

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 743 508**

51 Int. Cl.:

G01N 33/574 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **01.10.2014 PCT/EP2014/071036**

87 Fecha y número de publicación internacional: **09.04.2015 WO15049282**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **01.10.2014 E 14777634 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **05.06.2019 EP 3052938**

54 Título: **Métodos y productos para el diagnóstico y el pronóstico de la malignidad de tumores de ovario**

30 Prioridad:

02.10.2013 ES 201331448

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

19.02.2020

73 Titular/es:

**ONCOMATRYX BIOPHARMA, S.L. (100.0%)
Parque Tecnológico de Bizkaia, Edificio 801-B 2º
planta
48160 Derio (Bizkaia), ES**

72 Inventor/es:

**DOMINGUEZ HORMAETXE, SAIOA y
SIMON BUELA, LAUREANO**

74 Agente/Representante:

ARIAS SANZ, Juan

ES 2 743 508 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 y productos para el diagnóstico y el pronóstico de la malignidad de tumores de ovario

5 **Campo de la invención**

La presente invención se refiere a métodos y productos *in vitro* para el diagnóstico y el pronóstico de la malignidad de tumores de ovario.

10 **Antecedentes de la invención**

El cáncer es uno de los principales problemas de salud pública a escala mundial. Según la base de datos GLOBOCAN, de la Agencia Internacional de Investigación en Cáncer de la Organización Mundial de la Salud, más de 12 millones de casos de cáncer se diagnosticaron en todo el mundo durante el año 2008, y el número de muertes debidas al cáncer el año 2.008 fue superior a 7 millones de personas.

Las células tumorales durante el proceso de malignización cambian su patrón de expresión proteica, lo que altera procesos celulares, tales como el mantenimiento de la arquitectura celular, la adhesión, la muerte y la proliferación celulares. Estas modificaciones no solo generan cambios en las propias células tumorales, sino que hacen que algunas células del estroma que rodea el tumor reciban señales moleculares alteradas y cambien su patrón de comportamiento y su patrón de expresión proteica, adquiriendo una morfología típica de miofibroblastos. Las moléculas secretadas por estos miofibroblastos en respuesta al tumor adyacente pueden a su vez contribuir de diferente manera a promover el crecimiento e invasión tumorales, de manera que se establece un bucle paracrino entre tumor y estroma. En los últimos años, se han generado evidencias científicas que apuntan cada vez con mayor precisión hacia el estroma peritumoral como uno de los principales promotores de la invasividad tumoral, así como de fenómenos de resistencia a terapia.

Los métodos y productos para el diagnóstico y el pronóstico de la malignidad de tumores de ovario objeto de la presente invención, se enmarcan en este novedoso marco de investigación, ya que se basan en el uso de la proteína proCOL11A1, presente en células del estroma de carcinomas malignos, como marcador de diagnóstico y malignidad de tumores de ovario.

El cáncer de ovario es la enfermedad ginecológica que más muertes provoca en países desarrollados. Con una incidencia de 204.000 casos al año, provoca 125.000 muertes en el mundo. La mortalidad a 5 años ronda el 70-80 %, siendo en la mayoría de los casos debida a la progresión y la metástasis del tumor.

El tipo más común de cáncer de ovario es el cáncer de epitelio ovárico (90 %). Los tumores epiteliales incluyen tumores benignos, tumores de un bajo potencial maligno o tumores *borderline* y tumores malignos, cuyo pronóstico depende fundamentalmente del estadio (I-III) (*Ovarian Cancer Detailed Guideline*, ACS 2013). El tratamiento quirúrgico y farmacológico adecuado para cada tipo de tumor depende de la extensión del tumor y de su riesgo de progresión, al igual que en el resto de los tumores; pero en el cáncer de ovario la decisión quirúrgica debe ser lo más conservadora posible, con el fin de evitar la pérdida de fertilidad en las pacientes. Es por ello que resulta de vital importancia clasificar correctamente los tumores y evaluar la capacidad de progresión y metástasis de los tumores en el momento del diagnóstico, lo que permitiría seleccionar el procedimiento quirúrgico correcto para cada paciente.

Los tumores de un bajo potencial maligno o tumores *“borderline”* son tumores benignos que pueden progresar a tumores malignos e invasivos. Estos tumores tienden a extenderse fuera de los ovarios generando implantaciones, que pueden ser invasivas o no invasivas. Se han hecho intentos de asociar la invasividad de estas implantaciones con el riesgo de malignización de los tumores *“borderline”*, pero resulta muy complicado evaluarla, especialmente en muestras de biopsia y actualmente no existen criterios que permitan clasificar los tumores *“borderline”* de acuerdo con su capacidad de progresión. Además, estos tumores pueden confundirse con tumores malignos de estadio I, dado que comparten muchas características morfológicas. Estos tumores de un bajo potencial maligno, así como los tumores benignos, suelen presentarse junto con tumores malignos y pueden enmascarar dichos tumores, dificultando su detección, especialmente en las biopsias pequeñas.

Por todo ello, es necesario un sistema de diagnóstico que permita distinguir de manera precisa las lesiones benignas de los tumores malignos de ovario, así como predecir el riesgo de malignización de los tumores *“borderline”*, permitiendo seleccionar el tratamiento más adecuado para cada paciente, asegurando la eliminación de la enfermedad y evitando tratamientos excesivos o innecesarios que puedan interferir con la fertilidad de las pacientes.

El colágeno es el principal componente de la matriz extracelular (*“ECM”*, del inglés *“Extracellular Matrix”*). La correcta expresión de los genes que codifican los distintos tipos de colágeno es necesaria para el correcto ensamblaje de la ECM durante el desarrollo embrionario y para su mantenimiento en el organismo adulto. El colágeno XI (COL11) es un tipo de colágeno poco estudiado, pero juega un papel fundamental en la regulación de los entramados fibrilares en matrices cartilaginosas y no cartilaginosas; estos entramados de fibras están implicados en distintos procesos de morfogénesis durante el desarrollo embrionario en animales vertebrados. Se han encontrado transcritos de la

cadena alfa 1 ($\alpha 1$) del colágeno XI (COL11A1) durante el desarrollo fetal en tejidos cartilagosos y también en otros tejidos tales como hueso, riñón, piel, músculo, lengua, intestino, hígado, oreja, cerebro y pulmón. La matriz extracelular tiene también un papel importante en determinados procesos biológicos, tales como la diferenciación, proliferación y migración celulares; por tanto, la desregulación de la expresión de los genes que codifican para las proteínas que la componen, se asocia a procesos de carcinogénesis y metástasis. En el caso particular de COL11A1, se ha demostrado que los fibroblastos del estroma presentan niveles elevados de expresión del gen *col11a1* en carcinomas colorrectales esporádicos, mientras que este gen no se expresa en colon sano. Se ha asociado también la expresión del gen *col11a1* a cáncer de páncreas, mama, colon, pulmón, cabeza y cuello, y vejiga, y se ha asociado la expresión de la proteína COL11A1 a cáncer de páncreas y de colon.

Estudios recientes han detectado expresión elevada de transcrito de ARN mensajero (ARNm) del gen *col11a1* en tumores de ovario de estadio avanzado (Kim, H et al. *BMC Med Genomics*. 3 de noviembre de 2010; 3:51), recurrentes o de mal pronóstico (Wu, YH et al; *Oncogene*. 12 de agosto de 2013), sugiriendo un posible papel de esta molécula en la progresión tumoral, aunque aún no se ha descrito la presencia de la proteína que codifica, COL11A1, ni su proteína precursora, la proteína proCOL11A1, en tumores de pacientes con cáncer de ovario. La expresión elevada del transcrito de ARNm de un gen no provoca necesariamente la expresión elevada de la proteína codificada por este gen codifica (Gigy et al., *Mol. Cel. Biol.*, 1999, 9:1720-1733; Greenbaum et al., *Genome Biology*, 2003, 4:117). El documento WO2013/021088A2 desvela un método para detectar un carcinoma invasivo en un individuo usando el anticuerpo 1E8.33 que reconoce específicamente la proteína proCOL11A1. El documento W02012/142330A1 se refiere a métodos *in vitro* para detectar la presencia de un carcinoma invasivo para determinar y/o predecir el estadio y/o la invasividad del carcinoma o para controlar el efecto de la terapia basada en el gen *col11a1* y la expresión de la proteína proCOL11A1. Hoon Kim et al (*BMC, Medical genomics*, noviembre de 2011, vol. 3, n.º 51) y Y-H Wu et al (*Oncogene*, agosto de 2013, vol. 33, n.º 26) identificaron la sobreexpresión de COL11A1 como un indicador del estadio y la invasividad del cáncer de ovario. Javier Freire et al (*Journal of Clinical Oncology* (2013, *ASCO Annual Meeting Abstracts*, vol. 31, n.º 15) y Garcia-Ocana Marcos et al (*International Journal of Oncology*, febrero de 2012, documento XP055167934) desvelan proCOL11A1 como biomarcador para el cáncer distinto del cáncer de ovarios.

Los autores de la presente invención han desarrollado métodos y productos para detectar la proteína proCOL11A1 en tumores de ovario y distinguen de manera precisa las lesiones benignas de los tumores malignos de ovario, así como para hacer un pronóstico del riesgo de malignización de los tumores "borderline".

Breve descripción de la invención

Los autores de la presente invención han descubierto, mediante análisis inmunohistoquímico de biopsias de tejido de ovario, empleando el anticuerpo monoclonal 1E8.33 descrito en la solicitud de patente internacional WO 2013/021088 A2, que la proteína proCOL11A1 se expresa en tumores malignos de ovario (carcinomas), pero no se expresa en tejido no tumoral de ovario, ni en tumores de ovario *in situ* o benignos o "borderline".

Esta evidencia convierte a anticuerpos específicos de proCOL11A1 en anticuerpos ideales para el desarrollo de nuevos métodos y productos *in vitro* para el diagnóstico del cáncer de ovario así como para diferenciar en la biopsia diagnóstica, o en muestras de ensayo quirúrgicas, o en fluidos del paciente, incluyendo, pero no limitándose a sangre, suero, plasma, líquido ascítico u orina, los tumores malignos de ovario de los tumores benignos o *in situ*, para hacer un pronóstico de la malignidad de los tumores de ovario y para predecir la malignidad de los tumores "borderline", guiando así la decisión quirúrgica y de seguimiento. En concreto, la invención proporciona métodos y productos para identificar *in vitro*, con alta sensibilidad y especificidad, los tumores malignos de ovario, incluso en los casos en los que la morfología del tumor y los marcadores actuales no se detectan.

En un aspecto, la invención se refiere a un método *in vitro* para el diagnóstico diferencial de un tumor maligno de ovario, en donde dicho tumor maligno de ovario es un tumor maligno en los ovarios que puede ser seroso, mucinoso, endometriode, tumor de células claras o tumor indiferenciado, frente a un tumor de ovario benigno o *in situ* o frente a una lesión ovárica benigna no tumoral en un sujeto, seleccionado entre el Método (A) y el Método (B), en donde

A) el Método (A) comprende:

- detectar la presencia de la proteína proCOL11A1 en una muestra obtenida mediante biopsia, citología o resección quirúrgica de dicho sujeto;

en donde

- la detección de la presencia de la proteína proCOL11A1 en dicha muestra es indicativa de que el tumor de ovario es maligno; o, como alternativa
- la no detección de la presencia de proteína proCOL11A1 en dicha muestra es indicativa de que el tumor de ovario es benigno o *in situ*, o de que el sujeto tiene una lesión ovárica no tumoral benigna; y

B) el Método (B) comprende:

- comparar el nivel de expresión de la proteína proCOL11A1 en dicha muestra con el nivel de expresión de dicha proteína proCOL11A1 en una muestra de control;

5

en donde

- un nivel de expresión de la proteína proCOL11A1 en dicha muestra superior al nivel de expresión de dicha proteína proCOL11A1 en una muestra de control es indicativo de que dicho tumor de ovario es un tumor maligno, o, como alternativa,
- un nivel de expresión de la proteína proCOL11A1 en dicha muestra igual o inferior al nivel de expresión de dicha proteína proCOL11A1 en una muestra de control es indicativo de que el tumor de ovario es benigno o *in situ*, o de que el sujeto tiene una lesión benigna no tumoral de ovario.

10

15

En otro aspecto, la invención se refiere a un método *in vitro* para el diagnóstico o el pronóstico de la malignidad del tumor de ovario en un sujeto, en donde dicho sujeto es un sujeto que se sospecha que tiene un tumor de ovario maligno, en donde dicho tumor de ovario maligno es un tumor maligno en los ovarios que puede ser seroso, mucinoso, endometriode, tumor de células claras o tumor indiferenciado, o es un sujeto diagnosticado con un tumor de ovario de un bajo potencial maligno o "*borderline*", con o sin implantaciones extraováricas, seleccionado entre el Método (A) y el Método (B), en donde

20

A) el Método (A) comprende:

- detectar la presencia de la proteína proCOL11A1 en una muestra obtenida mediante biopsia, citología o resección quirúrgica, de dicho sujeto que se sospecha que tiene un tumor de ovario maligno o diagnosticado con un tumor de ovario de un bajo potencial maligno o "*borderline*", con o sin implantaciones extraováricas;

25

en donde

- la detección de la presencia de la proteína proCOL11A1 en dicha muestra de dicho sujeto que se sospecha que tiene un tumor de ovario maligno o diagnosticado con un tumor de ovario de un bajo potencial maligno o "*borderline*", con o sin implantaciones extraováricas, es indicativa de que dicho sujeto tiene un tumor de ovario maligno o de que dicho tumor de un bajo potencial maligno o "*borderline*", con o sin implantaciones extraováricas, es capaz de progresar a un tumor de ovario maligno, o, como alternativa
- la no detección de la presencia de la proteína proCOL11A1 en dicha muestra de dicho sujeto que se sospecha que tiene un tumor de ovario maligno o diagnosticado con un tumor de ovario de un bajo potencial maligno o "*borderline*", con o sin implantaciones extraováricas, es indicativa de que dicho sujeto no tiene un tumor de ovario maligno, o de que dicho sujeto tiene un tumor de ovario benigno o *in situ*, o de que dicho tumor de un bajo potencial maligno o "*borderline*" no es capaz de progresar a un tumor de ovario maligno; y

30

35

40

B) el Método (B) comprende:

- comparar el nivel de expresión de la proteína proCOL11A1 en dicha muestra de dicho sujeto que se sospecha que tiene un tumor de ovario maligno o diagnosticado con un tumor de ovario de un bajo potencial maligno o "*borderline*", con o sin implantaciones extraováricas, con el nivel de expresión de dicha proteína proCOL11A1 en una muestra de control;

45

en donde

- un nivel de expresión de la proteína proCOL11A1 en dicha muestra de dicho sujeto que se sospecha que tiene un tumor de ovario maligno o diagnosticado con un tumor de ovario de un bajo potencial maligno o "*borderline*", con o sin implantaciones extraováricas, superior al nivel de expresión de dicha proteína proCOL11A1 en una muestra de control es indicativo de que dicho sujeto tiene un tumor de ovario maligno o de que dicho tumor de un bajo potencial maligno o "*borderline*" es capaz de progresar a un tumor de ovario maligno, o, como alternativa
- un nivel de expresión de la proteína proCOL11A1 en dicha muestra de dicho sujeto que se sospecha que tiene un tumor de ovario maligno o diagnosticado con un tumor de ovario de un bajo potencial maligno o "*borderline*", con o sin implantaciones extraováricas, igual o inferior al nivel de expresión de dicha proteína proCOL11A1 en una muestra de control es indicativo de que el sujeto no tiene un tumor de ovario maligno, o de que dicho sujeto tiene un tumor de ovario benigno o *in situ*, o de que dicho tumor de un bajo potencial maligno o "*borderline*" no es capaz de progresar a un tumor de ovario maligno.

50

55

60

65

En otro aspecto, la invención se refiere a un método *in vitro* para determinar la probabilidad de malignización de un

tumor de ovario de un bajo potencial maligno o "borderline", con o sin implantaciones extraováricas, en un sujeto diagnosticado con dicho tumor, seleccionado entre el Método (A) y el Método (B), en donde

A) el Método (A) comprende

- 5
- detectar la presencia de la proteína proCOL11A1 en una muestra obtenida mediante biopsia, citología o resección quirúrgica de dicho sujeto diagnosticado con un tumor de ovario de un bajo potencial maligno o "borderline", con o sin implantaciones extraováricas;

10 en donde

- 15
- la detección de la presencia de la proteína proCOL11A1 en dicha muestra de dicho sujeto diagnosticado con un tumor de ovario de un bajo potencial maligno o "borderline", con o sin implantaciones extraováricas, es indicativa de que la probabilidad de que el tumor progrese a un tumor maligno de ovario es alta, o, como alternativa
 - la no detección de la presencia de la proteína proCOL11A1 en dicha muestra de dicho sujeto diagnosticado con un tumor de ovario de un bajo potencial maligno o "borderline", con o sin implantaciones extraováricas, es indicativa de que la probabilidad de que el tumor progrese a un tumor maligno de ovario es baja; y
- 20

B) el Método (B) comprende

- 25
- comparar el nivel de expresión de la proteína proCOL11A1 en dicha muestra de dicho sujeto diagnosticado con un tumor de ovario de un bajo potencial maligno o "borderline", con o sin implantaciones extraováricas, con el nivel de expresión de dicha proteína proCOL11A1 en una muestra de control;

en donde

- 30
- un nivel de expresión de la proteína proCOL11A1 en dicha muestra de dicho sujeto diagnosticado con un tumor de ovario de un bajo potencial maligno o "borderline", con o sin implantaciones extraováricas, superior al nivel de expresión de dicha proteína proCOL11A1 en una muestra de control es indicativo de que la probabilidad de que el tumor progrese a un tumor maligno de ovario es alta; o, como alternativa
 - un nivel de expresión de la proteína proCOL11A1 en dicha muestra de dicho sujeto diagnosticado con un tumor de ovario de un bajo potencial maligno o "borderline", con o sin implantaciones extraováricas, igual o inferior al nivel de expresión de dicha proteína proCOL11A1 en una muestra de control es indicativo de que la probabilidad de que el tumor progrese a un tumor maligno de ovario es baja.
- 35

40 En otro aspecto, la invención se refiere a un método para seleccionar un sujeto que se sospecha que tiene un tumor maligno de ovario, en donde dicho tumor de ovario maligno es un tumor maligno en los ovarios que puede ser seroso, mucinoso, endometriode, tumor de células claras o tumor indiferenciado, para un tratamiento, o para seleccionar un sujeto diagnosticado con un tumor de ovario con bajo potencial maligno o "borderline", con o sin implantaciones extraováricas, para un tratamiento, en donde dicho tratamiento comprende la extirpación quirúrgica de dicho tumor de ovario, la realización de análisis adicionales para evaluar la infiltración tumoral y las metástasis si se sospecha que el sujeto tiene un tumor de ovario maligno, la elección de un tratamiento quimioterápico y/o radioterápico, y el seguimiento posterior, comprendiendo dicho método:

45

- 50
- detectar la presencia de la proteína proCOL11A1 en una muestra obtenida mediante biopsia, citología o resección quirúrgica de dicho sujeto que se sospecha que tiene un tumor maligno de ovario, o de dicho sujeto diagnosticado con un tumor de ovario de un bajo potencial maligno o "borderline", con o sin implantaciones extraováricas; o
 - comparar el nivel de expresión de la proteína proCOL11A1 en dicha muestra de dicho sujeto que se sospecha que tiene un tumor maligno de ovario, o en dicha muestra de dicho sujeto diagnosticado con un tumor de ovario de un bajo potencial maligno o "borderline", con o sin implantaciones extraováricas, con el nivel de expresión de dicha proteína proCOL11A1 en una muestra de control;
- 55

en donde dicho sujeto se selecciona para dicho tratamiento:

- 60
- si se detecta la presencia de la proteína proCOL11A1 en dicha muestra del sujeto que se sospecha que tiene un tumor maligno de ovario, o en dicha muestra de dicho sujeto diagnosticado con un tumor de ovario de un bajo potencial maligno o "borderline", con o sin implantaciones extraováricas; o
 - si el nivel de expresión de la proteína proCOL11A1 en dicha muestra de dicho sujeto que se sospecha que tiene un tumor maligno de ovario, o en dicha muestra de dicho sujeto diagnosticado con un tumor de ovario de un bajo potencial maligno o "borderline", con o sin implantaciones extraováricas, es superior al nivel de
- 65

expresión de dicha proteína proCOL11A1 en la muestra de control;

o, como alternativa

5 en donde dicho sujeto no se selecciona para dicho tratamiento:

- si no se detecta la presencia de la proteína proCOL11A1 en dicha muestra de dicho sujeto que se sospecha que tiene un tumor maligno de ovario, o en dicha muestra de dicho sujeto diagnosticado con un tumor de ovario de un bajo potencial maligno o "*borderline*", con o sin implantaciones extraováricas; o
- si el nivel de expresión de la proteína proCOL11A1 en dicha muestra de dicho sujeto que se sospecha que tiene un tumor maligno de ovario, o en dicha muestra de dicho sujeto diagnosticado con un tumor de ovario de un bajo potencial maligno o "*borderline*", con o sin implantaciones extraováricas, es igual o inferior al nivel de expresión de dicha proteína proCOL11A1 en la muestra de control.

