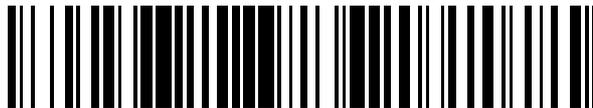


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 386 612**

21 Número de solicitud: 201130086

51 Int. Cl.:

C12Q 1/52 (2006.01)

12

PATENTE DE INVENCION CON EXAMEN PREVIO

B2

22 Fecha de presentación:

25.01.2011

43 Fecha de publicación de la solicitud:

23.08.2012

Fecha de la concesión:

29.07.2013

45 Fecha de publicación de la concesión:

08.08.2013

73 Titular/es:

**UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE
COMPOSTELA (33.3%)
Edificio EMPRENDIA - Campus Vida
15782 Santiago de Compostela (A Coruña) ES;
SERVIZO GALEGO DE SAÚDE (SERGAS) (33.3%)
y
FUNDACIÓN PARA LA INVESTIGACIÓN,
DESARROLLO E INNOVACIÓN DEL COMPLEJO
HOSPITALARIO UNIVERSITARIO DE SANTIAGO
(IDICHUS) (33.3%)**

72 Inventor/es:

**CASTILLO SÁNCHEZ, José;
SOBRINO MOREIRAS, Tomás;
RAMOS CABRER, Pedro;
CAMPOS PÉREZ, Francisco;
AGULLA FREIRE, Jesús y
ARGIBAY GONZÁLEZ, Bárbara**

74 Agente/Representante:

TORRENTE VILASÁNCHEZ, Susana

54 Título: **PROCEDIMIENTO DE PRONÓSTICO DE LA ISQUEMIA CEREBRAL.**

57 Resumen:

Procedimiento de pronóstico de la isquemia cerebral. La invención se basa en la observación de paciente y análisis de variables. Establece un nuevo marcador de pronóstico basado en la determinación de los niveles de las enzima glutamato piruvato transaminasa (GPT).

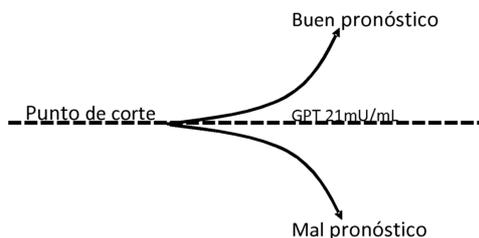


Figura 1

ES 2 386 612 B2

DESCRIPCIÓN

Procedimiento de pronóstico de la isquemia cerebral

Sector de la técnica

5 La presente invención se enmarca en el campo de la medicina para pronosticar el riesgo de isquemia cerebral.

Antecedentes

10 El ictus es una de las principales causas de muerte en los países desarrollados que además puede generar una gran incapacidad, tanto por el grado de dependencia de los supervivientes como por afectar a muchas personas en edad laboral. Menos de la mitad de los pacientes que sufren infarto cerebral son capaces de retomar una vida normal (la prevalencia de recuperación incompleta es de 460/1000 supervivientes). Estos enfermos demandan cuidados que han de ser suplidos por su familia, lo que repercute en la calidad de vida del paciente y sus cuidadores, o por instituciones públicas y privadas, lo que conlleva una importante inversión económica.

15 El ictus tiene dos causas principales: la obstrucción trombótica de un vaso sanguíneo (ictus isquémico que da cuenta del 80% de los casos) y la hemorragia (ictus hemorrágico, por rotura de vasos, que da cuenta del 20% restante). Los síntomas del ictus (pérdida de fuerza en la mitad del cuerpo, dificultad para hablar o entender, pérdida parcial de la visión y vértigo, entre otros) aparecen de forma brusca. Sin embargo, ha de transcurrir un tiempo hasta que se produce la lesión cerebral por muerte neuronal. Este tiempo es la "ventana terapéutica", en la que los neurólogos deben evitar la muerte neuronal en la parte del cerebro donde se produjo el infarto o la hemorragia.

20 El cerebro es un órgano con un alto contenido de glutamato, el más importante de los neurotransmisores excitatorios. El glutamato resulta de vital importancia para el correcto funcionamiento del sistema nervioso, sin embargo, sus propiedades exciatorias lo convierten en una sustancia altamente deletérea para las neuronas en situaciones en las que su concentración alcanza niveles elevados ($< 200 \mu\text{M}$), y la isquemia cerebral es un claro ejemplo de este efecto. Durante un episodio de isquemia cerebral, se produce una alta liberación de glutamato en el medio extracelular del tejido cerebral, lo que desencadena una serie de eventos moleculares que conducen a la muerte neuronal. En

consecuencia, debido al importante papel que juega el glutamato durante el episodio de isquemia, lo convierte en una buena diana para la búsqueda de nuevos agentes neuroprotectores para el ictus isquémico.

