

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 545 929**

21 Número de solicitud: 201401058

51 Int. Cl.:

C12N 9/02 (2006.01)

A61K 39/395 (2006.01)

A61P 17/06 (2006.01)

A61P 19/02 (2006.01)

A61P 27/02 (2006.01)

12

PATENTE DE INVENCION CON EXAMEN PREVIO

B2

22 Fecha de presentación:

23.12.2014

43 Fecha de publicación de la solicitud:

16.09.2015

Fecha de modificación de las reivindicaciones:

16.12.2015

Fecha de la concesión:

08.07.2016

45 Fecha de publicación de la concesión:

15.07.2016

73 Titular/es:

UNIVERSIDAD DE MÁLAGA (100.0%)
Avda Cervantes, 2
29071 Málaga (Málaga) ES

72 Inventor/es:

GARCÍA RANEA, Juan Antonio;
MEDINA TORRES, Miguel;
GARCÍA-VILAS GARCÍA, Javier Alejandro y
MORILLA DOMÍNGUEZ, Juan Francisco

54 Título: **Uso de anticuerpos frente a la enzima SOD-3 para la inhibición del proceso de la angiogénesis y aplicaciones de dichos anticuerpos y de dicha enzima SOD-3**

57 Resumen:

Uso de anticuerpos frente a la enzima SOD-3 para la inhibición del proceso de la angiogénesis y aplicaciones de dichos anticuerpos y de dicha enzima SOD-3. La presente invención se refiere al uso de la enzima SOD-3 como nueva diana molecular en prevención, terapia y/o tratamiento de patologías que cursan con angiogénesis, como por ejemplo degeneración macular asociada a la edad, artritis reumatoide o psoriasis; así como al uso en prevención, terapia y/o tratamiento de dichas patologías de anticuerpos que se unen, reaccionan o reconocen específicamente a SOD-3, y que modulan, preferentemente que inhiben, la actividad de dicha enzima, particularmente la actividad de SOD-3 humana.

ES 2 545 929 B2

Uso de anticuerpos frente a la enzima SOD-3 para la inhibición del proceso de la angiogénesis y aplicaciones de dichos anticuerpos y de dicha enzima SOD-3

SECTOR TÉCNICO

5

La presente invención se refiere al uso de la enzima SOD-3 como nueva terapia antiangiogénica y en particular al uso de anticuerpos frente a dicha enzima como inhibidores del proceso de la angiogénesis. Asimismo, la invención se refiere a la aplicación de dichos anticuerpos en la prevención y/o tratamiento de patologías que cursan con angiogénesis.

10

ESTADO DE LA TÉCNICA

La angiogénesis es el proceso fisiológico mediante el cual se generan nuevos vasos sanguíneos a partir de la vasculatura existente. Dicho proceso está estrictamente regulado y se produce durante las primeras etapas del desarrollo embrionario, quedando relegado en el adulto en procesos como el ciclo menstrual, reparación de heridas y durante el desarrollo de la placenta en el embarazo. (Rössler et al. Hematological Oncology 23: 94-101, 2005). En cambio, hay ocasiones en las que se pierde el control que modula de este proceso, provocando diversas patologías o favoreciendo el desarrollo de éstas. en el adulto generando patologías, algunas de ellas de gravedad. Mención a ello, es el caso particular de la angiogénesis tumoral, proceso que ha sido considerado como una de las “señales distintivas” para el desarrollo del cáncer (Hanahan & Weinberg, Cell 144: 646- 674, 2011).

Debido a la relevancia del proceso, éste se encuentra finamente regulado por un balance entre señales proangiogénicas y señales antiangiogénicas. Entre las señales proangiogénicas se destaca el estrés metabólico (hipoxia, hipoglucemia o disminución de pH), múltiples factores de crecimiento (VEGF, FGFb, EGF, PIGF, entre otros), moléculas inflamatorias (IL-6, IL-8) (Carmeliet & Jain, Nature 407: 249- 257, 2000) y especies reactivas de oxígeno (ROS) (Yoong-Woong et al. Blood 123: 625- 631, 2014). Estas últimas moléculas, especialmente el anión superóxido (O_2^-) y el peróxido de hidrógeno (H_2O_2), actúan como moléculas estimuladoras de la angiogénesis, debido a que promueven la expresión de VEGF-A, factor de crecimiento esencial para la activación de las células endoteliales iniciándose así la degradación de la matriz extracelular, la migración, proliferación y

formación de los vasos sanguíneos (Ushio-Fukai, Cardiovascular Res. 71:226- 235, 2006). El efecto del H_2O_2 no se ciñe exclusivamente a la activación del VEGF-A, sino que, entre otros de sus múltiples efectos, provoca la activación del gen supresor tumoral PTEN (Connor et al. J. Biol. Chem. 280: 16916- 16924, 2005) manteniendo activa todas las rutas de señalización que discurren a través de AKT. A ello, hay que añadir que el H_2O_2 favorece la unión de NF- κ B al DNA promoviendo la expresión de diversos genes, entre ellos el gen codificante para la interleucina 8 (IL-8), el cual es esencial para la formación de estructuras tubulares en células endoteliales (Shono et al. Mol. Cell Biol. 16: 4231- 4239, 1996).

