de los marcadores descritos en la presente invención, TrKB-FL y TrKB-T se cuantificó utilizando la técnica de Western-Blot (WB), a partir de los extractos citosólicos obtenidos de las PBMCs mediante un procedimiento modificado basado en el método de Scheiber y cols. Brevemente, se homogeneizaron las PBMCs en 150 µL

de tampón (10 mmol/L N-2-hidroietilpiperazine-N'-2-ácido etanesulfónico [pH 7.9]; 1 mmol/L EDTA, 1 fenilmetilsulfonil fluoride, 0.1 mg/mL aprotinina, 1 mg/mL leupeptina, 1 mg/mL Na-ptosisil-L-lisina-clorometil cetona, 5 mmol/L NaF, 1 mmol/L NaVO₄, 0.5 mol/L sacarosa, and 10 mmol/L Na₂MoO₄) a pH 7.4. Tras 15 min, se añadió Nonidet P-40
5 (Roche, Mannheim, Germany) hasta alcanzar una concentración del 1%. Los tubos fueron agitados en vortex durante 30 segundos y los núcleos se recogieron mediante centrifugación a 8000g x 5 min. Se consideró que el sobrenadante constituía la fracción citosólica. Los pellets fueron resuspendidos en 50 µL del tampón, suplementado con 20% de glicerol, 15 mmol/L MgCl₂ y 0.4 mol/L NaCl y agitados
10 ligeramente durante 30 min a 4°C. Los extractos de proteínas nucleares se obtuvieron por centrifugación a 13,000 g x 5 min, y las alícuotas del sobrenadante se almacenaron a -80°C. Todas las etapas del fraccionamiento se llevaron a cabo a 4°C. Como método de control para analizar la pureza de los extractos citosólicos y nucleares, se realizó un Western Blot utilizando gliceraldehído-3-fosfato
15 deshidrogenasa (GAPDH), Proteína Específica 1 (SP1) o β-actina (en citosol: 99±1; 19±5; y 98±1% de señal total densidad óptica [OD], respectivamente; y en núcleos: 0; 81±7; y 99±1% de señal total densidad óptica, respectivamente).

Tras determinar y ajustar la concentración de proteína a 2µg/µl, utilizando el método
20 de Bradford, los extractos citosólicos fueron mezclados con igual volumen del tampón Laemmli (Bio-Rad, USA) (SDS 10%, H₂O destilada, 50% glicerol, 1 M Tris HCl, pH 6.8, ditiotretol y azul de bromofenol), con β-mercaptoethanol (50µl/ml Laemmli). Se cargaron 12,5µg de dicha mezcla en un gel de electroforesis. Las muestras proteicas se separaron y transfirieron a una membrana de nitrocelulosa (Amersham, Ibérica,
25 España). Tras la neutralización, las membranas se incubaron con anticuerpos específicos para detectar la presencia de los marcadores de la invención:

- Anticuerpos policlonales TrKB de conejo a una dilución de 1:1000 en TBS-Tween (sc-12; Santa Cruz Biotechnology, USA), para TrKB-FL,
 - Anticuerpos policlonales TrKB de conejo a una dilución de 1:1000 en TBS-Tween (sc-119; Santa Cruz Biotechnology, USA) para TrKB-T,
 - Anticuerpos monoclonales β-actina de ratón a una dilución de 1:15000 (Clone AC 15; Sigma, España), que se utilizó como control de carga.
- 30

Posteriormente, tras el lavado de los anticuerpos primarios, las membranas se
35 incubaron con sus respectivos anticuerpos secundarios conjugados con peroxidasa

(dilución 1:2000 en TBS-Tween). La inmunorreactividad de las bandas fue detectada y visualizada mediante el sistema Odyssey Fc (Licor, Alemania) y se cuantificaron por densitometría (NIH ImageJ® software). Todos los resultados densitométricos fueron expresados como porcentaje de expresión de cada uno de los marcadores analizados respecto al grupo control.

Evaluación del funcionamiento general de los pacientes (GAF)