15 En otro aspecto, la invención se refiere a un método para seleccionar un sujeto diagnosticado con un tumor de ovario de un bajo potencial maligno o "*borderline*", con o sin implantaciones extraováricas, para un seguimiento, en donde dicho seguimiento comprende la resección quirúrgica de dicho tumor y el control de la reaparición del tumor, comprendiendo dicho método:

- detectar la presencia de la proteína proCOL11A1 en una muestra obtenida mediante biopsia, citología o resección quirúrgica de dicho sujeto diagnosticado con un tumor de ovario de un bajo potencial maligno o "*borderline*", con o sin implantaciones extraováricas; o
- comparar el nivel de expresión de la proteína proCOL11A1 en dicha muestra de dicho sujeto diagnosticado con un tumor de ovario de un bajo potencial maligno o "*borderline*", con o sin implantaciones extraováricas, con el nivel de expresión de dicha proteína proCOL11A1 en una muestra de control;

20 en donde dicho sujeto se selecciona para dicho seguimiento:

- si se detecta la presencia de la proteína proCOL11A1 en dicha muestra del sujeto diagnosticado con un tumor de ovario de un bajo potencial maligno o "*borderline*", con o sin implantaciones extraováricas; o
- si el nivel de expresión de la proteína proCOL11A1 en dicha muestra de dicho sujeto diagnosticado con un tumor de ovario de un bajo potencial maligno o "*borderline*", con o sin implantaciones extraováricas, es superior al nivel de expresión de dicha proteína proCOL11A1 en la muestra de control.

25 En otro aspecto, la invención se refiere al uso de la proteína proCOL11A1 como marcador para:

- a) detectar un tumor maligno de ovario, en donde dicho tumor de ovario maligno es un tumor maligno en los ovarios que puede ser seroso, mucinoso, endometriode, tumor de células claras o tumor indiferenciado; o para
- b) realizar un diagnóstico diferencial de un tumor maligno de ovario, en donde dicho tumor de ovario maligno es un tumor maligno en los ovarios que puede ser seroso, mucinoso, endometriode, tumor de células claras o tumor indiferenciado, frente a un tumor benigno o *in situ* de ovario o frente a una lesión benigna no tumoral de ovario; o para
- c) hacer un diagnóstico o pronóstico de la malignidad de un tumor de ovario, o para
- d) determinar la probabilidad de malignización de un tumor de ovario de un bajo potencial maligno o "*borderline*", con o sin implantaciones extraováricas; o para
- e) seleccionar un sujeto que se sospecha que tiene un tumor maligno de ovario, en donde dicho tumor de ovario maligno es un tumor maligno en los ovarios que puede ser seroso, mucinoso, endometriode, tumor de células claras o tumor indiferenciado, para un tratamiento que comprende la extirpación quirúrgica del tumor, la realización de análisis adicionales para evaluar el grado de invasión del tumor, la aplicación de un tratamiento quimioterápico y/o radioterápico, y un seguimiento posterior; o para
- f) seleccionar un sujeto diagnosticado con un tumor de ovario de un bajo potencial maligno o "*borderline*", con o sin implantaciones extraováricas, para un tratamiento que comprende la extirpación quirúrgica de dicho tumor, la elección de un tratamiento quimioterápico y/o radioterápico, y el seguimiento posterior; o para
- g) seleccionar un sujeto que se sospecha que tiene un tumor maligno de ovario, en donde dicho tumor de ovario maligno es un tumor maligno en los ovarios que puede ser seroso, mucinoso, endometriode, tumor de células claras o tumor indiferenciado, en donde dicho seguimiento comprende la realización de análisis complementarios para evaluar el grado de infiltración tumoral con el fin de determinar el tratamiento posterior; o para
- h) seleccionar un sujeto con un tumor de ovario de un bajo potencial maligno o "*borderline*", con o sin implantaciones extraováricas, en donde dicho seguimiento comprende la resección quirúrgica del tumor y el control de la reaparición del tumor; o para
- i) seleccionar un sujeto con un tumor de ovario de un bajo potencial maligno o "*borderline*", con o sin

implantaciones extraováricas, en donde dicho seguimiento comprende el control de la reaparición del tumor.

En otro aspecto, la invención se refiere al uso *in vitro* de un anticuerpo específico que reconoce la proteína proCOL11A1 para:

- 5
- a) detectar un tumor maligno de ovario, en donde dicho tumor de ovario maligno es un tumor maligno en los ovarios que puede ser seroso, mucinoso, endometriode, tumor de células claras o tumor indiferenciado; o para
- 10 b) realizar un diagnóstico diferencial de un tumor maligno de ovario, en donde dicho tumor de ovario maligno es un tumor maligno en los ovarios que puede ser seroso, mucinoso, endometriode, tumor de células claras o tumor indiferenciado, frente a un tumor benigno o *in situ* de ovario o frente a una lesión benigna no tumoral de ovario; o para
- c) hacer un diagnóstico o pronóstico de la malignidad de un tumor de ovario, o para
- 15 d) determinar la probabilidad de malignización de un tumor de ovario de un bajo potencial maligno o "borderline", con o sin implantaciones extraováricas; o para
- e) seleccionar un sujeto que se sospecha que tiene un tumor maligno de ovario, en donde dicho tumor de ovario maligno es un tumor maligno en los ovarios que puede ser seroso, mucinoso, endometriode, tumor de células claras o tumor indiferenciado, para un tratamiento que comprende la extirpación quirúrgica del tumor, la realización de análisis adicionales para evaluar el grado de invasión del tumor, la aplicación de un
- 20 tratamiento quimioterápico y/o radioterápico, y un seguimiento posterior; o para
- f) seleccionar un sujeto diagnosticado con un tumor de ovario de un bajo potencial maligno o "borderline", con o sin implantaciones extraováricas, para un tratamiento que comprende la extirpación quirúrgica de dicho tumor, la elección de un tratamiento quimioterápico y/o radioterápico, y el seguimiento posterior; o para
- 25 g) seleccionar un sujeto que se sospecha que tiene un tumor maligno de ovario, en donde dicho tumor de ovario maligno es un tumor maligno en los ovarios que puede ser seroso, mucinoso, endometriode, tumor de células claras o tumor indiferenciado, en donde dicho seguimiento comprende la realización de análisis complementarios para evaluar el grado de infiltración tumoral con el fin de determinar el tratamiento posterior; o para
- 30 h) seleccionar un sujeto con un tumor de ovario de un bajo potencial maligno o "borderline", con o sin implantaciones extraováricas, en donde dicho seguimiento comprende la resección quirúrgica del tumor y el control de la reaparición del tumor; o para
- i) seleccionar un sujeto con un tumor de ovario de un bajo potencial maligno o "borderline", con o sin implantaciones extraováricas, en donde dicho seguimiento comprende el control de la reaparición del tumor.

35 En otro aspecto, la invención se refiere al uso *in vitro* de un kit que comprende un reactivo que reconoce la proteína proCOL11A1, o un reactivo para la detección y/o cuantificación de la expresión de la proteína proCOL11A1 para:

- 40 a) detectar un tumor maligno de ovario, en donde dicho tumor de ovario maligno es un tumor maligno en los ovarios que puede ser seroso, mucinoso, endometriode, tumor de células claras o tumor indiferenciado; o para
- b) realizar un diagnóstico diferencial de un tumor maligno de ovario, en donde dicho tumor de ovario maligno es un tumor maligno en los ovarios que puede ser seroso, mucinoso, endometriode, tumor de células claras o tumor indiferenciado, frente a un tumor benigno o *in situ* de ovario o frente a una lesión benigna no tumoral de ovario; o para
- 45 c) hacer un diagnóstico o pronóstico de la malignidad de un tumor de ovario, o para
- d) determinar la probabilidad de malignización de un tumor de ovario de un bajo potencial maligno o "borderline", con o sin implantaciones extraováricas; o para
- e) seleccionar un sujeto que se sospecha que tiene un tumor maligno de ovario, en donde dicho tumor de ovario maligno es un tumor maligno en los ovarios que puede ser seroso, mucinoso, endometriode, tumor de células claras o tumor indiferenciado, para un tratamiento que comprende la extirpación quirúrgica del tumor, la realización de análisis adicionales para evaluar el grado de invasión del tumor, la aplicación de un
- 50 tratamiento quimioterápico y/o radioterápico, y un seguimiento posterior; o para
- f) seleccionar un sujeto diagnosticado con un tumor de ovario de un bajo potencial maligno o "borderline", con o sin implantaciones extraováricas, para un tratamiento que comprende la extirpación quirúrgica de dicho tumor, la elección de un tratamiento quimioterápico y/o radioterápico, y el seguimiento posterior; o para
- 55 g) seleccionar un sujeto que se sospecha que tiene un tumor maligno de ovario, en donde dicho tumor de ovario maligno es un tumor maligno en los ovarios que puede ser seroso, mucinoso, endometriode, tumor de células claras o tumor indiferenciado, en donde dicho seguimiento comprende la realización de análisis complementarios para evaluar el grado de infiltración tumoral con el fin de determinar el tratamiento posterior; o para
- 60 h) seleccionar un sujeto con un tumor de ovario de un bajo potencial maligno o "borderline", con o sin implantaciones extraováricas, en donde dicho seguimiento comprende la resección quirúrgica del tumor y el control de la reaparición del tumor; o para
- 65 i) seleccionar un sujeto con un tumor de ovario de un bajo potencial maligno o "borderline", con o sin implantaciones extraováricas, en donde dicho seguimiento comprende el control de la reaparición del tumor.

Breve descripción de los dibujos

La Figura 1 muestra los resultados de la inmunotinción para proCOL11A1 en una muestra de un tumor benigno de ovario (A), un tumor (carcinoma) seroso maligno de ovario (B) y la metástasis de un tumor de colon en un tumor de ovario (C).

La Figura 2 es una tabla resumen que muestra el número de casos clasificados de acuerdo con el diagnóstico de la biopsia y de acuerdo con su inmunomarcaje para proCOL11A1. Información adicional puede encontrarse en el Ejemplo 1.

Descripción detallada de la invención

Definiciones

Para facilitar la comprensión de la presente solicitud de patente, a continuación se expone el significado de algunos términos y expresiones tal y como se utilizan dentro del contexto de la presente invención.

El término “anticuerpo” se refiere a una glucoproteína que exhibe una actividad de unión específica por una proteína particular, a la que se denomina “antígeno”. El término “anticuerpo” comprende anticuerpos monoclonales, o anticuerpos policlonales, anticuerpos intactos, o fragmentos de ellos; e incluye anticuerpos humanos, anticuerpos humanizados y anticuerpos de origen no humano. Los “anticuerpos monoclonales” son poblaciones homogéneas de anticuerpos, altamente específicos, que están dirigidos contra un único sitio o “determinante” antigénico.

El término “cáncer” o “carcinoma” se refiere a la enfermedad que se caracteriza por una proliferación descontrolada de células anormales capaces de invadir tejidos adyacentes y diseminarse a órganos lejanos.

El término “cáncer de ovario”, “carcinoma de ovario” o “tumor de ovario” se refiere a cualquier trastorno proliferativo de las células del ovario, pudiendo ser benigno, maligno, *in situ*, o de un bajo potencial maligno o “borderline”, especificándose en cada caso.

El término “capacidad de malignización”, o “capacidad de progresar a un tumor maligno”, tal como aquí se usa, se refiere a la capacidad de un tumor benigno o de un bajo potencial maligno para convertirse en un tumor maligno.

El término “diagnosticar”, tal como se usa en la presente descripción, aplicado a un tumor maligno de ovario, o a la capacidad de progresión a tumor maligno de un tumor de ovario de un bajo potencial maligno o “borderline”, incluye la determinación de la malignidad o de la capacidad de malignización de dichos tumores de ovario.

El término “epítipo”, tal como se utiliza en la presente invención, se refiere a un determinante antigénico de una proteína, que es la secuencia de aminoácidos de la proteína que un anticuerpo específico reconoce.

El término “especificidad” se refiere a la capacidad de detectar los verdaderos negativos. Una especificidad del 100 % significa que no hay falsos positivos (sujetos no afectados que obtienen resultado positivo).

El término “infiltración” se refiere a la presencia de células tumorales fuera del tumor primario original, debida a la invasión del tumor.

El término “gen” se refiere a una cadena molecular de desoxirribonucleótidos que codifica una proteína.

El término “gen col11a1” se refiere al gen que codifica un componente del colágeno XI denominado “cadena pro- $\alpha 1$ (XI)” que se combina con otras dos cadenas de colágeno (pro- $\alpha 2$ (XI) y pro- $\alpha 1$ (II)) para formar una molécula de procolágeno (proCOL11A1) que se procesa enzimáticamente en las células para formar las fibras de colágeno XI. El gen col11a1 humano (también conocido como COLL6 o STL2), cuya secuencia génica de referencia es NG_008033.1, ocupa unas 150 kilobases (kb), contiene 68 exones, se localiza en el cromosoma 1 (1p21) entre los pares de bases 103342023 y 103574052, y codifica una proteína de 1.806 aminoácidos (de acuerdo con la isoforma) y 181 kDa que contiene un péptido-señal (aminoácidos 1-36). Este gen está conservado en humanos, chimpancé, vaca, pollo, ratón, rata y pez cebra. Mutaciones en este gen se han asociado a los síndromes Stickler II y Marshall. Polimorfismos de un nucleótido en este gen se han asociado a susceptibilidad de padecer hernia discal lumbar. Se han descrito varios transcritos que se diferencian principalmente en la transcripción de las variantes del exón 6, por ejemplo, uno de 7,2 kb, que codifica la isoforma A (NM_001854.3 (GI:98985806), base de datos NCBI a fecha 21 de julio de 2011) de 1.806 aminoácidos, otro de 7,3 kb, que codifica la isoforma B (NM_080629.2 base de datos NCBI a fecha 21 de julio de 2011) de 1.806 aminoácidos (GI:98985810), otro de 6,9 kb, que codifica la isoforma C (NM_080630.3 (GI:299523252), base de datos NCBI a fecha 21 de julio de 2011) de 1.690 aminoácidos (GI:299523253), otro de 7,2 kb que codifica la isoforma E (NM_001190709.1, base de datos NCBI a 1 de agosto de 2011) de 1.767 aminoácidos (GI:299523257), etc. El término “col11a1”, tal y como se usa en la presente descripción, no se refiere únicamente al gen humano sino también a los ortólogos de otras especies. Se observa expresión baja y homogénea del gen col11a1 en todos los tejidos analizados excepto en adipocitos donde es notablemente más

elevada (BioGPS: Gene Atlas U133A). En líneas celulares, se detecta expresión elevada en células UASMC (células de músculo liso de arteria umbilical), HN_NP (precursores neuronales), HN_Os (osteoblastos), Panc-1 (células de cáncer de páncreas), H522 (células de cáncer de pulmón), U251 (células de glioma) (RefExA), A-204 (células de rhabdomyosarcoma de corazón), SAOS-2 (células de osteosarcoma de médula ósea) y SK-MEL28 (células de cáncer de piel) (GeneCards).

Los términos “igual” o “inferior”, aplicados al nivel de expresión de una proteína, en concreto la proteína proCOL11A1, significa que la cantidad o concentración de dicha proteína en una determinada muestra es sustancialmente la misma que (igual a), o menor que (inferior a), la que se encuentra en otra muestra considerada como muestra de control o valor de referencia; así el nivel de expresión de la proteína proCOL11A1 en una muestra de un sujeto que se sospecha que tiene un tumor maligno de ovario o diagnosticado con un tumor de un bajo potencial maligno o “borderline”, es igual (sustancialmente la misma) o inferior (menor que) al nivel de expresión de dicha proteína proCOL11A1 en una muestra de control obtenida a partir de una población control de sujetos sin historial de tumores de ovario. En el contexto de la presente invención, se considera que un nivel de expresión de una proteína, tal como la proteína proCOL11A1, en la muestra del sujeto que se sospecha que tiene un tumor maligno de ovario o diagnosticado con un tumor de ovario de un bajo potencial maligno o “borderline”, es “igual” al nivel de expresión de dicha proteína en la muestra de control cuando el nivel de expresión de dicha proteína en la muestra del sujeto es sustancialmente el mismo que el nivel de expresión de dicha proteína en la muestra de control, es decir, cuando está comprendido, por ejemplo, entre el valor de referencia (nivel de expresión de la proteína proCOL11A1) más/menos una cantidad menor del 3 % de dicho valor de referencia. Asimismo, en el contexto de la presente invención, se considera que un nivel de expresión de una proteína, tal como la proteína proCOL11A1 en la muestra del sujeto que se sospecha que tiene un tumor maligno de ovario, o diagnosticado con un tumor de ovario de un bajo potencial maligno o “borderline”, es “inferior” (o “menor que”) al nivel de expresión de dicha proteína en la muestra de control cuando el nivel de expresión de dicha proteína en la muestra del sujeto está disminuido, por ejemplo, un 3 %, un 5 %, un 10 %, un 25 %, un 50 %, o incluso un 100 %, con respecto al valor de referencia.