Dada la relevancia que se le atribuye a las moléculas ROS, muchas investigaciones se han orientado a dilucidar los mecanismos moleculares de las patologías asociadas a dichas moléculas, en particular, los estudios han sido dirigidos hacia las enzimas que median en el metabolismo redox. Una familia de proteínas que pertenecen al conjunto del metabolismo redox es la familia de la superóxido dismutasa (SOD) constituida por tres isoformas; una isoforma citosólica denominada SOD-1, que es un homodímero que contiene cobre y zinc en su centro catalítico; una isoforma mitocondrial denominada SOD-2, siendo un tetrámero que contienen manganeso; y una isoforma extracelular denominada SOD-3 o ec-SOD, la cual es un homotetrámero que contiene cobre y zinc (Zelko et al. Free Radical Biology & Medicine, 33: 337- 349, 2002). A pesar que SOD-1 y SOD-3 son isoformas y ambas contienen en su centro catalítico átomos de cobre y zinc, se consideran proteínas distintas tanto por su secuencia aminoacídica, sus propiedades antigénicas y por su distribución diferencial, tanto en los tejidos (<http://omim.org/entry/185490?search=sod3&highlight=sod3>) como en la compartimentación celular. Esta familia de proteínas se caracteriza por mediar la reducción de aniones superóxido (O_2^-) a oxígeno molecular (O_2) y peróxido de hidrógeno (H_2O_2), disminuyendo así el efecto oxidante del O_2^- sobre los múltiples componentes celulares manteniendo la integridad celular. Anecdóticamente, uno de los productos de esta reacción, como es el H_2O_2 , al hallarse en altos niveles es responsable de la promoción del proceso tumoral y del proceso angiogénico. Por ello, las enzimas relacionadas con el metabolismo del oxígeno han pasado a formar parte de las dianas terapéuticas para el tratamiento de diversas patologías.

Judah Folkman propuso a principios de la década de 1970 una teoría en la que argumentaba que el crecimiento tumoral es dependiente de angiogénesis tras alcanzar cierto tamaño, ya que necesita el aporte de nutrientes procedentes de la sangre para continuar su

crecimiento (Folkman, J. Med. 285: 1182- 1186, 1971) Desde el momento en el que se estableció una estrecha relación entre el tumor y la angiogénesis, las terapias antiangiogénicas han sido objeto de gran interés para evitar el crecimiento y la diseminación de células tumorales a otros órganos o tejidos (Feron, Radiotherapy & Oncology, 92: 329- 333, 2009).

- 5 Por ello, la inhibición de la angiogénesis presenta gran interés desde el punto de vista farmacológico, utilizando las distintas etapas de la angiogénesis (degradación de la matriz extracelular, migración, proliferación, evasión de la apoptosis y diferenciación de los nuevos vasos) como puntos esenciales para interferir e inhibir el proceso. En base a ello, se están explorando diversas vías de actuación para inhibir la creación de nuevos vasos. Reflejo de
10 ello, son las diferentes estrategias utilizadas para desarrollar estrategias con potencial antiangiogénico, como es el uso de anticuerpos monoclonales dirigidos frente a factores angiogénicos libres en circulación, el uso de anticuerpos frente a receptores angiogénicos ubicados sobre las células endoteliales y el uso de inhibidores tirosín quinasas para impedir la activación celular (Kerenidi & Syrigos, Angiogenesis and Therapeutic targets in cancer.
15 Bentham Science Publishers p. 1- 34).

- A pesar de las múltiples dianas potenciales que presenta el proceso angiogénico, la terapia antiangiogénica actualmente usada en clínica se basa esencialmente en la inhibición del efecto del VEGF-A, bien sea mediante el bloqueo de su unión a sus receptores por el uso de anticuerpos, o por la administración de moléculas pequeñas que interfieren en la ruta de
20 señalización del receptor VEGFR-2. En relación a la búsqueda de nuevas dianas moleculares en el proceso angiogénico, se han identificado varios inhibidores específicos para SOD-1, como es el caso del “*disulfiram*” (Marikovsky et al. Int. J. Cancer, 97: 34- 41, 2002) y el “*tetrathiomolybdate*” (Doñate et al. Br. J. Cancer, 98: 776- 783, 2008).

25 DESCRIPCIÓN DE LA INVENCION

Es un objetivo de la presente divulgación proporcionar una nueva diana molecular y tratamientos terapéuticos para inhibir toda patología que curse con promoción de angiogénesis.

- 30 La presente invención se refiere al uso de una nueva diana molecular involucrada estrechamente en el proceso angiogénico, como es SOD-3, y en el uso de anticuerpos

específicos frente a dicha diana como terapia para enfermedades que cursen con angiogénesis no deseada o excesiva.

Dicha diana fue identificada mediante la implementación de un nuevo método bioinformático de predicción de nuevas dianas angiogénicas, predictor que fue publicado en:

- 5 “Ian Morilla, Miguel A. Medina and J.A.G. Ranea. Novel Angiogenic Functional Targets Predicted through ”Dark Matter” Assessment in Protein Networks; Lecture Notes in Bioinformatics. Bioinformatics in Personalized Medicine. Springer-Verlag GmbH & Co. K. ISBN 978-3-642-28061-0. pp: 89-93 (2012).” Este predictor prioriza todas las proteínas que componen el proteoma humano conocido basándose en la distancia media de dichas proteínas
- 10 a un set de referencia de proteínas angiogénicas conocidas en la literatura. La distancia media se calcula dentro de un grafo o red de interacciones y asociaciones entre proteínas para cada diana potencial respecto del grupo de proteínas angiogénicas de referencia. Dichas redes de interacción se construyen a partir de datos experimentales y predicciones estadísticas y son de dominio y uso público. Con el predictor antes descrito se generó una lista priorizada de
- 15 potenciales nuevas dianas implicadas estrechamente en el proceso angiogénico. La proteínas priorizadas en el tope superior de dicha lista fueron seleccionadas una a una y su potencial implicación en angiogénesis validada mediante ensayos con anti-cuerpos. De estos test de validación experimental con anticuerpos sobre las proteínas seleccionadas fue identificada la proteína concreta objeto de esta solicitud de patente. La lista de genes
- 20 priorizados y validados experimentalmente no ha sido publicada hasta el momento ni divulgada por ningún medio público.