Con el fin de evaluar el funcionamiento general de los pacientes que habían sufrido un FEP utilizamos la escala GAF (en sus siglas en inglés *Global Assessment Functioning*), que proporciona una puntuación entre 0 y 100 y tiene en consideración diferentes aspectos de la vida diaria del paciente, tales como relaciones sociales, situación laboral, etc. Esta escala fue publicada en base a una revisión de la escala "Global Assessment Scale" (GAS) de Endicott (Endicott J, et al. Arch Gen Psychiatry. 1976;33(6):766-71). La escala GAF fue publicada en 1987 y se convirtió en la base de los diagnósticos del eje V en el DSM-III-R (American Psychiatric Association. Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders (DSM-III-R), text revision. 3rd edition. Washington, DC: American Psychiatric Association; 1987), DSM-IV (American Psychiatric Association. Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders DSM-IV. Washington, DC: American Psychiatric Association; 1994) y DSM-IV-TR (American Psychiatric Association. Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders (DSM-IV-TR), text revision. 4th edition. Washington, DC: American Psychiatric Association; 2000). Una puntuación alta en la escala denota mejor funcionalidad. A efectos de la presente invención, se considera una buena funcionalidad cuando la puntuación en la escala GAF es ≥ 60 puntos, mientras que el paciente tendrá un funcionamiento deteriorado cuando la puntuación en dicha escala sea < 60 puntos.

Análisis estadístico

Para evaluar la posible asociación entre el estado inflamatorio en el momento basal, es decir, tras sufrir los pacientes el FEP, y el valor de expresión del ratio TrKB-FL/TrKB-T, tanto en el debut de la enfermedad como 6 meses después dicho debut (seguimiento), se construyeron modelos de regresión lineal múltiple. Este mismo tipo de análisis fue utilizado para la evaluación de la influencia del estado inflamatorio y del valor de expresión del ratio TrKB-FL/TrKB-T en el debut de la enfermedad sobre el

funcionamiento global del paciente (GAF) y la situación clínica del mismo (PANSS) al final del periodo de seguimiento, transcurridos 6 meses tras el debut de la enfermedad. A fin de ajustar dicho modelo, se utilizó un modelo “paso a paso hacia atrás” incluyendo todas las posibles variables de confusión (sexo, edad, estado civil, estudios, nivel socioeconómico, raza, tabaco, alcohol, cannabis, IMC, antipsicóticos). Sólo aquellas variables que resultaron significativas o aquellas que produjeron un cambio significativo en el coeficiente de la variable independiente, fueron incluidas en el modelo de regresión (IMC, tabaco y antipsicóticos). Finalmente, se evaluaron los términos de interacción.

10

Una vez obtenido el modelo final, se analizaron tanto el ajuste de los residuos como su normalidad. Se obtuvo el coeficiente β , el intervalo de confianza al 95% y el valor p para los test t (evaluando la significación estadística del coeficiente de regresión).

15 En aquellos casos en que el término de interacción resultó significativo, se calculó para cada grupo el tamaño del efecto y su intervalo de confianza al 95%. Además, el tamaño del efecto del grupo principal de la variable dependiente fue estimado para diferentes valores de la variable independiente (percentiles 3, 25, 50, 75 y 97).

20 Finalmente para evaluar el valor predictivo del modelo desarrollado, estimamos su sensibilidad, especificidad, y valores predictivos positivo y negativo. Los análisis estadísticos fueron desarrollados con el paquete estadístico Stata versión 12.1 (StataCorp LP, Texas, USA) y el nivel de significación se fijó en $p < 0.05$.

25 RESULTADOS

Tabla 1. Características basales de la muestra de sujetos incluidos en el estudio.

		Pacientes (n=94) N (%)	Controles (n= 80) N (%)	Muestra total (n=174) N (%)	Estadístico
Sexo	Mujer	29 (30.9%)	27 (33.8%)	56 (32.2%)	X ² =0.17, df=1, p=0.683
	Hombre	65 (69.1%)	53 (66.3%)	118 (67.8%)	
Edad (años)		23.78±5.81	25.69±7.07	24.66±6.47	t=-1.96, df=172 p= 0.052

		Pacientes (n=94) N (%)	Controles (n= 80) N (%)	Muestra total (n=174) N (%)	Estadístico
Nivel socioeconómico	Bajo	28 (29.8%)	19 (23.8%)	47 (27.0%)	X ² = 1.66, df= 2, p= 0.436
	Medio	38 (40.4%)	40 (50%)	78 (44.8%)	
	Alto	28 (29.8%)	21 (26.3%)	49 (28.2%)	
Índice de masa corporal (IMC)		25.02±3.97	23.08±3.07	24.12±3.70	t= 3.38, df= 155, p= 0.001
Consumo de cannabis		23 (24.5%)	13 (17.3%)	36 (20.6%)	X ² = 1.27, df= 1, p= 0.260
Edad de inicio (años)		24.45±5.80			
Duración de psicosis sin tratar (días)		91.26±97.05			
Diagnóstico	Psicosis afectiva*	18 (19.1%)			
	Psicosis no afectiva*	76 (80.9%)			
PANSS positiva		10.21±4.99			
PANSS negativa		14.11±5.73			
PANSS		50.44±16.89			
MADRS		6.31±6.37			
GAF		68.90±13.14			

PANSS: Escala de síntomas positivos y negativos. *Psicosis afectiva: desorden bipolar, depresión psicótica o desorden esquizoafectivo. ** Psicosis no afectiva: esquizofrenia, desorden esquizofreniforme y desorden psicótico no especificado previamente. Los datos en negrita indican que el dato ha alcanzado significación estadística (valor p < 0.05).

