

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 670 586**

51 Int. Cl.:

**G01N 33/68** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **25.10.2014 PCT/PL2014/050068**

87 Fecha y número de publicación internacional: **30.04.2015 WO15060739**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **25.10.2014 E 14802222 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **28.02.2018 EP 3060923**

54 Título: **Un método de detectar un episodio inicial de psicosis, en particular uno de carácter esquizofrénico**

30 Prioridad:

**25.10.2013 PL 40577213**

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

**31.05.2018**

73 Titular/es:

**POMORSKI UNIWERSYTET MEDYCZNY W  
SZCZECINIE (100.0%)  
Rybacka 1  
70-204 Szczecin, PL**

72 Inventor/es:

**KUCHARSKA MAZUR, JOLANTA;  
SAMOCHOWIEC, JERZY;  
RATAJCZAK, MARIUSZ;  
TARNOWSKI, MACIEJ y  
DOLEGOWSKA, BARBARA**

74 Agente/Representante:

**ARIAS SANZ, Juan**

**ES 2 670 586 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**

Un método de detectar un episodio inicial de psicosis, en particular uno de carácter esquizofrénico

5 El objeto de la presente invención es un método de detectar un episodio inicial de psicosis evaluando los niveles de suero de un marcador. La presente invención se refiere a un método diagnóstico novedoso que se puede usar en psiquiatría en la detección de cambios en sangre periférica que acompañan un episodio inicial de psicosis, lo que hace posible detectar una alteración psicológica y determinar sus características.

10 La psicosis (del griego *psique* – alma y *osis* – locura) es una anomalía psicológica definida en psiquiatría como una enfermedad durante la cual se produce al menos uno de los siguientes síntomas: alucinaciones, delirios, o trastornos de comportamiento o lingüísticos, que producen una alteración significativa de la evaluación de la realidad, independientemente de la causa de estos síntomas. Las personas en un estado de psicosis con frecuencia están convencidas de la realidad de su experiencia y perciben que funcionan con normalidad.

15 Las psicosis se tratan farmacológicamente. Las predicciones de desenlace dependen del tipo de psicosis. Por esta razón, el éxito terapéutico depende particularmente del diagnóstico correcto de una psicosis, así como una determinación precisa del carácter de un episodio inicial de psicosis determinado en un paciente.

20 A pesar de la investigación profunda en esta dirección, hasta ahora no se han conocido biomarcadores de psicosis eficaces y directos.

25 El fin de la presente invención es proporcionar una prueba de laboratorio objetiva, que podría identificar de forma precisa un episodio inicial de psicosis, y en particular identificar un episodio inicial de psicosis de carácter esquizofrénico. Un fin particular de la presente invención es proporcionar un marcador en suero de característica de un episodio inicial de psicosis.

Inesperadamente, el fin definido anteriormente se ha logrado mediante la presente invención.

30 El objeto de la presente invención es el uso del nivel en suero de C3a, una parte del sistema del complemento, así como el nivel en suero de esfingosina-1-fosfato, como un marcador de un episodio psicótico inicial.

35 El siguiente objeto de la presente invención es el uso de esfingosina-1-fosfato y los números de células madre VSEL Lin-/CD45-/CD34+ como un marcador de un episodio psicótico inicial, uno de carácter esquizofrénico.

40 El siguiente objeto de la presente invención es un método de detectar un episodio inicial de psicosis, en particular uno de carácter esquizofrénico, caracterizado en que una muestra de sangre recogida del paciente se usa para determinar el nivel del contenido de proteína C3a, el nivel de contenido de esfingosina-1-fosfato, así como el nivel de contenido de células madre VSEL Lin-/CD45-/CD34+, en donde un nivel de proteína C3a en suero por debajo de aproximadamente 550 [ng/ml] y un nivel en suero de esfingosina-1-fosfato por debajo de aproximadamente 2,33 [µg/ml] son evidencia de la aparición de un episodio psicótico inicial, mientras que un nivel en suero de esfingosina-1-fosfato por debajo de aproximadamente 2,33 [µg/ml] y números de células madre VSEL Lin-/CD45-/CD34+ por encima de aproximadamente 0,45 [células/µl de sangre periférica] son evidencia de la aparición de un episodio psicótico inicial de carácter esquizofrénico.