La escasa terapia existente para el tratamiento de esta enfermedad hace necesario
5 desarrollar nuevas terapias que puedan ser aplicables al mayor número posible de pacientes, así como métodos de pronóstico que permitan intervenir o tratar con mayor eficacia al paciente tras la isquemia cerebral.

Descripción de la invención

10 La presente invención aporta un procedimiento pronóstico de isquemia cerebral basado en un nuevo marcador pronóstico.

La invención se basa en la observación de pacientes que presentaban un episodio de ictus isquémico con menos de 12 horas desde el comienzo de los síntomas. La invención demuestra que pacientes con concentraciones elevadas de la enzima
15 glutamato piruvato transaminasa (GPT) presentan buen pronóstico después de un episodio de isquemia cerebral; por el contrario, pacientes con concentraciones bajas de GPT presentan un mal pronóstico después de un episodio de isquemia cerebral, evolucionan peor.

Por lo tanto, los niveles de GPT son un factor relevante para pronosticar la evolución de
20 un paciente con isquemia cerebral, y así la invención proporciona un procedimiento para su pronóstico estableciendo un punto de corte de los valores de GPT.

Una ventaja adicional de la invención, supone que disponer de los niveles de GPT como
25 marcador útil para determinar si un paciente tendrá un buen o mal pronóstico, permitirá estratificar los pacientes, de forma que aquellos pacientes con mal pronóstico serán candidatos a recibir terapias más agresivas que aquellos con buen pronóstico.

De este modo, en un aspecto la invención se dirige a un procedimiento para pronosticar la isquemia cerebral, que comprende:

i) medir en una muestra de sangre de un paciente la concentración de la enzima
30 glutamato piruvato transaminasa (GPT), y

ii) comparar la concentración de GPT con el valor de punto de corte establecido,

de forma que cuando la concentración de GPT sea superior o igual al valor del punto de corte, entonces el paciente presenta una predisposición favorable para un buen pronóstico, y cuando la concentración de GPT sea inferior al valor del punto de corte el paciente presenta una predisposición favorable para un mal pronóstico (Figura 1).

En otro aspecto, la invención se dirige a un procedimiento para pronosticar la isquemia cerebral, que comprende:

i) medir en una muestra de un paciente la concentración de GPT y otro marcador de isquemia cerebral,

ii) comparar la concentración de GPT y del otro marcador con el valor de punto de corte establecido,

de forma que cuando las concentraciones GPT y el otro marcador de isquemia cerebral sean superiores o iguales al valor del punto de corte, entonces el paciente presenta una predisposición favorable para un buen pronóstico, y cuando las concentraciones de GPT y el otro marcador de isquemia cerebral sean inferiores al valor del punto de corte el paciente presenta una predisposición favorable para un mal pronóstico.

En un aspecto particular, el valor del punto de corte establecido para la GPT es de 21 mU/mL, con una sensibilidad de 43% y una especificidad del 74%, determinado mediante un análisis estadístico de los datos obtenidos por observación de pacientes (área de la curva ROC 0.594, $p > 0.002$).

Niveles de GPT superiores o iguales a 21 mU/ml predicen buen pronóstico funcional.

En la presente invención se entiende por “buen pronóstico” una puntuación en la Escala de Rankin Modificada menor o igual a 2, a los 3 meses de evolución. Definiéndose la Escala de Rankin Modificada como la escala que evalúa la situación funcional del paciente. Esta escala va de 0-6, siendo 0 un paciente sin ninguna discapacidad funcional y 6 es indicativo de muerte. El punto de corte de menor o igual a 2 en esta Escala de Rankin nos indica que el paciente es independiente.

Niveles de GPT inferiores a 21 mU/ml predicen mal pronóstico funcional.

En la presente invención se entiende por “mal pronóstico” una puntuación en la Escala de Rankin Modificada superior a 2, a los 3 meses de evolución. Indica que el paciente vivirá sin independencia física con riesgo de muerte.

En otro aspecto particular, el paciente sufrió previamente un episodio de ictus isquémico.