5

Los pacientes objeto del presente estudio, una vez diagnosticados se les administró el tratamiento antipsicótico. Los fármacos utilizados en dicho tratamiento se seleccionaron de entre cualquiera de los siguientes: risperidona, clozapina, paliperidona, aripiprazol, ziprasidona, olanzapina o quetiapina.

10

Tras analizar los niveles de expresión de los receptores TrKB-FL y TrKB-T en las PBMCs de los pacientes y de los sujetos control, y tal como se observa en la Figura 1, la expresión de dichos receptores en las células PBMCs se modifica a lo largo del

tiempo en pacientes que habían sufrido un FEP, de manera que los niveles de expresión de la isoforma TrKB-FL aumentan significativamente durante el periodo de seguimiento de los pacientes (6 meses) tras el debut de la enfermedad (Fig. 1A), mientras que los niveles de la expresión de la isoforma TrKB-T disminuyen significativamente en este mismo periodo (Fig. 1B) y en comparación con los niveles que muestran el grupo de sujetos control sanos de dicha isoforma (Fig. 1B). De modo similar, el valor de expresión del ratio TrKB-FL/TrKB-T aumenta significativamente a lo largo del seguimiento en comparación con la expresión de dicho ratio en los sujetos control sanos y respecto a la expresión del mismo en los pacientes en el momento del debut de la enfermedad (Fig. 1C).

El modelo de regresión para la asociación entre el índice TrKB-FL/TrKB-T en el momento basal (debut de la enfermedad) y la funcionalidad del paciente a los 6 meses del debut (GAF) fue ajustado teniendo en cuenta las variables: índice de masa corporal (IMC), consumo de tabaco y consumo de antipsicóticos. Dicho modelo pone de manifiesto la existencia de una interacción positiva y significativa entre el valor de expresión del ratio TrKB-FL/TrKB-T y el tratamiento antipsicótico ($\beta=41.46$, $p=0.004$, IC 95%: 14.327, 68.590), lo que indica que el efecto del valor de expresión del ratio TrKB-FL/TrKB-T en el momento del debut de la enfermedad sobre la funcionalidad de dichos pacientes a los 6 meses de su debut es diferente dependiendo de si el paciente toma o no medicamentos antipsicóticos.

La Tabla 2 muestra los tamaños del efecto de tomar antipsicóticos para diferentes niveles del valor de expresión del ratio TrKB-FL/TrKB-T sobre la funcionalidad (GAF) a los 6 meses del debut de la enfermedad. Para aquellos pacientes con niveles bajos de expresión del ratio TrKB-FL/TrKB-T en el momento del debut de la enfermedad (TrKB-FL/TrKB-T=0.18), destaca que los pacientes que tomaban antipsicóticos tenían peor funcionalidad que los pacientes que no los tomaban (tamaño del efecto: -30.26; IC 95%: -52.903, -30.259). Por el contrario, el efecto de tomar antipsicóticos es opuesto cuando los pacientes presentan en el momento del debut de la enfermedad unos niveles altos de expresión del ratio TrKB-FL/TrKB-T (TrKB-FL/TrKB-T=1.96). En este caso, los pacientes que toman antipsicóticos fueron los que mejor funcionalidad presentan al cabo de 6 meses del debut (tamaño del efecto: 43.54; IC 95%: 12.189, 74.887) (Tabla 2).

Tabla 2. Tamaños del efecto de tomar antipsicóticos sobre la funcionalidad a los 6 meses del debut de la enfermedad (y sus IC 95%) para los valores seleccionados del ratio TrKB-FL/TrKB-T*

Ratio TrKB-FL/TrKB-T	Consumo de antipsicóticos ¹
Percentil 3 (=0.18)	-30.26 (-52.903, -30.259)
Percentil 25 (=0.67)	-9.94 (-22.573, 2.685)
Mediana (=0.90)	-0.41 (-11.369, 10.552)
Percentil 75 (=1.11)	8.30 (-4.142, 20.737)
Percentil 97 (=1.96)	43.54 (12.189, 74.887)

5 *Ajustado por factores de confusión

¹El tamaño del efecto se interpreta como la diferencia entre las medias de la GAF entre los pacientes que tomaban antipsicóticos.