Seleccionada la diana molecular se procedió a comprobar si modula alguna etapa del proceso angiogénico, como es la migración celular y la formación de estructuras tubulares. Esta aproximación se llevó a cabo mediante dos metodologías diferentes:

25

- I- Silenciamiento génico de SOD-3 con siRNA en células HMEC.
- II- Pretratamiento de células HMEC con anticuerpo específico frente a SOD-3.

Tras realizar los ensayos con las células previamente silenciadas con siRNA, se

30 comprobó que el silenciamiento génico de SOD-3 no alteró la capacidad de migración de las células endoteliales tras los periodos de incubación ensayados; en cambio, disminuyó sensiblemente la formación de estructuras tubulares. Para concluir que el efecto observado en

los dos ensayos llevados a cabo fueron motivados por el silenciamiento, se comprobó el nivel de silenciamiento mediante “*western blot*” y PCR en tiempo real.

Al realizar los ensayos con las células preincubadas con el anticuerpo específico frente a SOD-3, se observó una disminución en la capacidad de migración de las células, respecto a las células que no fueron preincubadas con el anticuerpo, en los periodos de 4 horas y 7 horas de incubación monotorizados. Además, el bloqueo de SOD-3 por parte del anticuerpo específico inhibió por completo la formación de estructuras tubulares.

En base a los resultados obtenidos mediante dos aproximaciones metodológicas diferentes, se puede asumir que la disminución en la expresión de SOD-3, al sólo impedir la reposición (Wu et al. Nucleic Acids Research, 32, DOI: 10.1093/nar/gnh010, 2003) de la proteína SOD-3, los efectos que se aprecian en los experimentos realizados son moderados, debido a que en las células aún existe proteína SOD-3 funcional que pueden ejercer su actividad. En cambio, al realizar los ensayos con células preincubadas con el anticuerpo específico frente a SOD-3, se observa una disminución significativa en la capacidad de migración de las células endoteliales y se produce la inhibición completa en la formación de estructuras tubulares, ya que en esta ocasión la proteína SOD-3 no puede ejercer su actividad al encontrarse bloqueada por la unión del anticuerpo específico.

A lo largo de la descripción y las reivindicaciones la palabra “comprende” y sus variantes no pretenden excluir otras características técnicas, componentes o pasos. Para los expertos en la materia, otros objetos, ventajas y características de la invención se desprenderán en parte de la descripción y en parte de la práctica de la invención. Los siguientes ejemplos y figuras se proporcionan a modo de ilustración, y no se pretende que sean limitativos de la presente invención.

DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

La Figura 1A muestra el ensayo de migración celular con células HMEC control, células HMEC control negativo y células HMEC silenciadas con siSOD-3.

La Figura 1B es una gráfica que representa la cuantificación del área sin células durante distintos tiempos de incubación.

La Figura 2A muestra las imágenes del ensayo de formación de tubos de células HMEC control y de células HMEC silenciadas con siSOD-3.

5 La Figura 2B es una gráfica que representa el recuento del número de estructuras completamente cerradas que se originan al formarse la red de estructuras tubulares completas con células HMEC control y células HMEC silenciadas con siSOD-3.

10 La Figura 3A muestra la comprobación de la disminución del nivel de SOD-3 en células HMEC control y células HMEC silenciadas con siSOD-3, mediante la técnica de western blot.

15 La Figura 3B muestra una gráfica que refleja el nivel de expresión de SOD-3 en células HMEC control y células HMEC silenciadas con siSOD-3, detectada mediante PCR en tiempo real.

La Figura 4A muestra el ensayo de migración celular con células HMEC control y células HMEC pretratadas con anticuerpo específico frente a SOD-3.

20 La Figura 4B es una gráfica que representa la cuantificación del área sin células durante distintos tiempos de incubación.

La Figura 5A muestra las imágenes del ensayo de formación de tubos de células HMEC control y de células HMEC pretratadas con el anticuerpo específico frente a SOD-3.

25 La Figura 5B es una gráfica que representa el recuento del número de estructuras completamente cerradas que se originan al formarse la red de estructuras tubulares completas con células HMEC control y células HMEC silenciadas con siSOD-3.

EJEMPLO DE REALIZACIÓN DE LA INVENCION

30

La constitución y características de la invención se comprenderán mejor con ayuda de la siguiente descripción de ejemplos de realización, debiendo entenderse que la invención no

queda limitada a estas realizaciones, sino que la protección abarca todas aquellas realizaciones alternativas que puedan incluirse dentro del contenido y del alcance de las reivindicaciones. Asimismo, el presente documento refiere diversos documentos como estado de la técnica, entendiéndose incorporado por referencia el contenido de todos estos documentos, así como de el contenido completo de los documentos a su vez referidos en dichos documentos, con objeto de ofrecer una descripción lo más completa posible del estado de la técnica en el que la presente invención se encuadra. La terminología utilizada a continuación tiene por objeto la descripción de los ejemplos de modos de realización que siguen y no debe ser interpretada de forma limitante o restrictiva.