Descripción detallada de la invención

Para la presente invención se entiende por “pronosticar” procedimientos mediante los cuales los expertos en la técnica pueden predecir el curso o resultado de una afección en un paciente. Se entiende que “buen pronóstico” se refiere a un aumento en la probabilidad de que una afección evolucione de forma favorable permitiendo la recuperación del paciente. En este sentido, el valor de un marcador de buen pronóstico asociado a la patología de ictus isquémico permite determinar la probabilidad de que un paciente evolucione con buen o mal pronóstico.

En la invención se entiende por “muestra de un paciente” a una muestra obtenida de un mamífero con el propósito de diagnóstico o pronóstico o evaluación, en un procedimiento in vitro. En un aspecto particular, la muestra del paciente es una muestra de sangre o suero. En otro aspecto particular, el paciente es humano.

Para la presente invención se entiende por “terapias agresivas” aquellas que suponen un riesgo sobre el paciente sobre el que se aplique, pero que en el caso de los pacientes con mal pronóstico, la probabilidad de éxito en la aplicación de estas técnicas es mayor que si no se realizara. Son terapias agresivas, por ejemplo, la técnica de neurointervencionismo que consiste en una intervención quirúrgica en la que se introduce un catéter a través de la arteria femoral hasta llegar al lugar del trombo para eliminarlo, lo que supone un riesgo para el paciente por la complejidad de la técnica.

La enzima glutamato piruvato transaminasa (GPT) es una enzima que normalmente está presente en las células del hígado y del corazón y es liberada en la sangre cuando estos órganos están dañados, con variaciones significativas entre sujetos (Lin, J.D., et al., Serum glutamic-oxaloacetic transaminase (GOT) and glutamic-pyruvic transaminase (GPT) levels in children and adolescents with intellectual disabilities. Res Dev Disabil. **31**(1): p. 172-7; Ladue, J.S., F. Wroblewski, and A. Karmen, Serum glutamic oxaloacetic transaminase activity in human acute transmural myocardial infarction. Science, 1954. **120**(3117): p. 497-9);

La enzima GPT, fue purificada por primera vez en 1945 (Sakagishi Y. [Alanine aminotransferase (ALT)]. Nippon Rinsho. 1995 May;53(5):1146-50). Esta enzima está ampliamente distribuida en los animales por diversos tipos de tejidos, principalmente

hígado, riñón y músculo esquelético y cardíaco. Existen dos isoformas de esta encima, la isoforma c-GPT presente en el citoplasma y la isoforma m-GPT localizada en la mitocondria. Por su localización la isoforma c-GPT está implicada en la utilización del piruvato en la glicólisis, y la isoforma m-GPT se asocia principalmete a la conversión
5 de alanina a piruvato por la gluconeogénesis (Sakagishi Y. [Alanine aminotransferase (ALT)]. Nippon Rinsho. 1995, May;53(5):1146-50).

La GPT metaboliza la conversión de piruvato y glutamato a alanina y α -cetogluturato. La GPT puede actuar en sentido inverso a la reacción dependiendo de la concentración de los sustratos (glutamato+piruvato \rightleftharpoons alanina+ α -cetogluturato), por este motivo esta
10 enzima también se le conoce con el nombre de alanina transaminasa (ALT)

En situaciones de isquemia cerebral los niveles de glutamato en sangre alcanzan niveles muy superiores a los niveles normales, lo que hace que la reacción de la enzima quede desplazada hacia la formación de alanina+ α -cetogluturato, induciendo la reducción de los niveles de glutamato en sangre.
15

La cuantificación de la enzima GPT en sangre y junto con otro marcador asociado al pronóstico, permite predecir con una mayor probabilidad de acierto el buen o mal pronóstico del paciente isquémico.

20 En una realización particular, el otro marcador de pronóstico es la enzima glutamato oxalacetato transaminasa (GOT).

En un aspecto particular, el valor del punto de corte establecido para la GOT es de 24 mU/mL, con una sensibilidad de 91% y una especificidad del 83%, determinado mediante un análisis estadístico de los datos obtenidos por observación de pacientes
25 (área de la curva ROC 0.802, (p>0.001). El valor del punto de corte establecido para la GPT es de 21 mU/mL, con una sensibilidad de 43% y una especificidad del 74%, determinado mediante un análisis estadístico de los datos obtenidos por observación de pacientes (área de la curva ROC 0.594, (p>0.002) (Figura 2).

