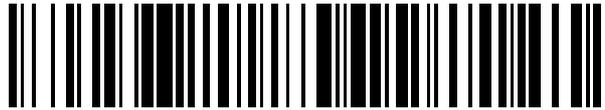


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 606 790**

21 Número de solicitud: 201531360

51 Int. Cl.:

C12Q 1/68 (2006.01)

12

SOLICITUD DE PATENTE

A1

22 Fecha de presentación:

23.09.2015

43 Fecha de publicación de la solicitud:

27.03.2017

71 Solicitantes:

**FUNDACIÓN PARA LA INVESTIGACIÓN
BIOMÉDICA DEL HOSPITAL 12 DE OCTUBRE
(70.0%)**

**Avda. de Córdoba s/n CAA 6ª Planta Bloque
28041 Madrid ES y**

**FUNDACIÓN PARA LA INVESTIGACIÓN
BIOMÉDICA DEL HOSPITAL UNIVERSITARIO LA
PAZ (30.0%)**

72 Inventor/es:

**MIRANDA UTRERA, Natalia;
VILLACAMPA AUBÁ, Felipe;
CASTELLANO, Daniel;
FRESNO VARA, Juan Ángel y
GÁMEZ POZO, Angelo**

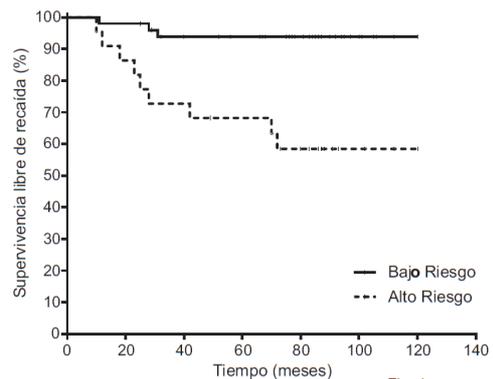
74 Agente/Representante:

CARVAJAL Y URQUIJO, Isabel

54 Título: **Método pronóstico para identificar riesgo de recidiva en pacientes de cáncer de riñón tipo carcinoma renal de células claras estadios I y II y kit**

57 Resumen:

Método pronóstico y kit para identificar riesgo de recidiva de cáncer de riñón tipo carcinoma renal de células claras estadios I y II en un sujeto humano, que comprende (a) determinar en una muestra tumoral de dicho sujeto humano el nivel de expresión de los microRNAs hsa-miR-223, hsa-miR-103, hsa-miR-107, hsa-miR-425, hsa-miR-340, hsa-miR-130b, hsa-miR-652, hsa-miR-214 y hsa-miR-204, (b) determinar un valor que depende de los niveles de expresión de los microRNAs y (c) identificar el riesgo de recidiva de cáncer de riñón tipo carcinoma renal de células claras estadios I y II en dicho sujeto humano comparando el valor obtenido en la etapa (b) con un valor de corte.



ES 2 606 790 A1

DESCRIPCIÓN

Método pronóstico para identificar riesgo de recidiva en pacientes de cáncer de riñón tipo carcinoma renal de células claras estadios I y II y kit

5

CAMPO DE LA INVENCIÓN

La presente invención se refiere al pronóstico de cáncer de riñón tipo carcinoma renal de células claras. En concreto, la presente invención se refiere al pronóstico de este tipo de cáncer para identificar el riesgo de recidiva, en el que se utiliza como marcador un grupo de 9 moléculas de ARN (microRNAs, miRNAs).

10

ANTECEDENTES DE LA INVENCIÓN

15

El carcinoma renal de células claras (CRCC) tiene una incidencia de 11 casos por cien mil, con una mortalidad cáncer específica alrededor del 35%.