10 Por lo tanto, teniendo en cuenta los resultados mostrados en la presente invención, los niveles de expresión del ratio TrKB-FL/TrKB-T en el momento del debut de la enfermedad se relacionan con la funcionalidad del paciente de un modo diferente dependiendo de si el paciente consume o no antipsicóticos. Además, tanto los niveles de expresión del ratio TrKB-FL/TrKB-T, como el consumo de antipsicóticos, no muestran efecto sobre la funcionalidad de dichos pacientes (GAF) de un modo
15 independiente, ya que ninguno muestra significación estadística al incluir en la ecuación de regresión el término de la interacción.

Considerando la muestra de pacientes que consume medicación antipsicótica (n=75) y utilizando el modelo de regresión descrito, se analizó el potencial del valor de
20 expresión del ratio TrKB-FL/TrKB-T como biomarcador para el pronóstico de respuesta al tratamiento con agentes antipsicóticos en pacientes que han sufrido un FEP. Para ello se estudió la sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo (VPP) y valor predictivo negativo (VPN), considerado como punto de corte el valor de ≥ 0.70 para el nivel del índice TrKB-FL/TrKB-T y un valor ≥ 60 como punto de corte para la escala
25 GAF. Se consideró 0.70 como punto de corte para el índice ya que es el punto para el cual se maximizan los valores de sensibilidad y especificidad. El punto de corte para la escala GAF se consideró tras revisar la bibliografía al respecto. Así el modelo propuesto muestra una sensibilidad del 79.1%, una especificidad de un 61.1%, un VPP de 85.3% y un VPN de 57.9%. El método ofrece una proporción de falsos positivos del
30 38.9% y una proporción de falsos negativos de 20.9%. Según estos resultados, el dato

de sensibilidad, de acuerdo con el modelo de regresión utilizado, se refiere a que el 79.1% de los pacientes con buena funcionalidad después de 6 meses tomando antipsicóticos tras haber sufrido el FEP, presentaba un alto valor de la expresión del ratio TrKB-FL/TrKB-T en el momento del debut de la enfermedad. Es decir, dichos

5 pacientes presentaban un valor de expresión del ratio TrKB-FL/TrKB-T ≥ 0.70 , en el momento del debut de la enfermedad. El dato de especificidad se refiere a que el 61.1% de los pacientes que presentaban en el momento del debut de la enfermedad un valor bajo de la expresión del ratio TrKB-FL/TrKB-T (< 0.70) cuando comenzó la enfermedad y tras 6 meses de tomar medicación antipsicótica, presentaban mala

10 funcionalidad (< 60). Este análisis consolida el uso del valor de expresión del ratio TrKB-FL/TrKB-T como marcador para la predicción de la respuesta a un tratamiento antipsicótico en pacientes que han sufrido un FEP, permitiendo discriminar fácilmente a aquellos pacientes respondedores frente a los no-respondedores, a la terapia antipsicótica.

15

Sensibilidad: de acuerdo con el modelo, el 79.1% de los pacientes con buena funcionalidad después de 6 meses tomando antipsicóticos tras haber sufrido el FEP, presentaba un alto nivel del ratio TrKB-FL/TrKB-T (≥ 0.70) en el momento de comenzar la enfermedad.

20

Especificidad: La proporción de pacientes con bajos niveles del ratio TrKB-FL/TrKB-T (< 0.70) cuando comenzó la enfermedad tenían mala funcionalidad (< 60) tras 6 meses después de tomar medicación antipsicótica.

25 VPP: un paciente con un valor del ratio TrKB-FL/TrKB-T ≥ 0.70 en el momento de debutar la enfermedad y que comience con un tratamiento antipsicótico tiene una probabilidad de un 85.3% de tener una buena funcionalidad ($GAF \geq 60$) un 6 meses después.

30 VPN: un paciente que tenga un nivel bajo del ratio TrKB-FL/TrKB-T (< 0.70) en el momento del PEP, tiene una probabilidad de presentar mala funcionalidad general (< 60) al cabo de 6 meses de tomar medicación antipsicótica.

Todos estos resultados ponen de manifiesto que el 90% de los pacientes que

35 presentaban buena funcionalidad a los 6 meses ($GAF \geq 60$) se correspondían con

valores de la expresión del ratio TrKB-FL/TrKB-T ≥ 0.70 , concretamente valores comprendidos entre 0.70-1.50, en el momento del debut de la enfermedad. Por el contrario, el 90% de los pacientes que presentaban un funcionamiento general deteriorado (GAF <60) al cabo de 6 meses tras debutar con la enfermedad, tenían

5 niveles de la expresión del ratio TrKB-FL/TrKB-T < 0.70 , concretamente valores del ratio comprendidos entre 0.25-0.70, en el momento del debut de la enfermedad.

