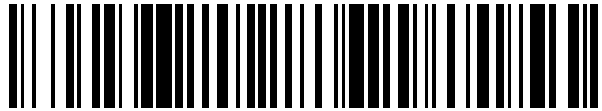


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 600 386**

21 Número de solicitud: 201631468

51 Int. Cl.:

**G01N 33/68** (2006.01)

12

SOLICITUD DE PATENTE

A1

22 Fecha de presentación:

**16.11.2016**

43 Fecha de publicación de la solicitud:

**08.02.2017**

71 Solicitantes:

**GRIFOLS WORLDWIDE OPERATIONS LIMITED  
(100.0%)**

**GRANGE CASTLE BUSINESS PARK, GRANGE  
CASTLE, CLONDALKIN  
DUBLIN 22 IE**

72 Inventor/es:

**ORTIZ FERNANDEZ, Ana Maria ;  
COSTA RIEROLA, Montserrat y  
GRANCHA RAMON, Salvador**

74 Agente/Representante:

**DURÁN MOYA, Luis Alfonso**

54 Título: **MÉTODO DE DIAGNÓSTICO IN VITRO DE LA ENFERMEDAD DE ALZHEIMER BASADO EN EL NIVEL REDOX DE LA ALBÚMINA EN EL LÍQUIDO CEFALORRAQUÍDEO**

57 Resumen:

Método de diagnóstico in vitro de la enfermedad de Alzheimer basado en el nivel redox de la albúmina en el líquido cefalorraquídeo.

La presente invención se refiere a un método de diagnóstico in vitro de la enfermedad de Alzheimer (EA), que comprende las etapas de: a) determinar en una muestra de líquido cefalorraquídeo (LCR) el contenido de mercaptoalbúmina (HMA); y b) comparar el contenido determinado con el contenido de HMA en LCR de sujetos sanos. Si el contenido de HMA es menor que el de los sujetos sanos es indicativo de la EA.

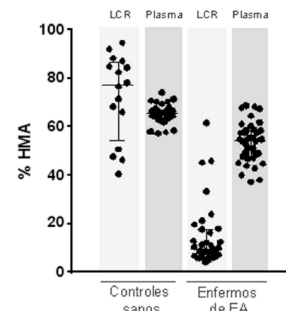


Fig. 1

**DESCRIPCIÓN**

Método de diagnóstico *in vitro* de la Enfermedad de Alzheimer basado en el nivel redox de la albúmina en el líquido cefalorraquídeo

5

La presente invención se refiere al sector del diagnóstico clínico, y en particular se refiere a un método para el diagnóstico *in vitro* de la Enfermedad de Alzheimer (EA) basado en la determinación del nivel redox de la albúmina en el líquido cefalorraquídeo (LCR), en particular del contenido de mercaptoalbúmina (HMA), que es la forma reducida de la albúmina que tiene la cisteína Cys-34 en forma de grupo tiol libre.

10

La EA es una enfermedad neurodegenerativa progresiva que se caracteriza en su forma típica por una pérdida de la memoria inmediata y de otras capacidades mentales (tales como las capacidades cognitivas superiores), a medida que mueren las neuronas y se atrofian diferentes zonas del cerebro. La enfermedad suele tener una duración media aproximada después del diagnóstico de 10 años, aunque dicha duración puede variar en proporción directa con la severidad de la enfermedad al momento del diagnóstico.

15

La EA es la forma más común de demencia, es incurable y terminal, y aparece con mayor frecuencia en personas mayores de 65 años de edad, aunque también en raros casos puede desarrollarse desde los 40 años.

20

Por lo general, el síntoma inicial es la inhabilidad de adquirir nuevos recuerdos, pero suele confundirse con actitudes relacionadas con la vejez o el estrés. Ante la sospecha de EA, los procedimientos de diagnóstico clínico disponibles en vida del enfermo hasta la fecha se basan en directrices y criterios establecidos por el National Institute of Neurological Disorders and Stroke-Alzheimer's Disease and Related disorders Association (NINCDS-ADRDA) (Mc Khann y otros, 1984), fundamentados básicamente en el juicio clínico según los resultados de tests neuropsicológicos, informes del entorno del enfermo y evaluación neurológica general. El examen neurológico puede incluir también un estudio de imágenes del cerebro (neuroimagen).