45 Según la presente invención, se mostró inesperadamente que un nivel en suero de C3a por debajo de aproximadamente 550 [ng/ml] y un nivel en suero de esfingosina-1-fosfato por debajo de aproximadamente 2,33 [µg/ml] son un marcador de un episodio psicótico inicial, mientras que el nivel en suero de esfingosina-1-fosfato por debajo de aproximadamente 2,33 [µg/ml] y números de células madre VSEL Lin-/CD45-/CD34+ por encima de aproximadamente 0,45 [células/µl de sangre periférica] son un marcador de un episodio psicótico inicial de carácter esquizofrénico.

50 El estado de la técnica existente no describe el papel de las VSEL ni de los factores responsables para su migración en la etiología de un episodio psicótico inicial.

55 En la opinión de los autores de la presente invención, el papel de factores conectados con procesos regenerativos como un enlace potencial con las teorías inmunológica, neurodegenerativa y neuroontológica de esquizofrenia, así como la teoría del glutamato del desarrollo de psicosis. Los resultados obtenidos según la presente invención son, por una parte, evidencia de la existencia de un mecanismo común de iniciar un episodio psicótico inicial, como se evidencia por el papel de esfingosina-1-fosfato en el mismo, independientemente de la etiología, pero también señalan a numerosas diferencias entre psicosis dependiendo de un diagnóstico particular: psicosis esquizofrénica o no esquizofrénica. Los resultados obtenidos inesperadamente muestran que se producen procesos regenerativos intensivos en personas con un episodio inicial de psicosis (en el que las células madre toman parte directamente o mediante interacciones paracrinas). Hasta ahora, durante un episodio inicial de psicosis, no se ha hecho un análisis sistemático de dos sustancias responsables para la migración de células madre (Ratajczak et al. 2010; Ratajczak et al. 2012): la proteína C3a, un elemento de la cascada del complemento, que participa en la respuesta celular

cerebral a factores de lesión (Bitzer-Quintero y González-Burgos 2012; Lettiero et al. 2012), así como esfingosina-1-fosfato, un lisofosfolípido implicado en neurogénesis (Harada et al. 2004; Kimura et al. 2007).

5 La investigación que produjo la presente invención se realizó como parte del proyecto titulado "Métodos innovativos de usar células madre en medicina" POIG.01.01.02-00.109/09 en la Universidad Médica de Pomerania en Szczecin durante los años 2010-2012.

10 Para ilustrar mejor la naturaleza de la presente invención definida anteriormente, su descripción se ha suplementado con las figuras adjuntas, así como las siguientes formas de realización de ejemplo, que no se deben, sin embargo, ver como limitantes de su ámbito.

15 La figura 1 representa un análisis de función discriminadora para ambos grupos experimentales en relación a la identificación de un marcador de una psicosis inicial para un grupo entero de psicosis (independientemente del tipo de psicosis diagnosticada) según la presente invención.

La figura 2 representa un análisis de función discriminadora para ambos grupos evaluados de un marcador de una psicosis inicial de carácter esquizofrénico según la presente invención.

20 La presente invención se explicará mejor mediante las siguientes formas de realización de ejemplo.

Ejemplo 1. Identificación de un marcador de un episodio inicial de psicosis.

#### Metodología de marcaje

25 Se evaluó la morfología usando un analizador hematológico ABX Micros 60 (Horiba). La sangre recogida sobre K<sub>3</sub>EDTA se centrifugó (250g; 10 minutos; 20°C). El suero resultante se transfirió a un tubo nuevo y se congeló a una temperatura de -80°C para investigación adicional.

