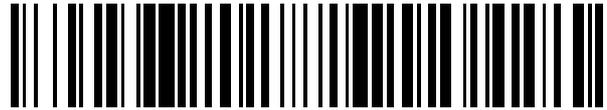


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 511 056**

51 Int. Cl.:

G01N 33/68 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **09.09.2010 E 10755224 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **02.07.2014 EP 2475997**

54 Título: **Biomarcadores para esquizofrenia u otros trastornos psicóticos**

30 Prioridad:

09.09.2009 GB 0915736

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

22.10.2014

73 Titular/es:

**CAMBRIDGE ENTERPRISE LIMITED (100.0%)
The Old Schools Trinity Lane
Cambridge Cambridgeshire CB2 1TN, GB**

72 Inventor/es:

**BAHN, SABINE y
LEVIN, YISHAI**

74 Agente/Representante:

DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto

ES 2 511 056 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

Biomarcadores para esquizofrenia u otros trastornos psicóticos

Campo de la invención

La invención se refiere a un método para diagnosticar o monitorizar la esquizofrenia u otro trastorno psicótico.

5 Antecedentes de la invención

La esquizofrenia es un diagnóstico psiquiátrico que describe un trastorno mental caracterizado por anomalías de la percepción o la expresión de la realidad. Se manifiesta con mucha frecuencia en forma de alucinaciones auditivas, delirios paranoicos o extraños, o lenguaje y pensamiento desorganizado con disfunción social u ocupacional significativa. El inicio de los síntomas se da en general en adultos jóvenes, con aproximadamente un 0,4-0,6% de la población afectada. El diagnóstico se basa en las experiencias relatadas por el propio paciente y en el comportamiento observado. No existe actualmente ningún ensayo de laboratorio para la esquizofrenia.

Los estudios sugieren que la genética, el entorno en los primeros años de vida, la neurobiología, y los procesos psicológicos y sociales son factores contribuyentes importantes; ciertas drogas y fármacos prescritos parecen provocar o empeorar los síntomas. La investigación psiquiátrica actual se centra en el papel de la neurobiología, pero no se ha descubierto una causa orgánica simple. Debido a las muchas combinaciones posibles de síntomas, existe un debate sobre si el diagnóstico representa un único trastorno o varios síndromes específicos.

Se cree que el trastorno afecta principalmente al conocimiento, pero normalmente también contribuye a problemas crónicos relacionados con el comportamiento y las emociones. Las personas con esquizofrenia tienen más probabilidad de tener afecciones adicionales (comorbilidad), que incluyen depresión mayor y trastornos de ansiedad; la existencia durante la vida del abuso de sustancias es de alrededor del 40%. Son comunes los problemas sociales, tales como el desempleo de larga duración, la pobreza y la carencia de un hogar. Además, la esperanza de vida media de las personas con el trastorno es de 10 a 12 años menor que las que no lo tienen, debido a problemas de salud físicos incrementados y a una tasa mayor de suicidios.

Una utilidad importante de los biomarcadores para los trastornos psicóticos es su respuesta a la medicación. La administración de antipsicóticos sigue siendo un proceso subjetivo, que se basa únicamente en la experiencia de los médicos. Además, el desarrollo de fármacos antipsicóticos se ha basado en hallazgos casuales frecuentemente con poca relación con el trasfondo que rige las observaciones.

La esquizofrenia se trata principalmente con medicaciones antipsicóticas que también se denominan fármacos neurolepticos, o neurolepticos. Se cree que los agentes antipsicóticos más modernos, tales como Clozapina, Olanzapina, Quetiapina o Risperidona son más eficaces para mejorar los síntomas negativos de los trastornos psicóticos que la medicación más antigua, como Clorpromazina. Además, inducen menos efectos secundarios extrapiramidales (EPS), que son trastornos del movimiento que resultan del tratamiento antipsicótico.

La historia de los neurolepticos se remonta al final del siglo XIX. La próspera industria de los colorantes catalizó el desarrollo de nuevos productos químicos que establecieron la base de los antipsicóticos atípicos modernos. El desarrollo de los compuestos antipalúdicos, antihistamínicos y anestésicos también produjo diversos neurolepticos. El fenómeno común de todos estos procesos es una carencia fundamental de entendimiento de los mecanismos y las rutas biológicas a las que afectan estos fármacos, aparte de la observación de que bloquean de manera prominente los receptores D2 en el cuerpo estriado.

Yang *et al* (2006) Anal. Chem. 78, 3571-3576 describe un estudio que investiga los niveles alterados de proteínas de fase aguda en el plasma de pacientes de esquizofrenia. El documento US 2006/099593 describe un método para diagnosticar la esquizofrenia mediante el uso de la expresión génica en las células mononucleares de sangre periférica como índice. Jiang *et al* (2003) Amino Acids 25, 49-57 describe el análisis proteómico del líquido cefalorraquídeo de pacientes de esquizofrenia. El documento WO 2008/090319 describe un método para diagnosticar o monitorizar un trastorno psicótico, o la predisposición hacia él, que comprende medir, en una muestra tomada de un sujeto, el nivel de un biomarcador seleccionado de precursor de clusterina, inhibidor de inter α -tripsina, IgM, apolipoproteína A2 y α 2 H5 glicoproteína. El documento WO 2009/077763 describe un método para diagnosticar o monitorizar un trastorno psicótico, o la predisposición hacia él, que comprende medir, en una muestra tomada de un sujeto, los niveles de uno o más biomarcadores peptídicos. Vawter *et al* (2001) Brain Research Bulletin 55(5), 641-650 describe la aplicación de micromatrices de cADN para examinar las diferencias de la expresión génica en la esquizofrenia. Grashof *et al* (2006) Epilepsia 47(4), 306 describe el análisis funcional de componentes de la maquinaria de liberación presináptica en la epilepsia del lóbulo temporal. Babity *et al* (1997) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 94, 2638-2641 describe la identificación de un nuevo gen de sinaptotagmina inducido por crisis epiléptica mediante el uso de la expresión diferencial. Glavan *et al* (2005) Neuroscience 135, 545-554 describe la expresión diferencial de isoformas de mRNA de sinaptotagmina en el cuerpo estriado en ratas hemiparkinsonianas. El documento US 2009/175827 describe métodos y composiciones para identificar genes o rutas genéticas moduladas por miR-16, para usar miR-16 para modular un gen o ruta génica, para usar este perfil para estudiar la afección de un paciente y/o para tratar al paciente con un miARN adecuado.

Por lo tanto, existe una necesidad urgente de lecturas moleculares objetivas que puedan diagnosticar la esquizofrenia u otros trastornos psicóticos, y además indicar si un paciente está respondiendo a la medicación, así como para establecer un pronóstico.

Compendio de la invención

5 Según un primer aspecto de la invención, se proporciona el uso de Sinaptotagmina-10 como biomarcador para la esquizofrenia u otro trastorno psicótico, o la predisposición a ello.

Según un aspecto adicional de la invención, se proporciona un método para diagnosticar o monitorizar la esquizofrenia u otro trastorno psicótico, o la predisposición a ello, que comprende:

10 (a) cuantificar las cantidades de los biomarcadores analitos como se definen en la presente memoria en una muestra biológica obtenida de un individuo; y

(b) comparar las cantidades de los biomarcadores analitos de la muestra biológica con las cantidades presentes en una muestra biológica de control normal de un sujeto normal, de forma que una diferencia en el nivel de los biomarcadores analitos de la muestra biológica es indicativa de esquizofrenia u otro trastorno psicótico, o la predisposición a ello.

15 Según un aspecto adicional de la invención, se proporciona un método para monitorizar la eficacia de una terapia en un sujeto que tiene, que se sospecha que tiene, o que está predispuesto a tener, esquizofrenia u otro trastorno psicótico, que comprende:

(a) cuantificar las cantidades de los biomarcadores analitos como se definen en la presente memoria en una muestra biológica obtenida de un individuo;

20 (b) comparar las cantidades de los biomarcadores analitos de la muestra biológica con las cantidades presentes en una muestra obtenida del individuo en una ocasión previa, tal como antes del comienzo de la terapia, de forma que una diferencia en el nivel de los biomarcadores analitos de la muestra biológica es indicativa de un efecto beneficioso de la terapia.

25 Un aspecto adicional de la invención es el uso de un equipo para monitorizar o diagnosticar la esquizofrenia u otro trastorno psicótico, en el que dicho equipo comprende un biosensor capaz de detectar y/o cuantificar los biomarcadores analitos como se definen en la presente memoria.

Descripción breve de las figuras

La Figura 1 describe diagramas de cajas de los 22 biomarcadores analitos de la invención que demostraron una diferencia estadísticamente significativa en el estudio descrito en la presente memoria.

30 **Descripción detallada de la invención**

El término "biomarcador" significa un indicador biológico o biológicamente derivado distintivo de un proceso, suceso, o afección. Los biomarcadores analitos se pueden usar en los métodos de diagnóstico, p.ej. el cribado clínico, y la determinación del pronóstico y en la monitorización de los resultados de la terapia, la identificación de pacientes con gran probabilidad de responder a un tratamiento terapéutico particular, el cribado y desarrollo de fármacos. Los biomarcadores y los usos de los mismos son valiosos para la identificación de tratamientos farmacológicos nuevos y para el descubrimiento de nuevos objetivos para el tratamiento farmacológico.

Será fácilmente evidente para la persona experta que los analitos enumerados en la presente memoria se conocen y se han descrito en la bibliografía.

40 Según un primer aspecto de la invención, se proporciona el uso de Sinaptotagmina-10 como biomarcador para la esquizofrenia u otro trastorno psicótico, o la predisposición a ello.

Los inventores de la presente invención han descubierto que Sinaptotagmina-10 está disminuida en las muestras obtenidas de pacientes de esquizofrenia en comparación con las muestras obtenidas de una población de control. Sorprendentemente, también se ha descubierto que Sinaptotagmina-10 se incrementa claramente tras el tratamiento con medicamentos anti-psicóticos lo cual, sin limitarse a ninguna teoría, indica la presencia de un posible efecto de "normalización" para este biomarcador.

45 En una realización, el uso comprende además el uso de uno o más biomarcadores adicionales seleccionados de proteína Homeobox Hox-C13, proteína 19 que contiene repeticiones WD, regiones C de la cadena lambda de Ig, C6 del Complemento, Fibroleucina, proteína 9 asociada a multirresistencia a fármacos, homólogo 1 del gen castor de la proteína con dedo de zinc, cofactor 2 de Heparina, subunidad delta-1 del complejo AP-3, Miosina-XVIIIa, Potenciador del homólogo 1 de Polycomb, FYVE y proteína 1 que contiene dominios WH2.