Reactivos y materiales

Medio de cultivo RPMI 1640 (Lonza, Whiobiottaker), suero fetal bovino (Harlan Sera-Lab), suero humano (Lonza Whiobiottaker) Matrigel (Becton Dickinson), siSOD-3 (AMBION), HiPerFect Transfection Reagent (Quiagen), master mix con SYBR Green de KAPA SYBR Fast Master Mix (2x) Universal (KAPA Biosystems), anticuerpo SOD-3 AbCam [ab21974; se une, reacciona o reconoce específicamente el péptido WTGEDSAEPNSDSA EWIRD (SEQ ID NO:1)]. El material de plástico utilizado para los cultivos celulares fueron adquiridos por NUNC. Las sales y los cebadores fueron adquiridos a Sigma-Aldrich.

Cultivo celular

Las células HMEC se mantuvieron en medio RPMI 1640 suplementado con 10% de suero humano, 10% de suero fetal bovino, penicilina (50 IU/mL) estreptomicina (50 IU/mL), L-glutamina (2mM) y anfotericina (1,25 mg/L).

Transfección de células con siRNA

Se sembraron 400.000 células HMEC en una placa de 6 pocillos. Diluir 37,5 ng de siRNA específico para SOD-3 (siSOD-3) en 100 µL de medio de cultivo sin suero. Añadir 3 µL de HiPerFect Transfection Reagent en la dilución de siRNA y agitarlo. Incubar la mezcla de transfección durante 10 minutos a temperatura ambiente para permitir la formación del

complejo de transfección. A continuación, se añade el complejo de transfección a las células y se incuba durante 48 horas a 37°C y 5% CO₂. Transcurrido el tiempo de incubación, los pocillos con células transfectadas se utilizaron para realizar los ensayos y para corroborar mediante western blot y PCR en tiempo real el silenciamiento génico.

5

Ensayo de migración celular

Se depositan las células en una placa de 6 pocillos y se incuba a 37°C y 5% CO₂ hasta que formen una monocapa celular. En dicho momento se procede al raspado de la superficie con una punta amarilla estéril para generar un área sin células. Se lava dos veces con PBS 1x, se
10 añade medio de cultivo fresco y se monotoriza a las 4, 7 y 24 horas tras haber realizado el raspado. Para el ensayo con las células tratadas con el anticuerpo específico frente a SOD-3, el anticuerpo fue diluido en el medio de cultivo fresco.

15 Ensayo de formación de tubos sobre Matrigel

Se depositó 50 µL de Matrigel (10 mg/mL) en cada uno de los pocillos de una placa de 96 pocillos enfriada en hielo. La placa se incubó durante 30 minutos a 37°C y 5% CO₂, para permitir la polimerización del Matrigel. Mientras tanto, se prepararon las células endoteliales
20 a una concentración de $2 \cdot 10^5$ cel/mL, depositándose 200 µL de suspensión celular por pocillo. Para el ensayo con las células tratadas con el anticuerpo específico frente a SOD-3, el anticuerpo fue diluido en el medio de cultivo fresco.

Western blot

25

Las células fueron lisadas con el tampón de lisado (50 mM Tris, pH 7.4, 150 mM NaCl, 1% Triton X-100, 0,25% desoxicolato sódico, 1 mM EDTA, 1 mM ortovanadato sódico y 5 mg/mL de cóctel inhibidor de proteasas). Los extractos celulares fueron centrifugados a 13.000 r.p.m. durante 15 minutos a 4°C. La cantidad de proteína total se determinó mediante
30 el método de Bradford. Las muestras fueron desnaturalizadas durante 5 minutos a 95°C y se cargó 50 µg de proteína total en un gel de acrilamida-bisacrilamida al 10%. Tras la electroforesis, las muestras fueron electro-transferidas a una membrana de nitrocelulosa y se

bloqueó la unión no específica en el tampón TBST (50 mM Tris pH 8,4, 0,9% cloruro sódico, 0,05% Tween 20) que contiene 5% de leche no grasa. Las membranas fueron incubadas con el anticuerpo primario toda la noche a 4°C. Después de tres lavados con TBST, las membranas fueron incubadas con el anticuerpo secundario diluido a razón 1:5000 en tampón de bloqueo durante 2 horas a temperatura ambiente. Tras tres lavados con TBST, la señal fue detectada mediante el uso del sustrato de sensibilidad SuperSignal West Pico Chemiluminescent Substrate (Pierce).

Extracción de RNAm

La extracción del RNAm total de las células se obtuvo por el uso del kit GenElute Mammalian Total RNA Miniprep Kit de Sigma-Aldrich.

PCR en tiempo real

Usando cebadores específicos para el gen SOD-3, las reacciones de amplificación se realizaron usando KAPA SYBR Fast Master Mix (2x) Universal (KAPA Biosystems) en el termociclador Eco™ Real-Time PCR Systems. La expresión de SOD-3 fue normalizada a la expresión de la β -actina, llevada a cabo sobre las mismas muestras.

Análisis estadístico

Los datos obtenidos en los ensayos fueron analizados usando la prueba t de Mann-Whitney. Los análisis fueron calculados usando el software StatView.

REIVINDICACIONES

1. Uso de un anticuerpo que se une, reacciona o reconoce específicamente a la enzima SOD-3 que inhibe su actividad en prevención, terapia y/o tratamiento de patologías que cursan con angiogénesis.
5
2. Uso según la reivindicación anterior caracterizado por que el anticuerpo se une, reacciona o reconoce específicamente a la enzima SOD-3 humana.
3. Uso según la reivindicación anterior caracterizado por que el anticuerpo se une, reacciona o reconoce específicamente el péptido WTGEDSAEPNSDSA EWIRD (SEQ
10 ID NO:1), correspondiente a los aminoácidos 19-37 aminoterminales.
4. Uso según la reivindicación anterior caracterizado por que el anticuerpo es isotipo inmunoglobulina G.
5. Uso según la reivindicación anterior caracterizado por que el anticuerpo es policlonal.
6. Uso según la reivindicación anterior caracterizado por que el anticuerpo se ha
15 producido en conejo.