30 Determinación de esfingosina-1-fosfato usando RP HPLC (cromatografía líquida de alto rendimiento con sistema de fase inversa)

35 El suero se descongeló a temperatura ambiente, y después se suplementó con D-eritro-esfingosina-1-fosfato (S1P C17 - marcador interno), NaCl 1 M y metanol. Esto se mezcló, se suplementó con cloroformo, se mezcló de nuevo y se centrifugó. La fase orgánica más inferior se transfirió a un tubo nuevo. La fase orgánica se suplementó con cloroformo, se mezcló y se centrifugó. Ambas fases orgánicas se combinaron, y se secaron en un centrifuga de vacío.

40 El residuo seco se disolvió en metanol. Se añadió la mezcla de reacción (o-ftalilaldehído, metanol, mercaptoetanol y ácido bórico, pH 10,5), se incubó y centrifugó. El sobrenadante clarificado se transfirió a un tubo nuevo y se analizó usando un cromatógrafo Hewlett Packard Series 1200. Los datos cromatográficos se evaluaron usando el software HP Chemstation (Hewlett Packard, actualmente Agilent).

45 La separación en un sistema de fase inversa (RP-HPLC) se realizó en una columna Cosmosil 5 µm C18-ARII (150 x 4,6) con una precolumna 5 µm C18-ARII (10 x 4,6) (Waters). La temperatura de la columna fue 25°C. Se usó un método isocrático con una fase móvil que consistía de K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 10 mM (pH 5,5) y metanol (15:85; v/v). La velocidad de flujo fue 1 ml/min. Se inyectaron muestras de 50 µl cada 28 minutos. Las longitudes de onda de la detección del derivado S1P fueron 340 nm para excitación y 455 nm para la emisión. La base para los cálculos del contenido de S1P fue el área de superficie del pico en relación al área de superficie del pico del marcador interno. Para identificar picos y para la calibración, se usó una mezcla de los marcadores S1P C17 y S1P C18 (Avanti Polar Lipids) (Blogowski et al., 2013b; Caligan et al., 2000; Egom et al., 2013; Starzynska et al., 2013).

50 Determinación de C3a usando el kit de ELISA de C3a humana (BD OptEIA)

55 Se cargaron pocillos con estándares y sueros diluidos. La placa se incubó y se enjuagó, después se suplementó con un sustrato (TMB), se incubó de nuevo, se suplementó con solución de parada y después se midió la absorbancia (longitud de onda de 450 nm) usando un lector de placas EnVision (Perkin-Elmer) (Blogowski et al., 2012; Blogowski et al., 2013a; Blogowski et al., 2013b; Starzynska et al., 2013).

60 Análisis de sangre usando citometría de flujo

65 Se lisaron muestras de sangre periférica usando el tampón de lisis BD Pharm Lyse (BD Bioscience) a temperatura ambiente durante 10 minutos y después se enjuagó con solución salina fisiológica tamponada con fosfato (PBS) con una adición de suero bovino fetal (SBF; Sigma) al 2% para obtener un conjunto total de células nucleadas (CNT). Las células nucleadas se tiñeron después para marcadores de líneas celulares hematopoyéticas usando anticuerpos conjugados con isotiocianato de fluoresceína (FITC) contra humanos: CD2 (clon RPA-2.10); CD3 (clon UCHT1); CD14 (clon M5E2); CD16 (clon 3G8); CD19 (clon HIB19); CD24 (clon ML5); CD56 (clon NCAM16.2); CD66b (clon