20

En los últimos años, varios fármacos han demostrado utilidad clínica en el CRCC avanzado (estadios III y IV), y algunos de ellos (Sunitinib, Sorafenib, Everolimus, Axitinib, Temsirolimus...) han recibido la aprobación para su uso en el tratamiento de cáncer metastásico en distintas líneas terapéuticas. El impacto de estos fármacos en la historia natural del CRCC avanzado ha dado pie al inicio de numerosos ensayos clínicos con el fin de evaluar si su uso en adyuvancia puede ofrecer un beneficio a los pacientes. La mayoría de estos ensayos están centrando sus esfuerzos en poblaciones de alto riesgo (estadios III-IV, estadios II de alto riesgo), pero los parámetros actuales no son capaces de seleccionar de forma adecuada los pacientes en riesgo real de recaída.

25

30

En estadios tempranos de la enfermedad (estadios I y II), el tratamiento actual consiste en la extirpación completa del tumor, aunque recientemente se están desarrollando algunas alternativas con terapias ablativas in situ. En estadios tempranos no se emplea ningún fármaco como tratamiento adyuvante. El CRCC en estadios tempranos presenta una tasa de recaída global cercana al 15%, por lo tanto más de un 85% en estadios localizados no se beneficiarían de un tratamiento adyuvante.

35

El documento WO2011039757A2 se refiere a la prognosis de cáncer de riñón tipo carcinoma renal de células claras utilizando miRNAs como marcadores. En este documento se describe el miRNA hsa-miR-204.

5 Este documento no describe el grupo que consiste en los 9 miRNA de la presente invención y no describe un método pronóstico que permita identificar el riesgo de recidiva de cáncer de riñón de células claras.

10 El documento WO2010145035A1 describe la utilización de algunos de los miRNA de la presente invención como marcadores para cáncer de riñón tipo carcinoma renal de células claras.

15 Este documento no describe el grupo que consiste en los 9 miRNA de la presente invención y no describe un método pronóstico que permita identificar el riesgo de recidiva de cáncer de riñón de células claras.

20 El documento WO2013026684A1 se refiere a un método de pronóstico y diagnóstico de cáncer de riñón tipo carcinoma renal de células claras que utiliza el perfil de expresión de al menos dos miRNA de una larga lista de miRNA (Fig. 7 del documento WO2013026684A1).

25 Este documento describe los 9 miRNAs de la presente invención, pero no en un grupo de 9 miRNAs. Este documento no describe un método pronóstico que permita identificar el riesgo de recidiva de cáncer de riñón de células claras y no proporciona ninguna razón para utilizar un grupo de los 9 miRNA de la presente invención para un método pronóstico que permite identificar el riesgo de recidiva de cáncer de riñón de células claras.

Ninguno de estos tres documentos citados proporciona ninguna razón para llegar a la invención definida en las reivindicaciones.

30 Los documentos citados bien de forma individual o en combinación no sugieren el objeto reivindicado.

35 El problema técnico objetivo respecto al estado de la técnica más cercano puede definirse como la aportación de un método pronóstico para identificar el riesgo de recidiva de cáncer de riñón variante histológica células claras en estadios localizados I y II de la enfermedad.

La solución a este problema consiste en proporcionar el método pronóstico para identificar el riesgo de recidiva de cáncer de riñón variante histológica células claras en estadios localizados I y II de la enfermedad definido por las reivindicaciones de la presente solicitud.

5 DESCRIPCIÓN DE LA INVENCIÓN

Un primer aspecto de la invención es un método pronóstico para identificar riesgo de recidiva en pacientes de cáncer de riñón tipo carcinoma renal de células claras estadios I y II, que comprende:

10 (a) determinar en una muestra tumoral de dicho sujeto humano el nivel de expresión de los microRNAs hsa-miR-223, hsa-miR-103, hsa-miR-107, hsa-miR-425, hsa-miR-340, hsa-miR-130b, hsa-miR-652, hsa-miR-214 y hsa-miR-204 con secuencias identificadas por las secuencias SEQ ID NO: 1-9,

(b) determinar un valor que depende de los niveles de expresión de los microRNAs hsa-miR-
15 223, hsa-miR-103, hsa-miR-107, hsa-miR-425, hsa-miR-340, hsa-miR-130b, hsa-miR-652, hsa-miR-214 y hsa-miR-204 con secuencias identificadas por las secuencias SEQ ID NO: 1-9 y

(c) identificar el riesgo de recidiva de cáncer de riñón tipo carcinoma renal de células claras estadios I y II en dicho sujeto humano comparando el valor obtenido en la etapa (b) con un
20 valor de corte.