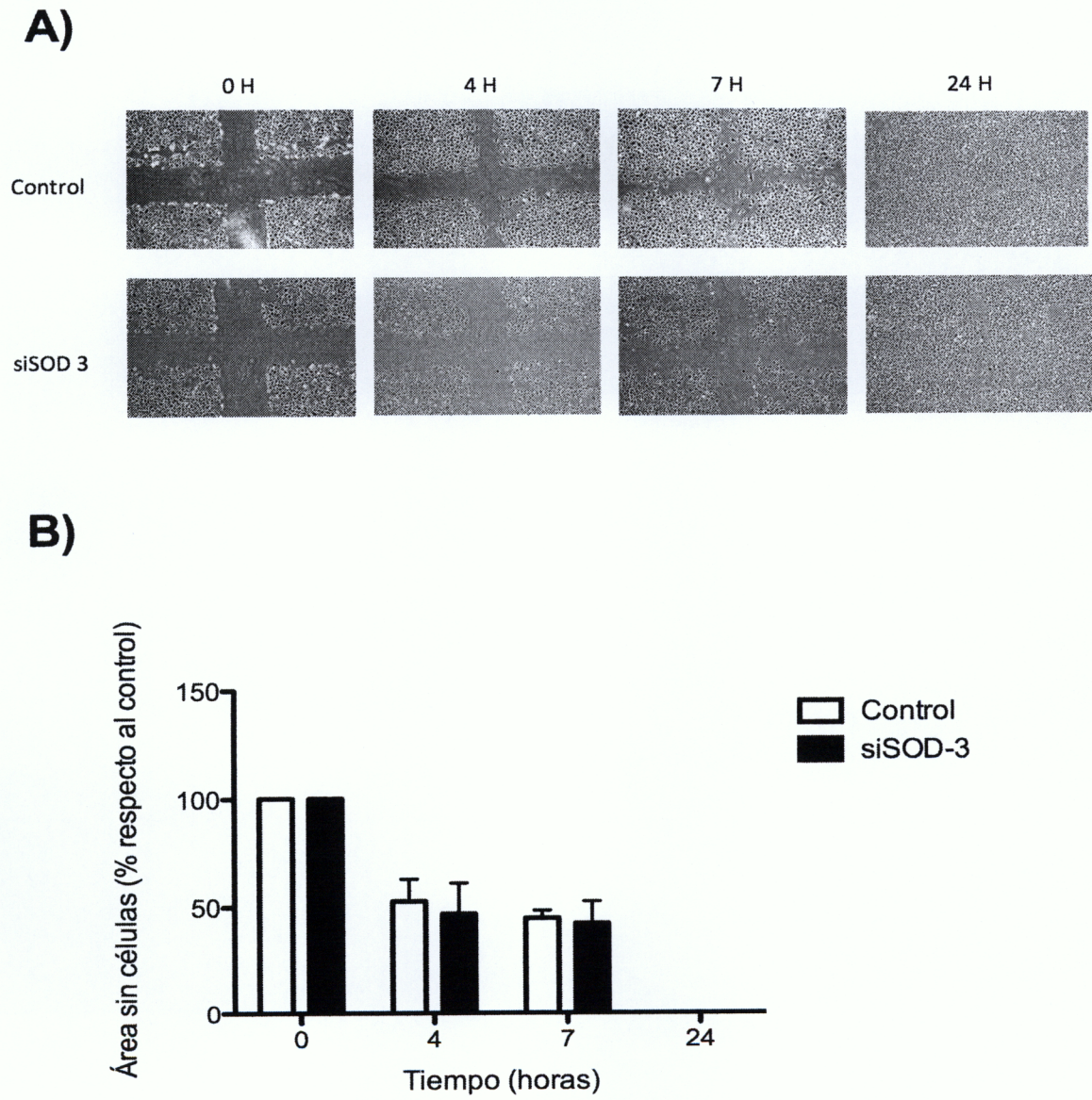


Figura 1

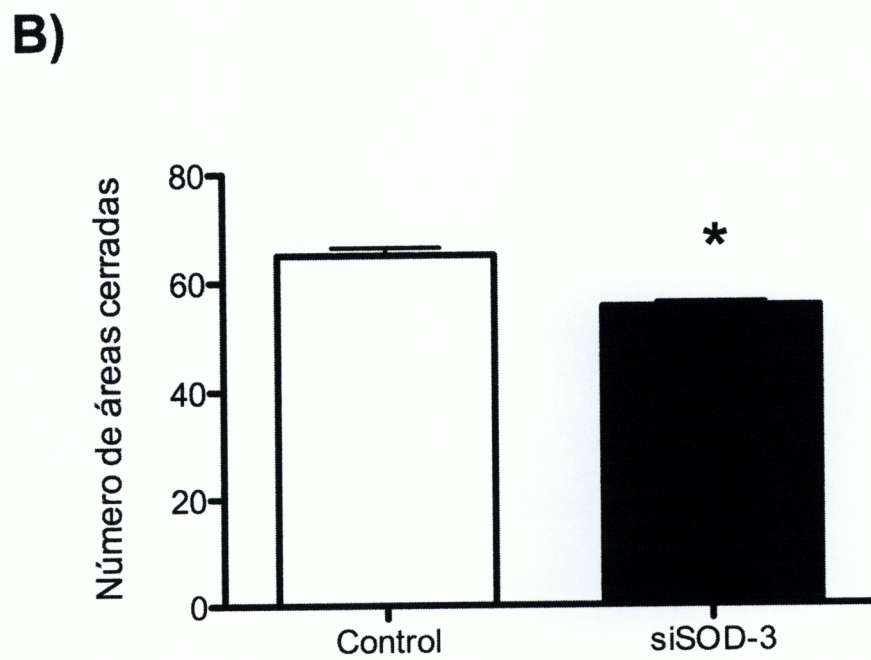
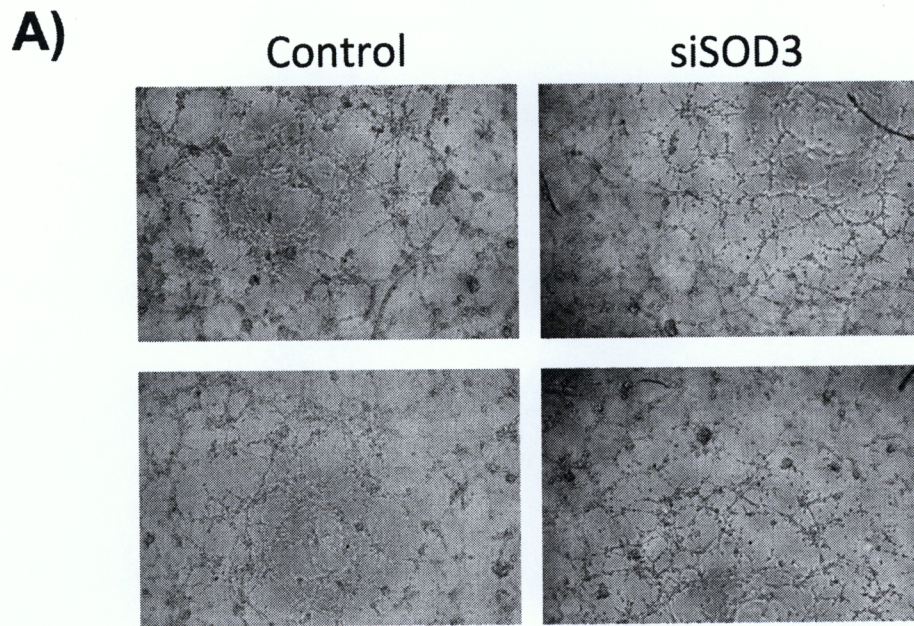