25

Actualmente, no existe un método de diagnóstico definitivo de la EA, a excepción del análisis histológico realizado post-mortem al cerebro del paciente.

30

Por otra parte, es conocido que la albúmina humana es una proteína no glicosilada de 66 kDa. Cuantitativamente, es la proteína más importante del plasma sanguíneo y su concentración en el plasma normal se encuentra entre 35 y 50 g/L, constituyendo hasta el 60% del total de las proteínas plasmáticas (Peters T. J.: All About Albumin; Biochemistry, Genetics and Medical Applications. Academic Press, San Diego, 1996). De igual modo, en el LCR la albúmina es también la proteína más abundante, constituyendo alrededor del 67% de las proteínas totales presentando una concentración alrededor de 200 mg/L (Edward J. Thompson, 2005, The roster of CSF proteins, PROTEINS OF THE CEREBROSPINAL FLUID: Analysis and Interpretation in the Diagnosis and Treatment of Neurological Disease, 2nd Ed. London, UK: Elsevier Academic Press.: 13-31).

35

40

La estructura de la albúmina humana consiste en un polipéptido de 585 aminoácidos y aproximadamente un 67% de hélices alfa sin estar presentes hojas beta (Otagiri M., Chuang V.T. Pharmaceutically important pre- and posttranslational modifications of human serum albumin. Biol Pharm Bull 2009; 32:527-534). La albúmina humana contiene 6 residuos de metionina y 35 de cisteína, estos últimos implicados en la formación de 17 enlaces disulfuro. La Cys-34 es la única cisteína libre en toda la molécula. La albúmina humana presenta

funciones antioxidantes específicas debido a su capacidad de unión a múltiples ligandos y propiedades de captura de radicales, ambas estrechamente relacionadas con su estructura.

5 Aunque existen muchas posibilidades de oxidación de la albúmina, la Cys-34 es un sitio particularmente sensible a la oxidación/reducción. Por lo tanto, en general, es legítimo hablar del estado redox de la albúmina en términos de Cys-34. Mediante la separación cromatográfica de la albúmina, se obtienen tres fracciones según el estado redox de la Cys-34 (Peters, 1996 citado anteriormente):

- 10 (i) la forma reducida con la cisteína en forma de grupo tiol libre, denominada mercaptoalbúmina humana (HMA);
- (ii) la forma oxidada con la cisteína formando un enlace disulfuro con un compuesto pequeño que contenga un grupo tiol, principalmente cisteína o cisteinilglicina, aunque también con homocisteína y glutatión, denominada no mercaptoalbúmina humana 1 (HNA1); y
- 15 (iii) la forma más oxidada con la cisteína como ácido sulfínico o sulfónico, denominada no mercaptoalbúmina humana 2 (HNA2).

En una persona sana saludable, aproximadamente el 61-69% de la albúmina total en plasma se encuentra en forma de HMA, el 27-35% en forma de HNA1 y el 3-5% en forma de HNA2 (Oetl K., y otros. Oxidative damage of albúmina in advanced liver disease. *Biochim Biophys. Acta* 2008; 1782: 469-473; Oetl K. y Marsche G. Redox State of Human Serum Albumin in Terms of Cysteine-34 in Health and Disease. *Methods Enzymol.* 2010; 20 474:181-95; y Oetl K. y otros. Oxidative albúmina damage in chronic liver failure: relation to albúmina binding capacity; liver dysfunction and survival. *J Hepatol*, 2013, 59:978-983). Por lo general, se cree que la oxidación de HMA a HNA1 es reversible, mientras que la oxidación a HNA2 resulta en un proceso irreversible.

25 La albúmina puede sufrir diversas modificaciones estructurales, lo que hace que se modifique su conformación y, por tanto, sus propiedades de unión, así como su estado redox (Oetl, K. y otros, 2010 citado anteriormente).