Según un aspecto adicional de la invención, se proporciona el uso de Sinaptotagmina-10, proteína Homeobox Hox-

- 5 C13, proteína 19 que contiene repeticiones WD, regiones C de la cadena lambda de Ig, C6 del Complemento, Fibroleucina, proteína 9 asociada a multirresistencia a fármacos, homólogo 1 del gen castor de la proteína con dedo de zinc, cofactor 2 de Heparina, subunidad delta-1 del complejo AP-3, Miosina-XVIIIa, Potenciador del homólogo 1 de Polycomb, FYVE y proteína 1 que contiene dominios WH2 como un panel específico de biomarcadores analitos para la esquizofrenia u otro trastorno psicótico, o la predisposición a ello.
- En una realización, el uso comprende además uno o más analitos adicionales seleccionados de: Beta-2-glicoproteína 1, nexina de clasificación 17, proteína 3 de unión al ADN con cromodominio-helicasa, componente P del amiloide sérico, Antitrombina-III, Serina/Treonina-proteína quinasa TAO3, Queratina y proteína similar a Cinesina.
- 10 Según un aspecto adicional de la invención, se proporciona el uso de Sinaptotagmina-10, proteína Homeobox Hox-C13, proteína 19 que contiene repeticiones WD, regiones C de la cadena lambda de Ig, C6 del Complemento, Fibroleucina, proteína 9 asociada a multirresistencia a fármacos, homólogo 1 del gen castor de la proteína con dedo de zinc, cofactor 2 de Heparina, subunidad delta-1 del complejo AP-3, Miosina-XVIIIa, Potenciador del homólogo 1 de Polycomb, FYVE y proteína 1 que contiene dominios WH2, Beta-2-glicoproteína 1, nexina de clasificación 17, proteína 3 de unión al ADN con cromodominio-helicasa, componente P del amiloide sérico, Antitrombina-III, Serina/Treonina-proteína quinasa TAO3, Queratina y proteína similar a Cinesina como un panel específico de biomarcadores analitos para la esquizofrenia u otro trastorno psicótico, o la predisposición a ello.
- 15 Se presentan datos en la Tabla 1 y la Figura 1 de la presente memoria que demuestran que se descubrió que los 22 analitos anteriormente mencionados estaban significativamente alterados en las muestras obtenidas de pacientes de esquizofrenia sin fármacos en comparación con los pacientes de esquizofrenia tratados con fármacos. Por lo tanto, este panel específico de biomarcadores es una prueba diagnóstica sensible y específica de la presencia de esquizofrenia u otro trastorno psicótico.
- 20 Las referencias en la presente memoria a "otro trastorno psicótico" se refieren a cualquier trastorno psicótico adecuado según el Manual Diagnóstico y Estadístico de los Trastornos Mentales DSM-IV, 4ª edición, American Psychiatric Assoc, Washington, D.C., 2000. En una realización particular, el otro trastorno psicótico es un trastorno psicótico relacionado con la esquizofrenia. Los ejemplos de trastornos psicóticos relacionados con la esquizofrenia incluyen el trastorno psicótico breve, trastorno delirante, trastorno psicótico debido a una afección médica general, trastorno esquizoafectivo, trastorno esquizofreniforme, y trastorno psicótico inducido por sustancias.
- 25 Tal como se usa en la presente memoria, el término "biosensor" significa cualquier cosa capaz de detectar la presencia del biomarcador. En la presente memoria se describen ejemplos de biosensores.
- 30 Los biosensores según la invención pueden comprender un ligando o ligandos, como se describe en la presente memoria, capaces de unirse de manera específica al biomarcador analito. Tales biosensores son útiles para detectar y/o cuantificar un analito de la invención.
- 35 En la presente memoria se describen equipos de diagnóstico para el diagnóstico y la monitorización de la esquizofrenia u otro trastorno psicótico que comprenden un biosensor capaz de detectar y/o cuantificar un biomarcador analito.
- Se pueden usar los métodos de monitorización de la invención para monitorizar el inicio, la progresión, la estabilización, la mejora y/o la remisión.
- 40 En los métodos para el diagnóstico o la monitorización según la invención, se puede llevar a cabo la detección y/o cuantificación del biomarcador analito en una muestra biológica de un sujeto de ensayo en dos o más ocasiones. Se pueden hacer comparaciones entre el nivel de biomarcador en las muestras tomadas en dos o más ocasiones. Se puede llevar a cabo la determinación de cualquier cambio en el nivel del biomarcador analito en las muestras tomadas en dos o más ocasiones. La modulación del nivel de biomarcador analito es útil como indicador del estado de la esquizofrenia u otro trastorno psicótico, o la predisposición a ello. Un incremento del nivel del biomarcador a lo largo del tiempo es indicativo del inicio o la progresión, es decir, el empeoramiento de este trastorno, mientras una disminución del nivel del biomarcador analito indica la mejora o remisión del trastorno, o viceversa.
- 45 Un método de diagnóstico o monitorización según la invención puede comprender cuantificar el biomarcador analito en una muestra biológica de ensayo de un sujeto de ensayo y comparar el nivel del analito presente en dicha muestra de ensayo con uno o más controles.
- 50 El control usado en un método de la invención puede ser uno o más control(es) seleccionado(s) del grupo que consiste en: el nivel de analito biomarcador hallado en una muestra de control normal de un sujeto normal, un nivel de analito biomarcador normal; un intervalo de analito biomarcador normal, el nivel en una muestra de un sujeto con esquizofrenia u otro trastorno psicótico, o una predisposición diagnosticada a ello; un nivel de analito biomarcador de esquizofrenia u otro trastorno psicótico, o un intervalo de analito biomarcador de esquizofrenia u otro trastorno psicótico.
- 55 En una realización, se proporciona un método para diagnosticar la esquizofrenia u otro trastorno psicótico, o la

predisposición a ello, que comprende:

(a) cuantificar la cantidad del biomarcador analito en una muestra biológica de ensayo obtenida de un individuo; y

(b) comparar la cantidad de dicho analito en dicha muestra de ensayo con la cantidad presente en una muestra biológica de control normal de un sujeto normal.

5 Un nivel mayor del biomarcador analito en la muestra de ensayo respecto del nivel en el control normal es indicativo de la presencia de esquizofrenia u otro trastorno psicótico, o la predisposición a ello; un nivel equivalente o inferior del analito en la muestra de ensayo respecto del control normal es indicativo de la ausencia de esquizofrenia u otro trastorno psicótico y/o la ausencia de una predisposición a ello.

10 El término "diagnóstico", tal como se usa en la presente memoria, abarca la identificación, confirmación, y/o caracterización de la esquizofrenia u otro trastorno psicótico, o la predisposición a ello. La predisposición significa que un sujeto no presenta actualmente el trastorno, pero es propenso a verse afectado por el trastorno con el tiempo. Los métodos de monitorización y de diagnóstico según la invención son útiles para confirmar la existencia de un trastorno, o la predisposición a ello; para monitorizar el desarrollo del trastorno determinando el inicio y la progresión, o para determinar la mejora o la regresión del trastorno. Los métodos de monitorización y de diagnóstico también son útiles en los métodos para la determinación del cribado clínico, pronóstico, elección de terapia, evaluación del beneficio terapéutico, es decir, para el cribado de fármacos y el desarrollo de fármacos.

15 Los métodos de diagnóstico y monitorización eficaces proporcionan "soluciones para el paciente" muy poderosas con la capacidad de mejorar el pronóstico, estableciendo el diagnóstico correcto, permitiendo la identificación rápida del tratamiento más adecuado (por lo que se reduce la exposición innecesaria a efectos secundarios farmacológicos perjudiciales), reduciendo las tasas de recaída.

20 También se proporciona un método para monitorizar la eficacia de una terapia para la esquizofrenia u otro trastorno psicótico en un sujeto que tiene tal trastorno, que se sospecha que tiene tal trastorno, o que está predispuesto a él, que comprende detectar y/o cuantificar el analito presente en una muestra biológica de dicho sujeto. En los métodos de monitorización, se pueden tomar muestras de ensayo en dos o más ocasiones. El método puede comprender además comparar el nivel de el/los biomarcador(es) presente(s) en la muestra de ensayo con uno o más control(es) y/o con una o más muestra(s) de ensayo previa(s) tomada(s) antes del mismo sujeto de ensayo, p.ej. antes del comienzo de la terapia, y/o del mismo sujeto de ensayo en una etapa anterior de la terapia. El método puede comprender detectar un cambio en el nivel de el/los biomarcador(es) en muestras de ensayo tomadas en ocasiones diferentes.

25 La invención proporciona un método para monitorizar la eficacia de la terapia para la esquizofrenia u otro trastorno psicótico en un sujeto, que comprende:

(a) cuantificar la cantidad del biomarcador analito; y

30 (b) comparar la cantidad de dicho analito en dicha muestra de ensayo con la cantidad presente en uno o más control(es) y/o una o más muestra(s) de ensayo previa(s) tomada(s) en un momento anterior del mismo sujeto de ensayo.

Una disminución del nivel del biomarcador analito en la muestra de ensayo respecto del nivel en una muestra de ensayo previa tomada antes del mismo sujeto de ensayo es indicativa de un efecto beneficioso, p.ej. la estabilización o mejora, de dicha terapia en el trastorno, presunto trastorno o predisposición a ello.

35 Los métodos para monitorizar la eficacia de una terapia se pueden usar para monitorizar la eficacia terapéutica de las terapias existentes y de las terapias nuevas en sujetos humanos y en animales no humanos (p.ej., en modelos animales). Estos métodos de monitorización se pueden incorporar en los cribados de nuevas sustancias farmacológicas y combinaciones de sustancias.

40 De manera adecuada, el tiempo transcurrido entre la toma de muestras de un sujeto sometido a diagnóstico o monitorización será de 3 días, 5 días, una semana, dos semanas, un mes, 2 meses, 3 meses, 6 ó 12 meses. Las muestras se pueden tomar antes y/o durante y/o después de una terapia anti-psicótica. Las muestras se pueden tomar a intervalos durante el resto de la vida, o una parte de la misma, de un sujeto.

45 El término "detección", tal como se usa en la presente memoria, significa confirmar la presencia del biomarcador analito presente en la muestra. La cuantificación de la cantidad del biomarcador presente en una muestra puede incluir determinar la concentración del biomarcador analito presente en la muestra. La detección y/o cuantificación se pueden llevar a cabo directamente en la muestra, o indirectamente en un extracto de la misma, o en una dilución de la misma.

50 En los aspectos alternativos de la invención, la presencia del biomarcador analito se determina detectando y/o cuantificando un anticuerpo o fragmentos del mismo capaces de unirse de manera específica al biomarcador, que son generados por el organismo del sujeto en respuesta al analito, y así están presentes en una muestra biológica

de un sujeto que tiene esquizofrenia u otro trastorno psicótico o una predisposición a ello.

5 La detección y/o cuantificación se pueden llevar a cabo mediante cualquier método adecuado para identificar la presencia y/o cantidad de una proteína específica en una muestra biológica de un paciente, o una purificación o extracto de una muestra biológica o una dilución de las mismas. En los métodos de la invención, la cuantificación se puede llevar a cabo midiendo la concentración del biomarcador analito en la muestra o muestras. Las muestras biológicas que se pueden ensayar en un método de la invención incluyen líquido cefalorraquídeo (LCR), sangre completa, suero sanguíneo, plasma, orina, saliva, u otro fluido corporal (heces, líquido lacrimal, líquido sinovial, esputo), aliento, p.ej. en forma de aliento condensado, o un extracto o purificación de los mismos, o dilución de los mismos. Las muestras biológicas también incluyen homogeneizados de tejidos, cortes de tejidos y muestras de biopsias de un sujeto vivo, o tomadas postmortem. Las muestras se pueden preparar, por ejemplo cuando sea adecuado diluidas o concentradas, y almacenarlas de la manera habitual.

10 La detección y/o cuantificación de los biomarcadores analitos se puede llevar a cabo mediante la detección del biomarcador analito o de un fragmento del mismo, p.ej. un fragmento con un truncamiento C-terminal, o con un truncamiento N-terminal. Los fragmentos tienen de manera adecuada una longitud mayor de 4 aminoácidos, por ejemplo 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, o 20 aminoácidos.

15 El biomarcador se puede detectar directamente, p.ej. mediante SELDI o MALDI-TOF. De manera alternativa, el biomarcador se puede detectar directamente o indirectamente por medio de la interacción con un ligando o ligandos tales como un anticuerpo o un fragmento de unión al biomarcador del mismo, u otro péptido, o ligando, p.ej., aptámero, u oligonucleótido, capaz de unirse de manera específica al biomarcador. El ligando puede poseer un marcador detectable, tal como un marcador luminiscente, fluorescente o radiactivo, y/o una etiqueta de afinidad.

20 Por ejemplo, la detección y/o cuantificación se pueden llevar a cabo mediante uno o más método(s) seleccionado(s) del grupo que consiste en: SELDI (-TOF), MALDI (-TOF), un análisis basado en gel 1-D, un análisis basado en gel 2-D, espectroscopía de masas (MS), LC en fase inversa (RP), permeabilidad por tamaño (filtración en gel), intercambio iónico, afinidad, HPLC, UPLC y otras técnicas basadas en LC o LC MS. Las técnicas de LC MS adecuadas incluyen ICAT® (Applied Biosystems, CA, EE.UU.), o iTRAQ® (Applied Biosystems, CA, EE.UU.). También se podría usar la cromatografía líquida (p.ej., cromatografía líquida de alta presión (HPLC) o cromatografía líquida de baja presión (LPLC)), cromatografía en capa fina, espectroscopía de RMN (resonancia magnética nuclear).