Niveles de GOT superiores o iguales a 24 mU/ml, y niveles de GPT superiores o iguales
30 a 21 mU/ml predicen buen pronóstico funcional. Por el cotrario niveles de GOT inferiores a 24 mU/ml y niveles de GPT inferiores a 21 mU/ml predicen mal pronóstico funcional.

Los siguientes ejemplos son útiles para ilustrar la invención y no deben de interpretarse como una limitación de la misma.

Descripción de las figuras

Figura 1. Muestra el punto de corte en la cuantificación de GPT.

- 5 Figura 2. Muestra el punto de corte en la cuantificación de GPT y GOT.

Ejemplos

Estudio poblacional y características de los pacientes

- Entre los meses de febrero de 2009 y agosto del 2009, 155 pacientes con un episodio de ictus isquémicos con menos de 12 horas desde el comienzo de los síntomas fueron prospectivamente evaluados para determinar su posible inclusión en el estudio. 10 Pacientes con ictus al despertar (n=16), pacientes con dependencia (n=7), pacientes daño hepático (n=3), pacientes con daño renal (n=2), pacientes con enfermedades hematológicas (n=1), cáncer (n=3), y pacientes incluidos en algún estudio clínico (n=7) 15 fueron excluidos. Además, 4 pacientes no aceptaron ser incluidos en el estudio y el seguimiento de 1 paciente se perdió durante el estudio. Por lo tanto, un total de 111 pacientes fueron finalmente incluidos en el análisis.

- Todos los pacientes fueron prospectivamente evaluados usando tomografía computarizada craneal (CT) y escalas neurológicas y funcionales. El tamaño de la 20 muestra analizada, fue calculada utilizando EPIDAT 3.1. El protocolo utilizado fue aprobado por el comité ético y el consentimiento informado y consentido fue dado por los pacientes y familiares.

VARIABLES CLÍNICAS

- 25 Todos los pacientes fueron admitidos en la Unidad Aguda de Ictus y tratados por el mismo personal sanitario siguiendo la Guías de la Sociedad Española de Neurología para enfermedades cerebrovasculares (Comité ad hoc del Grupo de Estudio de Enfermedades Cerebrovasculares de la SEN. Guía para el diagnóstico y tratamiento del ictus. Prous Science. Barcelona 2004). La historia médica recogida incluía factores de 30 riesgo vascular, test de coagulación, ECG, radiografía del tórax y ultrasonido carotideo,

parámetros todos ellos recogidos en el momento de la admisión. La severidad de ictus fue evaluada por el médico neurólogo usando la escala NIHSS (National Institute of Health Stroke Scale) en el momento de la admisión, al 1 día, y a los 3, 7 ± 1 y 90 ± 7 días después del episodio isquémico (Brott, T., et al., Measurements of acute cerebral infarction: a clinical examination scale. Stroke, 1989. 20(7): p. 864-70). El tipo de ictus fue clasificado de acuerdo con el criterio TOAST (Adams, H.P., Jr., et al., Classification of subtype of acute ischemic stroke. Definitions for use in a multicenter clinical trial. TOAST. Trial of Org 10172 in Acute Stroke Treatment. Stroke, 1993. 24(1): p. 35-41). El pronóstico funcional fue evaluado a los 3 meses usando la escala de ranking modificada (mRS) (Bessenyei, M., et al., Characteristics of 4 stroke scales for the detection of changes in clinical signs in the acute phase of stroke. J Stroke Cerebrovasc Dis, 2001. 10(2): p. 70-8; Lyden, P.D. and L. Hantson, Assessment scales for the evaluation of stroke patients. J Stroke Cerebrovasc Dis, 1998. 7(2): p. 113-27).

15 Estudios de neuroimagen

Escaneos con CT fueron realizados en el ingreso y entre los días 4 y 7 de hospitalización. Los análisis de CT así como la determinación de los volúmenes de infarto fueron evaluados por un neurorradiólogo ciego al estudio y a los datos analizados.

20

Variables del pronóstico

La principal variable pronóstico fue la evaluación funcional a los 3 meses ($mRS \leq 2$).

Análisis de laboratorio

25 Las muestras de sangre de los pacientes fueron recogidas al ingreso y los niveles de glutamato, GOT y GPT fueron analizados sobre estas muestras en un laboratorio independiente, ciego al estudio y a los datos analizados, mediante un sistema automatizado de autoanálisis (ADVIA 2400, Bayer Diagnostics).