La presente invención se basa en el descubrimiento sorprendente de que, en pacientes diagnosticados en vida con la EA, el contenido de la forma reducida de la albúmina (HMA) en el líquido cefalorraquídeo (LCR) es muy inferior en comparación con sujetos sanos control de rango de edad equivalente. Este comportamiento no fue observado para el contenido de HMA en el plasma sanguíneo, también comparándolo con sujetos sanos control de rango de edad equivalente. De esta manera, también se puede decir que se ha descubierto que en pacientes diagnosticados en vida con la EA, la diferencia o cociente entre el nivel de HMA en el LCR y en el plasma está aumentada en comparación con la misma diferencia en sujetos sanos control de rango de edad equivalente. Por tanto, los dos marcadores mencionados anteriormente, es decir el contenido de HMA en el LCR y la diferencia o cociente entre el nivel de HMA en el LCR y el plasma, son útiles para el diagnóstico de la EA.

30

35

Tal y como se ha comentado anteriormente, el test diagnóstico definitivo para la EA debe realizarse post-mortem, por lo que el diagnóstico en vida se basa en el juicio clínico según los resultados de test neurológicos, informes del entorno del enfermo y evaluación neurológica general. Así pues, el test de la presente invención representa una herramienta de diagnóstica objetiva, cuantificable, fácilmente interpretable, fiable, reproducible entre distintos centros diagnósticos, de relativo bajo coste y no influenciada por aspectos culturales, como por ejemplo el nivel educacional del paciente, como ocurre con ciertos test neuropsicológicos.

40

Tal como se utiliza en el presente documento "sujeto sano" y su plural, se refieren a sujetos que no padecen la EA.

Por lo tanto, la presente invención, en un primer aspecto, se refiere a un método de diagnóstico *in vitro* de la enfermedad de Alzheimer (EA), que comprende las siguientes etapas:

- 5
- a) determinar en una muestra de líquido cefalorraquídeo (LCR) humano de un paciente el contenido de mercaptoalbúmina (HMA); y
  - b) comparar el contenido determinado en a) con el contenido de HMA en LCR en sujetos sanos.

10 En una realización preferente, en la etapa b) del método de la presente invención si el contenido de HMA determinado en la etapa a) es menor al de los sujetos sanos, es indicativo de la EA, más preferentemente, el paciente se diagnostica con la EA.

15 En una realización preferente, tanto el paciente como los sujetos sanos mencionados anteriormente son seres humanos, más preferentemente seres humanos adultos.

20 En otra realización preferente, el contenido de HMA en LCR se mide mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) y detección por fluorescencia (FLD) utilizando como longitudes de onda de excitación y emisión 280 y 340 nm respectivamente, en base a la metodología descrita por Oettl K., 2010 (supra). La cuantificación de HMA se realiza teniendo en cuenta la altura del pico de interés obtenido en el correspondiente cromatograma.

25 El valor de corte, determinado mediante el cálculo de la curva ROC tras ajustar a valores máximos los porcentajes de sensibilidad (91%) y especificidad (100%), por debajo del cual se considera que el contenido de HMA medido en la etapa a) es indicativo de la EA y/o que conduce al diagnóstico de la EA en el paciente es, preferentemente, del 37% (p/v).

En una segunda realización la presente invención se refiere a un método de diagnóstico *in vitro* de la enfermedad de Alzheimer (EA), que comprende las siguientes etapas:

- 30
- a) determinar el contenido de mercaptoalbúmina (HMA) en una muestra de líquido cefalorraquídeo (LCR) y una muestra de sangre o plasma de un paciente;
  - b) determinar una diferencia o cociente entre el contenido de HMA en la muestra de LCR y el contenido de HMA en la muestra de sangre o plasma determinados en la etapa a); y
  - c) comparar la diferencia o cociente determinada en la etapa b) con la correspondiente diferencia o cociente en sujetos sanos.
- 35

40 En la etapa b) del método de acuerdo con esta segunda realización, se contempla que la diferencia determinada sea: la diferencia entre el contenido de HMA en la muestra de LCR y el contenido de HMA en la muestra de sangre o plasma determinados en la etapa a); o la diferencia entre el contenido de HMA en la muestra de sangre o plasma y el contenido de HMA en la muestra de LCR determinados en la etapa a). En una realización preferente, en la etapa b) se determina la diferencia entre el contenido de HMA en la muestra de LCR y el contenido de HMA en la muestra de sangre o plasma determinados en la etapa a) en forma de cociente (valor de HMA en plasma/valor de HMA en LCR).