El término “malignidad”, tal como aquí se utiliza, se refiere a la capacidad de un tumor para extenderse o para invadir el tejido en el que se sitúa, los tejidos adyacentes o distales, suponiendo una amenaza vital para el sujeto que tiene el tumor.

El término “probabilidad”, tal como aquí se utiliza, mide la frecuencia con la que se obtiene un resultado (o conjunto de resultados) al llevar a cabo un experimento aleatorio, del que se conocen todos los resultados posibles, bajo condiciones suficientemente estables. La probabilidad de que se obtenga un determinado resultado puede ser “alta”, es decir, la frecuencia con la que se obtiene un resultado es superior al 50 %, o “baja”, es decir, la frecuencia con la que se obtiene tal resultado es inferior al 50 %. De acuerdo con la presente invención, la probabilidad de que se detecte la proteína proCOL11A1 en una muestra de un sujeto que se sospecha que tiene un tumor maligno de ovario o diagnosticado con un tumor de ovario de un bajo potencial maligno o “borderline”, o la probabilidad de que el nivel de expresión de la proteína proCOL11A1 en una muestra de un sujeto que se sospecha que tiene un tumor maligno de ovario o diagnosticado con un tumor de ovario de un bajo potencial maligno o “borderline” sea superior al nivel de expresión de la proteína proCOL11A1 en una muestra de control, es más alta en aquellos casos en los que dicho sujeto tiene un tumor maligno de ovario, o en las que dicho tumor de un bajo potencial maligno o “borderline” es capaz de progresar a un tumor maligno. Como entenderán los técnicos en la materia, la probabilidad no tiene por qué ser del 100 % para todos los sujetos evaluados, aunque preferentemente debería ser así. Sin embargo, dicho término, dentro del contexto de la presente invención, requiere que una parte estadísticamente significativa de los sujetos que se sospecha que tiene un tumor maligno de ovario o diagnosticados de un tumor de ovario de un bajo potencial maligno o “borderline” puedan ser identificados como sujetos que tienen una probabilidad mayor de obtener un resultado determinado. El técnico en la materia puede determinar si un evento es estadísticamente significativo o no, sin grandes complicaciones, utilizando distintas herramientas conocidas de evaluación estadística, por ejemplo, mediante la determinación de intervalos de confianza, la determinación del valor de p, el ensayo de Student, el ensayo de Mann-Whitney, etc. Información adicional sobre estas herramientas estadísticas puede encontrarse en Dowdy y Wearden, *Statistics for Research*. John Wiley & Sons, Nueva York 1983. Los intervalos de confianza preferidos son de al menos 50 %, al menos 60 %, al menos 70 %, al menos 80 %, al menos 90 %, o al menos 95 %. Los valores de p son, preferentemente, 0,1, 0,05, 0,02, 0,01 o inferiores.

El término “proCOL11A1” se refiere a la cadena $\alpha 1$ del colágeno XI, cuyo procesamiento da lugar al colágeno XI $\alpha 1$ (COL11A1). La proteína proCOL11A1 tiene un dominio central triple-hélice con una estructura en forma de bastón, el cual está flanqueado por propéptidos no colagénicos en los extremos N- y C- terminal; estos propéptidos pueden ser eliminados por peptidasas específicas al ser secretados al exterior de la célula generando el COL11A1 maduro, donde cadenas $\alpha 1$ de colágeno XI se ensamblan entre sí y con cadenas $\alpha 2$ y/o $\alpha 3$ para formar fibras de colágeno XI. La proteína proCOL11A1 es codificada por el gen *col11a1*. Se han descrito varias isoformas de proCOL11A1 humano, por ejemplo, la isoforma A [NM_001854.3 (GI:98985806), base de datos NCBI a fecha 21 de julio de 2011] de 1.806 aminoácidos, la isoforma B [NP_542196.2 (GI:98985810), base de datos NCBI a fecha 21 de julio de 2011], la isoforma C [NM_080630.3 (GI:299523252), base de datos NCBI a fecha 21 de julio de 2011], etc. El término “proCOL11A1”, tal y como se usa en la presente descripción, no se refiere únicamente a la proteína proCOL11A1 humana sino también a los ortólogos de otras especies.

El término “proteína” se refiere a una cadena molecular de aminoácidos, con una actividad biológica. El término incluye todas las formas de modificaciones postraduccionales, por ejemplo, glicosilación, fosforilación o acetilación. Los términos “proteína”, “péptido” y “polipéptido” se usan indistintamente en esta descripción.

5 El término “seguimiento”, tal como aquí se utiliza, hace referencia al conjunto de medidas a aplicar y evaluar una vez diagnosticada la naturaleza de un tumor de ovario en un sujeto y tomada una decisión sobre el abordaje quirúrgico o no del tumor; entre dichas medidas se incluyen, en función de la naturaleza del tumor de ovario, el análisis de la extensión del tumor fuera del ovario incluyendo la localización de eventuales focos de metástasis, la aplicación del tratamiento quirúrgico o farmacológico adecuado al diagnóstico de dichas pruebas, la realización de análisis
10 periódicos simultáneos o posteriores al tratamiento, que permitan detectar recidivas del tumor, etc. Así, el término “seguimiento” aplicado a un sujeto que se sospecha que tiene un tumor maligno de ovario al que se le confirma que tiene un tumor maligno de ovario (bien porque se detecta la presencia de la proteína proCOL11A1 en una muestra procedente de dicho sujeto, o bien porque el nivel de expresión de la proteína proCOL11A1 en una muestra procedente de dicho sujeto es superior al nivel de expresión de proCOL11A1 en una muestra de control), y al que se le ha eliminado el tumor mediante cirugía, se refiere al análisis de la extensión del tumor fuera del ovario mediante el
15 muestreo de ganglios linfáticos en busca de presencia tumoral, análisis de imagen por técnicas apropiadas tales como ecografía o TAC en busca de focos de metástasis, la aplicación del tratamiento quirúrgico o farmacológico adecuado al diagnóstico de dichas pruebas, y la realización de análisis periódicos simultáneos o posteriores al tratamiento, que permitan detectar recidivas del tumor, por ejemplo, mediante el empleo de técnicas de imagen, o el análisis de marcadores séricos, tales como, por ejemplo, el marcador tumoral CA-125 (también conocido como “mucina 16” o “MUC16”). Asimismo, el término “seguimiento”, aplicado a un sujeto con un tumor de ovario de un bajo potencial maligno o “borderline”, con o sin implantaciones extraováricas, diagnosticado con un tumor con riesgo de malignizar (bien porque se detecta la presencia de la proteína proCOL11A1 en una muestra procedente de dicho sujeto, o bien porque el nivel de expresión de la proteína proCOL11A1 en una muestra procedente de dicho sujeto es superior al nivel de expresión de proCOL11A1 en una muestra de control), y, opcionalmente, si el especialista lo estima conveniente, sometido a resección quirúrgica del tumor, incluye mantener una vigilancia sobre la posible reaparición tumoral mediante la realización de pruebas periódicas por técnicas de imagen o análisis marcadores séricos, tales como CA125. En este caso, con carácter previo a mantener la vigilancia sobre la posible reaparición tumoral mediante la realización de pruebas periódicas por técnicas de imagen o análisis marcadores séricos, tales como CA-125.
30

El término “sensibilidad” se refiere a la detección de verdaderos positivos (por ejemplo, diagnóstico positivo de una patología, cuando el paciente está afectado de dicha patología); una sensibilidad del 100 % significa que no hay falsos negativos (diagnóstico negativo en pacientes afectados).
35

El término “sujeto”, “individuo” o “paciente” se refiere a un miembro de una especie de un animal mamífero, e incluye, pero no se limita, a animales domésticos, primates y humanos; el sujeto es preferiblemente un ser humano, masculino o femenino, de cualquier edad o raza.

40 El término “superior”, aplicado al nivel de expresión de una proteína, en concreto la proteína proCOL11A, significa que la cantidad o concentración de dicha proteína en una determinada muestra es mayor que en otra muestra considerada como muestra de control o valor de referencia; así el nivel de expresión de la proteína proCOL11A1 en una muestra de un sujeto que se sospecha que tiene un tumor maligno de ovario, o diagnosticado con un tumor de ovario de un bajo potencial maligno o tumor de ovario “borderline”, es mayor que (superior) el nivel de expresión de dicha proteína proCOL11A1 en una muestra de control obtenida a partir de una población control de sujetos sin historial de tumores de ovario, en caso de que dicho sujeto padezca un tumor maligno de ovario o en caso de que dicho tumor de un bajo potencial maligno o “borderline” tenga capacidad de progresar a un tumor maligno. En el contexto de la presente invención, se considera que un nivel de expresión de una proteína, tal como la proteína proCOL11A1, en la muestra del sujeto que se sospecha que tiene un tumor maligno de ovario o diagnosticado con un tumor de ovario de un bajo potencial maligno o “borderline” es “superior” (o “mayor que”) al nivel de expresión de dicha proteína en una muestra de control (valor de referencia) cuando el nivel de expresión de dicha proteína en la muestra del sujeto aumenta, por ejemplo, un 3 %, un 5 %, un 10 %, un 25 %, un 50 %, un 100 %, o incluso, más cuando se compara con el valor de referencia para dicha proteína en la muestra de control, o cuando aumenta, por ejemplo, al menos 1,1 veces, 1,5 veces, 2 veces, 5 veces, 10 veces, 20 veces, 30 veces, 40 veces, 50 veces, 60
50 veces, 70 veces, 80 veces, 90 veces, 100 veces, o incluso más, cuando se compara con el valor de referencia para dicha proteína.
55

El término “tratamiento”, tal como aquí se utiliza, hace referencia en general a la aplicación de una terapia para aliviar o eliminar una patología o para reducir o eliminar uno o más síntomas asociados a dicha patología. Dicha terapia puede incluir una intervención quirúrgica, un tratamiento farmacológico, un tratamiento radioterápico, etc.
60

El término “tumor” se refiere a cualquier masa anormal de tejido producto de un proceso neoplásico, benigno (no canceroso) o maligno (canceroso). Un tumor benigno es un tumor que no tiene capacidad de extenderse o de invadir el tejido en el que se sitúa, ni los tejidos adyacentes o distales, de manera que no supone una amenaza vital para el sujeto que lo padece. Por el contrario, un tumor maligno es un tumor con capacidad de extenderse o de invadir el tejido en el que se sitúa, los tejidos adyacentes o distales, de manera que supone una amenaza vital para el sujeto
65

que lo padece. Los tumores malignos en los ovarios pueden ser de tipo seroso, mucinoso, endometriode o de células claras, o indiferenciado. Asimismo, un tumor de ovario de un bajo potencial maligno o “borderline” es un tumor de ovario que, no siendo benigno, no presenta características claras de malignidad, pero que en algunos casos puede progresar a un tumor maligno y crecer y extenderse por la cavidad abdominal.

5 El término “variante”, aplicado a las secuencias de las cadenas pesada y ligera de un anticuerpo, tal como aquí se utiliza, se refiere a secuencias sustancialmente similares. En general, las variantes poseen la misma actividad biológica, desde el punto de vista cualitativo, que la secuencia nativa. Una variante de una secuencia polipeptídica puede ser un derivado de una secuencia polipeptídica que comprende la adición, depleción o sustitución de uno o
10 más aminoácidos presentes en la secuencia nativa. Las variantes de las secuencias de las cadenas pesada y ligera de un anticuerpo pueden diferir de las secuencias descritas dentro de las regiones marco o dentro de las regiones determinantes de complementariedad o CDR (del inglés “*complementarity determining regions*”) de cualquiera de las cadenas pesada o ligera. A modo ilustrativo, el término “variante”, aplicado al anticuerpo monoclonal 1E8.33 (García-Ocaña, et al., Int J Oncol. 2012; 40(5):1447-54) incluye secuencias de aminoácidos que tienen al menos, aproximadamente, al menos, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de identidad de secuencia con cualquiera de las secuencias de aminoácidos de las CDR comprendidas dentro de la región variable de la cadena pesada o de la región variable de la cadena ligera de dicho anticuerpo monoclonal 1E8.33, siempre y cuando la variante resultante mantiene la actividad biológica de la secuencia nativa, es decir, la variante del anticuerpo mantiene la capacidad de reconocer específicamente a la proteína proCOL11A1.

20 Métodos de la invención

La presente invención se basa en el descubrimiento de que la expresión de la proteína proCOL11A1 se ve
25 aumentada en tumores malignos de ovario o en tumores con capacidad de progresar a tumores malignos, pero no en tumores *in situ*, ni en tumores benignos, ni en tumores de un bajo potencial maligno o “borderline” sin capacidad de progresar a un tumor maligno, ni en lesiones benignas. La expresión de proCOL11A1 ocurre en los fibroblastos y en la matriz extracelular que rodean el tumor, al contrario de otros marcadores tumorales que se expresan en las células cancerosas. Por ello, el diagnóstico basado en proCOL11A1 permite la detección de tumores malignos de ovario, aunque la infiltración no sea morfológicamente patente en el tumor primario presente en la biopsia, y permite
30 evaluar la capacidad de malignización de un tumor de ovario de un bajo potencial maligno o “borderline” en el momento del diagnóstico.

1.

Método para el diagnóstico diferencial de un tumor maligno de ovario frente a un tumor benigno o *in situ* de ovario o frente a una lesión benigna no tumoral de ovario

En otro aspecto, la invención se refiere a un método *in vitro* para el diagnóstico diferencial de un tumor maligno de ovario frente a un tumor benigno o *in situ* de ovario o frente a una lesión benigna no tumoral de ovario, en un sujeto, en adelante “primer método de la invención”, seleccionado entre el Método (A) y el Método (B), en donde

40 A) el Método (A) comprende:

- detectar la presencia de la proteína proCOL11A1 en una muestra de dicho sujeto;

45 en donde

- la detección de la presencia de la proteína proCOL11A1 en dicha muestra es indicativa de que el tumor de ovario es maligno; o, como alternativa
- 50 - la no detección de la presencia de la proteína proCOL11A1 en dicha muestra es indicativa de que el tumor de ovario es benigno o es un tumor *in situ*, o de que el sujeto padece una lesión benigna no tumoral de ovario; y

B) el Método (B) comprende:

- 55 - comparar el nivel de expresión de la proteína proCOL11A1 en dicha muestra con el nivel de expresión de dicha proteína proCOL11A1 en una muestra de control;

en donde

- 60 - un nivel de expresión de la proteína proCOL11A1 en dicha muestra superior al nivel de expresión de dicha proteína proCOL11A1 en una muestra de control es indicativo de que el tumor de ovario es un tumor maligno, o, como alternativa
- 65 - un nivel de expresión de la proteína proCOL11A1 en dicha muestra igual o inferior al nivel de expresión de dicha proteína proCOL11A1 en una muestra de control es indicativo de que el tumor de ovario es benigno o es un tumor *in situ*, o de que el sujeto padece una lesión benigna no tumoral de ovario.

De acuerdo, por tanto, con el primer método de la invención, se detecta la presencia de la proteína proCOL11A1 y/o se determina el nivel de expresión de dicha proteína proCOL11A1 en una muestra del sujeto bajo estudio y se correlaciona el resultado obtenido con la eventual malignidad del tumor de ovario o con la existencia de una lesión benigna no tumoral de ovario.

5 El sujeto bajo estudio puede ser un sujeto que tiene una lesión, tumoral o no tumoral, en el ovario, tal como, por ejemplo, un sujeto con un tumor de ovario, un sujeto que se sospecha que tiene un tumor de ovario, un sujeto que se sospecha que tiene un tumor maligno de ovario, un sujeto diagnosticado con un tumor de ovario de un bajo potencial maligno o "borderline", un sujeto con un tumor benigno de ovario, un sujeto con un tumor de ovario *in situ*,
10 o un sujeto con una lesión benigna no tumoral de ovario.

Para la puesta en práctica del primer método de la invención, en cualquiera de sus alternativas [Método (A) o Método (B)], se obtiene una muestra, tal como una muestra biológica, del individuo a estudiar. Ejemplos ilustrativos, no limitantes, de dicha muestra incluyen un cilindro de tejido obtenido mediante biopsia, una pieza de tejido obtenida
15 por cirugía, así como un fluido biológico, tal como sangre, suero, líquido ascítico, orina, etc. En una realización particular, dicha muestra comprende tejido obtenido mediante biopsia o cirugía; en una realización más particular, dicha muestra que comprende tejido comprende células del estroma asociado al tumor, preferentemente, fibroblastos asociados a cáncer (también conocidos como "CAF", del inglés "*cancer associated fibroblasts*"), que expresan proCOL11A1. En otra realización particular, dicha muestra comprende un fluido biológico (por ejemplo, sangre, suero, líquido ascítico, orina, etc.). Dependiendo del tipo de muestras, para simplificar su conservación y manejo, estas se pueden fijar en formol y embeber en parafina, o, como alternativa, se pueden congelar primero y después embeber en un medio criosolidificable.

25 Las muestras a analizar pueden ser obtenidas de sujetos previamente diagnosticados, o no diagnosticados, tratados o no tratados, de un tumor de ovario.

Método (A)

30 En una realización particular, el primer método de la invención comprende detectar en una muestra obtenida mediante biopsia, citología o resección quirúrgica a partir de dicho sujeto la presencia de la proteína proCOL11A1 [Método (A)], en donde la detección de la presencia de la proteína proCOL11A1 en dicha muestra es indicativa de que el tumor (o carcinoma) de ovario es maligno; o, como alternativa, la no detección de la presencia de la proteína proCOL11A1 en dicha muestra es indicativa de que el tumor de ovario es benigno o *in situ*, o de que el sujeto tiene una lesión de ovario benigna no tumoral.

35 La presencia de la proteína proCOL11A1 en la muestra a analizar puede detectarse mediante cualquier método convencional que permita detectar la presencia de una proteína, en concreto proCOL11A1, en una muestra. En una realización particular, dicha muestra es una muestra de tejido de ovario o de la cavidad abdominal o una muestra de un fluido corporal. Prácticamente cualquier método convencional para la detección de la presencia de una proteína
40 en una muestra de tejido o de un fluido corporal puede utilizarse dentro del marco de la invención para detectar la presencia de proCOL11A1. Ejemplos ilustrativos, no limitantes, de dichos métodos incluyen métodos basados en el empleo de anticuerpos, técnicas de cromatografía de afinidad, ensayos de unión a ligandos, etc.

45 En una realización particular, la detección de la presencia de la proteína proCOL11A1 se realiza mediante un inmunoensayo basado en la formación de un complejo de tipo antígeno-anticuerpo, mediante el empleo de uno (o más anticuerpos) que reconocen uno (o más) epítopos de proCOL11A1, y posterior visualización de los complejos formados por cualquier técnica apropiada, incluyendo tanto técnicas radiactivas como no radiactivas tales como, por ejemplo, técnicas colorimétricas, fluorimétricas, luminiscentes (por ejemplo, bioluminiscentes, quimioluminiscentes, etc.), etc., utilizando para ello, en su caso, unos anticuerpos secundarios marcados con los marcadores apropiados.