Así, el valor de la expresión del ratio TrKB-FL/TrKB-T sirve como marcador pronóstico de respuesta a tratamiento antipsicótico en sujetos que han sufrido un FEP, mostrando

10 una alta sensibilidad (79.1%) y especificidad (61.1%). Por lo tanto, niveles de expresión del ratio TrKB-FL/TrKB-T ≥ 0.70 en sujetos que sufren un FEP en el momento de su debut en la enfermedad, muestran una mejor respuesta al tratamiento antipsicótico que aquellos pacientes que en el momento de su debut en la enfermedad presentan un nivel de expresión del ratio TrKB-FL/TrKB-T < 0.70 .

15

REIVINDICACIONES

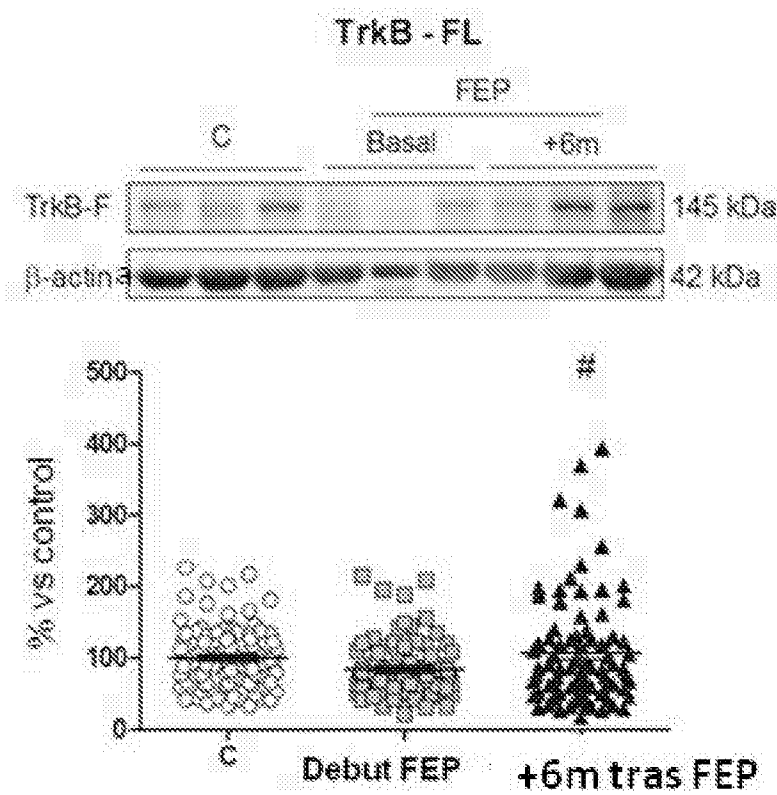
1. Método *in vitro* para el pronóstico o predicción de la respuesta a tratamiento con al menos un agente antipsicótico por parte de pacientes que han sufrido un primer episodio psicótico (FEP), donde el pronóstico se realiza atendiendo al valor de expresión del ratio TrkB-FL/TrkB-T, en una muestra aislada de dichos pacientes, donde un valor de expresión del ratio ≥ 0.70 es indicativo de un paciente respondedor al tratamiento y un valor de expresión del ratio < 0.70 es indicativo de un paciente no-respondedor al tratamiento.
2. Método *in vitro* según la reivindicación 1, donde la muestra aislada de los pacientes se selecciona de entre cualquiera de las siguientes: sangre, plasma o suero.
3. Método *in vitro* según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 2 donde la muestra aislada es una muestra de sangre, preferentemente una muestra de células mononucleares de sangre periférica.
4. Método *in vitro* según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 donde el valor de expresión del ratio se obtiene mediante la detección y cuantificación de los niveles de expresión de TrkB-FL y TrkB-T mediante cualquiera de las siguientes técnicas: electroforesis, inmunoensayo, cromatografía y/o tecnología de microarray.
5. Método *in vitro* según la reivindicación 4 donde las técnicas se seleccionan entre: electroforesis y/o inmunoensayo.
6. Método *in vitro* según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 donde el agente antipsicótico se selecciona de entre cualquiera de los siguientes: antipsicóticos típicos, preferentemente, clorpromazina, flufenazina, levomepromazina, perfenazina, trifluoperazina, haloperidol, zuclopentixol, pimozida, supirida, tiaprida, o combinaciones de los mismos y/o antipsicóticos atípicos, preferentemente, clozapina, risperidona, olanzapina, quetiapina, ziprasidona, aripiprazol, paliperidona, asenapina, sertindol, amisulprida, o combinaciones de los mismos.
7. Uso *in vitro* del valor de expresión del ratio TrkB-FL/TrkB-T como marcador pronóstico o predictivo de la respuesta al tratamiento con al menos un agente antipsicótico por parte de pacientes que han sufrido un FEP, en una muestra biológica aislada de dichos pacientes, donde un valor de expresión del ratio TrkB-

FL/TrkB-T ≥ 0.70 es indicativo de un paciente respondedor al tratamiento y un valor de expresión del ratio TrkB-FL/TrkB-T < 0.70 es indicativo de un paciente no-respondedor al tratamiento.