5 Cuando en la etapa b) se determina la diferencia entre el contenido de HMA en la muestra de LCR y el contenido de HMA en la muestra de sangre o plasma determinados en la etapa a), en una realización preferente, en la etapa c) del método de la presente invención si la diferencia determinada en la etapa b), tal como por ejemplo, el cociente del valor de HMA en plasma / valor de HMA en LCR (HMA plasma/HMA LCR) es mayor al de los

10 sujetos sanos, es indicativo de la EA, más preferentemente, el paciente se diagnostica con la EA. En caso de que la diferencia determinada sea otra, el experto en la materia realizará las adaptaciones necesarias al método de la presente invención (por ejemplo, en relación con la comparación con el correspondiente valor de la diferencia en sujetos sanos).

10 Adicionalmente, y de forma preferente, la muestra de sangre o plasma es una muestra de plasma.

En una realización preferente, tanto el paciente como los sujetos sanos mencionados anteriormente son seres humanos, más preferentemente seres humanos adultos.

15 En otra realización preferente, el contenido de HMA en LCR se mide mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) y detección por fluorescencia (FLD) utilizando como longitudes de onda de excitación y emisión 280 y 340 nm respectivamente, en base a la metodología descrita por Oettl K., 2010 (supra). La cuantificación de HMA se realiza teniendo en cuenta la altura del pico de interés obtenido en el correspondiente cromatograma.

20 El valor de corte, determinado mediante el cálculo de la curva ROC tras ajustar a valores máximos (100%) los porcentajes de sensibilidad y especificidad, a partir del cual se considera que la diferencia determinada en la etapa b), tal como por ejemplo, el cociente del valor de HMA en plasma / valor de HMA en LCR (HMA plasma/HMA LCR) es indicativa de la EA y/o que conduce al diagnóstico de la EA en el paciente es, preferentemente, es de 1,1.

25 Para una mejor comprensión, la presente invención se describe en más detalle a continuación en referencia a las figuras adjuntas, que se presentan a título de ejemplo, y en referencia a ejemplos ilustrativos y no limitativos.

30 La figura 1 muestra la cantidad de HMA, por medio de la altura del pico de la HMA (en porcentaje), obtenido para muestras de plasma y LCR de controles (sujetos sanos, de acuerdo a lo definido anteriormente) y de pacientes con la EA. En el eje de ordenadas (eje "y") se muestra la altura del pico de la HMA (en porcentaje) y en el eje de abscisas (eje "x") se muestra el grupo (a la izquierda los controles sanos y a la derecha los enfermos de EA). Adicionalmente, para cada uno de los grupos, a la izquierda se muestran los resultados obtenidos para las

35 muestras de LCR y a la derecha los resultados obtenidos para las muestras de plasma.

Es evidente para un experto en la materia que si el contenido de HMA en LCR en pacientes que presentan la EA es inferior al contenido de HMA en LCR de pacientes sanos, el contenido de las dos fracciones restantes de albúmina según el estado redox de la Cys-34, es decir, de la HNA1 y/o de la HNA2, también se verá afectado y

40 puede servir también como indicativo de la EA.

EJEMPLO

Ejemplo 1. Estudio del diagnóstico de la enfermedad de Alzheimer midiendo el contenido de HMA en LCR o la diferencia entre dicho contenido y el contenido de HMA en plasma.

5

En el marco de un estudio multicéntrico, aleatorizado, a ciegas, controlado en 42 pacientes que estaban siendo tratados con albúmina terapéutica y que fueron diagnosticados con EA de leve a moderada, se realizó el presente estudio para analizar el contenido de HMA en LCR y la diferencia entre dicho contenido y el contenido de HMA en plasma.

10

Para ello se midió el contenido de HMA en muestras basales (antes del inicio del estudio clínico) de los pacientes mencionados anteriormente, tanto en LCR (N=34) como en plasma (N=37), además de en LCR (N=16) y plasma (N=37) de sujetos sanos. Las muestras mencionadas anteriormente, en todos los casos se obtuvieron mediante punción lumbar en el caso del LCR y mediante extracción de sangre y posterior separación del plasma, en el caso de las muestras plasmáticas, siempre siguiendo los procedimientos médicos estándar establecidos para este fin.