25 Los métodos de diagnóstico o monitorización según la invención pueden comprender analizar una muestra de líquido cefalorraquídeo (LCR) mediante SELDI TOF o MALDI TOF para detectar la presencia o el nivel del biomarcador analito. Estos métodos también son adecuados para el cribado clínico, pronóstico, monitorización de los resultados de la terapia, identificación de pacientes con mayor probabilidad de responder a un tratamiento terapéutico particular, para el cribado y desarrollo de fármacos, y la identificación de nuevos objetivos para el tratamiento farmacológico.

30 La detección y/o cuantificación de los biomarcadores analitos se puede llevar a cabo mediante el uso de un método inmunológico, que implica un anticuerpo, o un fragmento del mismo, capaz de unirse de manera específica al biomarcador analito. Los métodos inmunológicos adecuados incluyen inmunoensayos de tipo sándwich, tales como ELISA de tipo sándwich, en los que la detección de los biomarcadores analitos se lleva a cabo mediante el uso de dos anticuerpos que reconocen epítopos diferentes en un biomarcador analito; radioinmunoensayos (RIA), ensayos por inmunoabsorción ligados a enzimas (ELISA) directos, indirectos o competitivos, inmunoensayos enzimáticos (EIA), inmunoensayos de fluorescencia (FIA), transferencia de Western, inmunoprecipitación y cualquier inmunoensayo basado en partículas (p.ej., mediante el uso de partículas de oro, plata, o látex, partículas magnéticas, o puntos Q). Los métodos inmunológicos se pueden llevar a cabo, por ejemplo, en una placa de microtitulación o en un formato en tira.

35 Los métodos inmunológicos de acuerdo con la invención se pueden basar, por ejemplo, en cualquiera de los métodos siguientes.

40 La inmunoprecipitación es el método de inmunoensayo más simple; mide la cantidad de precipitado que se forma después de haber incubado el anticuerpo reactivo con la muestra y de haberlo hecho reaccionar con el antígeno objetivo presente en ella para formar un agregado insoluble. Las reacciones de inmunoprecipitación pueden ser cualitativas o cuantitativas.

45 En los inmunoensayos con partículas, varios anticuerpos están unidos a la partícula, y la partícula es capaz de unirse de manera simultánea a muchas moléculas de antígeno. Esto acelera enormemente la velocidad de la reacción visible. Esto permite la detección rápida y sensible del biomarcador.

50 En la inmunonefelometría, la interacción de un anticuerpo y el antígeno objetivo en el biomarcador da como resultado la formación de complejos inmunitarios que son demasiado pequeños para precipitar. Sin embargo, estos complejos dispersarán la luz incidente, y esta se puede medir mediante el uso de un nefelómetro. La concentración del antígeno, es decir, biomarcador, se puede determinar en minutos tras la reacción.

55 Los métodos mediante radioinmunoensayo (RIA) emplean isótopos radiactivos tales como I^{125} para marcar el

- antígeno o el anticuerpo. El isótopo usado emite rayos gamma, que se miden normalmente tras la eliminación del radiomarcador sin unir (libre). Las ventajas principales de RIA, en comparación con otros inmunoensayos, son una sensibilidad mayor, detección sencilla de señales, y ensayos rápidos, bien establecidos. Las desventajas principales son los riesgos para la salud y de seguridad planteados por el uso de radiación y el tiempo y el coste asociados al mantenimiento de un programa autorizado de seguridad y eliminación de radiación. Por esta razón, RIA se ha sustituido en gran medida en la práctica de los laboratorios clínicos de rutina por los inmunoensayos enzimáticos.
- Los inmunoensayos enzimáticos (EIA) se desarrollaron como alternativa a los radioinmunoensayos (RIA). Estos métodos usan una enzima para marcar el anticuerpo o el antígeno objetivo. La sensibilidad de EIA se aproxima a la de RIA, sin el peligro planteado por los isótopos radiactivos. Uno de los métodos de EIA usado de manera más generalizada para la detección es el ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA). Los métodos de ELISA pueden usar dos anticuerpos, uno de los cuales es específico del antígeno objetivo y el otro está acoplado a una enzima, y la adición del sustrato de la enzima da como resultado la producción de una señal quimioluminiscente o fluorescente.
- El inmunoensayo fluorescente (FIA) se refiere a los inmunoensayos que utilizan un marcador fluorescente o un marcador enzimático que actúa sobre el sustrato para formar un producto fluorescente. Las medidas fluorescentes son intrínsecamente más sensibles que las medidas colorimétricas (espectrofotométricas). Por lo tanto, los métodos FIA tienen una sensibilidad analítica mayor que los métodos EIA, que emplean la medida de la absorbancia (densidad óptica).
- Los inmunoensayos quimioluminiscentes utilizan un marcador quimioluminiscente, que produce luz cuando se excita mediante energía química; las emisiones se miden mediante el uso de un detector de luz.
- Los métodos inmunológicos según la invención se pueden llevar a cabo así mediante el uso de métodos bien conocidos. Se puede usar cualquier procedimiento directo (p.ej., mediante el uso de un chip sensor) o indirecto en la detección de los biomarcadores analitos de la invención.
- Los sistemas de Biotina-Avidina o Biotina-Estreptavidina son sistemas genéricos de marcaje que se pueden adaptar para el uso en los métodos inmunológicos de la invención. Una molécula de unión (hapteno, antígeno, ligando, aptámero, anticuerpo, enzima, etc.) se marca con biotina y la otra molécula (superficie, p.ej. pocillo, microesfera, sensor, etc.) se marca con avidina o estreptavidina. Esta es una tecnología convencional para los inmunoensayos, ensayos con sondas génicas y (bio)sensores, pero es una vía de inmovilización indirecta en vez de una directa. Por ejemplo, un ligando biotinilado (p.ej. anticuerpo o aptámero) específico para un biomarcador analito de la invención se puede inmovilizar en una superficie de avidina o estreptavidina, el ligando inmovilizado se puede exponer después a una muestra que contiene o que se sospecha que contiene el biomarcador analito para detectar y/o cuantificar un biomarcador analito de la invención. La detección y/o cuantificación del antígeno inmovilizado se puede llevar a cabo después mediante un método inmunológico como se describe en la presente memoria.
- El término "anticuerpo", tal como se usa en la presente memoria, incluye, pero sin limitación: anticuerpos policlonales, monoclonales, biespecíficos, humanizados o quiméricos, anticuerpos de cadena simple, fragmentos Fab y fragmentos F(ab')₂, fragmentos producidos mediante una biblioteca de expresión de Fab, anticuerpos anti-idiotípicos (anti-Id) y fragmentos de unión al epítipo de cualquiera de los anteriores. El término "anticuerpo", tal como se usa en la presente memoria, también se refiere a las moléculas de inmunoglobulina y las porciones inmunológicamente activas de las moléculas de inmunoglobulina, es decir, las moléculas que contienen un sitio de unión al antígeno que se unen de manera específica a un antígeno. Las moléculas de inmunoglobulina de la invención pueden ser de cualquier clase (p.ej., IgG, IgE, IgM, IgD e IgA) o subclase de la molécula de inmunoglobulina.
- La identificación de biomarcadores clave específicos de una enfermedad es fundamental para la integración de procedimientos de diagnóstico y regímenes terapéuticos. Mediante el uso de biomarcadores predictivos se pueden desarrollar herramientas de diagnóstico adecuadas tales como biosensores; por lo tanto, en los métodos y usos de la invención, la detección y cuantificación se puede llevar a cabo mediante el uso de un biosensor, sistema microanalítico, sistema micromodificado, sistema de microseparación, sistema de inmunocromatografía u otros dispositivos analíticos adecuados. El biosensor puede incorporar un método inmunológico para la detección de el/los biomarcador(es), las tecnologías eléctrica, térmica, magnética, óptica (p.ej. holograma) o acústica. Mediante el uso de tales biosensores, es posible detectar el/los biomarcador(es) objetivo a las concentraciones previstas halladas en las muestras biológicas.
- El/los biomarcador(es) de la invención se pueden detectar mediante el uso de un biosensor que incorpora tecnologías basadas en hologramas "inteligentes", o sistemas acústicos de alta frecuencia, y tales sistemas son especialmente susceptibles a las configuraciones en "código de barras" o en matriz.
- En los sensores de hologramas inteligentes (Smart Holograms Ltd, Cambridge, R.U.), se almacena una imagen holográfica en una película polimérica fina que está sensibilizada para reaccionar de manera específica con el biomarcador. En el momento de la exposición, el biomarcador reacciona con el polímero, lo que conduce a una alteración de la imagen expuesta por el holograma. La lectura del resultado del ensayo puede ser un cambio del

brillo, la imagen, el color y/o la posición de la imagen. Para las aplicaciones cualitativas y semi-cuantitativas, se puede leer un holograma sensor a simple vista, por lo que se elimina la necesidad de un equipo de detección. Se puede usar un sensor de un único color para leer la señal cuando se necesitan medidas cuantitativas. La opacidad o el color de la muestra no interfieren con el funcionamiento del sensor. El formato del sensor permite realizar al mismo tiempo la detección simultánea de varias sustancias. Se pueden diseñar sensores reversibles e irreversibles para satisfacer diferentes necesidades, y es viable la monitorización continua de un biomarcador particular de interés.

De manera adecuada, los biosensores para la detección de uno o más biomarcadores de la invención combinan el reconocimiento biomolecular con un medio adecuado para convertir la detección de la presencia, o la cuantificación, del biomarcador de la muestra en una señal. Los biosensores se pueden adaptar para ensayos de diagnóstico en "sitios alternativos", p.ej., en un servicio hospitalario, departamento de consultas externas, cirugía, hogar, campo y lugar de trabajo.

Los biosensores para detectar uno o más biomarcadores de la invención incluyen los sensores acústicos, de resonancia de plasmones, holográficos y micromodificados. Se pueden emplear elementos de reconocimiento impresos, tecnología de transistores en película fina, dispositivos resonadores acústicos magnéticos y otros sistemas electro-acústicos nuevos en los biosensores para la detección de uno o más biomarcadores de la invención.

Los métodos que implican la detección y/o cuantificación de uno o más biomarcadores analitos de la invención se pueden llevar a cabo en instrumentos de mesa, o se pueden incorporar en plataformas de diagnóstico o monitorización desechables que se pueden usar en un medio distinto del laboratorio, p.ej. en la consulta del médico o en la cabecera del paciente. Los biosensores adecuados para llevar a cabo los métodos de la invención incluyen tarjetas "de crédito" con lectores ópticos o acústicos. Los biosensores se pueden configurar para permitir que los datos recogidos se transmitan electrónicamente al médico para su interpretación, y así pueden formar parte de la base de la e-neuromedicina.

Se puede usar cualquier animal adecuado como sujeto animal no humano, por ejemplo un primate no humano, caballo, vaca, cerdo, cabra, oveja, perro, gato, pez, roedor, p.ej. conejillo de indias, rata o ratón; insecto (p.ej. *Drosophila*), anfibio (p.ej. *Xenopus*) o *C. elegans*.

Los métodos de la invención se pueden llevar a cabo en un formato de matriz, p.ej. en un chip, o en forma de una matriz multipocillo. Los métodos se pueden adaptar a plataformas para ensayos simples, o ensayos idénticos múltiples o no idénticos múltiples, y se pueden llevar a cabo en un formato de alto rendimiento. Los métodos de la invención pueden comprender llevar a cabo uno o más ensayos diferentes adicionales para confirmar o excluir el diagnóstico, y/o para caracterizar adicionalmente una afección.

Se proporciona el uso de un equipo para diagnosticar o monitorizar la esquizofrenia u otro trastorno psicótico, o la predisposición a ello. De manera adecuada, un equipo según la invención puede contener uno o más componentes seleccionados del grupo: un ligando específico del biomarcador analito o una molécula mimética estructural o de la forma del biomarcador analito, uno o más controles, uno o más reactivos y uno o más consumibles; opcionalmente junto con instrucciones para el uso del equipo de acuerdo con cualquiera de los métodos definidos en la presente memoria.