Figura 2

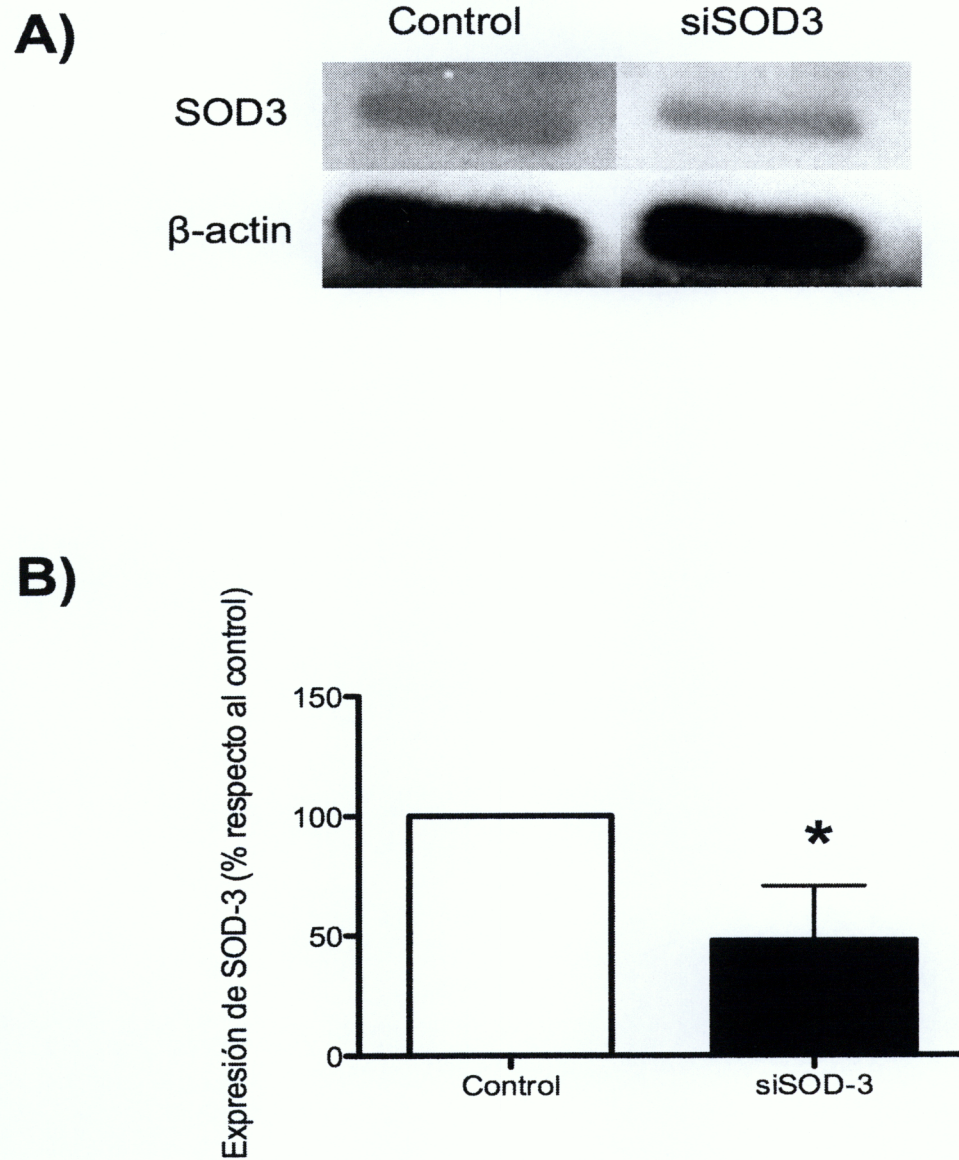


Figura 3

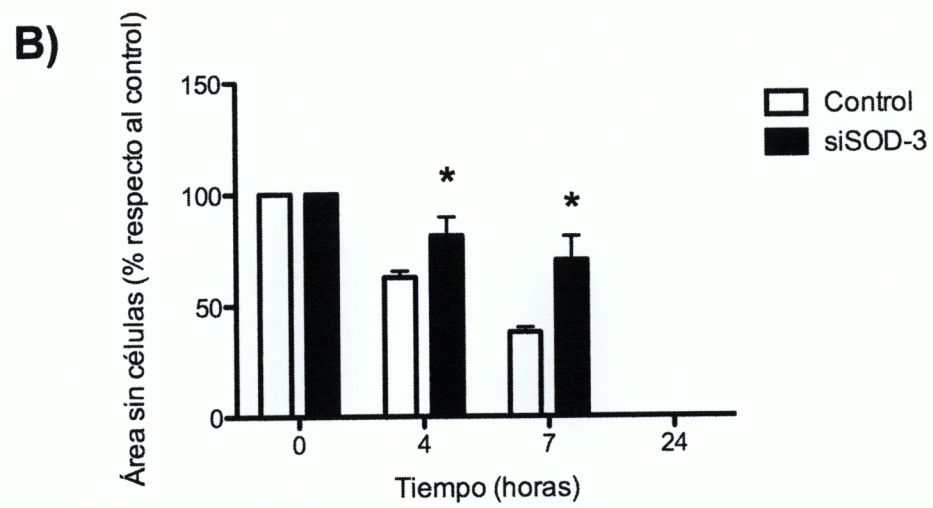