G10F5); y CD235a (clon GA-R2) (todos de BD Bioscience). Las células se tiñeron simultáneamente para un marcador panleucocítico, CD45, con anticuerpos conjugados con ficoeritrina (PE) (clon HI30; BD Biosciences) y para uno de los siguientes antígenos: CD 34 con anticuerpos conjugados con alofococianina (APC) (clon 581; BD Bioscience) o CD 133 (CD133/1, anticuerpos conjugados con APC; Miltenyi Biotec). Además, se usaron controles de isotipo: anticuerpos conjugados con FITC - IgG1 de ratón, κ (clon MOPC-21), IgG2a de ratón, κ (clon G155-178), IgG2b de ratón, κ (clon 27-35); conjugados con PE - IgG1 de ratón, κ (clon MOPC-21) y conjugado con APC - IgG1 de ratón, κ (clon MOPC-21) (todos de BD Bioscience). Como controles de isotipo también se usaron IgG1 de ratón conjugado con APC (clon IS5-21F5, Miltenyi Biotec). La tinción se realizó en PBS con SBF al 2%, en hielo, durante 30 minutos. Las células se enjuagaron después, se resuspendieron en líquido y se analizaron usando un citómetro de flujo NAVIOS (Beckman Coulter). Cada muestra produjo al menos 106 sucesos. El número total de VSEL y HSC se calculó (individualmente por paciente) recalculando para 1 ml de sangre periférica basado en el contenido en porcentaje de estas células observado citométricamente y el número total de glóbulos blancos en 1 ml de sangre periférica. El análisis se realizó usando el software Kaluza (Beckman Coulter) (Paczkowska et al., 2009; Zuba-Surma & Ratajczak 2010).

Grupo de estudio

Los pacientes para el grupo de estudio se inscribieron en el Distrito de Pomerania Occidental de Polonia. Todos estaban hospitalizados en la clínica psiquiátrica SPSK-1 de la Universidad Médica Pomerana en Szczecin. A los pacientes se les dio información escrita sobre el estudio y antes de firmar el formulario de consentimiento, se les respondió a todas sus preguntas respecto al estudio.

El estudio implicó 30 individuos no relacionados con un episodio psicótico inicial diagnosticado (entendido como una psicosis hasta entonces no tratada, durante la que no hubo mejora autóloga e independientemente de su duración). El diagnóstico nosológico se llevó a cabo según los criterios diagnósticos de investigación ICD-10:

- esquizofrenia paranoide (F 20.0) – 11 personas (36,7%)
- esquizofrenia simple (F 20.6) – 1 persona (3,33%)
- alteraciones delirantes persistentes (F 22) – 1 persona (3,33%)
- alteraciones psicóticas polimorfas agudas sin síntomas esquizofrénicos (F 23.0) – 5 personas (16,7%)
- alteraciones psicóticas polimorfas agudas con síntomas esquizofrénicos (F 23.1) – 6 personas (20%)
- alteraciones psicóticas polimorfas agudas similares a esquizofrenia (F 23.2) – 4 personas (13,3%)
- manía con síntomas psicóticos (F 30-2) - 1 persona (3,33%)
- episodio de depresión profunda con síntomas psicóticos (F32.2) - 1 persona (3,33%)

Durante las observaciones posteriores, después del final del estudio y una remisión de los síntomas psicóticos, los últimos dos casos se diagnosticaron con trastornos bipolares afectivos (F31), y por esta razón ambos sujetos se trataron en los cálculos como un episodio inicial de los trastornos bipolares.

El grupo de estudio se dividió en dos subgrupos:

- “esquizofrénico”, en el que se calificaron todas las personas con los diagnósticos F20, F23.1 y F 23.2
- “no esquizofrénico” que contenía todas las personas con los diagnósticos restantes.

Los criterios de exclusión eran:

- falta de consentimiento escrito, consciente para participar en el estudio
- la aparición de trastornos psicológicos orgánicos u otros trastornos I ICD-10 más allá de los diagnósticos indicados anteriormente
- una conexión entre trastornos psicológicos presentes y uso de sustancias psicoactivas, incluyendo alcohol
- enfermedades somáticas serias, en particular las que requieren tratamiento con fármacos
- intolerancia a la glucosa
- enfermedad inflamatoria activa, actual (se excluyeron pacientes basado en experimentos de laboratorio, así como evaluaciones pre-estudio)
- uso, por cualquier razón, de fármacos psicotrópicos en el episodio presente y menos de medio año antes del inicio de episodio.