La identificación de los biomarcadores de esquizofrenia u otro trastorno psicótico permite la integración de los procedimientos de diagnóstico y los regímenes terapéuticos. Actualmente existen retrasos significativos en la determinación del tratamiento eficaz, y hasta ahora no ha sido posible llevar a cabo la determinación rápida de la respuesta a los fármacos. Tradicionalmente, muchas terapias anti-psicóticas han necesitado ensayos de tratamiento que duraban de semanas a meses para una aproximación terapéutica determinada. La detección de un biomarcador analito de la invención se puede usar para cribar los sujetos antes de su participación en los ensayos clínicos. Los biomarcadores proporcionan los medios para indicar la respuesta terapéutica, la falta de respuesta, el perfil de efectos secundarios desfavorables, el grado de cumplimiento de la medicación y la consecución de niveles adecuados del fármaco en suero. Los biomarcadores se pueden usar para proporcionar un aviso de una respuesta farmacológica adversa. Los biomarcadores son útiles en el desarrollo de terapias cerebrales personalizadas, como determinación de la respuesta que se puede usar para ajustar las dosis, minimizar el número de medicaciones prescritas, reducir el retraso para lograr una terapia eficaz y evitar las reacciones adversas a los fármacos. Así, mediante la monitorización de un biomarcador de la invención, la asistencia al paciente se puede adaptar exactamente para cumplir las necesidades determinadas por el trastorno y el perfil farmacogenómico del paciente, y el biomarcador se puede usar así para titular la dosis óptima, predecir una respuesta terapéutica positiva e identificar a los pacientes con un riesgo elevado de efectos secundarios graves.

Los ensayos basados en biomarcadores proporcionan una determinación de primera línea de pacientes "nuevos", y proporcionan medidas objetivas para un diagnóstico exacto y rápido, en un periodo de tiempo y con una precisión inalcanzable mediante el uso de las medidas subjetivas actuales.

Además, los ensayos con biomarcadores diagnósticos son útiles para identificar los miembros de una familia o pacientes con un riesgo elevado de desarrollar esquizofrenia u otro trastorno psicótico. Esto permite el inicio de una

terapia adecuada, o medidas preventivas, p.ej. el control de los factores de riesgo. Se reconoce que estas aproximaciones mejoran el resultado, y pueden prevenir el inicio manifiesto del trastorno.

5 Los métodos de monitorización de biomarcadores, biosensores y equipos también son esenciales como herramientas de monitorización de los pacientes, para permitir que el médico determine si una recaída se debe al empeoramiento del trastorno, un cumplimiento deficiente por parte del paciente o el abuso de sustancias. Si se determina que el tratamiento farmacológico es inadecuado, se puede reinstaurar o incrementar la terapia; se puede realizar un cambio en la terapia si es adecuado. Debido a que los biomarcadores son sensibles al estado del trastorno, proporcionan una indicación del impacto de la terapia farmacológica o del abuso de sustancias.

El siguiente estudio ilustra la invención.

10 El objetivo principal del presente estudio fue el descubrimiento de biomarcadores proteicos nuevos en la sangre que responden al tratamiento farmacológico. Estos marcadores se podrían utilizar potencialmente en un ensayo de diagnóstico, lo que proporcionaría a los médicos una información objetiva durante el tratamiento sobre la respuesta de un paciente individual. Además, se podrían usar para determinar el cumplimiento de los pacientes del régimen farmacológico prescrito.

15 El estudio se llevó a cabo comparando las muestras de sangre recogidas de pacientes de esquizofrenia después de estar sin neurolépticos durante al menos seis semanas con las muestras de seguimiento recogidas de los mismos pacientes después del tratamiento farmacológico. Se registró la respuesta al tratamiento (basándose en las escalas de clasificación clínica). Los pacientes se trataron con diversas combinaciones de antipsicóticos, elegidos por un médico. La aproximación de combinar la medicación es una práctica habitual entre los psiquiatras. La comparación de estos tres grupos de muestras proporciona una indicación de la viabilidad de detectar las proteínas en la sangre que cambian cuantitativamente como resultado del tratamiento farmacológico.

20 Se preparó un total de 30 muestras de plasma y seis muestras de QC. Estas incluyeron las muestras de 10 pacientes de esquizofrenia (DSM-IV 295.3) que habían estado sin fármaco durante al menos seis semanas, y 10 muestras de plasma tomadas de los mismos pacientes después de ocho semanas de tratamiento con diversos antipsicóticos. Estos pacientes se seleccionaron basándose en su respuesta positiva al tratamiento, basada en las clasificaciones clínicas. Se incluyeron en el análisis otras 10 muestras tomadas de voluntarios sanos que coincidían demográficamente. Todas las muestras se recogieron en la misma instalación y se almacenaron a -80 °C. Las muestras se prepararon con enmascaramiento y aleatoriamente, sin mezcla.

30 Se eliminaron de las muestras de plasma las 20 proteínas más abundantes mediante el uso de un equipo de inmunoafinidad. El flujo de salida se inyectó en una columna de intercambio aniónico fuerte (Propac SAX-10, 4x250 mm, Dionex) mediante el uso del automuestreador Famos (LC-Packings/Dionex). Se aplicó un gradiente mediante el uso de Ultimate LC (LC-Packings/Dionex) como sigue: 100% de A (H₂O + Na₂HPO₄ 10 mM durante 6 min; gradiente lineal de 85% de A en 7 min; gradiente lineal hasta 70% de A en 25 min; gradiente lineal hasta 50% de A en 2 min; mantenimiento al 50% de A durante 5 min; vuelta a las condiciones iniciales. El tampón B contuvo: H₂O + Na₂HPO₄ 10 mM + NaCl 1,25 M. Se recogieron cinco fracciones de cada muestra mediante el uso del recolector de fracciones Probot (LC-Packings/Dionex). Las fracciones se concentraron después mediante el uso de columnas de centrifugación de 4 ml (Agilent) con un umbral de peso molecular de 5 kDa.

40 Las proteínas se redujeron mediante el uso de ditiotreitolo 5 mM (Sigma, St. Louis MO) a 60 °C durante 30 min y se alquilaron con yodoacetamida 10 mM (Sigma, St. Louis MO) en la oscuridad a temperatura ambiente durante 30 min. Las proteínas se digirieron mediante el uso de Tripsina (Promega, Madison, WI) a una proporción de 1:50 (p/p de Tripsina/Proteína) durante 16 horas a 37 °C. La digestión se paró añadiendo 2,3 µl de HCl 8,8 M a cada muestra. Las muestras se almacenaron a -80 °C hasta su análisis.

45 En este estudio se compararon tres grupos: control, sin fármaco y tratado con fármaco. Se llevaron a cabo dos comparaciones de datos emparejados mediante el uso de una prueba T de datos independientes, bilateral de datos independientes y de datos emparejados (después de la transformación logarítmica) para identificar las proteínas que muestran una diferencia estadísticamente significativa ($p < 0,05$) entre los grupos sin fármaco y tratado con fármaco. Las 22 proteínas que mostraron una diferencia estadísticamente significativa se muestran en la Tabla 1 y la Figura 1.

Tabla 1

Proteína	Prueba T de datos independientes (sin fármaco frente a tratado con fármaco)	Prueba T de datos emparejados (sin fármaco frente a tratado con fármaco)
Q6XYQ8 SYT10_HUMAN Sinaptotagmina-10	0,001	0,0066
P31276 HXC13_HUMAN Proteína Homeobox Hox-C13	0,0065	0,0138
Q15036 SNX17_HUMAN Nexina de clasificación 17	0,0067	0,0699
Q8NEZ3 WDR19_HUMAN Proteína 19 que contiene repeticiones WD	0,008	0,001
Q12873 CHD3_HUMAN Proteína 3 de unión al ADN con cromodominio-helicasa	0,0084	0,0418
P02743 SAMP_HUMAN Componente P del amiloide sérico	0,0109	0,0621
P01842 LAC_HUMAN Regiones C de la cadena lambda de Ig	0,0113	0,2821
P01008 ANT3_HUMAN Antitrombina-III	0,0138	0,1771
P13671 C06_HUMAN C6 del Complemento	0,0141	0,0399
Q14314 FGL2_HUMAN Fibroleucina	0,017	0,1404
Q96J65 MRP9_HUMAN Proteína 9 asociada a multirresistencia a fármacos	0,0191	0,1013
Q86V15 CASZ1_HUMAN Homólogo 1 del gen castor de la proteína con dedo de zinc	0,0222	0,0206
P05546 HEP2_HUMAN Cofactor 2 de heparina	0,0242	0,0702
Q9H2K8 TAOK3_HUMAN Serina/Treonina-proteína quinasa TAO3	0,0299	0,0414
P08779 K1C16_HUMAN Queratina	0,0317	0,6634
014617 AP3D1_HUMAN Subunidad delta-1 del complejo AP-3	0,0331	0,0241
Q92614 MY18A_HUMAN Miosina-XVIIIa	0,0344	0,1382
014782 KIF3C_HUMAN Proteína similar a cinesina	0,039	0,0763
Q9H2F5 EPC1_HUMAN Potenciador del homólogo 1 de Polycomb	0,0436	0,1087
P02749 APOH_HUMAN Beta-2-glicoproteína 1	0,0438	0,067
Q7Z6J4 FGD2_HUMAN FYVE	0,0482	0,1127
Q8TF30 WHDC1_HUMAN Proteína 1 que contiene dominios WH2	0,1277	0,0337

REIVINDICACIONES

1. El uso de Sinaptotagmina-10 como biomarcador para la esquizofrenia u otro trastorno psicótico, o la predisposición a ello.
- 5 2. El uso como se definió en la reivindicación 1, que además comprende el uso de uno o más analitos adicionales seleccionados de: proteína Homeobox Hox-C13, proteína 19 que contiene repeticiones WD, regiones C de la cadena lambda de Ig, C6 del Complemento, Fibroleucina, proteína 9 asociada a multirresistencia a fármacos, homólogo 1 del gen castor de la proteína con dedo de zinc, cofactor 2 de Heparina, subunidad delta-1 del complejo AP-3, Miosina-XVIIIa, Potenciador del homólogo 1 de polycomb, FYVE y proteína 1 que contiene dominios WH2 como biomarcador para la esquizofrenia u otro trastorno psicótico, o la predisposición a ello.
- 10 3. El uso de Sinaptotagmina-10, proteína Homeobox Hox-C13, proteína 19 que contiene repeticiones WD, regiones C de la cadena lambda de Ig, C6 del Complemento, Fibroleucina, proteína 9 asociada a multirresistencia a fármacos, homólogo 1 del gen castor de la proteína con dedo de zinc, cofactor 2 de Heparina, subunidad delta-1 del complejo AP-3, Miosina-XVIIIa, Potenciador del homólogo 1 de Polycomb, FYVE y proteína 1 que contiene dominios WH2 como un panel específico de biomarcadores analitos para la esquizofrenia u otro trastorno psicótico, o la predisposición a ello.
- 15 4. El uso como se definió en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, que comprende además el uso de uno o más analitos adicionales seleccionados de: Beta-2-glicoproteína 1, nexina de clasificación 17, proteína 3 de unión al ADN con cromodominio-helicasa, componente P del amiloide sérico, Antitrombina-III, Serina/Treonina-proteína quinasa TAO3, Queratina y proteína similar a Cinesina.
- 20 5. El uso de Sinaptotagmina-10, proteína Homeobox Hox-C13, proteína 19 que contiene repeticiones WD, regiones C de la cadena lambda de Ig, C6 del Complemento, Fibroleucina, proteína 9 asociada a multirresistencia a fármacos, homólogo 1 del gen castor de la proteína con dedo de zinc, cofactor 2 de Heparina, subunidad delta-1 del complejo AP-3, Miosina-XVIIIa, Potenciador del homólogo 1 de Polycomb, FYVE, proteína 1 que contiene dominios WH2, Beta-2-glicoproteína 1, nexina de clasificación 17, proteína 3 de unión al ADN con cromodominio-helicasa,
- 25 componente P del amiloide sérico, Antitrombina-III, Serina/Treonina-proteína quinasa TAO3, Queratina y proteína similar a Cinesina como un panel específico de biomarcadores analitos para la esquizofrenia u otro trastorno psicótico, o la predisposición a ello.
6. Un método para diagnosticar o monitorizar la esquizofrenia u otro trastorno psicótico, o la predisposición a ello, que comprende:
 - 30 (a) cuantificar las cantidades de los biomarcadores analitos como se definió en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 en una muestra biológica obtenida de un individuo; y
 - (b) comparar las cantidades de los biomarcadores analitos de la muestra biológica con las cantidades presentes en una muestra biológica de control normal de un sujeto normal, de forma que una diferencia en el nivel de los biomarcadores analitos de la muestra biológica es indicativa de esquizofrenia u otro trastorno psicótico, o la predisposición a ello.
 - 35
7. Un método para monitorizar la eficacia de una terapia en un sujeto que tiene, que se sospecha que tiene, o que está predisuesto a la esquizofrenia u otro trastorno psicótico, que comprende:
 - (a) cuantificar las cantidades de los biomarcadores analitos como se definió en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 en una muestra biológica obtenida de un individuo; y
 - 40 (b) comparar las cantidades de los biomarcadores analitos de la muestra biológica con las cantidades presentes en una muestra obtenida del individuo en una ocasión previa, tal como antes del comienzo de la terapia, de forma que una diferencia en el nivel de los biomarcadores analitos de la muestra biológica es indicativa de un efecto beneficioso de la terapia.
8. Un método como se definió en la reivindicación 6 o la reivindicación 7, que se lleva a cabo en muestras tomadas en dos o más ocasiones de un sujeto de ensayo.
9. Un método como se definió en cualquiera de las reivindicaciones 6 a 8, que comprende además comparar el nivel del biomarcador presente en las muestras tomadas en dos o más ocasiones.
10. Un método como se definió en cualquiera de las reivindicaciones 6 a 9, que comprende comparar la cantidad del biomarcador presente en dicha muestra de ensayo con uno o más controles.
- 50 11. Un método como se definió en cualquiera de las reivindicaciones 6 a 10, en el que las muestras se toman antes y/o durante y/o después de la terapia de la esquizofrenia u otro trastorno psicótico.
12. Un método como se definió en cualquiera de las reivindicaciones 6 a 11, en el que la cuantificación se lleva a cabo midiendo la concentración del biomarcador analito en la muestra o en cada muestra.