- 5 8. Uso *in vitro* según la reivindicación 7 donde la muestra aislada de los pacientes se selecciona de entre cualquiera de las siguientes: sangre, plasma o suero.
9. Uso *in vitro* según la reivindicación 8 donde la muestra aislada es una muestra de
10 sangre, preferentemente una muestra de células mononucleares de sangre periférica.
10. Uso *in vitro* según cualquiera de las reivindicaciones 7 a 9 donde el valor de expresión del ratio se obtiene mediante la detección y cuantificación de los niveles de expresión de TrkB-FL y TrkB-T mediante cualquiera de las siguientes técnicas:
15 electroforesis, inmunoensayo, cromatografía y/o tecnología de microarray.
11. Uso *in vitro* según la reivindicación 10 donde las técnicas se seleccionan entre: electroforesis y/o inmunoensayo.
- 20 12. Uso *in vitro* según cualquiera de las reivindicaciones 7 a 12 donde el agente antipsicótico se selecciona de entre cualquiera de los siguientes: antipsicóticos típicos, preferentemente, clorpromazina, flufenazina, levomepromazina, perfenazina, trifluoperazina, haloperidol, zuclopentixol, pimozida, supirida, tiaprida, o combinaciones de los mismos y/o antipsicóticos atípicos, preferentemente,
25 clozapina, risperidona, olanzapina, quetiapina, ziprasidona, aripiprazol, paliperidona, asenapina, sertindol, amisulprida, o combinaciones de los mismos.
13. Kit que comprende oligonucleótidos, sondas y/o anticuerpos para la detección y/o cuantificación de la expresión de TrkB-FL y TrkB-T.
30
14. Kit según la reivindicación 13 que comprende anticuerpos.
15. Uso del kit según cualquiera de las reivindicaciones 13 a 14 para pronosticar o predecir la respuesta al tratamiento con al menos un agente antipsicótico en una
35 muestra biológica aislada de un individuo que ha sufrido un FEP.
16. Uso del kit según la reivindicación 15 donde la muestra aislada se selecciona de entre cualquiera de las siguientes: sangre, plasma o suero.

17. Uso del kit según cualquiera de las reivindicaciones 13 a 16 donde la muestra aislada es sangre, preferentemente células mononucleares de sangre periférica.
- 5 18. Uso del kit según cualquiera de las reivindicaciones 13 a 17 donde el agente antipsicótico se selecciona de entre cualquiera de los siguientes: antipsicóticos típicos, preferentemente, clorpromazina, flufenazina, levomepromazina, perfenazina, trifluoperazina, haloperidol, zuclopentixol, pimozida, supirida, tiaprida, o combinaciones de los mismos y/o antipsicóticos atípicos, preferentemente,
- 10 clozapina, risperidona, olanzapina, quetiapina, ziprasidona, aripiprazol, paliperidona, asenapina, sertindol, amisulprida, o combinaciones de los mismos.