15

Las muestras de LCR y plasma mencionadas fueron alicuotadas y congeladas a una temperatura igual o menor a -70°C inmediatamente tras su extracción. Previamente al análisis del contenido en HMA, las muestras fueron descongeladas a temperatura ambiente y en el caso de las muestras de plasma, la concentración de albúmina fue determinada por inmunonefelometría u otro método equivalente. El contenido de HMA se midió directamente en las muestras de LCR mientras que las muestras de plasma se diluyeron hasta una concentración inferior a 10 mg/ml en tampón fosfato pH 6,87. Seguidamente se procedió al análisis de las formas oxidadas de la albúmina por HPLC-FLD, tal como se ha descrito anteriormente.

20

Los resultados obtenidos aparecen resumidos en la figura 1. Tal como se puede observar en dicha figura, los pacientes con EA presentan una gran disminución en el contenido de HMA en LCR en comparación con los sujetos sanos, mientras que en plasma la disminución es ligeramente menor. De lo anterior se deduce no solo el potencial diagnóstico del contenido de HMA en LCR sino también de la diferencia entre dicho contenido y el contenido de HMA en plasma.

30

La mediana del contenido de HMA obtenido para los pacientes con EA en LCR es del 9,6%, mientras que la mediana del contenido en plasma es del 54,1%, siendo el cociente de (HMA plasma/HMA LCR) de 5,64. Para los sujetos sanos en cambio, la mediana del contenido de HMA en LCR es del 77,4% y la de plasma del 65,6%, siendo el cociente (HMA plasma/HMA LCR) de 0,85.

35

**REIVINDICACIONES**

1. Método de diagnóstico *in vitro* de la enfermedad de Alzheimer (EA), que comprende las siguientes etapas:
- a) determinar en una muestra de líquido cefalorraquídeo (LCR) el contenido de mercaptoalbúmina (HMA); y
  - b) comparar el contenido determinado en a) con el contenido de HMA en LCR en sujetos sanos.
2. Método de diagnóstico *in vitro*, según la reivindicación 1, caracterizado porque en la etapa b) si el contenido de HMA determinado en la etapa a) es menor al de los sujetos sanos es indicativo de la EA.
3. Método de diagnóstico *in vitro*, según la reivindicación 2, caracterizado porque en la etapa b) si el contenido de HMA determinado en la etapa a) es menor al de los sujetos sanos el paciente se diagnostica con la EA.
4. Método de diagnóstico *in vitro*, según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizado porque el valor de corte de contenido de HMA por debajo del cual se considera que es indicativo de la EA y/o que conduce al diagnóstico de la EA es de 37%.
5. Método de diagnóstico *in vitro*, según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizado porque la muestra proviene de un ser humano.
6. Método de diagnóstico *in vitro*, según la reivindicación 5, caracterizado porque dicho ser humano es un ser humano adulto.
7. Método de diagnóstico *in vitro* de la enfermedad de Alzheimer (EA), que comprende las siguientes etapas:
- a) determinar el contenido de mercaptoalbúmina (HMA) en una muestra de líquido cefalorraquídeo (LCR) y en una muestra de sangre o plasma de un paciente;
  - b) determinar una diferencia o cociente entre el contenido de HMA en la muestra de LCR y el contenido de HMA en la muestra de sangre o plasma determinados en la etapa a); y
  - c) comparar la diferencia o cociente determinada en la etapa b) con la correspondiente diferencia o cociente en sujetos sanos.
8. Método de diagnóstico *in vitro*, según la reivindicación 7, caracterizado porque en la etapa b) se determina la diferencia entre el contenido de HMA en la muestra de LCR y el contenido de HMA en la muestra de sangre o plasma determinados en la etapa a) en forma de cociente del valor de HMA en plasma / HMA en LCR (HMA plasma/HMA LCR).
9. Método de diagnóstico *in vitro*, según la reivindicación 7, caracterizado porque en la etapa c) del método de la presente invención si la diferencia determinada en la etapa b) es mayor al de los sujetos sanos, es indicativo de la EA.
10. Método de diagnóstico *in vitro*, según la reivindicación 9, caracterizado porque en la etapa c) del método de la presente invención si la diferencia determinada en la etapa b) es mayor al de los sujetos sanos el paciente se diagnostica con la EA.