Este método pronóstico permite identificar una población de alto riesgo de recidiva en estadios localizados de la enfermedad (carcinoma renal de células claras estadios I y II), lo que permite ofrecer un tratamiento adyuvante adecuado sólo a los pacientes que lo
25 necesiten.

Otra realización es el primer aspecto de la invención, donde el nivel de expresión se determina utilizando microarrays de microRNAs.

30 Un segundo aspecto de la invención es un kit para realizar el método pronóstico según el primer aspecto de la invención, que comprende reactivos para determinar la expresión de los microRNAs hsa-miR-223, hsa-miR-103, hsa-miR-107, hsa-miR-425, hsa-miR-340, hsa-miR-130b, hsa-miR-652, hsa-miR-214 y hsa-miR-204 con secuencias identificadas por las secuencias SEQ ID NO: 1-9 en una muestra tumoral de un paciente.

35

Otra realización es el segundo aspecto de la invención, que comprende un microarray de microRNAs.

5 A continuación se indica a qué miRNA corresponde cada una las secuencias del listado de secuencias.

- SEQ ID NO: 1: hsa-miR-223
- SEQ ID NO: 2: hsa-miR-103
- SEQ ID NO: 3: hsa-miR-107
- 10 SEQ ID NO: 4: hsa-miR-425
- SEQ ID NO: 5: hsa-miR-340*
- SEQ ID NO: 6: hsa-miR-130b
- SEQ ID NO: 7: hsa-miR-652
- SEQ ID NO: 8: hsa-miR-214
- 15 SEQ ID NO: 9: hsa-miR-204

TEXTO LIBRE DE LA LISTA DE SECUENCIAS

20 A continuación se aporta una transcripción del texto libre que aparece en la lista de secuencias.

- SEQ ID NO: 1. hsa-miR-223
- SEQ ID NO: 2. hsa-miR-103
- SEQ ID NO: 3. hsa-miR-107
- 25 SEQ ID NO: 4. hsa-miR-425
- SEQ ID NO: 5. hsa-miR-340*
- SEQ ID NO: 6. hsa-miR-130b
- SEQ ID NO: 7. hsa-miR-652
- SEQ ID NO: 8. hsa-miR-214
- 30 SEQ ID NO: 9. hsa-miR-204

BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

35 Figura 1. Supervivencia Libre de Enfermedad por grupos de riesgo. La Supervivencia Libre de Enfermedad a distancia a los 5 años fue del 93,9% para pacientes de bajo riesgo y del

61,54% para pacientes con alto riesgo (HR (*Hazard Ratio*)=12,1, p=0,0001) IC (Intervalo de Confianza) (3,012-37,92).

5 Figura 2. Supervivencia Cáncer Específica (SCE) por grupos de riesgo. La Supervivencia Cáncer Específica (SCE) a los cinco años fue 95,7% y 86,4% en los grupos de bajo y alto riesgo respectivamente (HR (*Hazard Ratio*) = 7,7, p = 0,0084) IC (Intervalo de Confianza) (1,687-35,14).

MODOS DE REALIZACIÓN PREFERENTE

10

Ejemplo 1. Diseño del estudio en una cohorte de pacientes

15 Se realizó un estudio observacional donde se incluyen todas las nefrectomías radicales y parciales practicadas en el Hospital Universitario 12 de Octubre de Madrid, entre los años 1999 y 2008.

Se incluyeron todos los pacientes sometidos a nefrectomía (radical o parcial, abierta o laparoscópica) entre 1999 y 2008 en el estudio.

20 En el estadiaje se ha utilizado el sistema TNM, que es la clasificación más comúnmente aceptada. Esta clasificación ha sido modificada por última vez en 2010.