A



B

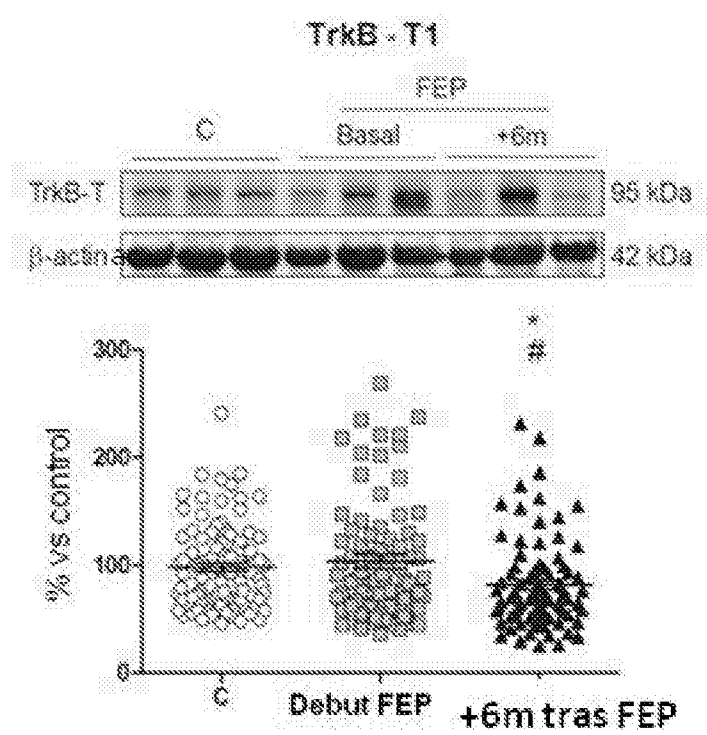


FIG 1

C

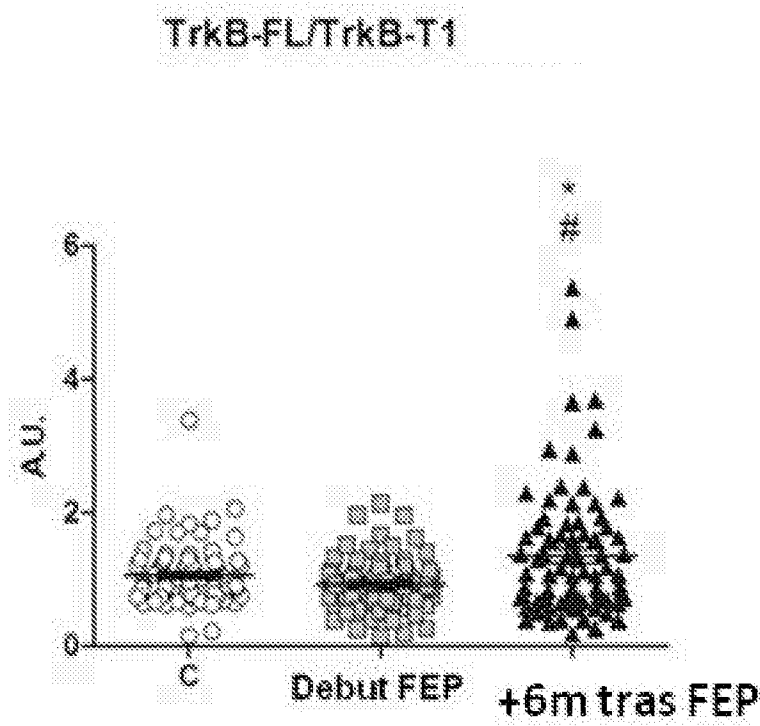


FIG 1 (cont.)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/ES2016/070473

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

G01N33/536 (2006.01)

G01N33/68 (2006.01)

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

G01N

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

INVENES, EPODOC, WPI, NPL, BIOSIS, MEDLINE, EMBASE, PUBMED, USPTO PATENT DATABASE, GOOGLE PATENTS.

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	PILLAI A. Brain-Derived Neurotropic Factor/TrkB Signaling in the Pathogenesis and Novel Pharmacotherapy of Schizophrenia. Neurosignals 2008. Vol.16, pp:183-193, page 183, abstract; page 185, column 1; page 189, columns 1, 2.	1-18
A	VIDAURRE OG <i>et al.</i> Imbalance of neurotrophin receptor isoforms TrkB-FL/TrkB-T1 induces neuronal death in Excitotoxicity. Cell Death and Disease. 2012. Vol.3, e256, page 1, abstract; page 9, column 2 – page 10, column 1.	1-18
A	FOND G. <i>et al.</i> The Promise of Biological Markers for Treatment Response in First-Episode Psychosis: A Systematic Review. Schizophrenia Bulletin. March 10, 2015. Vol. 41(3), pp. 559-573, page 559, abstract.	1-18

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☒ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance.	
"E" earlier document but published on or after the international filing date	
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"O" document referring to an oral disclosure use, exhibition, or other means.	"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search
02/08/2016

Date of mailing of the international search report
(04/08/2016)

Name and mailing address of the ISA/

Authorized officer
M. García Grávalos

OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS
Paseo de la Castellana, 75 - 28071 Madrid (España)
Facsimile No.: 91 349 53 04

Telephone No. 91 3493404

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/ES2016/070473

C (continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of documents, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 2011041725 A2 (THE REGENTS OF THE UNIVERSITY OF COLORADO, A BODY CORPORATE [US]/[US])) 07.04.2011, page 1, abstract, figure 1.	1-18

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/ES2016/070473

Information on patent family members

Patent document cited in the search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO2011041725 A2 -----	07.04.2011 -----	US2012208718 A1 -----	16.08.2012 -----

INFORME DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL

Solicitud internacional nº

PCT/ES2016/070473

A. CLASIFICACIÓN DEL OBJETO DE LA SOLICITUD

G01N33/536 (2006.01)

G01N33/68 (2006.01)

De acuerdo con la Clasificación Internacional de Patentes (CIP) o según la clasificación nacional y CIP.