Las personas del grupo de estudio fueron evaluadas por un psiquiatra especialista. Se mantuvo una entrevista y se realizó una evaluación psiquiátrica estándar, así como una evaluación física y neurológica; también se entrevistó a miembros accesibles de la familia del paciente. La aparición de alteraciones psicológicas diferentes de un episodio inicial de psicosis se excluyó usando el protocolo MINI (Sheehan et al., 1998). Los pacientes también se evaluaron con una escala de síndrome PANSS positiva y negativa (Rzewuska 2002).

Los datos demográficos, entrevistas con la familia, así como los antecedentes de la aparición de síntomas se recogieron a través de anamnesis de enfermedad estandarizado.

Grupo control

5 El grupo control consistía en 35 personas, seleccionadas por edad, sexo, orígenes, indicadores sociodemográficos y masa corporal para corresponder al grupo de estudio, que carecen de diagnósticos del eje I ICD-10 en la actualidad y en su entrevista, y somáticamente sanos.

10 Estas personas fueron evaluadas por un psiquiatra especialista de forma análoga a los miembros del grupo de estudio. Los datos demográficos, entrevistas con la familia, así como los antecedentes de la aparición de síntomas de enfermedad síntomas se recogieron a través de anamnesis de enfermedad estandarizado.

Procedimientos de estudio

15 Se recogió sangre venosa de personas en el grupo de estudio dos veces, una vez inicial en la mañana, antes de la administración de cualquier fármaco antipsicótico, y una segunda vez después del inicio de una mejora clínica después del tratamiento con un neuroléptico, entendido como una remisión de alucinaciones y delirios, así como una reducción de la puntuación en los puntos de la escala PANSS en al menos el 20%. En relación a los pacientes "esquizofrénicos", ninguno de los puntos de la escala PANSS indicados en las características de remisión de esquizofrenia (P1 - delirios, P2 - desorganización cognitiva, P3 - comportamiento alucinatorio, G5 - manierismos y congelación, N1 - aplanamiento del afecto, N4 - pasividad/apatía, N6 - falta de espontaneidad y fluidez en el habla) no pudo superar 3.

25 La sangre se transfirió inmediatamente para análisis posteriores al Laboratorio de la Facultad y Departamento de Fisiología WMU. El día de la recogida de sangre también se realizó una evaluación psiquiátrica, una determinación de escala física, así como psicométrica y pruebas básicas de laboratorio, y se administraron neurolépticos después de la recogida de sangre:

- amisulprida, máx. 80 mg/día, 24 pacientes
- olanzapina, máx. 20 mg/día, 2 pacientes
- 30 • peracina, máx. 600 mg/día, 2 pacientes
- haloperidol, máx. 8/día, 1 paciente
- quetiapina, máx. 600 mg/día, 1 paciente

35 La dosis se determinó basada en la tolerancia de un paciente para el fármaco.

Resultados

Tabla 1. Una comparación de los números de células madre entre los grupos de estudio y control

VSEL [número de células/ $\mu$ l] (media $\pm$ DE)	PG-BT (n=30)	PG-AT (n=30)	SG-BT (n=30)	SG-AT (n=30)	CG (n=30)	P
Lin-/CD45-/CD34+	0,3208 $\pm$ 0,1985	0,2718 $\pm$ 0,1780	0,3326 $\pm$ 0,1879	0,2946 $\pm$ 0,2309	0,1705 $\pm$ 0,1031	*

40 Leyenda:

45 PG - grupo de estudio, SG - grupo "esquizofrénico", CG - grupo control, BT - antes del tratamiento, AT - después del tratamiento.