Tabla 1. Clasificación TNM

T. Tumor primario
Tx: el tumor primario no puede ser valorado
T0: no existe evidencia de tumor primario
T1: Tumor primario < 7 cm de diámetro mayor, confinado al riñón
T1a: Tumor primario < 4 cm de diámetro mayor, confinado al riñón
T1b: Tumor primario > 4 cm pero < 7 cm de diámetro mayor, confinado al riñón
T2: Tumor primario > 7 cm de diámetro mayor, confinado al riñón
T2a: Tumor primario > 7 cm pero < 10 cm de diámetro mayor, confinado al riñón
T2b: Tumor primario > 10 cm de diámetro mayor, confinado al riñón
T3: Tumor invade las venas mayores o la glándula adrenal o la grasa perirrenal sin sobrepasar las fascia de Gerota.
T3a: el tumor invade la vena renal o sus ramas segmentarias (con músculo), infiltra la grasa

del seno			
T3b: el tumor invade la vena cava por debajo del diafragma			
T3c: el tumor invade la vena cava por encima del diafragma o infiltra la pared de la vena			
T4: Tumor invade más allá de la fascia de Gerota			
N. Ganglios Linfáticos Regionales			
Nx: no se puede valorar los ganglios regionales			
N0: no se demuestran metástasis ganglionar regional			
N1: metástasis a nivel de un único ganglio regional			
N2: metástasis en más de un ganglio regional			
M. Metástasis a distancia			
M0: ausencia de metástasis			
M1: metástasis a distancia			
Agrupación por estadios TNM			
Estadio I	T1	N0	M0
Estadio II	T2	N0	M0
Estadio III	T3	N0	M0
	T1,T2,T3	N1	M0
Estadio IV	T4	cualquier N	M0
	cualquier T	N2	M0
	cualquier T	cualquier N	M1

De un total de 164 pacientes, se seleccionaron 71 que cumplían los siguientes criterios:

- Histología células claras
- 5 • Estadio tumoral: estadio I (T1N0M0) y estadio II (T2N0M0)
- Cualquier grado de Fuhrman
- Cualquier tamaño tumoral, siempre que esté confinado al riñón (menor o igual a T2b)
- Cualquier ECOG (*Eastern Cooperative Oncology Group Performance Status*)
- Pacientes asintomáticos o con síntomas relacionados

10

Se excluyó del estudio cualquier paciente con cualquiera de las características siguientes:

- Estadio tumoral mayor o igual a T3
- Cualquier N+
- 15 • Cualquier M+
- Cualquier otra histología (papilar, cromóforo, diferenciación sarcomatoide)

- Tiempo de seguimiento menor de 1 año
- Ausencia de datos suficientes en la historia clínica
- Ausencia de muestras en parafina para el análisis de microRNA

5 Ejemplo 2. Análisis de la expresión de microRNAs

Las piezas tumorales de nefrectomía se fijaron en formol, para lo cual, tras recibir la pieza de nefrectomía parcial o radical, se pesó, se midió y se fijó por inmersión en formaldehído (formol) al 10% durante 24-48 horas.

10

Posteriormente se realizó la inclusión en parafina en un procesador automático de tejidos.

Posteriormente se realizó el corte de la pieza y se procedió a la extracción del ARN a partir de las muestras tumorales fijadas en formol y embebidas en parafina.

15

Las muestras se hibridaron con microarrays de miRNA humanos versión 14.0, 8x15K (Agilent Technologies), siguiendo el protocolo del fabricante.