11. Método de diagnóstico *in vitro*, según cualquiera de las reivindicaciones 7 a 10, caracterizado porque el valor de corte del cociente (HMA plasma/HMA LCR) por encima del cual se considera que es indicativo de la EA y/o que conduce al diagnóstico de la EA es de 1,1.

5 12. Método de diagnóstico *in vitro*, según cualquiera de las reivindicaciones 7 a 10, caracterizado porque la muestra de sangre o plasma es una muestra de plasma.

13. Método de diagnóstico *in vitro*, según cualquiera de las reivindicaciones 7 a 10, caracterizado porque la muestra proviene de un ser humano.

10

14. Método de diagnóstico *in vitro*, según la reivindicación 13, caracterizado porque dicho ser humano es un ser humano adulto.



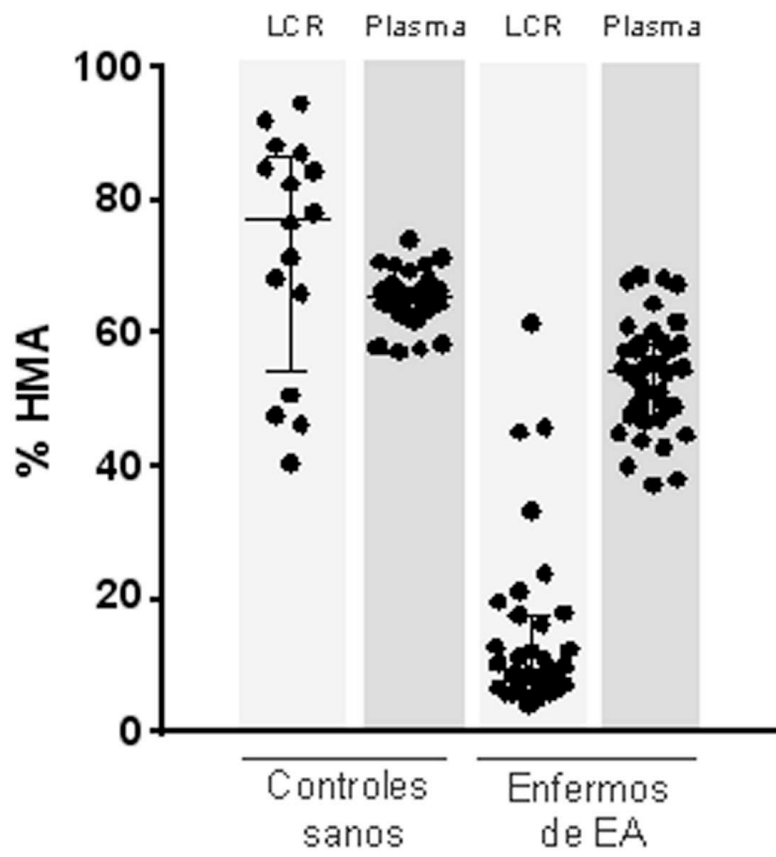


Fig. 1



- ②① N.º solicitud: 201631468  
②② Fecha de presentación de la solicitud: 16.11.2016  
③② Fecha de prioridad:

INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TECNICA

⑤① Int. Cl.: **G01N33/68** (2006.01)

DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	⑤⑥ Documentos citados	Reivindicaciones afectadas
X	WO 2013/024100 A1 (MEDIZ.INISCHE UNIVERSITÄT GRAZ ) 21.02.2013, Resumen, página 7, líneas 34-32, página 8, líneas 1-7 y 24-30, página 10, líneas 6-10, página 14, líneas 7-12, página 15, líneas 1-14, Y reivindicaciones 1-3.	1-3, 5-7 y 12-14
A	LLEWELLYN D., et al. "Serum albumin concentration and cognitive impairment." Curr. Alzheimer Res. (2010), Vol 7(1), pages 91-96. Página 2, líneas 1-6, y página 5, líneas 21-22.	1-14
A	MATSUYAMA Y. et al. "Human astrocytes and aortic endothelial cells actively convert the oxidized form of albumin to the reduced form: reduced albumin might participate in redox regulation of nerve and blood vessel systems." J. Physiol Sci (2009) Vol. 59, paginas 207-215. Todo el documento.	1-14
A	KIM T-S., et al. "Decreased plasma antioxidants in patients with Alzheimer's disease." International Journal of Geriatric Psychiatry (2006) Vol. 21, paginas 344-348. Todo el documento.	1-14