50 Los anticuerpos a utilizar para la puesta en práctica de esta realización particular del primer método de la invención [Método (A)] son anticuerpos específicos que reconocen la proteína proCOL11A1, o un fragmento antigénico de dicha proteína proCOL11A1, es decir, anticuerpos que reconocen un epítipo de la proteína proCOL11A1. Los anticuerpos que pueden utilizarse en este tipo de ensayos pueden ser sueros o anticuerpos policlonales, anticuerpos monoclonales, fragmentos de anticuerpos, tales como Fv, Fab, Fab', F(ab')₂, scFv ("*single chain Fv*"), diacuerpos, triacuerpos, tetracuerpos, combicuerpos, etc., capaces de reconocer y unirse a proCOL11A1, o a un fragmento antigénico de la misma; dichos anticuerpos pueden ser humanos, humanizados o de origen no humano. Ventajosamente, el anticuerpo que reconoce la proteína proCOL11A1 es un anticuerpo que reconoce específicamente el subdominio VAR, en el propéptido N-terminal de proCOL11A1. Ejemplos ilustrativos de anticuerpos que detectan específicamente proCOL11A1 se mencionan en la solicitud de patente internacional WO
55 2013/021088 A2. En una realización particular, dicho anticuerpo es el anticuerpo monoclonal 1E8.33 (García-Ocaña, et al., *Int J Oncol.* 2012; 40(5):1447-54), un anticuerpo que reconoce específicamente la proteína proCOL11A1, sin detectar otras proteínas con alta homología de secuencia, tales como, por ejemplo, la proteína COL5A1.

65 El anticuerpo que reconoce a la proteína proCOL11A1 puede estar, opcionalmente, conjugado a un transportador. Asimismo, dicho anticuerpo que reconoce a la proteína proCOL11A1 puede estar marcado o no marcado; ejemplos

ilustrativos, no limitantes, de marcadores que pueden utilizarse incluyen isótopos radiactivos, enzimas, fluoróforos, reactivos quimioluminiscentes, sustratos o cofactores enzimáticos, inhibidores enzimáticos, partículas, colorantes, etc. Los anticuerpos no marcados pueden utilizarse en ensayos de aglutinación, mientras que los anticuerpos marcados se pueden utilizar en numerosos ensayos.

5 Existe una amplia variedad de ensayos bien conocidos por los expertos en la materia que se pueden usar para la puesta en práctica de esta realización particular del primer método de la invención [Método (A)], que usan anticuerpos no marcados (anticuerpo primario) que reconocen a la proteína proCOL11A1 y anticuerpos marcados (anticuerpos secundarios); entre estas técnicas se incluyen Western-blot o inmunotransferencia, ELISA (ensayo inmuoabsorbente unido a enzima), RIA (radioinmunoensayo), EIA (inmunoensayo enzimático) competitivo, DAS-ELISA (ELISA sandwich con doble anticuerpo), ensayos inmunohistoquímicos, técnicas de detección multiplex basadas en el empleo de microesferas, biochips o micromatrices de proteínas que incluyen anticuerpos específicos, o ensayos basados en precipitación coloidal, etc.

15 En una realización particular y preferida, la detección de la presencia de proCOL11A1 de acuerdo con el Método (A) se lleva a cabo mediante un ensayo inmunohistoquímico, un procedimiento histopatológico conocido que se basa en la utilización de un anticuerpo específico, normalmente marcado con un marcador (por ejemplo, una enzima), que puede transformar un sustrato en un compuesto visible sin afectar la capacidad del anticuerpo para formar un complejo con el antígeno (proCOL11A1 en este caso), aplicado a una muestra de tejido orgánico. Con la utilización de alguna de las técnicas específicas (peroxidasa, antiperoxidasa, fluoresceína, etc.), el complejo antígeno-anticuerpo formado puede localizarse e identificarse en las muestras tisulares o citológicas a estudiar, con lo que se identifican los marcadores antígenicos característicos de distintas células y se puede determinar el tipo de célula involucrado en la muestra.

25 Brevemente, en una realización particular del Método (A), la muestra que comprende tejido de ovario a analizar con el fin de detectar la presencia de la proteína proCOL11A1 mediante un ensayo inmunohistoquímico, que puede ser una muestra fresca, una muestra congelada o una muestra embebida en parafina y fijada usando un agente protector (por ejemplo, formol o similar), se tiñe con un anticuerpo específico frente a proCOL11A1 (por ejemplo, el anticuerpo monoclonal 1E8.33 o una variante del mismo) y se determina la frecuencia de células que se han teñido y la intensidad de la tinción. En caso necesario, la muestra a analizar se somete a un tratamiento acondicionador que puede incluir uno o más de los siguientes procesos: fijar el tejido, obtener cortes de espesor adecuado, recuperar el antígeno, bloquear moléculas que puedan interferir en la reacción indirecta, evitar uniones inespecíficas, etc. Ventajosamente, la detección mediante dicho ensayo inmunohistoquímico de proCOL11A1 en la muestra a analizar se lleva a cabo en paralelo con muestras tisulares o citológicas que sirven como marcador positivo y como marcador negativo, y, si se desea, como referencia, se pueden usar tejidos sanos del mismo origen que el del tumor o carcinoma de ovario que se está analizando. También es frecuente usar un control de fondo. Normalmente, se asigna a la muestra un valor indicativo de la expresión total que se calcula en función de la frecuencia de células teñidas y de la intensidad en cada una de las células teñidas. Los criterios típicos para asignar valores de expresión a las muestras han sido descritos en, por ejemplo, *Handbook of Immunohistochemistry and In Situ Hybridization in Human Carcinomas*, M. Hayat Ed., 2004, Academic Press.

45 En el Ejemplo 1 se describe un ensayo inmunohistoquímico para detectar la presencia de proCOL11A1 en el que la muestra, que comprende tejido de ovario a analizar, previamente acondicionada, se pone en contacto con el anticuerpo monoclonal frente a proCOL11A1 y, finalizado el periodo de incubación, se revela con diaminobencidina (DAB) usando un sistema de detección apropiado.

50 La detección de la presencia de proCOL11A1 mediante un ensayo inmunohistoquímico presenta numerosas ventajas ya que se utiliza de forma generalizada en los laboratorios de Anatomía Patológica, lo que posibilita la aplicabilidad inmediata tanto del primer método de la invención, como del resto de métodos proporcionados por la presente invención, mediante dicha técnica, y, además, se encuentra muy automatizada, lo que facilita que se realice bajo condiciones homogéneas y reproducibles.

Método (B)

55 En otra realización particular, el primer método de la invención comprende comparar el nivel de expresión de la proteína proCOL11A1 en la muestra de un sujeto bajo estudio con el nivel de expresión de dicha proteína proCOL11A1 en una muestra de control, en donde un nivel de expresión de la proteína proCOL11A1 en dicha muestra superior al nivel de expresión de dicha proteína proCOL11A1 en una muestra de control es indicativo de que el tumor de ovario es un tumor maligno, o, como alternativa, un nivel de expresión de la proteína proCOL11A1 en dicha muestra igual o inferior al nivel de expresión de dicha proteína proCOL11A1 en una muestra de control es indicativo de que el tumor de ovario es benigno o in situ, o de que el sujeto tiene una lesión de ovario benigna no tumoral.

65 Las características de la muestra a analizar ya se han mencionado previamente.

El Método (B) comprende determinar el nivel de expresión de la proteína proCOL11A1 en una muestra de un sujeto

bajo estudio y compararlo con el nivel de expresión de dicha proteína proCOL11A1 en una muestra de control.

La determinación del nivel de expresión de la proteína proCOL11A1 se lleva a cabo mediante la cuantificación o determinación de la cantidad o concentración de dicha proteína proCOL11A1 en dicha muestra.

5 La cantidad o concentración de la proteína proCOL11A1 presente en dichas muestras puede cuantificarse mediante cualquier método convencional que permita detectar y cuantificar dicha proteína en las muestras a analizar. En este caso, el Método (B) comprende la realización de una etapa de extracción para obtener un extracto proteico que contenga dicha proteína. La obtención de extractos proteicos puede realizarse mediante métodos convencionales (Chomczynski et al., *Anal. Biochem.*, 1987, 162:156; Chomczynski P., *Biotechniques*, 1993, 15:532).

15 Prácticamente cualquier método convencional para determinar la cantidad o concentración de proteínas en una muestra, debidamente adaptado, puede utilizarse dentro del marco de la presente invención para cuantificar la cantidad o concentración de proteína proCOL11A1 presente en una muestra. A modo ilustrativo, no limitante, la cantidad o concentración de dicha proteína proCOL11A1 puede determinarse mediante métodos convencionales, por ejemplo, mediante el empleo de anticuerpos con capacidad de unirse a proCOL11A1 y posterior cuantificación de los complejos formados. En una realización particular, el Método (B) comprende poner en contacto el extracto de proteínas de la muestra con una composición que comprende uno o más anticuerpos específicos contra uno o más epítopos de la proteína proCOL11A1, bajo condiciones que permiten la formación de complejos anticuerpo: proCOL11A1 y determinar la cantidad o concentración de proteína proCOL11A1 presente en la muestra. Ejemplos ilustrativos, no limitantes, de dichos métodos incluyen métodos basados en el empleo de anticuerpos, técnicas de cromatografía de afinidad, ensayos de unión a ligandos, etc.

25 En una realización particular, la detección de la presencia de proCOL11A1 se realiza mediante un inmunoensayo basado en la formación de un complejo de tipo antígeno-anticuerpo, mediante el empleo de uno (o más anticuerpos) que reconocen uno (o más) epítopos de proCOL11A1, y posterior visualización y cuantificación de los complejos formados por cualquier técnica apropiada, incluyendo tanto técnicas radiactivas como no radiactivas tales como, por ejemplo, técnicas colorimétricas, técnicas fluorimétricas, técnicas luminiscentes (por ejemplo, bioluminiscentes, quimioluminiscentes, etc.), etc., utilizando para ello, en su caso, unos anticuerpos secundarios marcados con los marcadores apropiados.

35 Los anticuerpos a utilizar para la puesta en práctica de esta realización particular del primer método de la invención [Método (B)] son anticuerpos específicos que reconocen la proteína proCOL11A1, o un fragmento antigénico de proCOL11A1, es decir, anticuerpos que reconocen un epítipo de proCOL11A1. Los anticuerpos que pueden utilizarse en este tipo de ensayos pueden ser sueros policlonales, anticuerpos monoclonales, fragmentos de anticuerpos, tales como Fv, Fab, Fab', F(ab')₂, scFv ("single chain Fv"), diacuerpos, triacuerpos, tetracuerpos, combicuerpos, etc., capaces de reconocer y unirse a proCOL11A1, o a un fragmento antigénico de la misma; dichos anticuerpos pueden ser humanos, humanizados o de origen no humano. Ventajosamente, el anticuerpo que reconoce la proteína proCOL11A1 es un anticuerpo que reconoce específicamente el subdominio VAR, en el propéptido N-terminal de proCOL11A1. Ejemplos ilustrativos de anticuerpos que detectan específicamente proCOL11A1 se han mencionado en relación con el Método (A), cuyo contenido se incorpora aquí por referencia. La solicitud de patente internacional WO 2013/021088 A2 describe anticuerpos que específicamente reconocen el subdominio VAR, en el propéptido N-terminal de proCOL11A1. En una realización particular, dicho anticuerpo es el anticuerpo monoclonal clon 1E8.33 (García-Ocaña, et al., *Int J Oncol.* 2012; 40(5):1447-54).

45 El anticuerpo que reconoce a proCOL11A1 puede estar, opcionalmente, conjugado a un transportador. Asimismo, dicho anticuerpo que reconoce a proCOL11A1 puede estar marcado o no; ejemplos ilustrativos, no limitantes, de marcadores que pueden utilizarse incluyen isótopos radiactivos, enzimas, fluoróforos, reactivos quimioluminiscentes, sustratos o cofactores enzimáticos, inhibidores enzimáticos, partículas, colorantes, etc. Los anticuerpos no marcados pueden utilizarse en ensayos de aglutinación, mientras que los anticuerpos marcados se pueden utilizar en numerosos ensayos.

55 Existe una amplia variedad de ensayos bien conocidos por los expertos en la materia que se pueden usar para la puesta en práctica de esta realización particular [Método (B)] del primer método de la invención, que usan anticuerpos no marcados (anticuerpo primario) que reconocen a proCOL11A1 y anticuerpos marcados (anticuerpos secundarios); entre estas técnicas se incluyen transferencia Western o inmunotransferencia, ELISA, RIA, EIA competitivo, DAS-ELISA, ensayos inmunohistoquímicos, ensayos inmunohistoquímicos, técnicas de detección múltiple basadas en el empleo de microesferas, biochips o micromatrices de proteínas que incluyen anticuerpos específicos, o ensayos basados en precipitación coloidal, etc.

60 En una realización particular y preferida, la detección y cuantificación de la proteína proCOL11A1 de acuerdo con el Método (B) se lleva a cabo mediante un ensayo inmunosorbente unido a enzima (ELISA), un método de inmunodetección conocido que se basa en la utilización de uno o dos anticuerpos específicos, uno de ellos normalmente marcado con un enzima, que puede transformar un sustrato en un compuesto visible sin afectar a la capacidad del anticuerpo para formar un complejo con el antígeno (proCOL11A1 en este caso), aplicado a un extracto de proteína proveniente por lo general de un fluido biológico (por ejemplo, sangre, suero, orina, líquido

65

ascítico, etc.) o de una porción de tejido, o aplicado al fluido biológico en sí mismo. Con la utilización de alguna de las técnicas específicas (peroxidasa, antiperoxidasa, fluoresceína, etc.), el complejo antígeno-anticuerpo formado puede detectarse y cuantificarse en las muestras a estudiar, pudiendo cuantificar fácilmente los niveles de proteína a analizar en muestras de distinto origen. En una realización concreta, se utiliza el anticuerpo monoclonal 1E8.33 o una variante del mismo como el anticuerpo, o uno de los anticuerpos, que reconocen a la proteína proCOL11A1.

Brevemente, en una realización particular del Método (B), la muestra que comprende un fluido biológico con el fin de detectar la presencia de proCOL11A1 mediante un ensayo inmunohistoquímico, que puede ser una muestra fresca o una muestra congelada de sangre, suero, orina, líquido ascítico, etc., se pone en contacto con el o los anticuerpos anti-proCOL11A1 (por ejemplo, el anticuerpo monoclonal 1E8.33 o una variante del mismo) marcados y se cuantifica la concentración de la proteína en función a la intensidad de la reacción enzimática asociada al marcaje del anticuerpo. En caso necesario, la muestra a analizar se somete a un proceso de extracción de proteínas con el objetivo de concentrar las mismas, facilitando su detección, mediante métodos convencionales (Chomczynski et al., *Anal. Biochem.*, 1987, 162:156; Chomczynski P., *Biotechniques*, 1993, 15:532). Ventajosamente, la detección mediante dicho ensayo inmunohistoquímico de proCOL11A1 en la muestra a analizar se lleva a cabo en paralelo con muestras que contienen niveles conocidos de proCOL11A1 como referencia (curva patrón), formados por muestras humanas de concentración conocida, proteína recombinante proCOL11A1 o extractos de líneas celulares que expresan la proteína, que permitirán, por comparación de las intensidades obtenidas, calcular la concentración de proCOL11A en las muestras a analizar.

La cuantificación de la proteína proCOL11A1 mediante un ensayo de inmunodetección de tipo ELISA presenta numerosas ventajas ya que se utiliza de forma generalizada en los laboratorios bioquímicos, lo que posibilita la aplicabilidad inmediata no solo del primer método de la invención, en particular, el Método (B), sino de cualquiera de los otros métodos proporcionados por la presente invención, mediante dicha técnica, y, además, se encuentra muy automatizada, lo que facilita que se realice bajo las mismas condiciones.

El Método (B) comprende la etapa de comparar la cantidad o concentración de proteína proCOL11A1, determinada en la muestra del sujeto bajo estudio con la cantidad o concentración de proteína proCOL11 de la muestra de control (valor de referencia). En una realización particular, la muestra de control es una muestra procedente de sujetos sin historial clínico de tumores de ovario.

Así, una vez que se ha establecido el valor de referencia, se compara el nivel de expresión de la proteína proCOL11A1 en la muestra del sujeto con un tumor de ovario o que se sospecha que tiene un tumor de ovario bajo estudio con el valor de referencia. Como consecuencia de esta comparación, el nivel de expresión de la proteína proCOL11A1 en la muestra del sujeto puede ser "superior" (mayor que), "inferior" ("menor que") o "igual a" dicho valor de referencia para dicha proteína en la muestra de control. Tal como se ha descrito previamente, en el contexto de la presente invención, se considera que un nivel de expresión de la proteína de interés (proCOL11A1) en la muestra del sujeto bajo estudio es "superior" al valor de referencia para dicha proteína cuando el nivel de expresión de dicha proteína en la muestra del sujeto bajo estudio aumenta, por ejemplo, un 3 %, un 5 %, un 10 %, un 25 %, un 50 %, un 100 % o incluso más cuando se compara con el valor de referencia para dicha proteína, o cuando aumenta, por ejemplo, al menos 1,1 veces, 1,5 veces, 2 veces, 5 veces, 10 veces, 20 veces, 30 veces, 40 veces, 50 veces, 60 veces, 70 veces, 80 veces, 90 veces, 100 veces o incluso más cuando se compara con el valor de referencia para dicha proteína. Asimismo, en el contexto de la presente invención, se considera que un nivel de expresión del gen de interés en la muestra del sujeto es "inferior" al valor de referencia para dicha proteína cuando el nivel de expresión de dicha proteína en la muestra del sujeto bajo estudio disminuye, por ejemplo, un 3 %, un 5 %, un 10 %, un 25 %, un 50 %, un 75 %, o incluso un 100 % cuando se compara con el valor de referencia para dicha proteína. Adicionalmente, en el contexto de la presente invención, se considera que un nivel de expresión del gen de interés en la muestra del sujeto es "igual" al valor de referencia para dicha proteína cuando el nivel de expresión de dicha proteína en la muestra del sujeto bajo estudio es sustancialmente el mismo que el valor de referencia para dicha proteína (es decir, el valor de referencia \pm 3 %).

2.

A partir de la detección de la presencia de la proteína proCOL11A1, o de su nivel de expresión, en una muestra de un sujeto bajo estudio es posible relacionar la detección de la presencia (o la no detección de la presencia - ausencia) de dicha proteína proCOL11A1 en dicha muestra, o el nivel de expresión de dicha proteína proCOL-11A1 en dicha muestra de dicho sujeto, con la eventual malignidad del tumor de ovario o con la existencia de una lesión benigna no tumoral de ovario.