Se determinaron las siguientes diferencias estadísticamente significativas:

50 \* PG-BT frente a CG ( $p=0,0006$ ), PG-AT frente a CG ( $p=0,001$ ), PG-BT frente a PG-AT ( $p=0,36$ ), SG-BT frente a CG ( $p=0,0005$ ), SG-AT frente a CG ( $p=0,02$ ), NG-AT frente a CG ( $p=0,003$ )

Tabla 2. Comparación del nivel en suero de C3a y esfingosina-1-fosfato en los grupos psicótico y control

	PG-BT (n=30)	PG-AT (n=30)	SG-BT (n=30)	SG-AT (n=30)	CG (n=30)	P
C3a [ng/ml]	499,96 $\pm$ 171,99	561,49 $\pm$ 125,20	494,33 $\pm$ 169,34	562,26 $\pm$ 117,73	591,13 $\pm$ 149,61	*
S1P [ $\mu$ g/ml]	2,32 $\pm$ 0,17	2,31 $\pm$ 0,23	2,30 $\pm$ 0,17	2,27 $\pm$ 0,26	2,45 $\pm$ 0,18	**

55 Leyenda:

PG - grupo de estudio, SG - grupo "esquizofrénico", CG - grupo control, BT - antes del tratamiento, AT - después del tratamiento.

Se determinaron las siguientes diferencias estadísticamente significativas:

\*PG-BT frente a CG ( $p=0,036$ ), ale PG-AT frente a CG ( $p>0,1$ ), SG frente a NG ( $p>0,1$ )  
 \*\*PG-BT frente a CG ( $p=0,0017$ ), PG-AT frente a CG ( $p=0,0067$ ), SG-BT frente a NG-BT ( $p=0,007$ )

En las siguientes figuras se representan análisis de función de discriminación para ambos grupos evaluados:

1) un marcador de una psicosis inicial para el grupo psicótico entero (independientemente del diagnóstico): para  $C3a<550$  [ng/ml] y  $S1P<2,33$  [ $\mu$ g/ml],  $p=0,00004$  OR=9,58.

Este modelo se confirmó usando una regresión logística, el área de la subcurva fue ROC = 0,8378 (Fig. 1).

2) un marcador para un episodio inicial de psicosis para el grupo esquizofrénico: Número de VSEL Lin-/CD45-/CD34+ > 0,45 [células/ $\mu$ l],  $S1P < 2,33$  [ $\mu$ g/ml],  $p = 0,012$ , OR = 1,5.

Este modelo se confirmó usando una regresión logística, el área de la subcurva fue ROC = 0,77 (Fig. 2).

Bibliografía:

Bitzer-Quintero OK, González-Burgos I. Immune system in the brain: a modulatory role on dendritic spine morphophysiology? *Neural Plast* 2012;2012:348642.

Blogowski W, Budkowska M, Sałata D, Serwin K, Dołęgowska B, Łokaj M, Prowans P, Starzyńska T. Clinical analysis of selected complement-derived molecules in human adipose tissue. *Journal of Translational Medicine* 2013 a;11:11.

Blogowski W, Dolegowska B, Budkowska M, Sałata D, Domanski L, Starzynska T. Perioperative release of pro-regenerative biochemical signals from human renal allografts subjected to ischemia-reperfusion injury. *Innate Immunity* 2013 b Abr 22. [Epub antes de la impresión]

Blogowski W, Dolegowska B, Sałata D, Budkowska M, Domański L, Starzyńska T. Clinical analysis of perioperative complement activity during ischemia/reperfusion injury following renal transplantation. *Clinical Journal of American Society of Nephrology* 2012;7(11):1843-51.

Caligan TB, Peters K, Ou J, Wang E, Saba J, Merrill AH Jr. A high-performance liquid chromatographic method to measure sphingosine 1-phosphate and related compounds from sphingosine kinase assays and other biological samples. *Analytical Biochemistry* 2000;281(1):36-44.

Egom EE, Mamas MA, Chacko S, Stringer SE, Charlton-Menys V, El-Omar M, Chirico D, Clarke B, Neyses L, Cruickshank JK, Lei M, Fath-Ordoubadi F. Serum sphingolipids level as a novel potential a marker of for early detection of human myocardial ischaemic injury. *Frontiers in Physiology* 2013;4:130.

Harada J, Foley M, Moskowitz MA, Waeber C. Sphingosine-1-phosphate induces proliferation and morphological changes of neural progenitor cells. *J Neurochem* 2004;88(4):1026-39.