- 5 13. Un método como se definió en cualquiera de las reivindicaciones 6 a 12, en el que la detección y/o cuantificación se lleva a cabo mediante uno o más métodos seleccionados de SELDI (-TOF), MALDI (-TOF), un análisis basado en gel 1-D, un análisis basado en gel 2-D, espectrometría de masas (MS), LC de fase inversa (RP), permeabilidad por tamaño (filtración en gel), intercambio iónico, afinidad, HPLC, UPLC u otra técnica basada en LC o LC-MS.
14. Un método como se definió en cualquiera de las reivindicaciones 6 a 13, en el que la muestra biológica es líquido cefalorraquídeo, sangre completa, suero sanguíneo, plasma, orina, saliva, u otro fluido corporal, o aliento, aliento condensado, o un extracto o purificación de los mismos, o dilución de los mismos.
- 10 15. El uso de un equipo para monitorizar o diagnosticar la esquizofrenia u otro trastorno psicótico, en el que dicho equipo comprende un biosensor capaz de detectar y/o cuantificar los biomarcadores analitos como se definió en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5.

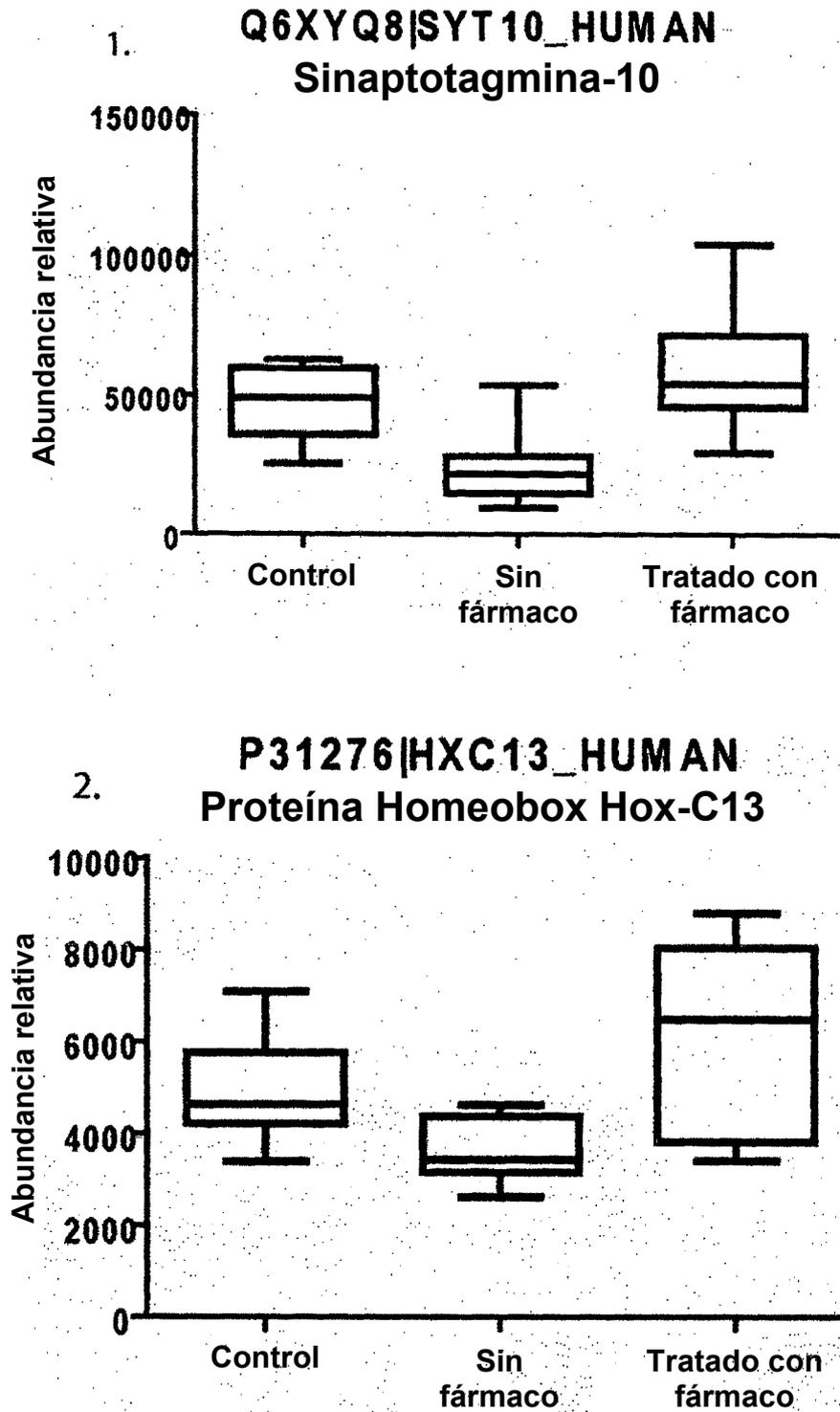


FIGURA 1

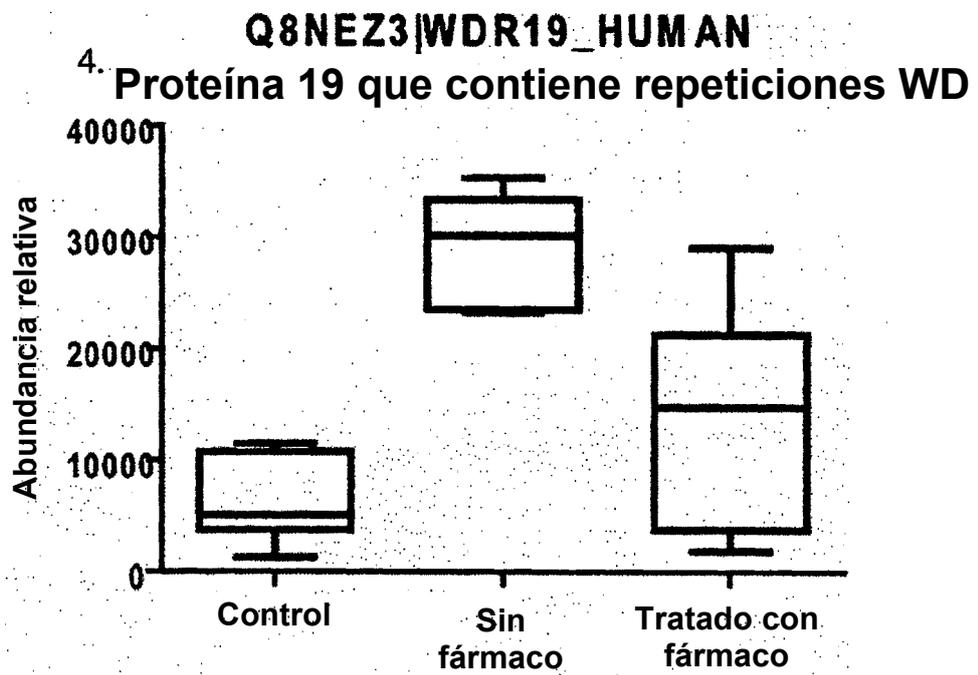
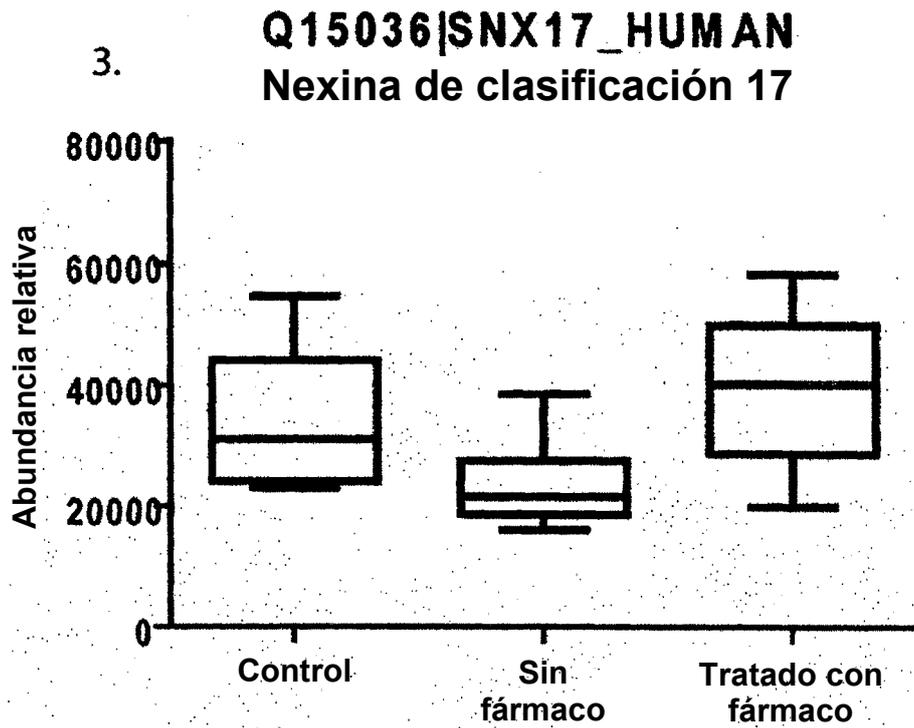
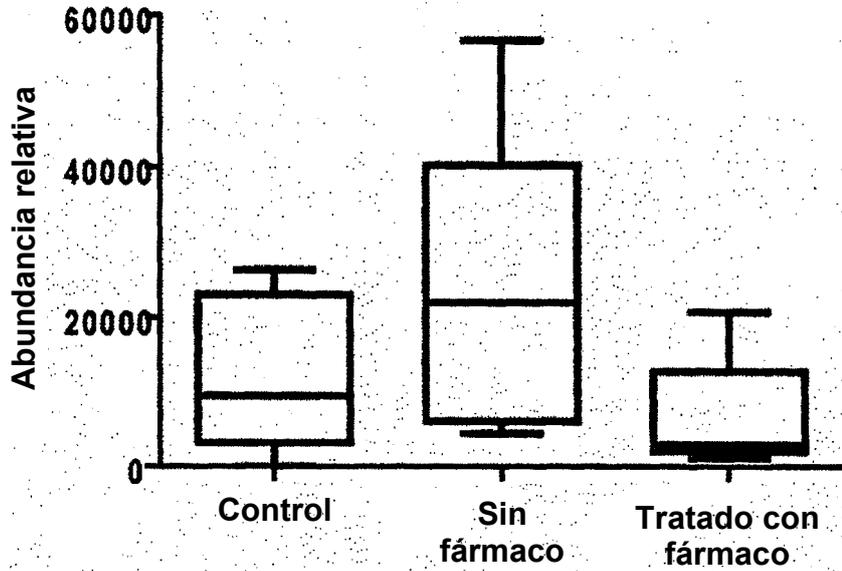


FIGURA 1 (cont.)

