



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 281 918**

51 Int. Cl.:
C12Q 1/68 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Número de solicitud europea: **97947569 .6**

86 Fecha de presentación : **14.11.1997**

87 Número de publicación de la solicitud: **0943014**

87 Fecha de publicación de la solicitud: **22.09.1999**

54 Título: **Métodos para diagnosticar glaucoma y descubrir fármacos antiglaucoma.**

30 Prioridad: **05.12.1996 US 33227 P**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
01.10.2007

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
01.10.2007

73 Titular/es: **Alcon Manufacturing, Ltd.**
6201 South Freeway
Fort Worth, Texas 76134, US
University of North Texas Health Science Center

72 Inventor/es: **Clark, Abbot F. y**
Wordinger, Robert J.

74 Agente: **Elzaburu Márquez, Alberto**

ES 2 281 918 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

Métodos para diagnosticar glaucoma y descubrir fármacos antiglaucoma.

5 **Campo de la invención**

El glaucoma se diagnostica generalmente monitorizando la pérdida de campo visual de un paciente, los cambios en la apariencia de su disco óptico, y su presión intraocular. El glaucoma se trata actualmente usando una o más de entre tres estrategias para disminuir la presión intraocular elevada asociada con la enfermedad: con fármacos (tales como beta-bloqueadores, inhibidores de la anhidrasa carbónica, y mióticos), con trabeculoplastia con láser, y/o con cirugía filtrante del glaucoma. Todas estas terapias disminuyen indirectamente la presión intraocular pero no tratan el proceso de enfermedad subyacente que tiene lugar en la red trabecular. Sería ventajoso ser capaces de diagnosticar el glaucoma antes de que el paciente comience a experimentar una pérdida en su campo visual y un deterioro de su disco óptico.

15 Existe un gran conjunto de pruebas que sugieren que los glucocorticoides están implicados en la generación de la hipertensión ocular y el glaucoma. Véase Clark, A. F., *Journal of Glaucoma*, "Steroids, Ocular Hypertension, and Glaucoma", 4:354-369, 1995. Varios investigadores han demostrado que la red trabecular humana (TM, del inglés "trabecular meshwork") contiene el receptor de glucocorticoides clásico ($GR\alpha$). Véanse Weinreb, *et al.*, *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, "Detection of Glucocorticoid Receptors in Cultured Human Trabecular Cells", 21:3, 403-407, 1981, y Hernández, *et al.*, *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, "Glucocorticoid Target Cells in Human Outflow Pathway: Autopsy and Surgical Specimens," 24:1612-1616, 1983. Recientemente, se descubrió la expresión de una forma cortada y empalmada alternativamente del receptor de glucocorticoides humano ($GR\beta$) en tejidos y células no oculares. Véanse Bamberger, *et al.*, *The Journal of Clinical Investigation*, "Glucocorticoid Receptor β , a Potential Endogenous Inhibitor of Glucocorticoid Action in Humans", 95:2435-2441, 1995, y Oakley, *et al.*, *The Journal of Biological Chemistry*, "The Human Glucocorticoid Receptor β Isoform," 271:16,9550-9559, 1996. Esta forma cortada y empalmada alternativamente del receptor de glucocorticoides (GR) se expresa como una proteína que ya no se une a glucocorticoides, pero es capaz de interferir con la forma activada del receptor de glucocorticoides normal y bloquear o alterar las funciones fisiológicas del receptor de glucocorticoides.

30 **Compendio de la invención**

La presente invención está dirigida a métodos para diagnosticar glaucoma sometiendo a ensayo a una persona para detectar la expresión aberrante de $GR\beta$. También se establecen métodos para el escrutinio de agentes terapéuticos útiles para tratar glaucoma.