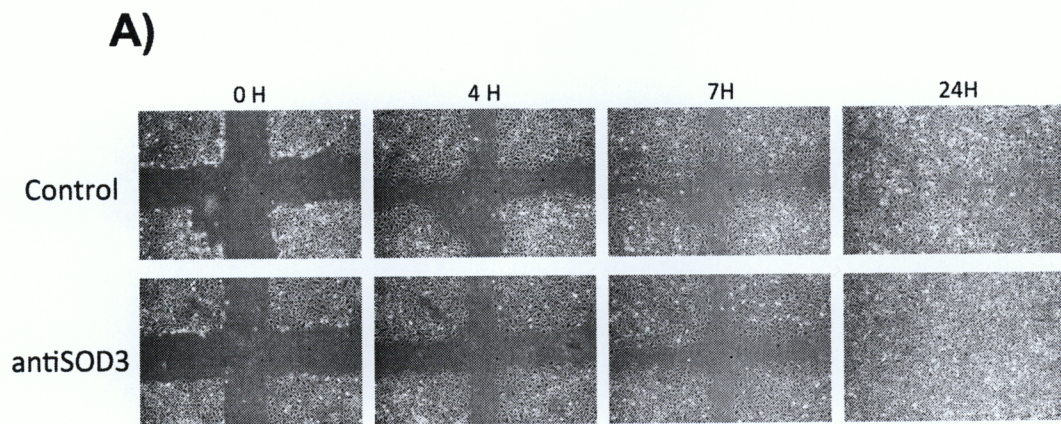
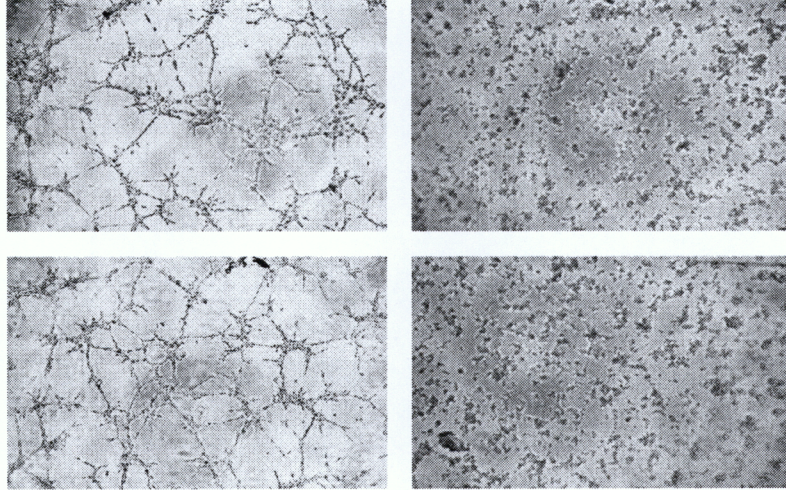


Figura 4

A)

Control

antiSOD3



B)