5. **Q12873|CHD3_HUMAN**
Proteína 3 de unión al ADN con cromodominio-helicasa



6. **P02743|SAMP_HUMAN**
Componente P del amiloide sérico

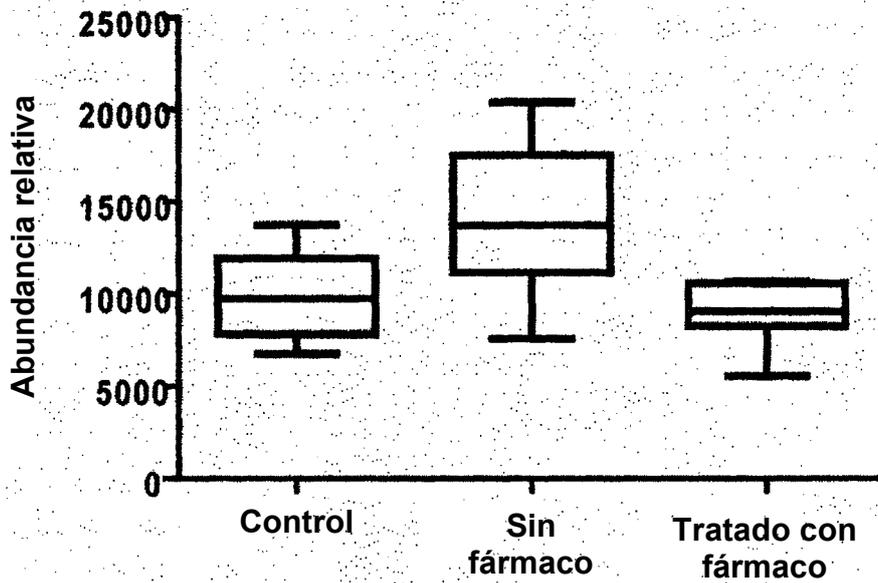


FIGURA 1 (cont.)

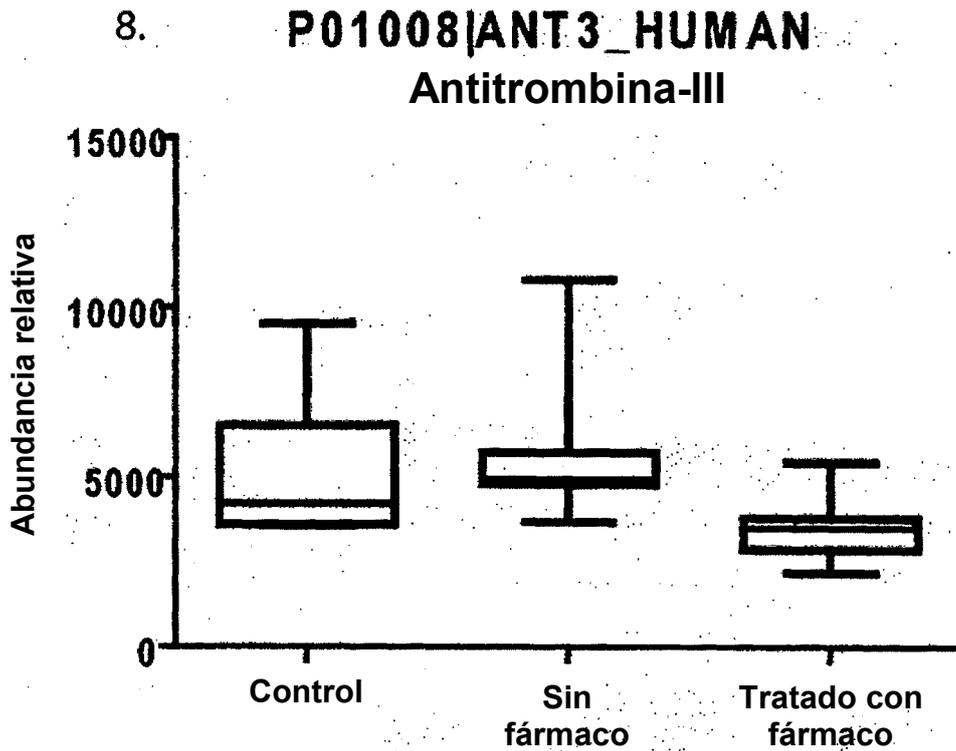
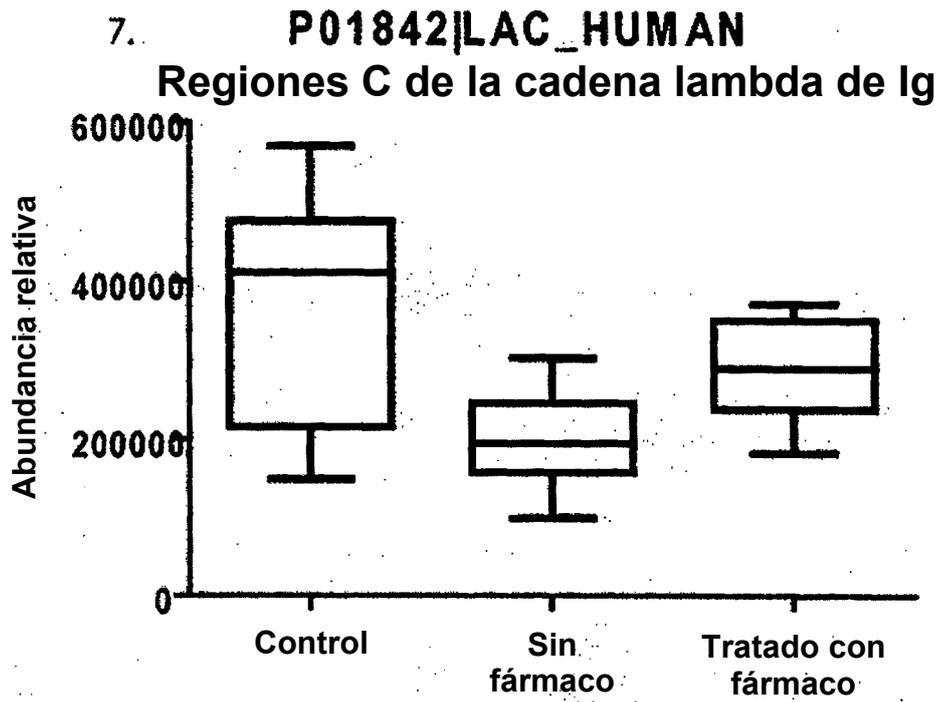


FIGURA 1 (cont.)

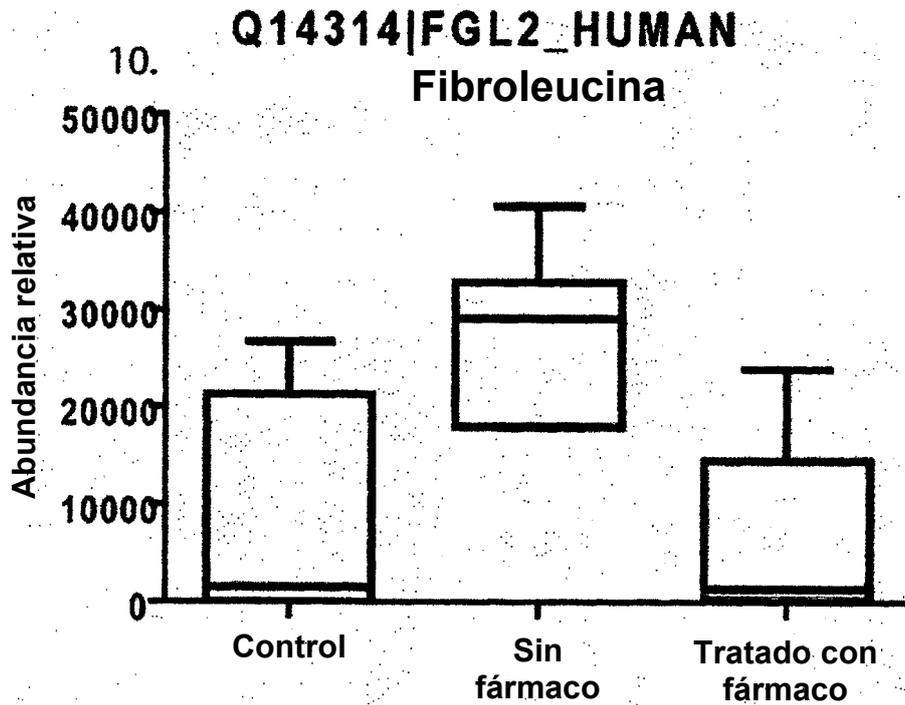
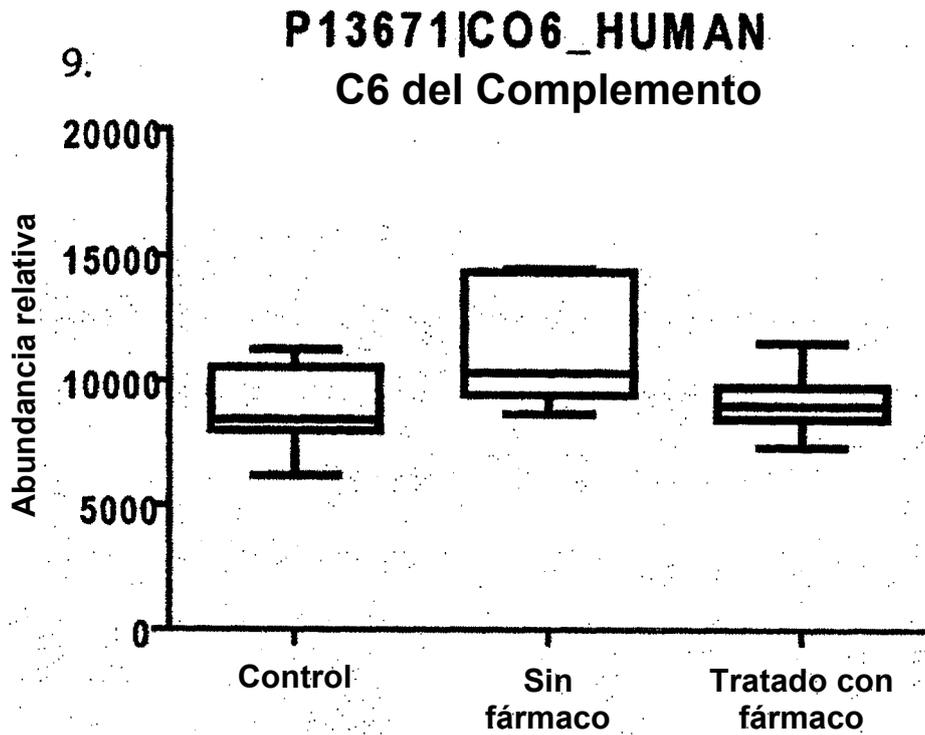


FIGURA 1 (cont.)