Así, en una etapa posterior, el primer método de la invención implica correlacionar bien la detección de la presencia (o la no detección de la presencia - ausencia) de la proteína proCOL11A1 en la muestra procedente del sujeto bajo estudio con la eventual malignidad del tumor de ovario o con la existencia de una lesión benigna no tumoral de ovario [Método (A)] o bien correlacionar el nivel de expresión de la proteína proCOL11A1 en la muestra del sujeto bajo estudio en comparación con el nivel de expresión de la proteína proCOL11A1 en una muestra de control, con la eventual malignidad del tumor de ovario o con la existencia de una lesión benigna no tumoral de ovario [Método (B)].

Esta correlación permite establecer que el tumor de ovario es un tumor maligno de ovario cuando:

- se detecta la presencia de la proteína proCOL11A1 en la muestra del sujeto bajo estudio, o cuando
- el nivel de expresión de la proteína proCOL11A1 en la muestra del sujeto bajo estudio es superior al nivel de expresión de dicha proteína proCOL11A1 en una muestra de control.

Dicha correlación también permite establecer que el tumor de ovario es un tumor benigno de ovario o un tumor *in situ* de ovario cuando:

- no se detecta la presencia de la proteína proCOL11A1 en la muestra del sujeto bajo estudio, o cuando
- el nivel de expresión de la proteína proCOL11A1 en la muestra del sujeto bajo estudio es igual o inferior al nivel de expresión de dicha proteína proCOL11A1 en una muestra de control.

Asimismo, dicha correlación también permite establecer que el sujeto padece una lesión benigna no tumoral de ovario cuando:

- no se detecta la presencia de la proteína proCOL11A1 en la muestra del sujeto bajo estudio, o cuando
- el nivel de expresión de la proteína proCOL11A1 en la muestra del sujeto bajo estudio es igual o inferior al nivel de expresión de dicha proteína proCOL11A1 en una muestra de control.

Por tanto, en una realización particular, el primer método de la invención permite diferenciar entre un tumor maligno de ovario y un tumor benigno o *in situ* de ovario; es decir, permite discriminar un tumor benigno o *in situ* de ovario de un tumor maligno de ovario. En otra realización particular, el segundo método de la invención permite diferenciar entre un tumor maligno de ovario y una lesión benigna no tumoral de ovario; es decir, permite discriminar una lesión benigna no tumoral de ovario de un tumor maligno de ovario, o lo que es lo mismo, permite excluir una lesión benigna no tumoral de ovario del diagnóstico de tumor o carcinoma de ovario.

El significado de la expresión “detección de la presencia de la proteína proCOL11A1”, o similar, así como el significado de un nivel de expresión de la proteína proCOL11A1, “superior”, “igual” o “inferior”, al de la proteína proCOL11A1 en una muestra de control, tal como aquí se utilizan, ya ha sido indicado previamente y se incorpora aquí por referencia. Asimismo, en el sentido utilizado en esta descripción, la expresión “no detección de la presencia de la proteína proCOL11A1”, o similar, hace referencia a la incapacidad de detectar la proteína proCOL11A1 en la muestra analizada utilizando alguno de los métodos a los que se ha hecho referencia previamente.

La información proporcionada por el primer método de la invención puede ser utilizada eficientemente por el especialista para seleccionar el tratamiento más apropiado a administrar al sujeto bajo estudio en función de la naturaleza de la lesión, tumoral (benigna/maligna) o no tumoral del sujeto bajo estudio.

2. Método para el diagnóstico o el pronóstico de la malignidad de un tumor de ovario

En otro aspecto, la invención se refiere a un método *in vitro* para el diagnóstico o el pronóstico de la malignidad de un tumor de ovario, en un sujeto, en donde dicho sujeto es un sujeto que se sospecha que tiene un tumor maligno de ovario, en donde dicho tumor de ovario maligno es un tumor maligno en los ovarios que puede ser seroso, mucinoso, endometriode, tumor de células claras o tumor indiferenciado, o es un sujeto diagnosticado con un tumor de ovario de un bajo potencial maligno o “*borderline*”, con o sin implantaciones extraováricas, en adelante “segundo método de la invención”, seleccionado entre el Método (A) y el Método (B), en donde

A) el Método (A) comprende

- detectar la presencia de la proteína proCOL11A1 en una muestra obtenida mediante biopsia, citología o resección quirúrgica, a partir de dicho sujeto que se sospecha que tiene un tumor maligno de ovario o diagnosticado con un tumor de ovario de un bajo potencial maligno o “*borderline*”, con o sin implantaciones extraováricas;

en donde

- la detección de la presencia de la proteína proCOL11A1 en dicha muestra de dicho sujeto que se sospecha que tiene un tumor maligno de ovario o diagnosticado con un tumor de ovario de un bajo potencial maligno o “*borderline*”, con o sin implantaciones extraováricas, es indicativa de que dicho sujeto tiene un tumor maligno de ovario o de que dicho tumor de un bajo potencial maligno o “*borderline*”, con o sin implantaciones extraováricas, es capaz de progresar a un tumor maligno de ovario, o, como alternativa
- la no detección de la presencia de la proteína proCOL11A1 en dicha muestra de dicho sujeto que se sospecha que tiene un tumor maligno de ovario o diagnosticado con un tumor de ovario de un bajo potencial

maligno o “borderline”, con o sin implantaciones extraováricas, es indicativa de que dicho sujeto no tiene un tumor maligno de ovario, o de que dicho sujeto tiene un tumor benigno de ovario, o de que dicho sujeto tiene un tumor *in situ* de ovario, o de que dicho tumor de un bajo potencial maligno o “borderline” no es capaz de progresar a un tumor maligno de ovario; y

5 B) el Método (B) comprende

- 10 - comparar el nivel de expresión de la proteína proCOL11A1 en dicha muestra de dicho sujeto que se sospecha que tiene un tumor maligno de ovario o diagnosticado con un tumor de ovario de un bajo potencial maligno o “borderline”, con o sin implantaciones extraováricas, con el nivel de expresión de dicha proteína proCOL11A1 en una muestra de control;

en donde

- 15 - un nivel de expresión de la proteína proCOL11A1 en dicha muestra de dicho sujeto que se sospecha que tiene un tumor maligno de ovario o diagnosticado con un tumor de ovario de un bajo potencial maligno o “borderline”, con o sin implantaciones extraováricas, superior al nivel de expresión de dicha proteína proCOL11A1 en una muestra de control es indicativo de que dicho sujeto tiene un tumor maligno de ovario o de que dicho tumor de un bajo potencial maligno o “borderline” es capaz de progresar a un tumor maligno de ovario, o, como alternativa
- 20
- 25 - un nivel de expresión de la proteína proCOL11A1 en dicha muestra de dicho sujeto que se sospecha que tiene un tumor maligno de ovario o diagnosticado con un tumor de ovario de un bajo potencial maligno o “borderline”, con o sin implantaciones extraováricas, igual o inferior al nivel de expresión de dicha proteína proCOL11A1 en una muestra de control es indicativo de que no tiene un tumor maligno de ovario, o de que dicho sujeto tiene un tumor benigno de ovario, o de que dicho sujeto tiene un tumor *in situ* de ovario, o de que dicho tumor de un bajo potencial maligno o “borderline” no es capaz de progresar a un tumor maligno de ovario.

30 El segundo método de la invención es un método de alta sensibilidad y especificidad, y se basa en que un sujeto con un tumor maligno de ovario o con un tumor de ovario de un bajo potencial maligno o “borderline”, con o sin implantaciones extraováricas, que es capaz de progresar a un tumor maligno, expresan y muestran la proteína proCOL11A1 o presentan niveles superiores de proteína proCOL11A1 en términos absolutos o en comparación con los correspondientes niveles en muestras de control, procedentes de sujetos sin historial clínico de tumores de ovario, o con lesiones benignas de ovario, o tumores benignos de ovario.

35

De acuerdo, por tanto, con el tercer método de la invención, se detecta la presencia de la proteína proCOL11A1 y/o se determina el nivel de expresión de dicha proteína proCOL11A1 en una muestra del sujeto bajo estudio, y se correlaciona el resultado obtenido con la malignidad del tumor de ovario o con la capacidad de progresión de un tumor de ovario de un bajo potencial maligno o “borderline”, con o sin implantaciones extraováricas, a un tumor maligno de ovario.

40

Las características de la muestra y la proteína proCOL11A1 ya han sido mencionadas previamente en relación con los métodos primero y segundo de la invención, al igual que los métodos para detectar y/o cuantificar dicha proteína, y se incorporan aquí por referencia.

45

De acuerdo con el segundo método de la invención, el sujeto bajo estudio es un sujeto con un tumor maligno de ovario, en donde dicho tumor maligno de ovario es un tumor maligno en los ovarios que puede ser seroso, mucinoso, endometriode, tumor de células claras o tumor indiferenciado, o un sujeto con un tumor de ovario de un bajo potencial maligno o “borderline”, con o sin implantaciones extraováricas.

50

A partir de la detección/no detección de la presencia de proCOL11A1, o de su nivel de expresión, en una muestra de un sujeto bajo estudio, es decir, un sujeto que se sospecha que tiene un tumor maligno de ovario o diagnosticado con un tumor de ovario de un bajo potencial maligno o “borderline”, con o sin implantaciones extraováricas, es posible relacionar la detección de la presencia (o la no detección de la presencia - ausencia) de la proteína proCOL11A1 en dicha muestra con la malignidad del tumor de ovario o con la capacidad de malignización (progresión del tumor a un tumor maligno) del tumor de ovario.

55

Así, en una etapa posterior, el segundo método de la invención implica correlacionar bien la detección/no detección (ausencia) de la presencia de la proteína proCOL11A1 [Método (A)], o bien de su nivel de expresión [Método (B)], con un diagnóstico de malignidad o capacidad de malignización del tumor de ovario.

60

Esta correlación puede indicar que:

- 65 - el tumor de ovario es maligno o presenta capacidad de progresión a un tumor maligno, cuando se detecta la presencia de la proteína proCOL11A1 en la muestra del sujeto que se sospecha que tiene un carcinoma

5 maligno de ovario o diagnosticado con un tumor de ovario de un bajo potencial maligno o “borderline”, con o sin implantaciones extraováricas, o cuando el nivel de expresión de dicha proteína proCOL11A1 en la muestra del sujeto que se sospecha que tiene un tumor maligno de ovario o diagnosticado con un tumor de ovario de un bajo potencial maligno o “borderline”, con o sin implantaciones extraováricas, es superior al nivel de expresión de dicha proteína proCOL11A1 en una muestra de control, o que

- el tumor de ovario es benigno o *in situ*, o no existe ningún tumor en el ovario, o el tumor de ovario de un bajo potencial maligno o “borderline” no presenta capacidad de progresar a un tumor maligno, cuando no se detecta la presencia de la proteína proCOL11A1 en la muestra del sujeto que se sospecha que tiene un tumor maligno de ovario o diagnosticado con un tumor de ovario de un bajo potencial maligno o “borderline”, con o sin implantaciones extraováricas, bajo estudio, o cuando el nivel de expresión de dicha proteína proCOL11A1 en la muestra del sujeto que se sospecha que tiene un tumor maligno de ovario o diagnosticado con un tumor de ovario de un bajo potencial maligno o “borderline”, con o sin implantaciones extraováricas, es igual o inferior al nivel de expresión de dicha proteína proCOL11A1 en una muestra de control.

15 Expresado de otra manera, esta correlación permite establecer que el tumor de ovario en un sujeto que se sospecha que tiene un tumor maligno de ovario es un tumor maligno de ovario cuando:

- se detecta la presencia de la proteína proCOL11A1 en la muestra del sujeto que se sospecha que tiene un tumor maligno de ovario, o cuando
- el nivel de expresión de la proteína proCOL11A1 en la muestra del sujeto que se sospecha que tiene un tumor maligno de ovario es superior al nivel de expresión de dicha proteína proCOL11A1 en una muestra de control.

25 Dicha correlación también permite establecer que el tumor de ovario de un bajo potencial maligno o “borderline” es capaz de progresar a un tumor maligno cuando:

- se detecta la presencia de la proteína proCOL11A1 en la muestra del sujeto diagnosticado con un tumor de ovario de un bajo potencial maligno o “borderline”, con o sin implantaciones extraováricas, o cuando
- el nivel de expresión de la proteína proCOL11A1 en la muestra del sujeto diagnosticado con un tumor de ovario de un bajo potencial maligno o “borderline”, con o sin implantaciones extraováricas, es superior al nivel de expresión de dicha proteína proCOL11A1 en una muestra de control.

35 Asimismo, dicha correlación también permite establecer que el tumor de ovario que padece un sujeto que se sospecha que tiene un tumor maligno de ovario no es un tumor maligno de ovario cuando:

- no se detecta la presencia de la proteína proCOL11A1 en la muestra del sujeto que se sospecha que tiene un tumor maligno de ovario, o cuando
- el nivel de expresión de la proteína proCOL11A1 en la muestra del sujeto que se sospecha que tiene un tumor maligno de ovario es igual o inferior al nivel de expresión de dicha proteína proCOL11A1 en una muestra de control.

45 Además, dicha correlación también permite establecer que el tumor de ovario de un bajo potencial maligno o “borderline” no es capaz de progresar a un tumor maligno cuando:

- no se detecta la presencia de la proteína proCOL11A1 en la muestra del sujeto que se sospecha que tiene un tumor maligno de ovario, o cuando
- el nivel de expresión de la proteína proCOL11A1 en la muestra del sujeto que se sospecha que tiene un tumor maligno de ovario es igual o inferior al nivel de expresión de dicha proteína proCOL11A1 en una muestra de control.

60 Finalmente, esta correlación, junto con otras pruebas diagnósticas, permite también establecer que el sujeto que se sospecha que tiene un tumor maligno de ovario o diagnosticado con un tumor de ovario de un bajo potencial maligno o “borderline”, con o sin implantaciones extraováricas, no tiene un tumor maligno de ovario sino una lesión no tumoral de ovario, un tumor benigno de ovario, un tumor *in situ* o un tumor *borderline* sin probabilidad de malignizar, cuando:

- no se detecta la presencia de la proteína proCOL11A1 en la muestra del sujeto que se sospecha que tiene un tumor maligno de ovario o diagnosticado con un tumor de ovario de un bajo potencial maligno o “borderline”, con o sin implantaciones extraováricas, o cuando
- el nivel de expresión de la proteína proCOL11A1 en la muestra del sujeto que se sospecha que tiene un

tumor maligno de ovario o diagnosticado con un tumor de ovario de un bajo potencial maligno o “borderline”, con o sin implantaciones extraováricas, es igual o inferior al nivel de expresión de dicha proteína proCOL11A1 en una muestra de control.

5 Por tanto, el segundo método de la invención permite establecer si un sujeto que se sospecha que tiene un tumor maligno de ovario, o diagnosticado con un tumor de ovario de un bajo potencial maligno o “borderline”, con o sin implantaciones extraováricas, tiene un tumor maligno de ovario, o un tumor benigno de ovario, o un tumor *in situ* de ovario, o si el tumor de ovario de un bajo potencial maligno o “borderline” tiene o no capacidad de progresar a un tumor maligno, o si dicho sujeto no padece ninguna lesión tumoral de ovario sino una lesión no tumoral de ovario.

10 Esta información puede ser utilizada eficientemente por el especialista para seleccionar el tratamiento más apropiado a administrar al sujeto que se sospecha que tiene un tumor maligno de ovario o diagnosticado con un tumor de ovario de un bajo potencial maligno o “borderline”, con o sin implantaciones extraováricas, en función de si el tumor es maligno o no, o si es capaz de progresar a un tumor maligno o no, o si padece una lesión no tumoral de ovario.

15 3. Método para determinar la probabilidad de malignización de un tumor de ovario de un bajo potencial maligno o “borderline”

20 En otro aspecto, la invención se refiere a un método *in vitro* para determinar la probabilidad de malignización de un tumor de ovario de un bajo potencial maligno o “borderline”, con o sin implantaciones extraováricas, en un sujeto diagnosticado con dicho tumor, en adelante “tercer método de la invención”, seleccionado entre el Método (A) y el Método (B), en donde

25 A) el Método (A) comprende

- detectar la presencia de la proteína proCOL11A1 en una muestra obtenida mediante biopsia, citología o resección quirúrgica de dicho sujeto diagnosticado con un tumor de ovario de un bajo potencial maligno o “borderline”, con o sin implantaciones extraováricas;

30 en donde

- la detección de la presencia de la proteína proCOL11A1 en dicha muestra de dicho sujeto diagnosticado con un tumor de ovario de un bajo potencial maligno o “borderline”, con o sin implantaciones extraováricas, es indicativa de que la probabilidad de que el tumor progrese a un tumor maligno de ovario es alta, o, como alternativa
- la no detección de la presencia de la proteína proCOL11A1 en dicha muestra de dicho sujeto diagnosticado con un tumor de ovario de un bajo potencial maligno o “borderline”, con o sin implantaciones extraováricas, es indicativa de que la probabilidad de que el tumor progrese a un tumor maligno de ovario es baja; y

40 B) el Método (B) comprende

- comparar el nivel de expresión de la proteína proCOL11A1 en dicha muestra de dicho sujeto diagnosticado con un tumor de ovario de un bajo potencial maligno o “borderline”, con o sin implantaciones extraováricas, con el nivel de expresión de dicha proteína proCOL11A1 en una muestra de control;

45 en donde

- 50 - un nivel de expresión de la proteína proCOL11A1 en dicha muestra de dicho sujeto diagnosticado con un tumor de ovario de un bajo potencial maligno o “borderline”, con o sin implantaciones extraováricas, superior al nivel de expresión de dicha proteína proCOL11A1 en una muestra de control es indicativo de que la probabilidad de que el tumor progrese a un tumor maligno de ovario es alta; o, como alternativa
- 55 - un nivel de expresión de la proteína proCOL11A1 en dicha muestra de dicho sujeto diagnosticado con un tumor de ovario de un bajo potencial maligno o “borderline”, con o sin implantaciones extraováricas, igual o inferior al nivel de expresión de dicha proteína proCOL11A1 en una muestra de control es indicativo de que la probabilidad de que el tumor progrese a un tumor maligno de ovario es baja.

60 De acuerdo, por tanto, con el tercer método de la invención, se detecta la presencia de la proteína proCOL11A1 y/o se determina el nivel de expresión de dicha proteína proCOL11A1 en una muestra del sujeto bajo estudio, tal como un sujeto diagnosticado con un tumor de ovario de un bajo potencial maligno o “borderline”, con o sin implantaciones extraováricas, y se correlaciona el resultado obtenido con la probabilidad de malignización del tumor, es decir, con la probabilidad de que dicho tumor progrese a un tumor maligno de ovario.

65 Las características de la muestra y la proteína proCOL11A1 ya se han mencionado previamente en relación con el

primer método de la invención, al igual que los métodos para detectar y/o cuantificar dicha proteína, y se incorporan aquí por referencia.

5 El sujeto bajo estudio, en este caso, es un sujeto diagnosticado con un tumor de ovario de un bajo potencial maligno o *"borderline"*, con o sin implantaciones extraováricas.