35 **Descripción de las realizaciones preferidas**

Sorprendentemente, se ha encontrado que líneas celulares cultivadas de la red trabecular humana derivadas de donantes glaucomatosos expresan el mRNA tanto para una forma de corte y empalme alternativo del receptor de glucocorticoides humano ($GR\beta$), como el receptor de glucocorticoides normal ($GR\alpha$), mientras que las líneas celulares de TM normal expresan sólo mRNA para $GR\alpha$. Se cree que la presión intraocular elevada asociada con el glaucoma primario de ángulo abierto puede deberse a la expresión aberrante de $GR\beta$ en la red trabecular. Por lo tanto, la determinación de que un individuo expresa de modo anormal $GR\beta$ en su red trabecular u otros tejidos puede conducir a un diagnóstico de glaucoma. Además, este descubrimiento puede usarse para determinar si los agentes tienen valor terapéutico en el tratamiento del glaucoma determinando si interactúan con $GR\beta$ o alteran la expresión de $GR\beta$. Esto puede hacerse usando ensayos de unión a ligandos o ensayos funcionales de $GR\beta$.

El diagnóstico de la expresión aberrante de $GR\beta$ o defectos en el gen GR que codifica $GR\beta$ puede hacerse usando procedimientos bien conocidos por los expertos en la técnica. Véase Caskey, C.T., *J.A.M.A.*, "Molecular Medicine: A Spin-off From the Helix", 269:15, 1986-1992, 1993. Por ejemplo, los sujetos podrían someterse a escrutinio para determinar la presencia de un defecto genético en $GR\beta$ analizando el DNA derivado de leucocitos de sangre periférica. Los tipos de análisis de DNA podrían incluir, pero no estarían limitados a ellos: polimorfismos en la longitud de los fragmentos de restricción (RFLP, del inglés "restriction fragment length polymorphisms"), polimorfismos en la conformación de cadenas sencillas (SSCP, del inglés "single-stranded conformation polymorphisms"), reacción en cadena de la polimerasa (PCR, del inglés "polymerase chain reaction"), geles en gradiente desnaturizante, ensayo de ligación de oligonucleótidos específico de alelo, y ensayo de hibridación específico de alelo. Además, la red trabecular, u otras células relevantes de los sujetos podrían analizarse para detectar la expresión de $GR\beta$ por varias técnicas tales como la reacción en cadena de la polimerasa de transcripción inversa (RT-PCR, del inglés "reverse-transcription polymerase chain reaction"), inmunoensayos, ensayos funcionales de GR, etc.

El documento WO 96/14411 describe un método para diagnosticar glaucoma en un paciente que comprende determinar si la cantidad de una proteína de respuesta a glucocorticoides inducida por la red trabecular presente en la red trabecular del ojo de un paciente excede la cantidad de esa proteína de respuesta a glucocorticoides inducida por la red trabecular presente en la red trabecular del ojo de un individuo que no sufre de glaucoma, en el que la detección de una cantidad excesiva de la proteína de respuesta a glucocorticoides inducida en la red trabecular es indicativa de glaucoma.

REIVINDICACIONES

5 1. Un método para diagnosticar glaucoma que comprende detectar la expresión de la forma de corte y empalme alternativa del receptor de glucocorticoides humano ($GR\beta$) aberrante o defectos en un gen GR que codifica $GR\beta$.

10 2. El método de la Reivindicación 1 en el que los defectos en un gen GR se detectan por un método seleccionado del grupo de ensayos que consiste en: polimorfismos en la longitud de los fragmentos de restricción (RFLP), polimorfismos en la conformación de cadenas sencillas (SSCP), reacción en cadena de la polimerasa (PCR), gel en gradiente desnaturalizante, ligación de oligonucleótidos específica de alelo, e hibridación específica de alelo.

15 3. Un método para diagnosticar glaucoma, que comprende detectar cambios genéticos en el gen GR que conducen a una expresión alterada de $GR\beta$.

15 4. Un método para diagnosticar glaucoma, que comprende detectar cambios genéticos fuera del gen GR que conducen a una expresión alterada de $GR\beta$.

20 5. Un método para determinar si un agente es útil para tratar glaucoma determinando si interactúa con $GR\beta$ o altera la expresión de $GR\beta$.

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65