30 Análisis estadístico

Los resultados fueron expresados en porcentaje como variables categóricas y como media (SD) o mediana [cuartil] para variables continuas dependiendo de su distribución normal o no. Las proporciones fueron comparadas usando un test de chi-cuadrado y el test de t-Student o el test de Mann-Whitney para variables continuas entre grupos.

5 Análisis de Spearman o Pearson se utilizaron para correlaciones bivariadas.

En los estudios clínicos, la influencia de GPT y los niveles de glutamato sobre el pronóstico funcional se realizó mediante un análisis de regresión logístico, después de ajustar por la media de las variables relacionadas con el pronóstico en el análisis univariado ($p < 0.05$)

10 La influencia de la GPT y los niveles glutamato sobre el volumen de infarto fueron evaluados con un modelo lineal después de ajustar por las variables asociadas obtenidas de la comparación bivariada.

El test estadístico se realizó usando el programa SPSS 16.0 para Windows XP

15 En el estudio, de los 111 pacientes analizados se observó que: (60.4% eran hombres, con edad media de 70.9 ± 11.2 años), una NIHSS media [cuartiles] en el ingreso de 11 [5, 16], y el tiempo medio desde comienzo de los síntomas de 3.9 ± 2.3 horas. En función del subtipo de ictus se obtuvieron aterotrombóticos (10.8%), cardioembólicos (37.8%), indeterminados (37.8%), y lacunares (13.6%).

20 Los niveles de glutamato en el momento de la admisión fueron significativamente mayores [$274.2 \pm 134.1 \mu\text{mol/L}$] que a la 24 horas [$133.6 \pm 64.0 \mu\text{mol/L}$] y que a las 72 horas [$109.0 \pm 59.3 \mu\text{mol/L}$] (todas las $p < 0.0001$). Sin diferencias entre las 24 y 72 horas. Los niveles de GPT se correlacionaron con los niveles de plasmáticos de glutamato al ingreso ($r = -0.305$, $p = 0.0002$), pero no a las 24 ($r = -0.054$, $p = 0.593$) y 72 horas ($r = -0.052$, $p = 0.616$).

25

Ejemplo 1. Efecto de los niveles de GPT y glutamato sobre el pronóstico funcional en pacientes isquémicos

30 La Tabla 1 muestra las principales características que afectan a los pacientes en función del buen y mal pronóstico. Se observa como niveles de altos de glutamato y bajos niveles de GPT afectan de forma significativa ($p < 0.0001$) al mal pronóstico funcional a los 3 meses.

Tabla 1: Niveles de GPT y pronóstico funcional a los 3 meses

Análisis univariado del pronóstico funcional a los 3 meses

	Bueno n = 59	Malo n = 52	p
Edad (años) 66.9 ± 12.2	74.4 ± 7.8	0.001	
Hombres (%)	74.1	44.2	0.002
Tiempo desde el inicio (horas)	3.6 ± 2.3	3.9 ± 2.4	0.734
Antecedente de hipertensión arterial (%)	51.7	65.4	0.177
Antecedente de diabetes (%)	24.1	21.2	0.821
Antecedente de dislipemia (%)	18.6	28.8	0.263
Antecedente de tabaquismo (%)	23.7	7.7	0.037
Antecedente de enolismo (%)	6.5	3.9	0.254
Antecedente de cardiopatía isquémica (%)	15.3	13.5	0.503
Antecedente de fibrilación auricular (%)	22.0	26.9	0.352
Tensión arterial sistólica al ingreso (mm Hg)	154.4 ± 22.7	145.2 ± 19.0	0.262
Tensión arterial diastólica al ingreso (mm Hg)	84.3 ± 13.2	77.2 ± 10.2	0.070
Temperatura axilar máxima en las primeras 24 h (°C)	36.6 ± 0.3	36.8 ± 0.5	0.038
Glucemia al ingreso (mg/dL)	125.5 ± 61.1	134.7 ± 35.7	0.126
Leucocitos al ingreso ($\times 10^3/\text{mL}$)	8.2 ± 2.5	8.7 ± 2.6	0.526
Plaquetas al ingreso ($\times 10^3/\text{mL}$)	227.7 ± 70.7	224.5 ± 66.3	0.571
Fibrinógeno al ingreso (mg/dL)	397.9 ± 104.1	440.6 ± 144.8	0.071
NIHSS al ingreso	7 [4, 10]	15 [12, 18]	<0.0001
Tratamiento con rtPA intravenoso (%)	35.4	21.9	0.514
T O A S T	0	0	0.3
Aterotrombótico (%)	11.9	9.6	
Cardioembólico (%)	27.1	50.0	