10 A partir de la detección de la presencia de la proteína proCOL11A1, o de su nivel de expresión, en una muestra de dicho sujeto es posible relacionar la detección de la presencia (o la no detección de la presencia - ausencia) de dicha proteína proCOL11A1 en dicha muestra, o el nivel de expresión de dicha proteína proCOL-11A1 en dicha muestra de dicho sujeto, con la probabilidad de que un tumor de ovario de un bajo potencial maligno o *"borderline"*, con o sin implantaciones extraováricas, progrese a un tumor maligno de ovario.

15 Así, en una etapa posterior, el tercer método de la invención implica correlacionar bien la detección de la presencia (o la no detección de la presencia - ausencia) de la proteína proCOL11A1 en la muestra procedente del sujeto bajo estudio con la probabilidad de que un tumor de ovario de un bajo potencial maligno o *"borderline"*, con o sin implantaciones extraováricas, progrese a un tumor maligno de ovario [Método (A)] o bien correlacionar el nivel de expresión de la proteína proCOL11A1 en la muestra del sujeto bajo estudio en comparación con el nivel de expresión de la proteína proCOL11A1 en una muestra de control, con la probabilidad de que un tumor de ovario de un bajo potencial maligno o *"borderline"*, con o sin implantaciones extraováricas, progrese a un tumor maligno de ovario [Método (B)].

Esta correlación permite establecer que la probabilidad de que un tumor de ovario de un bajo potencial maligno o *"borderline"*, con o sin implantaciones extraováricas, progrese a un tumor maligno de ovario es alta cuando:

- 25 - se detecta la presencia de la proteína proCOL11A1 en la muestra del sujeto diagnosticado con un tumor de ovario de un bajo potencial maligno o *"borderline"*, con o sin implantaciones extraováricas, o cuando
- 30 - el nivel de expresión de la proteína proCOL11A1 en la muestra del sujeto diagnosticado con un tumor de ovario de un bajo potencial maligno o *"borderline"*, con o sin implantaciones extraováricas, es superior al nivel de expresión de dicha proteína proCOL11A1 en una muestra de control.

Asimismo, esta correlación permite establecer que la probabilidad de que un tumor de ovario de un bajo potencial maligno o *"borderline"*, con o sin implantaciones extraováricas, progrese a un tumor maligno de ovario es baja cuando:

- 35 - no se detecta la presencia de la proteína proCOL11A1 en la muestra del sujeto diagnosticado con un tumor de ovario de un bajo potencial maligno o *"borderline"*, con o sin implantaciones extraováricas, o cuando
- 40 - el nivel de expresión de la proteína proCOL11A1 en la muestra del sujeto diagnosticado con un tumor de ovario de un bajo potencial maligno o *"borderline"*, con o sin implantaciones extraováricas es igual o inferior al nivel de expresión de dicha proteína proCOL11A1 en una muestra de control.

45 En general, cuando la probabilidad de malignización de un tumor de ovario de un bajo potencial maligno o *"borderline"*, con o sin implantaciones extraováricas, es alta, dicho tumor progresará a un tumor maligno de ovario; asimismo, en general, cuando la probabilidad de malignización de un tumor de ovario de un bajo potencial maligno o *"borderline"*, con o sin implantaciones extraováricas, es baja, dicho tumor no progresará a un tumor maligno de ovario.

50 Por tanto, en una realización particular, el tercer método de la invención permite establecer la probabilidad de que un tumor de ovario de un bajo potencial maligno o *"borderline"*, con o sin implantaciones extraováricas, progrese a un tumor maligno de ovario.

55 El significado de los términos "probabilidad", "malignización", así como el significado de los términos "alta" y "baja" aplicados a probabilidad, tal como aquí se utilizan, ya se ha indicado previamente y se incorpora aquí por referencia. Las expresiones "detección de la presencia de la proteína proCOL11A1", o similar, y "no detección de la presencia de la proteína proCOL11A1", o similar, también se han definido previamente.

60 La información proporcionada por el tercer método de la invención puede ser utilizada eficientemente por el especialista para seleccionar el tratamiento más apropiado a administrar al sujeto bajo estudio en función de la probabilidad de que un tumor de ovario de un bajo potencial maligno o *"borderline"*, con o sin implantaciones extraováricas, progrese a un tumor maligno de ovario.

4. Métodos de selección de tratamientos

65 Existen distintos tratamientos que pueden aplicarse sobre el sujeto que se sospecha que tiene un tumor maligno de ovario o diagnosticado con un tumor de ovario de un bajo potencial maligno o *"borderline"*, con o sin implantaciones

extraováricas, en función de si padece o no un tumor maligno o de si el tumor tiene o no capacidad de progresar a un tumor maligno. Generalmente, las pacientes que presentan tumores malignos son sometidas a una cirugía radical para eliminar la totalidad del tejido afectado, y, además, son sometidas a ensayos adicionales para evaluar el nivel de infiltración del tumor y presencia de metástasis. El grado de infiltración tumoral determina los tratamientos quimioterápicos o radioterápicos necesarios para cada paciente, así como el seguimiento al que se someterá la paciente. En el caso de los tumores benignos e *in situ*, la resección tumoral puede llevarse a cabo mediante cirugía conservadora, y no se indican ensayos adicionales de detección de metástasis. En el caso de los tumores de un bajo potencial maligno o "*borderline*", si éstos no son capaces de progresar a tumores malignos, podrían tratarse como un tumor benigno, pero si son capaces de progresar, deberían tratarse como un tumor maligno al menos en lo que se refiere a la cirugía, eliminando por completo el tumor y los implantaciones extraováricas, si es que los hay.

Con los métodos de clasificación de tumores actuales, debido a similitudes morfológicas y estructurales de los tumores y a que frecuentemente aparecen diferentes tipos de tumor en la misma muestra, en ocasiones resulta complicado diferenciar los tumores benignos e *in situ* de los tumores malignos. En el caso de los tumores de un bajo potencial maligno o "*borderline*", no existe actualmente ninguna herramienta que permita predecir el progreso de dichos tumores a carcinomas malignos.

Ahora se ha observado que, debido a que es posible correlacionar la detección de la presencia de, y/o el nivel de expresión de, la proteína proCOL11A1 en una muestra de un sujeto que se sospecha que tiene un tumor maligno de ovario o con el diagnóstico de malignidad del tumor en el tejido extraído mediante biopsia, el especialista puede clasificar correctamente los tumores malignos. Además, la detección de la proteína proCOL11A1 también se ha relacionado con la capacidad de progresar a un tumor maligno de los tumores de un bajo potencial maligno o "*borderline*", resultando útil para clasificar dichos tumores de acuerdo con su riesgo de progresión. De este modo, se optimiza y acelera la atención terapéutica al sujeto y se evitan inconvenientes asociados a la aplicación de una cirugía o tratamiento postquirúrgico insuficientes o excesivos, y se evitan intervenciones quirúrgicas adicionales, con la consiguiente repercusión económica que ello conlleva.

Por tanto, en otro aspecto, la invención se refiere a un método para seleccionar un sujeto que se sospecha que tiene un tumor maligno de ovario, en donde dicho tumor maligno de ovario es un tumor maligno en los ovarios puede seroso, mucinoso, endometriode, tumor de células claras o tumor indiferenciado, para un tratamiento, o para seleccionar un sujeto diagnosticado con un tumor de ovario de un bajo potencial maligno o "*borderline*", con o sin implantaciones extraováricas, para un tratamiento, en donde dicho tratamiento comprende la extirpación quirúrgica de dicho tumor de ovario, la realización de análisis adicionales para evaluar la infiltración tumoral y las metástasis y la elección de un tratamiento quimioterápico y/o radioterápico, y el seguimiento posterior, en adelante "cuarto método de la invención", comprendiendo dicho método:

- detectar en una muestra obtenida mediante biopsia, citología o resección quirúrgica a partir de dicho sujeto que se sospecha que tiene un tumor maligno de ovario, o a partir de dicho sujeto diagnosticado con un tumor de ovario de un bajo potencial maligno o "*borderline*", con o sin implantaciones extraováricas, la presencia de la proteína proCOL11A1; o
- comparar el nivel de expresión de la proteína proCOL11A1 en dicha muestra de dicho sujeto que se sospecha que tiene un tumor maligno de ovario, o en dicha muestra de dicho sujeto diagnosticado con un tumor de ovario de un bajo potencial maligno o "*borderline*", con o sin implantaciones extraováricas, con el nivel de expresión de dicha proteína proCOL11A1 en una muestra de control;

en donde dicho sujeto se selecciona para dicho tratamiento:

- si se detecta la presencia de la proteína proCOL11A1 en dicha muestra del sujeto que se sospecha que tiene un tumor maligno de ovario, o en dicha muestra de dicho sujeto diagnosticado con un tumor de ovario de un bajo potencial maligno o "*borderline*", con o sin implantaciones extraováricas; o
- si el nivel de expresión de la proteína proCOL11A1 en dicha muestra de dicho sujeto que se sospecha que tiene un tumor maligno de ovario, o en dicha muestra de dicho sujeto diagnosticado con un tumor de ovario de un bajo potencial maligno o "*borderline*", con o sin implantaciones extraováricas, es superior al nivel de expresión de dicha proteína proCOL11A1 en la muestra de control; o, como alternativa,

en donde dicho sujeto no se selecciona para dicho tratamiento:

- si no se detecta la presencia de la proteína proCOL11A1 en dicha muestra de dicho sujeto que se sospecha que tiene un tumor maligno de ovario, o en dicha muestra de dicho sujeto diagnosticado con un tumor de ovario de un bajo potencial maligno o "*borderline*", con o sin implantaciones extraováricas; o
- si el nivel de expresión de la proteína proCOL11A1 en dicha muestra de dicho sujeto que se sospecha que tiene un tumor maligno de ovario, o en dicha muestra de dicho sujeto diagnosticado con un tumor de ovario de un bajo potencial maligno o "*borderline*", con o sin implantaciones extraováricas, es igual o inferior al nivel

de expresión de dicha proteína proCOL11A1 en la muestra de control.

De acuerdo, por tanto, con el cuarto método de la invención, se detecta la presencia/ausencia de la proteína proCOL11A1 o se determina el nivel de expresión de dicha proteína proCOL11A1 en una muestra del sujeto que se sospecha que tiene un tumor maligno de ovario, o en una muestra de dicho sujeto diagnosticado con un tumor de ovario de un bajo potencial maligno o "*borderline*", con o sin implantaciones extraováricas, que se está evaluando y se correlaciona el resultado obtenido con la posibilidad de seleccionar a dicho sujeto para recibir un tratamiento que comprende la extirpación completa del tumor, la realización de análisis adicionales para la evaluación del grado de invasión del tumor, es decir, de la infiltración tumoral y las eventuales metástasis que pudieran existir; la elección del tratamiento quimioterápico y/o radioterápico a aplicar al sujeto; y el seguimiento posterior del sujeto.

Las características de la muestra, y de la proteína proCOL11A1 ya se han mencionado previamente en relación con el primer método de la invención, al igual que los métodos para detectar y/o cuantificar dicha proteína, y se incorporan aquí por referencia. El sujeto bajo estudio, en este caso, es un sujeto que se sospecha que tiene un tumor maligno de ovario o diagnosticado con un tumor de ovario de un bajo potencial maligno o "*borderline*", con o sin implantaciones extraováricas.

Una vez analizada la presencia/ausencia o la cantidad de proteína proCOL11A1 en la muestra del sujeto que se sospecha que tiene un tumor maligno de ovario, o diagnosticado con un tumor de ovario de un bajo potencial maligno o "*borderline*", con o sin implantaciones extraováricas, bajo estudio, es posible evaluar la posibilidad de seleccionar dicho sujeto para que reciba un tratamiento, en adelante "Tratamiento", que comprende la extirpación completa del tumor, la realización de análisis adicionales para la evaluación de la infiltración tumoral y las metástasis si se sospecha que el sujeto tiene un tumor maligno de ovario, la elección del tratamiento quimioterápico y/o radioterápico apropiados y el seguimiento posterior de la paciente (sujeto).

La extirpación completa del tumor de ovario se puede llevar a cabo mediante cualquier método que permita asegurar la extirpación completa del tumor y/o de la zona afectada; ejemplos ilustrativos, no limitantes, de dichos métodos incluyen citorreducción, histerectomía, anexectomía, colostomía, extirpación de ganglios, etc.

Entre los análisis a realizar con el fin de evaluar el grado de invasión del tumor de ovario y determinar la infiltración tumoral y las metástasis, se incluyen el muestreo de ganglios linfáticos en busca de presencia tumoral, y el análisis de imagen por técnicas apropiadas tales como, por ejemplo, ecografía, TAC, etc., en busca de focos de metástasis.

A la vista de los resultados obtenidos, el especialista podrá elegir un tratamiento quimioterápico y/o radioterápico. En una realización particular, dicho tratamiento comprende un tratamiento quimioterápico. En una realización concreta, dicho tratamiento quimioterápico comprende la administración de un fármaco antitumoral apropiado; ejemplos ilustrativos, no limitantes, de dichos fármacos antitumorales incluyen paclitaxel, altretamina, capecitabina, ciclofosfamida, etopósido, gemcitabina, doxorubicina, irinotecán, topotecán, etc. En otra realización particular, dicho tratamiento comprende un tratamiento radioterápico. En otra realización particular, dicho tratamiento comprende un tratamiento quimioterápico seguido de un tratamiento radioterápico posterior.

El tratamiento comprende, además, el seguimiento posterior de la paciente, para lo cual se realizarán periódicamente las pruebas diagnósticas necesarias en busca de recidivas del tumor o aparición de metástasis, tales como el empleo de técnicas de imagen, o el análisis de marcadores séricos, tales como, por ejemplo, el marcador tumoral CA-125 (también conocido como "mucina 16" o "MUC16").

La posibilidad de seleccionar a un sujeto para que reciba dicho Tratamiento se establece basándose en la detección de la presencia/ausencia de la proteína proCOL11A1 o al nivel de expresión de dicha proteína en una muestra del sujeto que se sospecha que tiene un tumor maligno de ovario o diagnosticado con un tumor de ovario de un bajo potencial maligno o "*borderline*", con o sin implantaciones extraováricas, bajo estudio, de manera que si se detecta la presencia de la proteína proCOL11A1 en dicha muestra del sujeto que se sospecha que tiene un tumor maligno de ovario o diagnosticado con un tumor de ovario de un bajo potencial maligno o "*borderline*", con o sin implantaciones extraováricas, es superior al nivel de expresión de dicha proteína proCOL11A1 en la muestra de control, entonces dicho sujeto se selecciona para dicho Tratamiento. En caso contrario, es decir, si no se detecta la presencia de la proteína proCOL11A1 en la muestra del sujeto bajo estudio (sujeto que se sospecha que tiene un tumor maligno de ovario o diagnosticado con un tumor de ovario de un bajo potencial maligno o "*borderline*", con o sin implantaciones extraováricas) o si el nivel de expresión de la proteína proCOL11A1 en dicha muestra del sujeto bajo estudio es igual o inferior al nivel de expresión de dicha proteína proCOL11A1 en la muestra de control, entonces dicho sujeto no se selecciona para dicho Tratamiento.

El cuarto método de la invención permite, por tanto, seleccionar un sujeto que se sospecha que tiene un tumor maligno de ovario o diagnosticado con un tumor de ovario de un bajo potencial maligno o "*borderline*", con o sin implantaciones extraováricas, para recibir dicho Tratamiento, un tratamiento que comprende la extirpación completa del tumor, la realización de análisis adicionales para evaluar la infiltración tumoral y las metástasis, la aplicación del

tratamiento quimioterápico y/o radioterápico elegido y el seguimiento posterior del sujeto. Así, si en la muestra del sujeto analizada se detecta la presencia de la proteína proCOL11A1, o si el nivel de expresión de la proteína proCOL11A1 en dicha muestra es superior al nivel de expresión de dicha proteína proCOL11A1 en una muestra de control, entonces dicho sujeto es un candidato adecuado *a priori* para recibir dicho Tratamiento, mientras que si en la muestra del sujeto analizada no se detecta la presencia de la proteína proCOL11A1, o si el nivel de expresión de la proteína proCOL11A1 en dicha muestra es igual o inferior al nivel de expresión de dicha proteína proCOL11A1 en una muestra de control, entonces dicho sujeto no es un candidato adecuado *a priori* para recibir dicho Tratamiento.

Este cuarto método de la invención constituye una valiosa herramienta para el tratamiento de tumores de ovario ya que, a la vista de los resultados proporcionados evaluando la malignidad de un tumor de ovario mediante un método tal como cualquiera de los métodos primero a tercero proporcionados por la presente invención, el especialista podrá seleccionar al sujeto que se está evaluando para que reciba dicho Tratamiento, que comprende la extirpación completa del tumor, la realización de análisis adicionales para evaluar la infiltración tumoral y las metástasis, la aplicación del tratamiento quimioterápico y/o radioterápico elegido y el seguimiento posterior, en función de la detección de la presencia/ausencia de la proteína proCOL11A1, o del nivel de expresión de la proteína proCOL11A1 en la muestra procedente de dicho sujeto. Por tanto, los métodos y medios proporcionados por la presente invención pueden ayudar a los especialistas a seleccionar el tratamiento más apropiado a administrar a un sujeto que tiene un tumor maligno de ovario y evitar los efectos adversos asociados al retraso en la aplicación del tratamiento adecuado derivados de un primer diagnóstico incorrecto, o asociados a la aplicación de un tratamiento demasiado agresivo en sujetos con tumores benignos o *in situ*, o en tumores de un bajo potencial maligno o "*borderline*" que no son capaces de progresar a tumores malignos.

El hecho de que el sujeto bajo estudio no se seleccione para recibir el Tratamiento puede significar que la lesión de ovario no es un tumor maligno sino, por ejemplo, una lesión benigna no tumoral, un tumor benigno, un tumor *in situ* o un tumor "*borderline*", con o sin implantaciones extraováricas, sin probabilidad de progresar a un tumor maligno, que puede tratarse mediante un tratamiento diferente al Tratamiento, que puede consistir en la resección quirúrgica o no de la lesión, un tratamiento farmacológico opcional y la ausencia de un seguimiento posterior para detectar recidivas o progresión de la lesión.

El hecho de que el sujeto bajo estudio no se seleccione para recibir el Tratamiento puede significar que el tumor "*borderline*" no tiene probabilidad de progresar a un tumor maligno, y que puede tratarse mediante un tratamiento diferente al Tratamiento 2, que puede consistir en la resección quirúrgica o no del tumor, un tratamiento farmacológico opcional y la ausencia de un seguimiento posterior para detectar recidivas o progresión de la lesión.