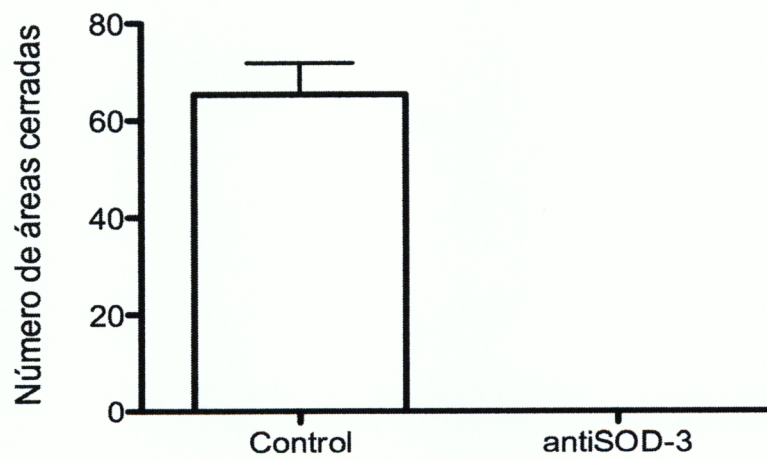


Figura 5

ES 2 545 929 B2

LISTA DE SECUENCIAS

<110> Universidad de Málaga

<120> Uso de anticuerpos frente a la enzima SOD-3 para la inhibición del proceso de la angiogénesis y aplicaciones de dichos anticuerpos y de dicha enzima SOD-3

<140> P201401058

<141> 2014-12-23

<160> 1

<210> 1

<211> 19

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 1

Trp	Thr	Gly	Glu	Asp	Ser	Ala	Glu	Pro	Asn	Ser	Asp	Ser	Ala	Glu
1				5					10					15

Trp Ile Arg Asp



- ②① N.º solicitud: 201401058
②② Fecha de presentación de la solicitud: 23.12.2014
③② Fecha de prioridad:

INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TÉCNICA

⑤① Int. Cl.: Ver Hoja Adicional

DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	⑤⑥ Documentos citados	Reivindicaciones afectadas
X	WO 2008115039 A1 (IND ACADEMIC COOP et al.) 25.09.2008, todo el documento.	1,2
X	YOUNGHWHA KIM et al. "Regulation of skin inflammation and angiogenesis by EC-SOD via HIF-1 and NF- B pathways" FREE RADICAL BIOLOGY AND MEDICINE, 20110824 Elsevier Inc, US 24.08.2011 VOL: 51 No: 11 Págs: 1985-1995 ISSN 0891-5849 Doi: doi:10.1016/j.freeradbiomed.2011.08.027; todo el documento.	1,2

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
09.09.2015

Examinador
M. Á. García Coca

Página
1/4

CLASIFICACIÓN OBJETO DE LA SOLICITUD

C12N9/02 (2006.01)

A61K39/395 (2006.01)

A61P17/06 (2006.01)

A61P19/02 (2006.01)

A61P27/02 (2006.01)

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

C12N, A61K, A61P

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, MEDLINE/NLM, EMBASE/ELSEVIER, XPESP y bases de datos de texto completo

Fecha de Realización de la Opinión Escrita: 09.09.2015

Declaración

Novedad (Art. 6.1 LP 11/1986)	Reivindicaciones 2-8	SI
	Reivindicaciones 1	NO
Actividad inventiva (Art. 8.1 LP11/1986)	Reivindicaciones 3-8	SI
	Reivindicaciones 1,2	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	WO 2008115039 A1 (IND ACADEMIC COOP et al.)	25.09.2008
D02	YOUNGHWAN KIM et al. "Regulation of skin inflammation and angiogenesis by EC-SOD via HIF-1 and NF- κ B pathways" FREE RADICAL BIOLOGY AND MEDICINE, 20110824 Elsevier Inc, US 24.08.2011 VOL: 51 No: 11 Págs: 1985-1995 ISSN 0891-5849 Doi: doi:10.1016/j.freeradbiomed.2011.08.027.	24.08.2011

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

El objeto de la invención, tal y como se recoge en las reivindicaciones 1-8, es el uso de la enzima SOD-3 como diana molecular en prevención, terapia y/o tratamiento de patologías que cursan con angiogénesis (rev. 1). Es también objeto de la invención el uso de un anticuerpo que se une específicamente a la enzima SOD-3 modulando su actividad o inhibiéndola (rev. 2-8).

Novedad (art. 6.1 de la Ley 11/1986 de Patentes)

El documento D01 divulga el uso de la enzima EC-SOD (SOD-3) para la prevención o el tratamiento de enfermedades que cursan con angiogénesis, debido a que dicha enzima inhibe la expresión del factor de crecimiento VEGF y de la metaloproteinasa de matriz MMP-9.

El documento D02 divulga que la sobreexpresión de la enzima EC-SOD reduce la expresión de los factores que activan el proceso angiogénico, mientras que la expresión de factores antiangiogénicos (como el TIMP-1) y de citoquinas antiinflamatorias (como la IL-10) se ve aumentada. La enzima EC-SOD previene la actividad angiogénica y la respuesta inflamatoria mediante la regulación de las vías de señalización de VEGF, PKC y NF- κ B, dando como resultado un efecto antiangiogénico. Una baja expresión de EC-SOD se relaciona con distintas enfermedades como la artritis reumatoide o la psoriasis.

A la vista de los documentos de la técnica citados, las características de la reivindicación 1 ya han sido divulgadas en los documentos D01 y D02, por lo tanto la reivindicación 1 no es nueva a la vista del estado de la técnica conocido.

Actividad Inventiva (art. 8.1 de la Ley 11/1986 de Patentes).

La invención definida en la reivindicación 2 no difiere de la técnica conocida descrita en los documentos D01 y D02 en ninguna forma esencial. Un modulador puede activar o inhibir la actividad de una enzima, en este caso de la enzima EC-SOD. En el caso de que el modulador sea un activador de la actividad enzimática, el efecto sería equivalente a una sobreexpresión de la propia enzima, y este efecto ya está descrito en los documentos D01 y D02. Por lo tanto, la invención según la reivindicación 2 se considera obvia para un experto en la materia. Por consiguiente, la invención según la reivindicación 2 no se considera que implique actividad inventiva.