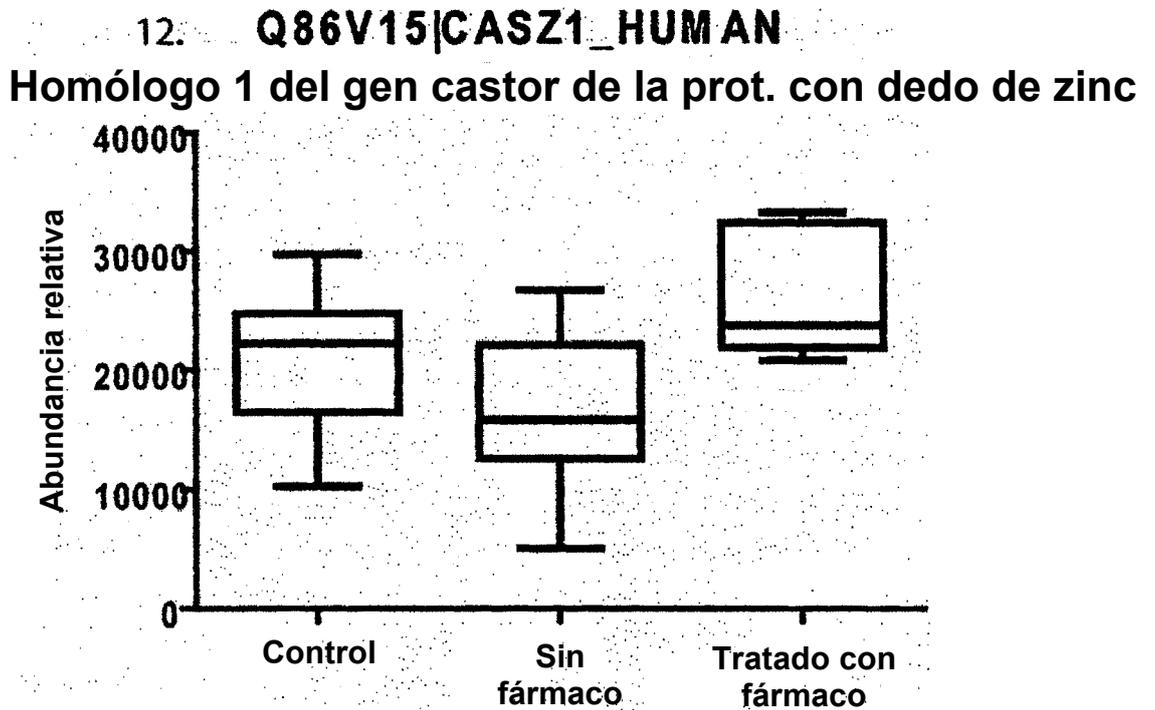
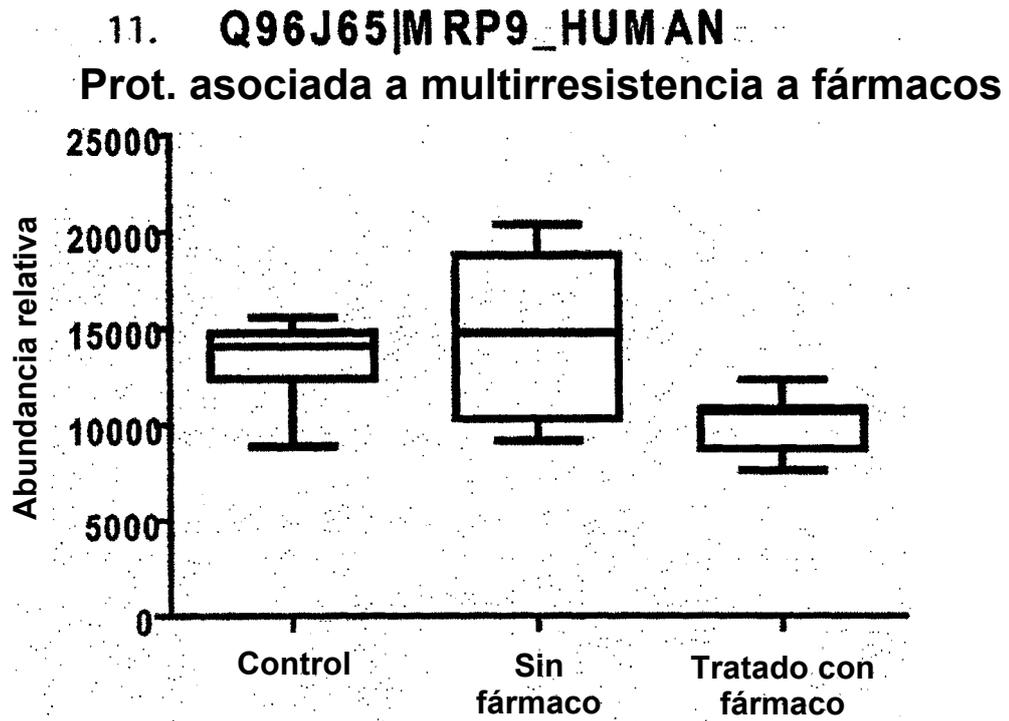
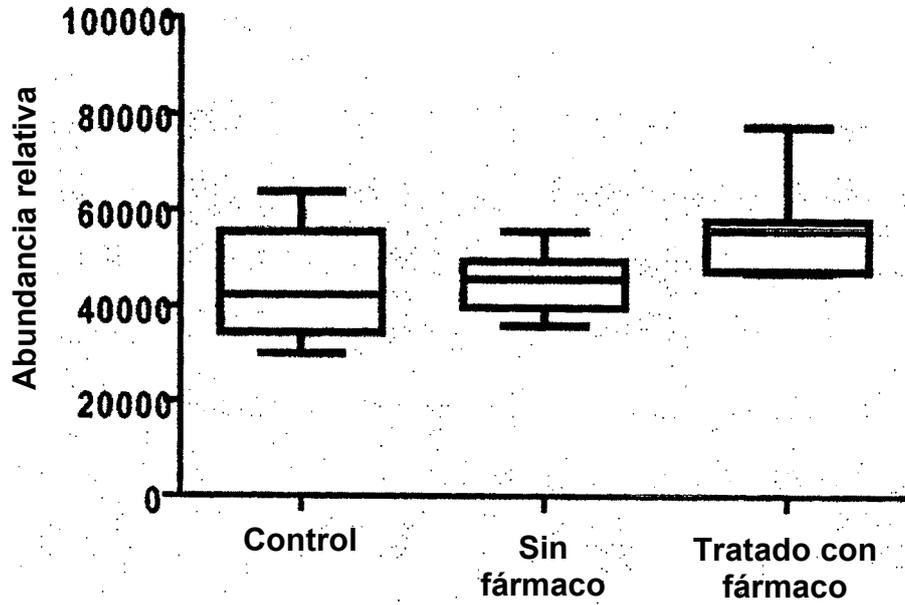


FIGURA 1 (cont.)

13.

P05546|HEP2_HUMAN
Cofactor 2 de heparina



14.

Q9H2K8|TAOK3_HUMAN
Serina/Treonina-proteína quinasa TAO3

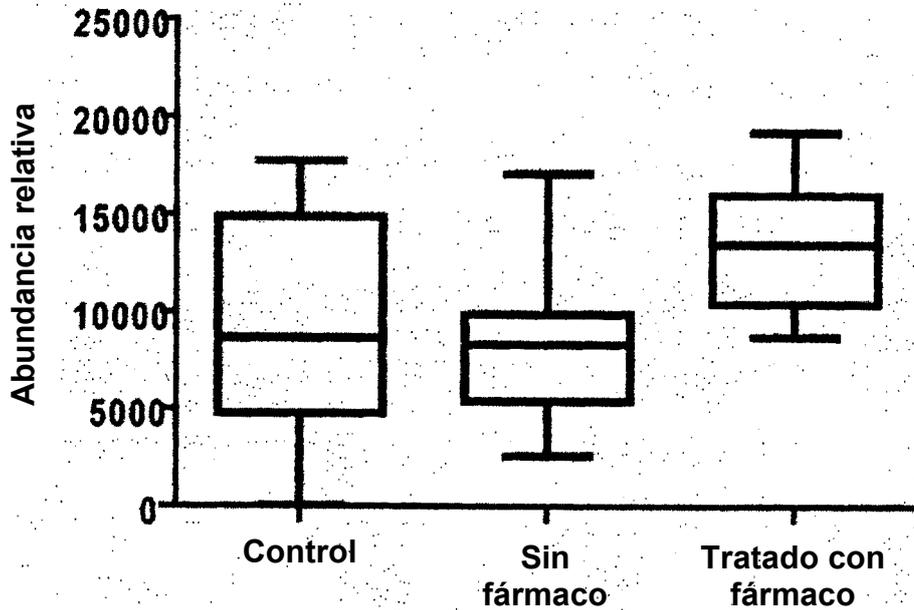


FIGURA 1 (cont.)

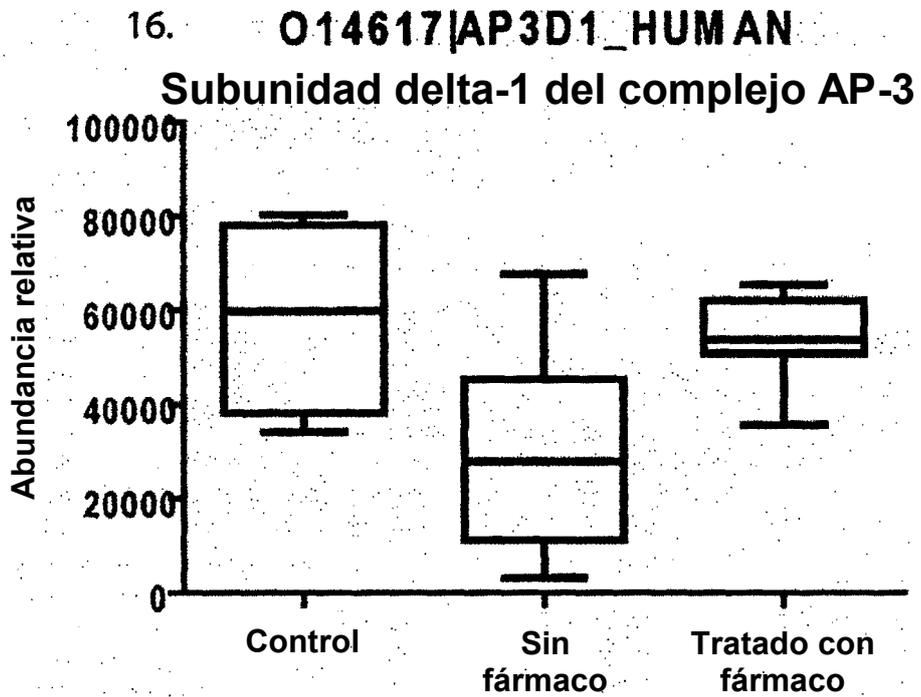
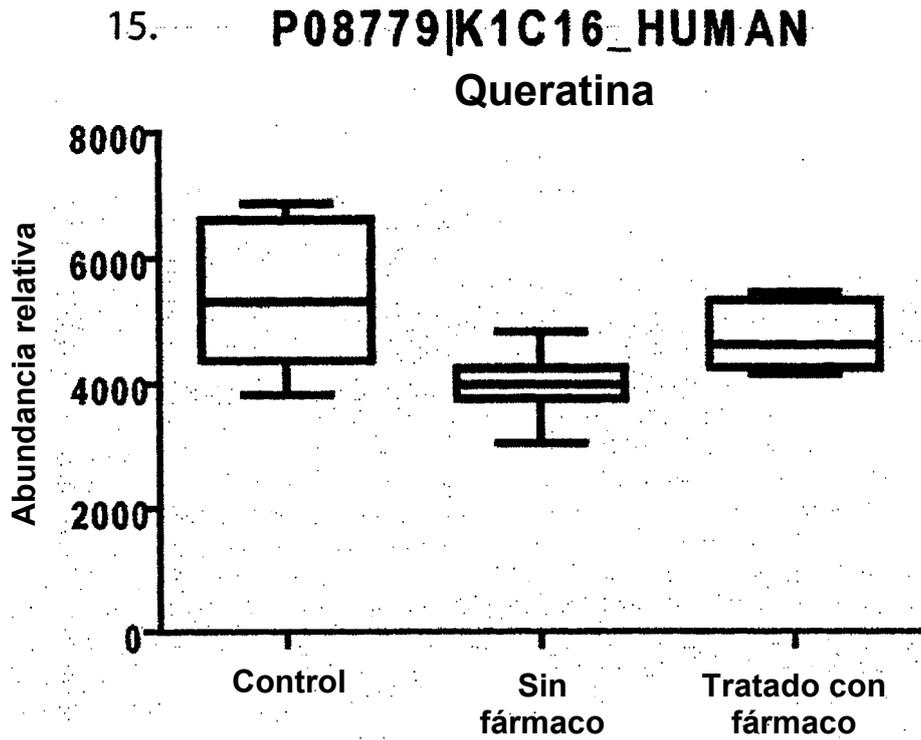


FIGURA 1 (cont.)