6. Método para la selección de seguimientos

Existen distintos seguimientos que pueden aplicarse sobre el sujeto que se sospecha que tiene un tumor maligno de ovario o diagnosticado con un tumor de ovario de un bajo potencial maligno o "*borderline*", con o sin implantaciones extraováricas, en función de si padece o no un tumor maligno o de si el tumor tiene o no capacidad de progresar a un tumor maligno. Como se ha mencionado previamente, las pacientes que presentan tumores malignos son sometidas, normalmente, a una cirugía radical para eliminar la totalidad del tejido afectado, y, además, a ensayos adicionales para evaluar el nivel de infiltración del tumor y presencia de metástasis, cuyo resultado determina el tratamiento quimioterápico y/o radioterápico a administrar a la paciente, así como el seguimiento al que será sometida. En el caso de tumores benignos o *in situ*, la resección tumoral puede llevarse a cabo mediante cirugía conservadora y, en general, no se indican ensayos adicionales de detección de metástasis, aunque conviene efectuar un seguimiento de la enfermedad. En el caso de los tumores de un bajo potencial maligno o "*borderline*", si éstos no son capaces de progresar a un tumor maligno, podrían tratarse como los tumores benignos, pero si son capaces de progresar a tumores malignos, deberían tratarse como tumores malignos al menos en lo que se refiere a la cirugía, eliminando por completo el tumor y los implantaciones extraováricas en caso de que aparezcan; en cualquier caso, es conveniente efectuar un seguimiento del sujeto para prevenir o tratar cuanto antes eventuales recidivas.

Ahora se ha observado que es posible correlacionar la detección de la presencia de, y/o el nivel de expresión de, la proteína proCOL11A1 en una muestra de un sujeto que se sospecha que tiene un tumor maligno de ovario con el diagnóstico de malignidad del tumor en el tejido extraído mediante biopsia, así como con la capacidad o no de progresión de un tumor de un bajo potencial maligno o "*borderline*" a un tumor maligno, por lo que el especialista puede clasificar correctamente las lesiones, tumorales o no tumorales, de ovario, establecer el tratamiento a aplicar y diseñar el seguimiento correspondiente.

Por tanto, en otro aspecto, la invención se refiere a un método para seleccionar un sujeto diagnosticado con un tumor de ovario de un bajo potencial maligno o "*borderline*", con o sin implantaciones extraováricas, para un seguimiento, en donde dicho seguimiento comprende la resección quirúrgica de dicho tumor y el control de la reaparición del tumor, en adelante "quinto método de la invención", comprendiendo dicho método:

- detectar en una muestra obtenida mediante biopsia, citología o resección quirúrgica a partir de dicho sujeto diagnosticado con un tumor de ovario de un bajo potencial maligno o "*borderline*", con o sin implantaciones

extraováricas, la presencia de la proteína proCOL11A1; o

- comparar el nivel de expresión de la proteína proCOL11A1 en dicha muestra de dicho sujeto diagnosticado con un tumor de ovario de un bajo potencial maligno o *"borderline"*, con o sin implantaciones extraováricas, con el nivel de expresión de dicha proteína proCOL11A1 en una muestra de control;

en donde dicho sujeto se selecciona para dicho seguimiento:

- si se detecta la presencia de la proteína proCOL11A1 en dicha muestra del sujeto diagnosticado con un tumor de ovario de un bajo potencial maligno o *"borderline"*, con o sin implantaciones extraováricas; o
- si el nivel de expresión de la proteína proCOL11A1 en dicha muestra de dicho sujeto diagnosticado con un tumor de ovario de un bajo potencial maligno o *"borderline"*, con o sin implantaciones extraováricas, es superior al nivel de expresión de dicha proteína proCOL11A1 en la muestra de control.

De acuerdo, por tanto, con el quinto método de la invención, se detecta la presencia/ausencia de la proteína proCOL11A1 o se determina el nivel de expresión de dicha proteína proCOL11A1 en una muestra del sujeto diagnosticado con un tumor de ovario de un bajo potencial maligno o *"borderline"*, con o sin implantaciones extraováricas, que se está evaluando y se correlaciona el resultado obtenido con la posibilidad de seleccionar a dicho sujeto para ser sometido a un seguimiento que comprende la resección quirúrgica de dicho tumor y el control de la reparación del tumor.

Las características de la muestra y de la proteína proCOL11A1 ya han sido mencionadas previamente en relación con el primer método de la invención, al igual que los métodos para detectar y/o cuantificar dicha proteína, y se incorporan aquí por referencia. El sujeto bajo estudio, en este caso, es un sujeto diagnosticado con un tumor de ovario de un bajo potencial maligno o *"borderline"*, con o sin implantaciones extraováricas.

Una vez analizada la presencia/ausencia o la cantidad de proteína proCOL11A1 en la muestra del sujeto diagnosticado con un tumor de ovario de un bajo potencial maligno o *"borderline"*, con o sin implantaciones extraováricas, bajo estudio, es posible evaluar la posibilidad de seleccionar a dicho sujeto para ser sometido a un seguimiento, en adelante "Seguimiento", que comprende la resección quirúrgica del tumor y el control de la reparación del tumor.

En caso de que se detecte la presencia de la proteína proCOL11A1 en una muestra procedente del sujeto bajo estudio, o en caso de que el nivel de expresión de la proteína proCOL11A1 en una muestra procedente de dicho sujeto sea superior al nivel de expresión de proCOL11A1 en una muestra de control, entonces el sujeto diagnosticado con un tumor de ovario de un bajo potencial maligno o *"borderline"*, con o sin implantaciones extraováricas, puede seleccionarse para ser sometido al Seguimiento. En este caso, como el tumor tendría una probabilidad alta de progresar a un tumor maligno de ovario, entonces el seguimiento comprende la resección quirúrgica del tumor, mediante cualquier método quirúrgico apropiado que permita la eliminación o extirpación completa del tumor (por ejemplo, mediante cualquiera de los métodos indicados en relación con el quinto método de la invención), y el control de la reparación del tumor, para lo cual se realizarían las pruebas periódicas necesarias bien mediante análisis de imagen por técnicas apropiadas tales como ecografía, TAC, etc., o bien mediante el análisis de marcadores séricos, tales como, por ejemplo, el marcador tumoral CA-125 ("MUC16"), que permitan detectar recidivas del tumor.

A la vista de los resultados obtenidos mediante el Seguimiento, el especialista procederá en consecuencia eligiendo, en su caso, el tratamiento adecuado.

La posibilidad de seleccionar a un sujeto para ser sometido a dicho Seguimiento se establece basándose en la detección de la presencia/ausencia de la proteína proCOL11A1 o al nivel de expresión de dicha proteína en una muestra del sujeto diagnosticado con un tumor de ovario de un bajo potencial maligno o *"borderline"*, con o sin implantaciones extraováricas, de manera que si se detecta la presencia de la proteína proCOL11A1 en dicha muestra del sujeto, o si el nivel de expresión de la proteína proCOL11A1 en dicha muestra del sujeto es superior al nivel de expresión de dicha proteína proCOL11A1 en la muestra de control, entonces dicho sujeto se selecciona para ser sometido a dicho Seguimiento. En caso contrario, es decir, si no se detecta la presencia de la proteína proCOL11A1 en la muestra del sujeto bajo estudio o si el nivel de expresión de la proteína proCOL11A1 en dicha muestra del sujeto bajo estudio es igual o inferior al nivel de expresión de dicha proteína proCOL11A1 en la muestra de control, entonces dicho sujeto diagnosticado con un tumor de ovario de un bajo potencial maligno o *"borderline"*, con o sin implantaciones extraováricas, no se selecciona para ser sometido a dicho Seguimiento.

El quinto método de la invención permite, por tanto, seleccionar un sujeto diagnosticado con un tumor de ovario de un bajo potencial maligno o *"borderline"*, con o sin implantaciones extraováricas, para ser sometido a dicho Seguimiento, un seguimiento que comprende la resección quirúrgica del tumor y el control de la reparación del tumor. Así, si en la muestra del sujeto analizada se detecta la presencia de la proteína proCOL11A1, o si el nivel de expresión de la proteína proCOL11A1 en dicha muestra es superior al nivel de expresión de dicha proteína

proCOL11A1 en una muestra de control, entonces dicho sujeto es un candidato adecuado *a priori* para ser sometido a dicho Seguimiento.

5 Este quinto método de la invención constituye también una valiosa herramienta para el tratamiento de tumores de ovario ya que, a la vista de los resultados proporcionados evaluando la malignidad de un tumor de ovario mediante un método como cualquiera de los métodos primero a cuarto proporcionado por la presente invención, el especialista podrá seleccionar al sujeto que se está evaluando para que sea sometido a dicho Seguimiento, en función de la detección de la presencia/ausencia de la proteína proCOL11A1, o del nivel de expresión de la proteína proCOL11A1 en la muestra procedente de dicho sujeto. Por tanto, los métodos y medios proporcionados por la presente invención
10 pueden ayudar a los especialistas a seleccionar el seguimiento más apropiado a someter a un sujeto que tiene un tumor maligno de ovario con las ventajas que ello conlleva.

Usos

15 En otro aspecto, la invención se refiere al uso de la proteína proCOL11A1 como marcador para:

- a) detectar un tumor maligno de ovario, en donde dicho tumor de ovario maligno es un tumor maligno en los ovarios que puede ser seroso, mucinoso, endometrioide, tumor de células claras o tumor indiferenciado; o para
- 20 b) realizar un diagnóstico diferencial de un tumor maligno de ovario, en donde dicho tumor de ovario maligno es un tumor maligno en los ovarios que puede ser seroso, mucinoso, endometrioide, tumor de células claras o tumor indiferenciado, frente a un tumor benigno o *in situ* de ovario o frente a una lesión benigna no tumoral de ovario; o para
- c) hacer un diagnóstico o pronóstico de la malignidad de un tumor de ovario, o para
- 25 d) determinar la probabilidad de malignización de un tumor de ovario de un bajo potencial maligno o *"borderline"*, con o sin implantaciones extraováricas; o para
- e) seleccionar un sujeto que se sospecha que tiene un tumor maligno de ovario, en donde dicho tumor de ovario maligno es un tumor maligno en los ovarios que puede ser seroso, mucinoso, endometrioide, tumor de células claras o tumor indiferenciado, para un tratamiento que comprende la extirpación quirúrgica del tumor, la realización de análisis adicionales para evaluar el grado de invasión del tumor, la aplicación de un
30 tratamiento quimioterápico y/o radioterápico, y un seguimiento posterior; o para
- f) seleccionar un sujeto diagnosticado con un tumor de ovario de un bajo potencial maligno o *"borderline"*, con o sin implantaciones extraováricas, para un tratamiento que comprende la extirpación quirúrgica de dicho tumor, la elección de un tratamiento quimioterápico y/o radioterápico, y el seguimiento posterior; o para
- 35 g) seleccionar un sujeto que se sospecha que tiene un tumor maligno de ovario, en donde dicho tumor de ovario maligno es un tumor maligno en los ovarios que puede ser seroso, mucinoso, endometrioide, tumor de células claras o tumor indiferenciado, en donde dicho seguimiento comprende la realización de análisis complementarios para evaluar el grado de infiltración tumoral con el fin de determinar el tratamiento posterior; o para
- 40 h) seleccionar un sujeto con un tumor de ovario de un bajo potencial maligno o *"borderline"*, con o sin implantaciones extraováricas, en donde dicho seguimiento comprende la resección quirúrgica del tumor y el control de la reaparición del tumor; o para
- i) seleccionar un sujeto con un tumor de ovario de un bajo potencial maligno o *"borderline"*, con o sin implantaciones extraováricas, en donde dicho seguimiento comprende el control de la reaparición del tumor.

45 En otro aspecto, la invención se refiere al uso de un anticuerpo específico que reconoce la proteína proCOL11A1 para:

- a) detectar un tumor maligno de ovario, en donde dicho tumor de ovario maligno es un tumor maligno en los ovarios que puede ser seroso, mucinoso, endometrioide, tumor de células claras o tumor indiferenciado; o para
- 50 b) realizar un diagnóstico diferencial de un tumor maligno de ovario, en donde dicho tumor de ovario maligno es un tumor maligno en los ovarios que puede ser seroso, mucinoso, endometrioide, tumor de células claras o tumor indiferenciado, frente a un tumor benigno o *in situ* de ovario o frente a una lesión benigna no tumoral de ovario; o para
- 55 c) hacer un diagnóstico o pronóstico de la malignidad de un tumor de ovario, o para
- d) determinar la probabilidad de malignización de un tumor de ovario de un bajo potencial maligno o *"borderline"*, con o sin implantaciones extraováricas; o para
- e) seleccionar un sujeto que se sospecha que tiene un tumor maligno de ovario, en donde dicho tumor de ovario maligno es un tumor maligno en los ovarios que puede ser seroso, mucinoso, endometrioide, tumor de células claras o tumor indiferenciado, para un tratamiento que comprende la extirpación quirúrgica del tumor, la realización de análisis adicionales para evaluar el grado de invasión del tumor, la aplicación de un
60 tratamiento quimioterápico y/o radioterápico, y un seguimiento posterior; o para
- f) seleccionar un sujeto diagnosticado con un tumor de ovario de un bajo potencial maligno o *"borderline"*, con o sin implantaciones extraováricas, para un tratamiento que comprende la extirpación quirúrgica de dicho tumor, la elección de un tratamiento quimioterápico y/o radioterápico, y el seguimiento posterior; o para
- 65

- 5 g) seleccionar un sujeto que se sospecha que tiene un tumor maligno de ovario, en donde dicho tumor de ovario maligno es un tumor maligno en los ovarios que puede ser seroso, mucinoso, endometriode, tumor de células claras o tumor indiferenciado, en donde dicho seguimiento comprende la realización de análisis complementarios para evaluar el grado de infiltración tumoral con el fin de determinar el tratamiento posterior; o para
- h) seleccionar un sujeto con un tumor de ovario de un bajo potencial maligno o "borderline", con o sin implantaciones extraováricas, en donde dicho seguimiento comprende la resección quirúrgica del tumor y el control de la reaparición del tumor; o para
- 10 i) seleccionar un sujeto con un tumor de ovario de un bajo potencial maligno o "borderline", con o sin implantaciones extraováricas, en donde dicho seguimiento comprende el control de la reaparición del tumor.

15 Las características del anticuerpo específico que reconoce la proteína proCOL11A1, o un fragmento del mismo que reconoce la proteína proCOL11A1, se han mencionado en relación con el primer método de la invención, en particular, en relación con el Método (A) y se incorporan aquí por referencia. Ventajosamente, el anticuerpo que reconoce la proteína proCOL11A1 es un anticuerpo que reconoce específicamente el subdominio VAR, en el propéptido N-terminal de proCOL11A1. Ejemplos ilustrativos de anticuerpos que detectan específicamente proCOL11A1 se mencionan en la solicitud de patente internacional WO 2013/021088 A2. En una realización particular, dicho anticuerpo es el anticuerpo monoclonal 1E8.33 (García-Ocaña, et al., *Int J Oncol.* 2012; 40(5):1447-54), un anticuerpo que reconoce específicamente la proteína proCOL11A1, sin detectar otras proteínas con alta homología de secuencia, tal como la proteína COL5A1.

20 En otro aspecto, la invención se refiere al uso de un kit que comprende un reactivo que reconoce la proteína proCOL11A1, o un reactivo para la detección y/o cuantificación de la expresión de la proteína proCOL11A1, para:

- 25 a) detectar un tumor maligno de ovario, en donde dicho tumor de ovario maligno es un tumor maligno en los ovarios que puede ser seroso, mucinoso, endometriode, tumor de células claras o tumor indiferenciado; o para
- 30 b) realizar un diagnóstico diferencial de un tumor maligno de ovario, en donde dicho tumor de ovario maligno es un tumor maligno en los ovarios que puede ser seroso, mucinoso, endometriode, tumor de células claras o tumor indiferenciado, frente a un tumor benigno o *in situ* de ovario o frente a una lesión benigna no tumoral de ovario; o para
- c) hacer un diagnóstico o pronóstico de la malignidad de un tumor de ovario, o para
- d) determinar la probabilidad de malignización de un tumor de ovario de un bajo potencial maligno o "borderline", con o sin implantaciones extraováricas; o para
- 35 e) seleccionar un sujeto que se sospecha que tiene un tumor maligno de ovario, en donde dicho tumor de ovario maligno es un tumor maligno en los ovarios que puede ser seroso, mucinoso, endometriode, tumor de células claras o tumor indiferenciado, para un tratamiento que comprende la extirpación quirúrgica del tumor, la realización de análisis adicionales para evaluar el grado de invasión del tumor, la aplicación de un tratamiento quimioterápico y/o radioterápico, y un seguimiento posterior; o para
- 40 f) seleccionar un sujeto diagnosticado con un tumor de ovario de un bajo potencial maligno o "borderline", con o sin implantaciones extraováricas, para un tratamiento que comprende la extirpación quirúrgica de dicho tumor, la elección de un tratamiento quimioterápico y/o radioterápico, y el seguimiento posterior; o para
- 45 g) seleccionar un sujeto que se sospecha que tiene un tumor maligno de ovario, en donde dicho tumor de ovario maligno es un tumor maligno en los ovarios que puede ser seroso, mucinoso, endometriode, tumor de células claras o tumor indiferenciado, en donde dicho seguimiento comprende la realización de análisis complementarios para evaluar el grado de infiltración tumoral con el fin de determinar el tratamiento posterior; o para
- 50 h) seleccionar un sujeto con un tumor de ovario de un bajo potencial maligno o "borderline", con o sin implantaciones extraováricas, en donde dicho seguimiento comprende la resección quirúrgica del tumor y el control de la reaparición del tumor; o para
- i) seleccionar un sujeto con un tumor de ovario de un bajo potencial maligno o "borderline", con o sin implantaciones extraováricas, en donde dicho seguimiento comprende el control de la reaparición del tumor.

55 En una realización particular, dicho reactivo que reconoce la proteína proCOL11A1 es un anticuerpo específico que reconoce la proteína proCOL11A1, o un fragmento del mismo que reconoce la proteína proCOL11A1. Las características de dicho anticuerpo específico que reconoce la proteína proCOL11A1, o un fragmento del mismo que reconoce la proteína proCOL11A1, se han mencionado en relación con el primer método de la invención, en particular, en relación con el Método (A) y se incorporan aquí por referencia. Ventajosamente, el anticuerpo que reconoce la proteína proCOL11A1 es un anticuerpo que reconoce específicamente el subdominio VAR, en el propéptido N-terminal de proCOL11A1. Ejemplos ilustrativos de anticuerpos que detectan específicamente proCOL11A1 se mencionan en la solicitud de patente internacional WO 2013/021088 A2. En una realización particular, dicho anticuerpo es el anticuerpo monoclonal 1E8.33 (García-Ocaña, et al., *Int J Oncol.* 2012; 40(5):1447-54), un anticuerpo que reconoce específicamente la proteína proCOL11A1, sin detectar otras proteínas con alta homología de secuencia, tal como la proteína COL5A1.