Kimura A, Ohmori T, Ohkawa R, Madoiwa S, Mimuro J, Murakami T, Kobayashi E, Hoshino Y, Yatomi Y, Sakata Y. Essential roles of sphingosine 1-phosphate/S1P1 receptor axis in the migration of neural stem cells toward a site of spinal cord injury. *Stem Cells*. 2007;25(1):115-24.

Klasyfikacja zaburzeń psychicznych and zaburzeń zachowania w ICD-10, Badawcze kryteria diagnostyczne, Uniwersyteckie Wydawnictwo Medyczne Vesalius, Instytut Psychiatrii and Neurologii, Kraków-Warszawa, 1998.

Lettiero B, Andersen AJ, Hunter AC, Moghimi SM. Complement system and the brain: Selected pathologies and avenues toward engineering of neurological nanomedicines. *J Control Release* 2012;161(2) :283 -9.

Paczkowska E, Kucia M, Koziarska D, Halasa M, Safranow K, Masiuk M, Karbicka A, Nowik M, Nowacki P, Ratajczak MZ, Machalinski B. Clinical evidence that very small embryonic-like stem cells are mobilized into peripheral blood in patients after stroke. *Stroke* 2009;40:1237-44.

Ratajczak MZ, Lee H, Wysoczynski M, Wan W, Marlicz W, Laughlin MJ, Kucia M, Janowska-Wieczorek A, Ratajczak J. Novel insight into stem cell mobilization-plasma sphingosine-1-phosphate is a major chemoattractant that directs the egress of hematopoietic stem progenitor cells from the bone marrow and its level in peripheral blood increases during mobilization due to activation of complement cascade/membrane attack complex. *Leukemia*. 2010;24(5):976-85.

- 5 Ratajczak MZ, Borkowska S, Ratajczak J. An emerging link in stem cell mobilization between activation of the complement cascade and the chemotactic gradient of sphingosine-1-phosphate. *Prostaglandins Other Lipid Mediat.* 2013;104-105:122-9
- 10 Rzewuska M. Validity and reliability of the Polish version of the Positive and Negative Syndrome Scale (PANSS). *International Journal of Methods in Psychiatric Research* 2002;11:27-32.
- 15 Sheehan DV, Lecrubier Y, Sheehan KH, Amorim P, Janavs J, Weiller E, Hergueta T, Baker R, Dunbar GC. The Mini-International Neuropsychiatric Interview (M.I.N.I.): the development and validation of a structured diagnostic psychiatry interview for DSM-IV and ICD-10. *The Journal of Clinical Psychiatry* 1998;59 Supl 20:22-33;quiz 34-57.
- Starzynska T, Dabkowski K, Blogowski W, Zuba-Surma E, Budkowska M, Salata D, Dolegowska B, Marlicz W, Lubikowski J, Ratajczak MZ. An intensified systemic trafficking of bone marrow-derived stem/progenitor cells in patients with pancreatic cancer. *Journal of Cellular and Molecular Medicine* 2013;17(6):792-9.
- Zuba-Surma EK, Ratajczak MZ. Overview of very small embryonic-like stem cells (VSEL) and methodology of their identification and isolation by flow cytometric methods. *Current protocols in cytometry* 2010; Capítulo 9: Unidad9, 29.

**REIVINDICACIONES**

1. El uso del nivel en suero de C3a, un componente de la cascada del complemento, así como el nivel en suero de esfingosina-1-fosfato, como un marcador de un episodio psicótico inicial.  
5
2. El uso de esfingosina-1-fosfato y el número de células madre VSEL Lin-/CD45-/CD34+ como un marcador de un episodio psicótico inicial de carácter esquizofrénico.
3. Un método de detectar un episodio inicial de psicosis, en particular uno de carácter esquizofrénico, **caracterizado en que** el nivel del contenido de la proteína C3a, el nivel del contenido de esfingosina-1-fosfato y posiblemente el nivel del contenido de células madre VSEL Lin-/CD45-/CD34+ se determinan en una muestra de sangre de un paciente, en donde un nivel en suero de la proteína C3a por debajo de 550 [ng/ml] y un nivel en suero de esfingosina-1-fosfato por debajo de 2,33 [µg/ml] son evidencia de la aparición de un episodio psicótico inicial, mientras que en particular el nivel en suero de esfingosina-1-fosfato por debajo de 2,33 [µg/ml] y el nivel del contenido de células madre VSEL Lin-/CD45-/CD34+ por encima de 0,45 [células/µl de sangre periférica] son evidencia de la aparición de un episodio psicótico inicial de carácter esquizofrénico.  
10  
15