Categoría de los documentos citados

X: de particular relevancia

Y: de particular relevancia combinado con otro/s de la misma categoría

A: refleja el estado de la técnica

O: referido a divulgación no escrita

P: publicado entre la fecha de prioridad y la de presentación de la solicitud

E: documento anterior, pero publicado después de la fecha de presentación de la solicitud

**El presente informe ha sido realizado**

para todas las reivindicaciones

para las reivindicaciones nº:

Fecha de realización del informe  
30.01.2017

Examinador  
M. J. García Bueno

Página  
1/4

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

G01N

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

INVENES, EPODOC, WPI, USPTO PATENT DATABASE, JPO PATENT DATABASE, TXTE, XPESP, NPL, MEDLINE, BIOSIS, EMBASE, PUBMED, GOOGLE PATENTS, GOOGLE SCHOLAR.

Fecha de Realización de la Opinión Escrita: 30.01.2017

#### Declaración

<b>Novedad (Art. 6.1 LP 11/1986)</b>	Reivindicaciones 4, 8-11	<b>SI</b>
	Reivindicaciones 1-3, 5-7 y 12-14.	<b>NO</b>
<b>Actividad inventiva (Art. 8.1 LP11/1986)</b>	Reivindicaciones 4, 8-11	<b>SI</b>
	Reivindicaciones 1-3, 5-7 y 12-14.	<b>NO</b>

Se considera que la solicitud cumple con el requisito de aplicación industrial. Este requisito fue evaluado durante la fase de examen formal y técnico de la solicitud (Artículo 31.2 Ley 11/1986).

#### Base de la Opinión.-

La presente opinión se ha realizado sobre la base de la solicitud de patente tal y como se publica.

**1. Documentos considerados.-**

A continuación se relacionan los documentos pertenecientes al estado de la técnica tomados en consideración para la realización de esta opinión.

Documento	Número Publicación o Identificación	Fecha Publicación
D01	WO 2013/024100 A1 (MEDIZ.INISCHE UNIVERSITÄT GRAZ )	21.02.2013

**2. Declaración motivada según los artículos 29.6 y 29.7 del Reglamento de ejecución de la Ley 11/1986, de 20 de marzo, de Patentes sobre la novedad y la actividad inventiva; citas y explicaciones en apoyo de esta declaración**

La presente solicitud de invención consiste en un método de diagnóstico de la enfermedad del Alzheimer basado en el nivel redox de la albúmina en el líquido cefalorraquídeo.

El documento D01 consiste en un método de diagnóstico basado en el estrés oxidativo.

**1.- PATENTABILIDAD (Art. 4.1 LP).**

Las reivindicaciones 1-14 cumplen con el requisito de patentabilidad según el artículo 4.1 LP.

**2.- NOVEDAD (Art. 6 LP) Y ACTIVIDAD INVENTIVA (Art. 8 LP).****2.1.- Reivindicaciones 1-3, 5-7 y 12-14.**

El documento D01 divulga un método de diagnóstico in vitro de enfermedades relacionadas con el estrés oxidativo donde, primero se determina el contenido de mercaptoalbúmina en una muestra biológica que puede ser líquido cefalorraquídeo, sangre o plasma, y posteriormente, se compara el contenido determinado anteriormente con el contenido de mercaptoalbúmina en sujetos sanos. Dicha enfermedad o condición médica relacionada con el estrés oxidativo puede ser la enfermedad de Alzheimer (ver resumen, página 7, líneas 34-32, página 8, líneas 1-7 y 24-30, página 10, líneas 6-10, página 14, líneas 7-12, página 15, líneas 1-14, y reivindicaciones 1-3).

Por tanto, las características de las reivindicaciones 1-3, 5-7 y 12-14 ya son conocidas del documento D01. Por lo tanto esas reivindicaciones no son nuevas ni implican actividad inventiva según los artículos 6 y 8 LP.

**2.2.- Reivindicaciones 4, 8-11.**

Las reivindicaciones 4, 8-11 se consideran que implican novedad y actividad inventiva en el sentido de los artículos 6 y 8 LP.