B. SECTORES COMPRENDIDOS POR LA BÚSQUEDA

Documentación mínima buscada (sistema de clasificación seguido de los símbolos de clasificación)

G01N

Otra documentación consultada, además de la documentación mínima, en la medida en que tales documentos formen parte de los sectores comprendidos por la búsqueda

Bases de datos electrónicas consultadas durante la búsqueda internacional (nombre de la base de datos y, si es posible, términos de búsqueda utilizados)

INVENES, EPODOC, WPI, NPL, BIOSIS, MEDLINE, EMBASE, PUBMED, USPTO PATENT DATABASE, GOOGLE PATENTS.

C. DOCUMENTOS CONSIDERADOS RELEVANTES

Categoría*	Documentos citados, con indicación, si procede, de las partes relevantes	Relevante para las reivindicaciones nº
A	PILLAI A. Brain-Derived Neurotropic Factor/TrkB Signaling in the Pathogenesis and Novel Pharmacotherapy of Schizophrenia. Neurosignals 2008. Vol.16, pp:183–193, página 183, resumen; página 185, columna 1; página 189, columnas 1, 2.	1-18
A	VIDAURRE OG <i>et al.</i> Imbalance of neurotrophin receptor isoforms TrkB-FL/TrkB-T1 induces neuronal death in Excitotoxicity. Cell Death and Disease. 2012. Vol.3, e256, página 1, resumen; página 9, columna 2 – página 10, columna 1.	1-18
A	FOND G. <i>et al.</i> The Promise of Biological Markers for Treatment Response in First-Episode Psychosis: A Systematic Review. Schizophrenia Bulletin. March 10, 2015. Vol. 41(3), pp. 559-573, página 559, resumen.	1-18

☒ En la continuación del recuadro C se relacionan otros documentos

☒ Los documentos de familias de patentes se indican en el anexo

* Categorías especiales de documentos citados:	"T" documento ulterior publicado con posterioridad a la fecha de presentación internacional o de prioridad que no pertenece al estado de la técnica pertinente pero que se cita por permitir la comprensión del principio o teoría que constituye la base de la invención.
"A" documento que define el estado general de la técnica no considerado como particularmente relevante.	"X" documento particularmente relevante; la invención reivindicada no puede considerarse nueva o que implique una actividad inventiva por referencia al documento aisladamente considerado.
"E" solicitud de patente o patente anterior pero publicada en la fecha de presentación internacional o en fecha posterior.	"Y" documento particularmente relevante; la invención reivindicada no puede considerarse que implique una actividad inventiva cuando el documento se asocia a otro u otros documentos de la misma naturaleza, cuya combinación resulta evidente para un experto en la materia.
"L" documento que puede plantear dudas sobre una reivindicación de prioridad o que se cita para determinar la fecha de publicación de otra cita o por una razón especial (como la indicada).	"&" documento que forma parte de la misma familia de patentes.
"O" documento que se refiere a una divulgación oral, a una utilización, a una exposición o a cualquier otro medio.	
"P" documento publicado antes de la fecha de presentación internacional pero con posterioridad a la fecha de prioridad reivindicada.	

Fecha en que se ha concluido efectivamente la búsqueda internacional.
02/08/2016

Fecha de expedición del informe de búsqueda internacional.
04 de agosto de 2016 (04/08/2016)

Nombre y dirección postal de la Administración encargada de la búsqueda internacional
OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS
Paseo de la Castellana, 75 - 28071 Madrid (España)
Nº de fax: 91 349 53 04

Funcionario autorizado
M. García Grávalos

Nº de teléfono 91 3493404

INFORME DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL

Solicitud internacional n°

PCT/ES2016/070473

C (Continuación). DOCUMENTOS CONSIDERADOS RELEVANTES		
Categoría *	Documentos citados, con indicación, si procede, de las partes relevantes	Relevante para las reivindicaciones n°
A	WO 2011041725 A2 (THE REGENTS OF THE UNIVERSITY OF COLORADO, A BODY CORPORATE [US]/[US])) 07.04.2011, página 1, resumen, Figura 1.	1-18

INFORME DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL

Informaciones relativas a los miembros de familias de patentes

Solicitud internacional n°

PCT/ES2016/070473

Informaciones relativas a los miembros de familias de patentes			
Documento de patente citado en el informe de búsqueda	Fecha de Publicación	Miembro(s) de la familia de patentes	Fecha de Publicación
WO2011041725 A2	07.04.2011	US2012208718 A1	16.08.2012