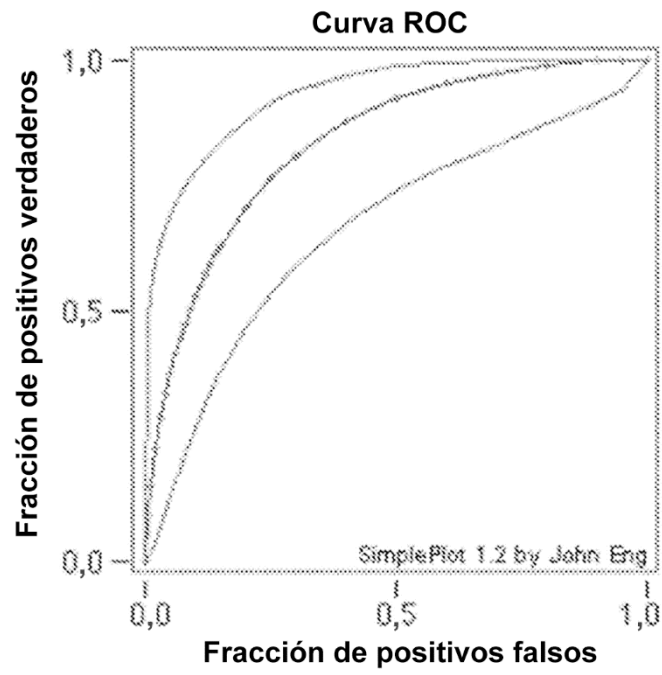


Fig. 1

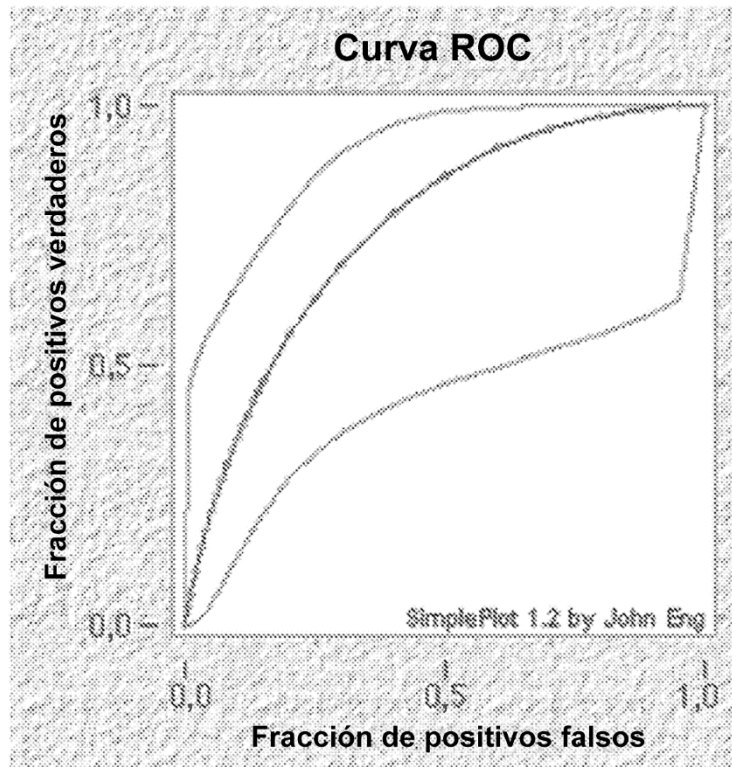


Fig. 2