20 Ejemplo 3. Pronóstico de riesgo de recidiva en cáncer de riñón tipo carcinoma renal de células claras basado en un perfil de miRNAs

Se ha calculado un nivel de significación estadística para cada miRNA basado en un modelo de regresión de Cox (Shu Y, Klein JP, Zhang M-J. Asymptotic theory for the Cox semi-Markov illness-death model. Lifetime Data Anal. 2007 Mar;13(1):91–117) con el objetivo de identificar un perfil de miRNAs cuya expresión estuviera relacionada significativamente con la supervivencia libre de enfermedad. Los miRNAs relacionados con supervivencia libre de enfermedad se filtraron en base a sus valores de p. Se utilizaron miRNAs que muestran un valor de $p < 0,01$ para desarrollar modelos de predicción del riesgo de recurrencia utilizando el método de componentes principales supervisado. Además, se evaluó la correlación entre los miRNAs seleccionados para establecer grupos de correlación con el fin de encontrar perfiles reducidos. Se utilizó una validación cruzada para evaluar la exactitud de predicción de los perfiles. El punto de corte se estableció a priori y para probar la significación estadística; el valor p en la prueba de log-rank para los grupos de riesgo se evaluó utilizando 10.000 permutaciones aleatorias.

35

Se generó un modelo de predicción de progresión en pacientes con cáncer renal de células

claras en estadios I-II al diagnóstico (RCC-9miR score). Este modelo está compuesto por la expresión de nueve miRNAs (Tabla 2). El score del predictor se calcula aplicando la siguiente fórmula:

$$\sum_i w_i x_i - 2,896583$$

5

donde w_i es el peso y x_i el valor de expresión del microRNA i .

El resultado de la fórmula es un valor que depende de los niveles de expresión de los microRNAs hsa-miR-223, hsa-miR-103, hsa-miR-107, hsa-miR-425, hsa-miR-340, hsa-miR-130b, hsa-miR-652, hsa-miR-214 y hsa-miR-204 con secuencias identificadas por las secuencias SEQ ID NO: 1-9.

10

Tabla 2. Predictor 9-miRNAs

miRNA	p	w_i (pesos)
hsa-miR-223	0,0013	0,098392
hsa-miR-103	0,0026	0,045806
hsa-miR-107	0,0076	0,045869
hsa-miR-425	0,0083	0,163188
hsa-miR-340*	0,0107	0,495063
hsa-miR-130b	0,0108	0,374902
hsa-miR-652	0,0152	0,311327
hsa-miR-214	0,0163	-0,064772
hsa-miR-204	0,0173	-0,220399

15

En la Tabla 3 se muestra la asociación entre el perfil de miRNA con progresión de la enfermedad. El perfil de miRNA se asocia de manera estadísticamente significativa con progresión de la enfermedad con $p = 0,0001$.

20

Tabla 3. Tabla de contingencia: variable perfil de miRNA y progresión de la enfermedad

	Progresión		p
	Sí	No	

	n (%)	n (%)	
Bajo riesgo	3 (6%)	47 (94%)	0,0001
Alto Riesgo	9 (42,8%)	12 (57,2%)	

Pacientes con una puntuación mayor a 0,954 se consideraron de alto riesgo. El modelo predictivo catalogó de alto riesgo el 30% de los pacientes. La Supervivencia Libre de Enfermedad (SLE) a distancia a los 5 años fue del 93,9% para pacientes de bajo riesgo y del 61.54% para pacientes con alto riesgo (HR=12,1 (*Hazard Ratio*), p=0,0001) IC (Intervalo de Confianza) (3,012-37,92). Estas diferencias en el *long-rank* test se validaron con 10.000 permutaciones (p<0,0013). La Supervivencia Cáncer Específica (SCE) a los cinco años fue 95,7% y 86,4% en los grupos de bajo y alto riesgo respectivamente (HR=7,7, p=0,0084) IC (1,687-35,14).

El Predictor 9-miRNA es un predictor excelente de progresión de la enfermedad. El Predictor 9-miRNA se ha comportado como factor predictor y es estadísticamente significativo (p = 0,023, HR (*hazard ratio*) 6,55; IC (intervalo de confianza) 95% (1,29 – 33,165)) en el análisis para Supervivencia Cáncer Específica (SCE).