Lacunar (%)	23	7	1.9	
Indeterminado (%)	37	3	38.5	
Glutamato sérico al ingreso ($\mu\text{mol/L}$)	178.2 \pm 79.2	381.3 \pm 105.5	<0.0001	
GPT (mU/mL)	17 [12, 30]	11 [9, 15]	<0.0001	

La **Tabla 2**, el **Modelo 1** se muestra que en el análisis univariado los niveles de GPT al ingreso aparecen asociados de forma independiente con el mal pronóstico (OR, 0.91; CI 95%, 0.84 a 0.98, p=0.013), después de ajustar por edad, género, temperatura, ser fumador, gravedad y subtipo de ictus. Sin embargo la inclusión de glutamato en el análisis **Tabla 2B**, **Modelo 2**, hace que la variable GPT deje de ser un valor independiente en relación con el pronóstico (OR, 1.02; CI 95%, 1.00 a 1.03, p=0.001) (**Tabla 2**).

Tabla 2: Análisis multivariado (regresión logística múltiple) del pronóstico funcional a los 3 meses

MODELO 1

	OR	CI 95%	p
Edad	1.04	0.98 - 1.10	0.234
Hombre	0.49	0.14 - 1.65	0.249
Tabaquismo	0.65	0.11 - 3.76	0.634
Temperatura máxima 24 horas	1.76	0.44 - 6.94	0.422
NIHSS basal	1.29	1.16 - 1.45	<0.0001
Cardioembólico vs no cardioembólico	1.27	0.37 - 4.33	0.702
GPT	0.91	0.84 - 0.98	0.013

15

MODELO 2

	OR	CI 95%	p
Edad	1.06	0.97 - 1.15	0.165
Hombre	0.53	0.11 - 2.71	0.448
Tabaquismo	0.44	0.04 - 5.30	0.521
Temperatura máxima 24 horas	0.89	0.14 - 5.82	0.910

NIHSS basal	1.19	1.03	- 1.38	0.016
Cardioembólico vs no cardioembólico		2.66	0.47 - 15.18	0.270
GPT	0.92	0.81	- 1.04	0.167
Glutamato basal	1.02	1.00	- 1.03	<0.0001

Esto significa que la GPT es un buen marcador de pronóstico funcional.

Ejemplo 2. Efecto de de los niveles de GOT, GPT y glutamato sobre el volumen de infarto en pacientes isquémicos.

Tabla 3. De igual modo a lo observado con el pronóstico funcional a los tres meses, en la tabla 3 se muestra que entre las principales variables que afectan de forma significativa ($p < 0.0001$) al volumen de infarto se encuentran los niveles de niveles de glutamato y niveles de GOT.

10

La Tabla 3 muestra las principales características que afectan al volumen del infarto. Se observa como niveles de altos de glutamato y bajos niveles de GOT y GPT afectan de forma significativa ($p < 0.05$) volumen del infarto. A diferencia de la GOT, los niveles de GPT no se asocian de forma tan significativa con el volumen de infarto ($p = 0.040$) como la GOT.

15

Tabla 3. Niveles de GOT y volumen del infarto

Análisis univariado del volumen del infarto

	p
Edad (años)	0.131
Hombres (%)	0.005
Tiempo desde el inicio (horas)	0.618
Antecedente de hipertensión arterial (%)	0.302
Antecedente de diabetes (%)	0.938
Antecedente de dislipemia (%)	0.909
Antecedente de tabaquismo (%)	0.002
Antecedente de enolismo (%)	<0.0001

Antecedente de cardiopatía isquémica (%)	0.655
Antecedente de fibrilación auricular (%)	0.273
Tensión arterial sistólica al ingreso (mm Hg)	0.468
Tensión arterial diastólica al ingreso (mm Hg)	0.795
Temperatura axilar máxima en las primeras 24 h (°C)	0.004
Glucemia al ingreso (mg/dL)	0.271
Leucocitos al ingreso ($\times 10^3/\text{mL}$)	0.154
Plaquetas al ingreso ($\times 10^3/\text{mL}$)	0.690
Fibrinógeno al ingreso (mg/dL)	0.030
NIHSS al ingreso	<0.0001
Tratamiento con rtPA intravenoso (%)	0.277
Cardioembólico vs No-cardioembólico	0.001
Glutamato sérico al ingreso ($\mu\text{mol/L}$)	<0.0001
GOT (mU/mL)	<0.0001
G P T (m U / m L)	0 . 0 4 0