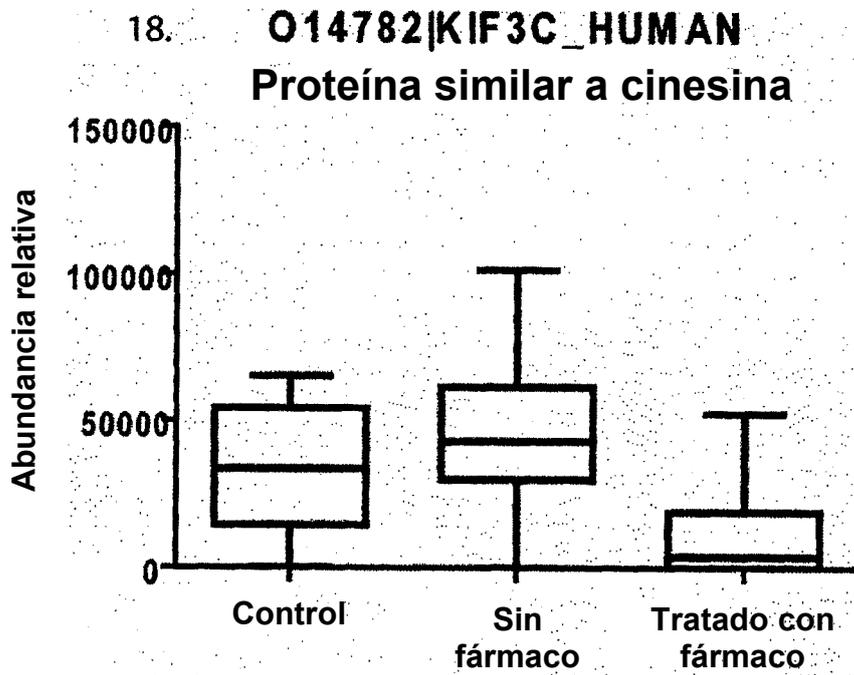
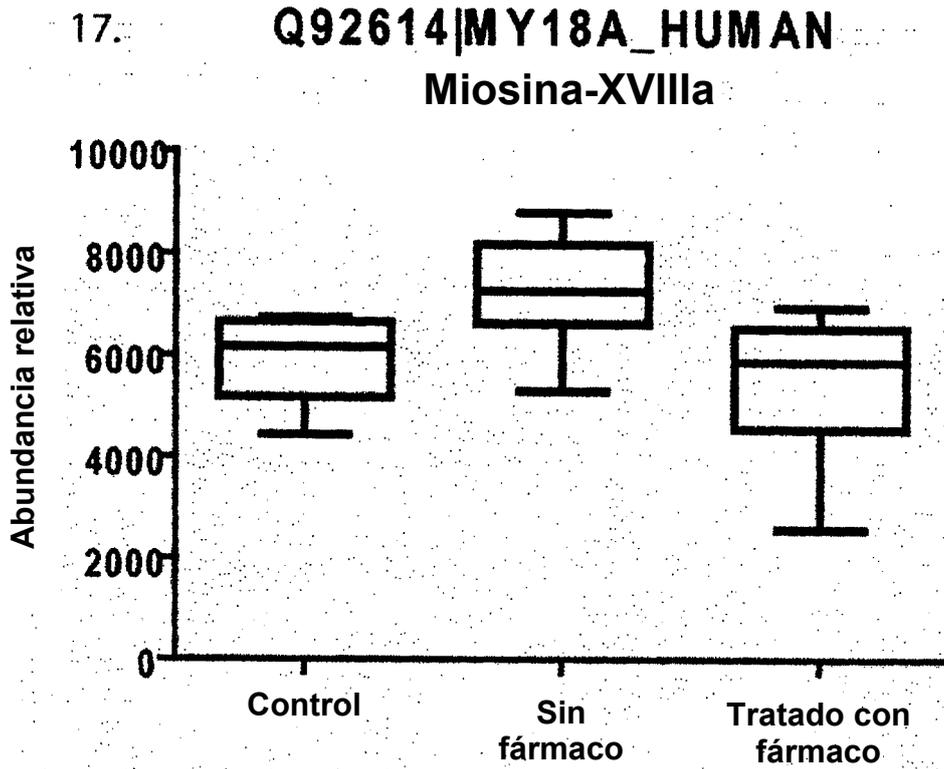
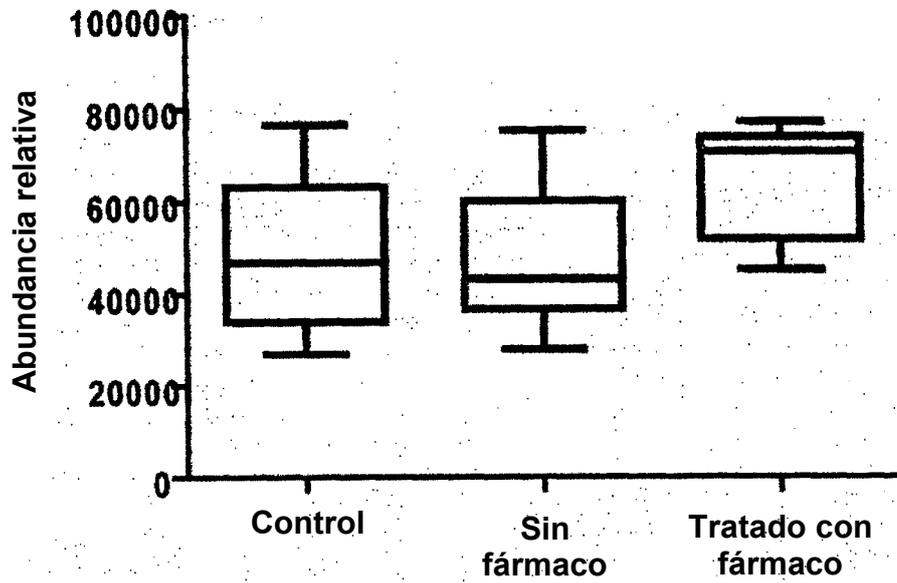


FIGURA 1 (cont.)

19. **Q9H2F5|EPC1_HUMAN**
Potenciador del homólogo 1 de polycomb



20. **P02749|APOH_HUMAN**
Beta-2-glicoproteína 1

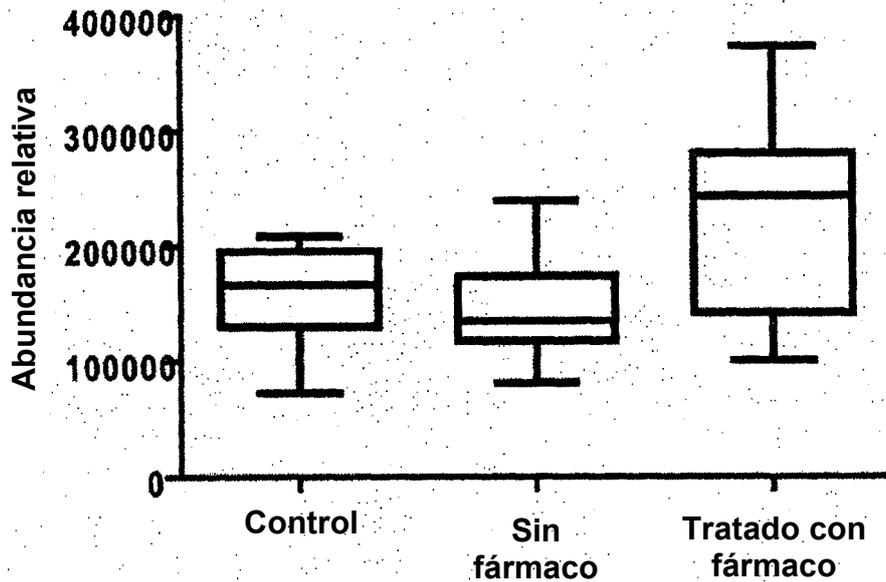


FIGURA 1 (cont.)

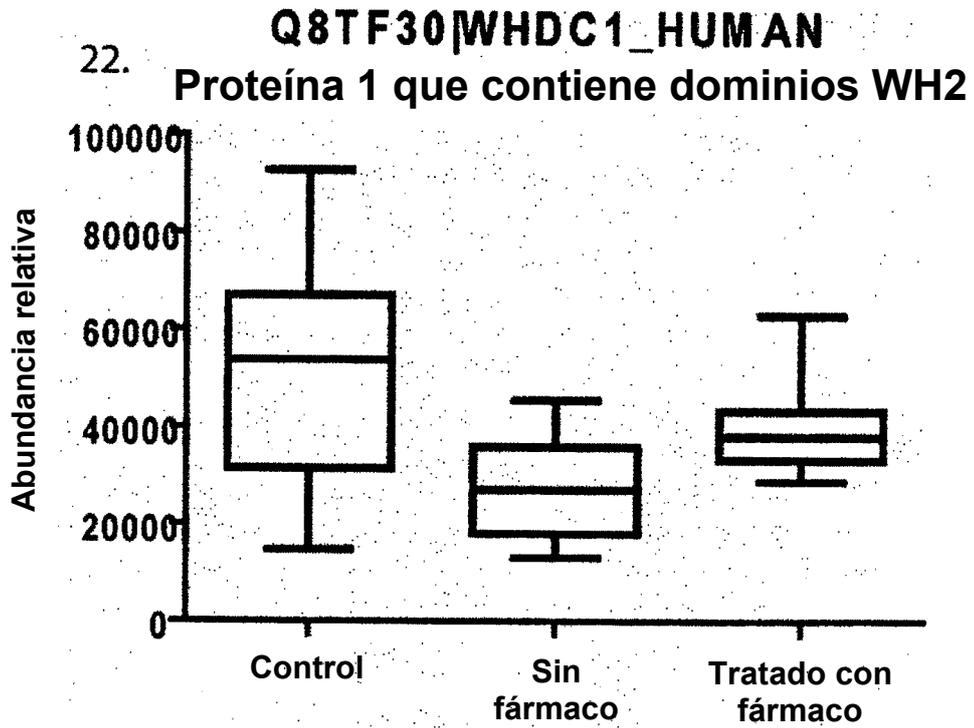
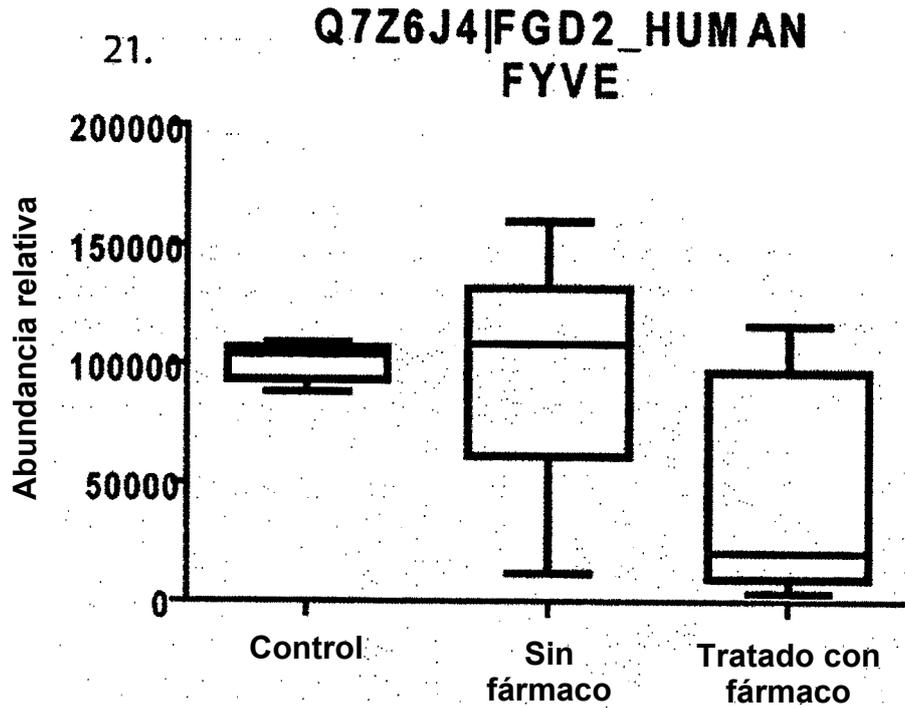


FIGURA 1 (cont.)