REIVINDICACIONES

1. Un método pronóstico para identificar riesgo de recidiva de cáncer de riñón tipo carcinoma renal de células claras estadios I y II en un sujeto humano, caracterizado por que comprende:
 - 5 (a) determinar en una muestra tumoral de dicho sujeto humano el nivel de expresión de los microRNAs hsa-miR-223, hsa-miR-103, hsa-miR-107, hsa-miR-425, hsa-miR-340, hsa-miR-130b, hsa-miR-652, hsa-miR-214 y hsa-miR-204 con secuencias identificadas por las secuencias SEQ ID NO: 1-9,
 - 10 (b) determinar un valor que depende de los niveles de expresión de los microRNAs hsa-miR-223, hsa-miR-103, hsa-miR-107, hsa-miR-425, hsa-miR-340, hsa-miR-130b, hsa-miR-652, hsa-miR-214 y hsa-miR-204 con secuencias identificadas por las secuencias SEQ ID NO: 1-9 y
 - 15 (c) identificar el riesgo de recidiva de cáncer de riñón tipo carcinoma renal de células claras estadios I y II en dicho sujeto humano comparando el valor obtenido en la etapa (b) con un valor de corte.
2. Método según reivindicación 1, caracterizado por que el nivel de expresión se determina utilizando microarrays de microRNAs.
3. Kit para realizar el método pronóstico según la reivindicación 1, caracterizado por que comprende reactivos para determinar la expresión de los microRNAs hsa-miR-223, hsa-miR-103, hsa-miR-107, hsa-miR-425, hsa-miR-340, hsa-miR-130b, hsa-miR-652, hsa-miR-214 y hsa-miR-204 con secuencias identificadas por las secuencias SEQ ID NO: 1-9 en una muestra tumoral de un paciente.
- 20 4. Kit según la reivindicación 3, caracterizado por que comprende un microarray de microRNAs.



- ②① N.º solicitud: 201531360
 ②② Fecha de presentación de la solicitud: 23.09.2015
 ③② Fecha de prioridad:

INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TECNICA

⑤① Int. Cl.: **C12Q1/68** (2006.01)

DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	⑤⑥ Documentos citados	Reivindicaciones afectadas
A	WO 2011039757 A2 (ROSETTA GENOMICS LTD [IL/IL]) 07.04.2011, página 1, líneas 8-23; página 8, líneas 9-11; página 6, línea 19.	1-4
A	WO 2010145035 A1 (SIU, KW. MICHAEL [CA/CA]) 23.12.2010, página 3, párrafos [0009]-[0012]; Tabla 12.	1-4
A	LI M. et al. MicroRNAs in renal cell carcinoma: A systematic review of clinical implications (Review). Oncology Reports. 2015 Abr. Vol. 33(4), pp: 1571-1578, todo el documento.	1-4
A	WO 2013026684 A1 (FEBIT HOLDING GMBH [DE/DE]) 28.02.2013, página 1, resumen.	1-4
A	HILDEBRANDT M. et al. Hsa-miR-9 methylation status is associated with cancer development and metastatic recurrence in patients with clear cell renal cell carcinoma. Oncogene. 2010. Vol. 29, pp: 5724-5728, página 5724, resumen.	1-4

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:

<p>Fecha de realización del informe 09.03.2016</p>	<p>Examinador M. D. García Grávalos</p>	<p>Página 1/4</p>
---	--	------------------------------

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, NPL, BIOSIS, MEDLINE, EMBASE, USPTO PATENT DATABASE, PUBMED, GOOGLE SCHOLAR, EBI.

Fecha de Realización de la Opinión Escrita: 09.03.2016

Declaración

Novedad (Art. 6.1 LP 11/1986)	Reivindicaciones 1-4	SI
	Reivindicaciones	NO
Actividad inventiva (Art. 8.1 LP11/1986)	Reivindicaciones 1-4	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	WO 2011039757 A2	07.04.2011
D02	WO 2010145035 A1	23.12.2010
D03	LI M et al. Oncology Reports. 2015 Apr. Vol.33(4), pp:1571-1578.	Abril 2015
D04	WO 2013026684 A1	28.02.2013
D05	HILDEBRANDT M. et al. Oncogene. 2010. Vol.29, pp:5724-5728.	2010