Reivindicaciones

1. Procedimiento para pronosticar la isquemia cerebral, que comprende
 - i) medir en una muestra de un paciente la concentración de la enzima glutamato piruvato transaminasa (GPT),
 - 5 ii) comparar la concentración de GPT con el valor de punto de corte establecido, de forma que cuando la concentración de GPT sea superior o igual al valor del punto de corte, entonces el paciente presenta una predisposición favorable para un buen pronóstico, y cuando la concentración de GPT sea inferior al valor del punto de corte el paciente presenta una predisposición favorable para un mal pronóstico.
- 10 2. Procedimiento según la reivindicación 1, donde el punto de corte para la GPT es 21 mU/mL.
3. Procedimiento para pronosticar la isquemia cerebral, que comprende:
 - i) medir en una muestra de un paciente la concentración de glutamato piruvato transaminasa (GPT) y glutamato oxalacetato transaminasa (GOT),
 - 15 ii) comparar la concentración de GPT y del otro marcador con el valor de punto de corte establecido, de forma que cuando las concentraciones GPT y GOT sean superiores o iguales al valor del punto de corte, entonces el paciente presenta una predisposición favorable para un buen pronóstico, y cuando las concentraciones de GPT y GOT sean inferiores al valor del punto de corte el paciente presenta una predisposición favorable para un mal pronóstico.
- 20 4. Procedimiento según la reivindicación 3, donde el punto de corte para la GOT es 24 mU/mL y para la GPT es 21 mU/mL.
5. Procedimiento según las reivindicaciones 1 y 3, donde la muestra es de sangre o suero.
6. Procedimiento según las reivindicaciones anteriores, donde el paciente es humano.
- 25 7. Procedimiento según las reivindicaciones anteriores, donde el paciente sufrió previamente un episodio de ictus isquémico.

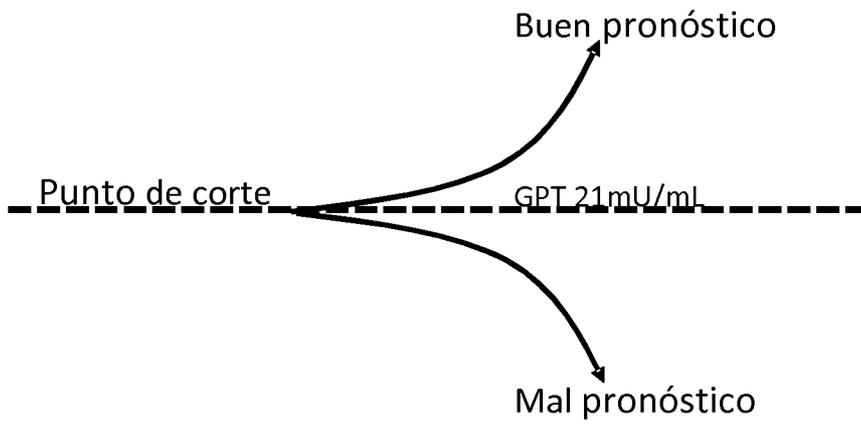


Figura 1

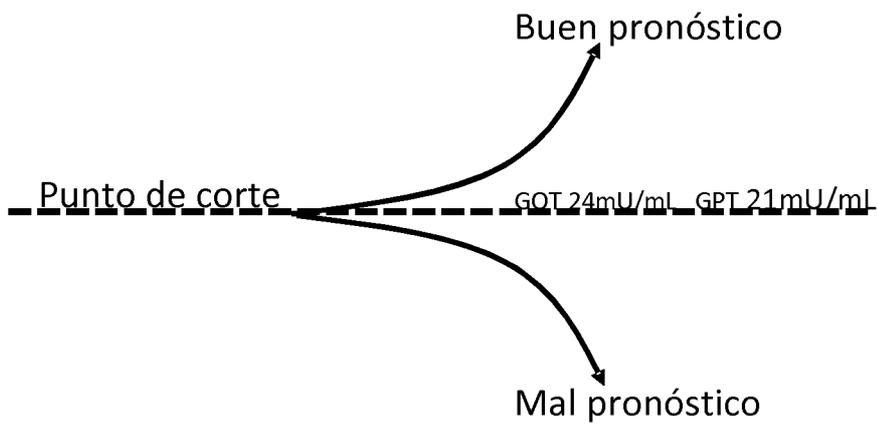


Figura 2



OFICINA ESPAÑOLA
DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

②① N.º solicitud: 201130086

②② Fecha de presentación de la solicitud: 25.01.2011

③② Fecha de prioridad:

INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TECNICA

⑤① Int. Cl.: **C12Q1/52** (2006.01)

DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	⑤⑥ Documentos citados	Reivindicaciones afectadas
A	ZLOTNIK, A. et al., 'Brain neuroprotection by scavenging blood glutamate', EXPERIMENTAL NEUROLOGY, 2007, Vol. 203, No. 1, páginas 213-220, ISSN: 0014-4886, todo el documento.	1-7
A	ZLOTNIK, A. et al., 'The Contribution of the Blood Glutamate Scavenging Activity of Pyruvate to its Neuroprotective Properties in a Rat Model of Closed Head Injury', NEUROCHEMICAL RESEARCH, 2007, Vol. 33, No. 6, páginas 1044-1050, ISSN: 1573-6903, todo el documento.	1-7
A	GOTTLIEB, M. et al., 'Blood-mediated scavenging of cerebrospinal fluid glutamate', JOURNAL OF NEUROCHEMISTRY, 2003, Vol. 87, No. 1, páginas 119-126, ISSN: 0022-3042, todo el documento.	1-7
A	CASTILLO, J. et al., 'Neuroexcitatory Amino Acids and Their Relation to Infarct Size and Neurological Deficit in Ischemic Stroke', STROKE, 1996, Vol. 27, No. 6, páginas 1060-1065, ISSN: 0039-2499, todo el documento.	1-7

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
27.02.2012

Examinador
J. L. Vizán Arroyo

Página
1/4

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

C12Q

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, BIOSIS, EMBASE, MEDLINE

Fecha de Realización de la Opinión Escrita: 27.02.2012

Declaración

Novedad (Art. 6.1 LP 11/1986)	Reivindicaciones 1-7	SI
	Reivindicaciones	NO
Actividad inventiva (Art. 8.1 LP11/1986)	Reivindicaciones 1-7	SI
	Reivindicaciones	NO

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	ZLOTNIK, A. et al., <i>Exp. Neurol.</i> , (2007), 203(1): 213-20.	2007
D02	ZLOTNIK, A. et al., <i>Neurochem. Res.</i> , (2008), 33(6): 1044-50.	2008
D03	GOTTLIEB, M. et al., <i>J. Neurochem.</i> , (2003), 87(1): 119-26.	2003
D04	CASTILLO, J. et al., <i>Stroke</i> , (1996), 27(6): 1060-5.	1996

En D1-D4 se analiza la relación entre los niveles de enzimas transaminasas en sangre y la evolución del ictus isquémico.

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

1. NOVEDAD (Art. 4.1. y Art. 6.1. de la Ley de Patentes) y ACTIVIDAD INVENTIVA (Art. 4.1. y Art. 8.1. de la Ley de Patentes).

1.1. El objeto de la reivindicación 1 consiste en un método para el pronóstico de la isquemia cerebral que comprende medir en una muestra de un paciente la concentración de la enzima glutamato-piruvato transaminasa (GPT), y comparar dicho valor con un valor de punto de corte, de manera que si el valor de la GPT es superior o igual al valor de corte, entonces el paciente presenta una predisposición favorable a un buen pronóstico de la patología. En el estado de la técnica más próximo, constituido por los documentos D1-D4, no se ha divulgado ningún método para el pronóstico de la isquemia cerebral que comparta las mismas características técnicas del procedimiento reivindicado en la solicitud de patente. Además, dicho procedimiento no se deduce de una manera obvia combinando los procedimientos descritos previamente. Por consiguiente, el objeto de protección de la reivindicación independiente 1 se considera que es nuevo y tiene actividad inventiva sobre la base de los documentos D1-D4. Análogamente, el objeto de las reivindicaciones dependientes 2-7 se considera también nuevo y con actividad inventiva.

1.2. La presente solicitud satisface el criterio establecido en el Art. 4.1. de la Ley de Patentes, pues el objeto de las reivindicaciones 1-7 es nuevo y tiene actividad inventiva de acuerdo con los Arts. 6.1. y 8.1. de la Ley de Patentes.