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

La presente invención divulga un método de pronóstico de riesgo de recidiva de cáncer de riñón, de tipo carcinoma renal de células claras estadios I y II, en un sujeto humano, que comprende los siguientes pasos: a) determinar, en una muestra tumoral aislada de dicho sujeto, el nivel de expresión de los microRNAs: hsa-miR-223, hsa-miR-103, hsa-miR-107, hsa-miR-425, hsa-miR-340, hsa-miR-130b, hsa-miR-652, hsa-miR-214, hsa-miR-204; b) determinar un valor que depende de dicho nivel de expresión; c) identificar riesgo de recidiva de cáncer de riñón comparando el valor obtenido en b) con un valor de corte (reivindicaciones 1 y 2). Se refiere también a un kit para detección de estos microRNAs (reivindicaciones 3 y 4).

El documento D01 divulga un método de pronóstico de pacientes con carcinoma renal empleando moléculas de microRNAs como marcadores asociados con el pronóstico de esta enfermedad (ver página 1, líneas 8-23; página 8, líneas 9-11; página 6, línea 19).

El documento D02 divulga unos métodos para detección, diagnóstico, seguimiento y tratamiento de un cáncer renal empleando proteínas, polinucleótidos y moléculas de microRNAs como marcadores asociados con esta enfermedad (ver página 3, párrafos [0009]-[0012]; Tabla 12).

El documento D03 divulga una revisión sobre las implicaciones clínicas de los MicroRNAs en el desarrollo y evolución del carcinoma renal y el uso de estas moléculas como marcadores de diagnóstico y pronóstico de esta enfermedad (ver todo el documento).

El documento D04 divulga unos métodos de diagnóstico y/o pronóstico de cáncer de riñón empleando moléculas de microRNAs como marcadores asociados con el pronóstico de esta enfermedad (ver página 1, resumen).

El documento D05 divulga un estudio sobre la relación entre el estado de metilación del microRNA: hsa-miR-9 y el desarrollo y recurrencia de metástasis en pacientes con carcinoma renal de células claras (ver página 5724, resumen).

1. NOVEDAD Y ACTIVIDAD INVENTIVA (Art. 6.1 y Art. 8.1 LP 11/1986)

El objeto técnico de la presente invención es un método de pronóstico de riesgo de recidiva de cáncer de riñón, de tipo carcinoma renal de células claras estadios I y II, en un sujeto humano, que comprende los siguientes pasos: a) determinar, en una muestra tumoral aislada de dicho sujeto, el nivel de expresión de los microRNAs: hsa-miR-223, hsa-miR-103, hsa-miR-107, hsa-miR-425, hsa-miR-340, hsa-miR-130b, hsa-miR-652, hsa-miR-214, hsa-miR-204; b) determinar un valor que depende de dicho nivel de expresión; c) identificar riesgo de recidiva de cáncer de riñón comparando el valor obtenido en b) con un valor de corte.

1.1. REIVINDICACIONES 1-4

Los documentos D01 y D02 se consideran los más cercanos al estado de la técnica ya que anticipan un método de pronóstico de pacientes con carcinoma renal de células claras empleando moléculas de microRNAs como marcadores asociados con el pronóstico de esta enfermedad. Estos documentos citan algunos de los microRNAs del grupo reivindicado en la presente invención y también D01 a su uso para pronosticar riesgo de recurrencias y progresión de la enfermedad.

La diferencia entre los documentos D01 y D02 y el objeto técnico de la invención radica en el uso de un bloque de nueve microRNAs para llevar a cabo el método de la invención que no ha sido encontrado. De este modo, se considera que la invención proporciona una alternativa diferente a lo divulgado en el estado de la técnica.

En consecuencia, según lo divulgado en D01 y D02, las reivindicaciones 1-4 cumplen con los requisitos de novedad y actividad inventiva (**Art. 6.1 y Art. 8.1 LP11/1986**).

Los documentos D03-D05 se refieren al estado de la técnica y no son relevantes en relación a la novedad y actividad inventiva del objeto de la invención.