65 El siguiente ejemplo ilustra la invención y no debe considerarse como limitante de la misma.

Ejemplo 1**Expresión diferencial de proCOL11A1 en tumores de ovario y la relación de la misma con la malignidad tumoral****5 1.1 Materiales y Métodos****Inmunohistoquímica**

10 Se realizaron cortes con microtomo de las biopsias fijados en formol e incluidos en parafina, procedentes de pacientes que se sospechaba que tenían un tumor de ovario. Los cortes de 3-4 μm se secaron toda la noche a 54-56 °C en estufa. Se aplicó un pretratamiento con tampón de CC2 [Acondicionamiento celular 2] [Ventana Medical Systems, Inc.; n.º de catálogo 950-123] a 98 °C durante 32 minutos. Tras una titulación para ajustar la concentración de anticuerpo adecuada, entre 65, 26 y 13 $\mu\text{g/ml}$, las preparaciones se incubaron con el anticuerpo monoclonal 1E8.33 (documento WO 2013/021088) específico de proCOL11A1 a una concentración de 26 $\mu\text{g/ml}$ en un diluyente de anticuerpo (Ventana-Roche, Tucson, Arizona) durante 32 minutos a temperatura ambiente. Se empleó el sistema de detección "Optiview" (Ventana) y se reveló con diaminobencidina (DAB) (Ventana).

15 Se analizaron 31 casos pacientes con sospecha de tumor de ovario con el anticuerpo monoclonal 1E8.33 específico de proCOL11A1. La inmunotinción se evaluó con un ensayo doble ciego por 2 observadores diferentes. Se consideró positivo cuando al menos una célula con morfología fibroblástica poseía inmunoprecipitado.

1.2 Análisis de los datos estadísticos

20 Se utilizó el ensayo exacto de Fisher para calcular la distribución de frecuencias. Se asumió una $p < 0,05$ como significativa.

1.3 Resultados

30 Se estudió la expresión de la proteína proCOL11A1 en cortes histológicos de biopsias de ovario, procedentes de pacientes que se sospecha que tienen un tumor de ovario, mediante el empleo de un anticuerpo específico de la proteína proCOL11A1 (1E8.33). El objetivo de estos experimentos fue determinar si la presencia de inmunomarcaje proCOL11A1 podía asociarse a la presencia de un tumor maligno de ovario. De los 31 casos analizados, 21 resultaron positivos al inmunomarcaje con el anticuerpo específico de la proteína proCOL11A1, es decir, presentaban expresión de la proteína proCOL11A1 y 10 resultaron negativos (Figura 1).

35 De los 21 casos positivos al inmunomarcaje proCOL11A1, se diagnosticaron 20 pacientes a partir de la biopsia como tumor maligno de ovario: 2 adenocarcinomas endometrioides, 3 adenocarcinomas mucinosos, 2 carcinomas mixtos o sin clasificar, 10 carcinomas serosos papilares, y 3 metástasis de colon a ovario. Una de las muestras positivas al inmunomarcaje proCOL11A1 se diagnosticó clínicamente en la biopsia como un tumor benigno (Figura 2).

40 De los 10 casos negativos, sin expresión de proCOL11A1, 7 casos correspondieron a tumores malignos de ovario y 3 a tumores de ovario benignos o *in situ*.

45 Según el ensayo de Fischer, la frecuencia de la tinción positiva para proCOL11A1 presentó diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) entre el grupo de pacientes con tumores malignos de ovario y el grupo de pacientes con tumores de ovario benignos e *in situ*.

50 Además, se calculó la sensibilidad para detectar tumores malignos de ovario en tejidos de biopsia (74 %), y la especificidad para detectar infiltración tumoral en cilindros de biopsia (75 %) así como los valores predictivos positivos (VPP) y negativos (VPN) para diagnosticar infiltración (VPP 95 % y VPN 30 %). Estos resultados demuestran que este marcador (proCOL11A1) posee una alta sensibilidad y especificidad para detectar tumores malignos de ovario.

1.4 Conclusiones

55 La inmunotinción con el anticuerpo monoclonal 1E8.33, específico de proCOL11A1, muestra elevadas sensibilidad y especificidad en la detección de tumores malignos de ovario.

REIVINDICACIONES

1. Un método *in vitro* para el diagnóstico diferencial de un tumor maligno de ovario, en donde dicho tumor maligno de ovario es un tumor maligno en los ovarios que puede ser seroso, mucinoso, endometriode, tumor de células claras o tumor indiferenciado, frente a un tumor de ovario benigno o *in situ* o frente a una lesión ovárica benigna no tumoral, en un sujeto, seleccionado entre el Método (A) y el Método (B), en donde
- 5 A) el Método (A) comprende:
- 10 detectar la presencia de la proteína proCOL11A1 en una muestra obtenida mediante biopsia, citología o resección quirúrgica de dicho sujeto en donde
- 15 - la detección de la presencia de la proteína proCOL11A1 en dicha muestra es indicativa de que el tumor de ovario es maligno; o, como alternativa
- la no detección de la presencia de proteína proCOL11A1 en dicha muestra es indicativa de que el tumor de ovario es benigno o *in situ*, o de que el sujeto tiene una lesión ovárica no tumoral benigna; y
- 20 B) el Método (B) comprende:
- comparar el nivel de expresión de la proteína proCOL11A1 en dicha muestra con el nivel de expresión de dicha proteína proCOL11A1 en una muestra de control;
- en donde
- 25 - un nivel de expresión de la proteína proCOL11A1 en dicha muestra superior al nivel de expresión de dicha proteína proCOL11A1 en una muestra de control es indicativo de que dicho tumor de ovario es un tumor maligno, o, como alternativa,
- 30 - un nivel de expresión de la proteína proCOL11A1 en dicha muestra igual o inferior al nivel de expresión de dicha proteína proCOL11A1 en una muestra de control es indicativo de que el tumor de ovario es benigno o *in situ*, o de que el sujeto tiene una lesión benigna no tumoral de ovario.
2. Un método *in vitro* para el diagnóstico o el pronóstico de la malignidad del tumor de ovario en un sujeto, en donde dicho sujeto es un sujeto que se sospecha que tiene un tumor de ovario maligno, en donde dicho tumor de ovario maligno es un tumor maligno en los ovarios que puede ser seroso, mucinoso, endometriode, tumor de células claras o tumor indiferenciado, o es un sujeto diagnosticado con un tumor de ovario de un bajo potencial maligno o "*borderline*", con o sin implantaciones extraováricas, seleccionado entre el Método (A) y el Método (B), en donde
- 40 A) el Método (A) comprende:
- detectar la presencia de la proteína proCOL11A1 en una muestra obtenida mediante biopsia, citología o resección quirúrgica, de dicho sujeto que se sospecha que tiene un tumor de ovario maligno o diagnosticado con un tumor de ovario de un bajo potencial maligno o "*borderline*", con o sin implantaciones extraováricas;
- 45 en donde
- 50 - la detección de la presencia de la proteína proCOL11A1 en dicha muestra de dicho sujeto que se sospecha que tiene un tumor de ovario maligno o diagnosticado con un tumor de ovario de un bajo potencial maligno o "*borderline*", con o sin implantaciones extraováricas, es indicativa de que dicho sujeto tiene un tumor de ovario maligno o de que dicho tumor de un bajo potencial maligno o "*borderline*", con o sin implantaciones extraováricas, es capaz de progresar a un tumor de ovario maligno, o, como alternativa
- 55 - la no detección de la presencia de la proteína proCOL11A1 en dicha muestra de dicho sujeto que se sospecha que tiene un tumor de ovario maligno o diagnosticado con un tumor de ovario de un bajo potencial maligno o "*borderline*", con o sin implantaciones extraováricas, es indicativa de que dicho sujeto no tiene un tumor de ovario maligno, o de que dicho sujeto tiene un tumor de ovario benigno o *in situ*, o de que dicho tumor de un bajo potencial maligno o "*borderline*" no es capaz de progresar a un tumor de ovario maligno; y
- 60 B) el Método (B) comprende:
- comparar el nivel de expresión de la proteína proCOL11A1 en dicha muestra de dicho sujeto que se sospecha que tiene un tumor de ovario maligno o diagnosticado con un tumor de ovario de un bajo potencial maligno o "*borderline*", con o sin implantaciones extraováricas, con el nivel de expresión de dicha proteína proCOL11A1 en una muestra de control;
- 65

en donde

- 5 - un nivel de expresión de la proteína proCOL11A1 en dicha muestra de dicho sujeto que se sospecha que tiene un tumor de ovario maligno o diagnosticado con un tumor de ovario de un bajo potencial maligno o "borderline", con o sin implantaciones extraováricas, superior al nivel de expresión de dicha proteína proCOL11A1 en una muestra de control es indicativo de que dicho sujeto tiene un tumor de ovario maligno o de que dicho tumor de un bajo potencial maligno o "borderline" es capaz de progresar a un tumor de ovario maligno, o, como alternativa
- 10 - un nivel de expresión de la proteína proCOL11A1 en dicha muestra de dicho sujeto que se sospecha que tiene un tumor de ovario maligno o diagnosticado con un tumor de ovario de un bajo potencial maligno o "borderline", con o sin implantaciones extraováricas, igual o inferior al nivel de expresión de dicha proteína proCOL11A1 en una muestra de control es indicativo de que el sujeto no tiene un tumor de ovario maligno, o de que dicho sujeto tiene un tumor de ovario benigno o *in situ*, o de que dicho tumor de un bajo potencial maligno o "borderline" no es capaz de progresar a un tumor de ovario maligno.

3. Un método *in vitro* para determinar la probabilidad de malignización de un tumor de ovario de un bajo potencial maligno o "borderline", con o sin implantaciones extraováricas, en un sujeto diagnosticado con dicho tumor, seleccionado entre el Método (A) y el Método (B), en donde

- 20 A) el Método (A) comprende
 - 25 - detectar la presencia de la proteína proCOL11A1 en una muestra obtenida mediante biopsia, citología o resección quirúrgica de dicho sujeto diagnosticado con un tumor de ovario de un bajo potencial maligno o "borderline", con o sin implantaciones extraováricas;

en donde

- 30 - la detección de la presencia de la proteína proCOL11A1 en dicha muestra de dicho sujeto diagnosticado con un tumor de ovario de un bajo potencial maligno o "borderline", con o sin implantaciones extraováricas, es indicativa de que la probabilidad de que el tumor progrese a un tumor maligno de ovario es alta, o, como alternativa
- 35 - la no detección de la presencia de la proteína proCOL11A1 en dicha muestra de dicho sujeto diagnosticado con un tumor de ovario de un bajo potencial maligno o "borderline", con o sin implantaciones extraováricas, es indicativa de que la probabilidad de que el tumor progrese a un tumor maligno de ovario es baja; y

B) el Método (B) comprende

- 40 - comparar el nivel de expresión de la proteína proCOL11A1 en dicha muestra de dicho sujeto diagnosticado con un tumor de ovario de un bajo potencial maligno o "borderline", con o sin implantaciones extraováricas, con el nivel de expresión de dicha proteína proCOL11A1 en una muestra de control;

en donde

- 45 - un nivel de expresión de la proteína proCOL11A1 en dicha muestra de dicho sujeto diagnosticado con un tumor de ovario de un bajo potencial maligno o "borderline", con o sin implantaciones extraováricas, superior al nivel de expresión de dicha proteína proCOL11A1 en una muestra de control es indicativo de que la probabilidad de que el tumor progrese a un tumor maligno de ovario es alta; o, como alternativa
- 50 - un nivel de expresión de la proteína proCOL11A1 en dicha muestra de dicho sujeto diagnosticado con un tumor de ovario de un bajo potencial maligno o "borderline", con o sin implantaciones extraováricas, igual o inferior al nivel de expresión de dicha proteína proCOL11A1 en una muestra de control es indicativo de que la probabilidad de que el tumor progrese a un tumor maligno de ovario es baja.

4. Un método para seleccionar un sujeto que se sospecha que tiene un tumor maligno de ovario, en donde dicho tumor de ovario maligno es un tumor maligno en los ovarios que puede ser seroso, mucinoso, endometriode, tumor de células claras o tumor indiferenciado, para un tratamiento, o para seleccionar un sujeto diagnosticado con un tumor de ovario con bajo potencial maligno o "borderline", con o sin implantaciones extraováricas, para un tratamiento, en donde dicho tratamiento comprende la extirpación quirúrgica de dicho tumor de ovario, la realización de análisis adicionales para evaluar la infiltración tumoral y las metástasis si se sospecha que el sujeto tiene un tumor de ovario maligno, la elección de un tratamiento quimioterápico y/o radioterápico, y el seguimiento posterior, comprendiendo dicho método:

- 65 - detectar la presencia de la proteína proCOL11A1 en una muestra obtenida mediante biopsia, citología o resección quirúrgica de dicho sujeto que se sospecha que tiene un tumor maligno de ovario, o de dicho sujeto

diagnosticado con un tumor de ovario de un bajo potencial maligno o "borderline", con o sin implantaciones extraováricas; o

- 5 - comparar el nivel de expresión de la proteína proCOL11A1 en dicha muestra de dicho sujeto que se sospecha que tiene un tumor maligno de ovario, o en dicha muestra de dicho sujeto diagnosticado con un tumor de ovario de un bajo potencial maligno o "borderline", con o sin implantaciones extraováricas, con el nivel de expresión de dicha proteína proCOL11A1 en una muestra de control;

10 en donde dicho sujeto se selecciona para dicho tratamiento:

- 10 - si se detecta la presencia de la proteína proCOL11A1 en dicha muestra del sujeto que se sospecha que tiene un tumor maligno de ovario, o en dicha muestra de dicho sujeto diagnosticado con un tumor de ovario de un bajo potencial maligno o "borderline", con o sin implantaciones extraováricas; o
- 15 - si el nivel de expresión de la proteína proCOL11A1 en dicha muestra de dicho sujeto que se sospecha que tiene un tumor maligno de ovario, o en dicha muestra de dicho sujeto diagnosticado con un tumor de ovario de un bajo potencial maligno o "borderline", con o sin implantaciones extraováricas, es superior al nivel de expresión de dicha proteína proCOL11A1 en la muestra de control;

20 o, como alternativa

en donde dicho sujeto no se selecciona para dicho tratamiento:

- 25 - si no se detecta la presencia de la proteína proCOL11A1 en dicha muestra de dicho sujeto que se sospecha que tiene un tumor maligno de ovario, o en dicha muestra de dicho sujeto diagnosticado con un tumor de ovario de un bajo potencial maligno o "borderline", con o sin implantaciones extraováricas; o
- 30 - si el nivel de expresión de la proteína proCOL11A1 en dicha muestra de dicho sujeto que se sospecha que tiene un tumor maligno de ovario, o en dicha muestra de dicho sujeto diagnosticado con un tumor de ovario de un bajo potencial maligno o "borderline", con o sin implantaciones extraováricas, es igual o inferior al nivel de expresión de dicha proteína proCOL11A1 en la muestra de control.

5. Un método para seleccionar un sujeto diagnosticado con un tumor de ovario de un bajo potencial maligno o "borderline", con o sin implantaciones extraováricas, para un seguimiento, en donde dicho seguimiento comprende la resección quirúrgica de dicho tumor y el control de la reaparición del tumor, comprendiendo dicho método:

- 35 - detectar en una muestra obtenida mediante biopsia, citología o resección quirúrgica a partir de dicho sujeto diagnosticado con un tumor de ovario de un bajo potencial maligno o "borderline", con o sin implantaciones extraováricas, la presencia de la proteína proCOL11A1; o
- 40 - comparar el nivel de expresión de la proteína proCOL11A1 en dicha muestra de dicho sujeto diagnosticado con un tumor de ovario de un bajo potencial maligno o "borderline", con o sin implantaciones extraováricas, con el nivel de expresión de dicha proteína proCOL11A1 en una muestra de control;

45 en donde dicho sujeto se selecciona para dicho seguimiento:

- 50 - si se detecta la presencia de la proteína proCOL11A1 en dicha muestra del sujeto diagnosticado con un tumor de ovario de un bajo potencial maligno o "borderline", con o sin implantaciones extraováricas; o
- 50 - si el nivel de expresión de la proteína proCOL11A1 en dicha muestra de dicho sujeto diagnosticado con un tumor de ovario de un bajo potencial maligno o "borderline", con o sin implantaciones extraováricas, es superior al nivel de expresión de dicha proteína proCOL11A1 en la muestra de control.

6. El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, que comprende, además, la obtención de un extracto de proteínas a partir de dicha muestra.

7. El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en el que la detección de la proteína proCOL11A1 comprende poner en contacto dicha muestra, o un extracto de proteínas procedente de dicha muestra, con un anticuerpo específico contra la proteína proCOL11A1, bajo condiciones que permiten la formación de un complejo anticuerpo-proteína proCOL11A1.

8. El método de acuerdo con la reivindicación 8, que comprende, además, la detección y/o cuantificación del complejo anticuerpo-proteína proCOL11A1 formado, en el que la detección y/o cuantificación del complejo anticuerpo-proteína proCOL11A1 formado se lleva a cabo mediante una técnica seleccionada entre el grupo que consiste en transferencia Western, ELISA, RIA, EIA competitivo, DAS-ELISA, técnicas inmunocitoquímicas e inmunohistoquímicas, técnicas de detección múltiples basadas en el empleo de microesferas, biochips o

micromatrices de proteínas que incluyen anticuerpos específicos, o ensayos basados en precipitación coloidal.

9. El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 8 a 9, en el que la detección de la proteína proCOL11A1 se lleva a cabo mediante un análisis inmunohistoquímico.

5 10. El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 4 o 5, en el que la extirpación quirúrgica de dicho tumor de ovario se lleva a cabo mediante un método que asegura la extirpación completa de la lesión, que comprende citorreducción, histerectomía, anexectomía, colostomía y/o extirpación de ganglios.

10 11. El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 4 o 5, en el que dicho tratamiento quimioterápico comprende la administración de un fármaco antitumoral; en el que dicho fármaco antitumoral se selecciona entre el grupo que consiste en paclitaxel, altretamina, capecitabina, ciclofosfamida, etopósido, gemcitabina, doxorubicina, irinotecán, topotecán, y las combinaciones de los mismos.

15 12. El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 11 a 12, en el que dicho tratamiento comprende, además, un tratamiento radioterápico.

13. El método de acuerdo con la reivindicación 4, en el que dicho seguimiento comprende la realización de pruebas diagnósticas periódicas en busca de recidivas del tumor de ovario o de aparición de metástasis.

20 14. Uso de la proteína proCOL11A1 como marcador para:

- a) detectar un tumor maligno de ovario, en donde dicho tumor de ovario maligno es un tumor maligno en los ovarios que puede ser seroso, mucinoso, endometriode, tumor de células claras o tumor indiferenciado; o para
- 25 b) realizar un diagnóstico diferencial de un tumor maligno de ovario, en donde dicho tumor de ovario maligno es un tumor maligno en los ovarios que puede ser seroso, mucinoso, endometriode, tumor de células claras o tumor indiferenciado, frente a un tumor benigno o *in situ* de ovario o frente a una lesión benigna no tumoral de ovario; o para
- 30 c) hacer un diagnóstico o pronóstico de la malignidad de un tumor de ovario, o para
- d) determinar la probabilidad de malignización de un tumor de ovario de un bajo potencial maligno o "*borderline*", con o sin implantaciones extraováricas; o para
- e) seleccionar un sujeto que se sospecha que tiene un tumor maligno de ovario, en donde dicho tumor de ovario maligno es un tumor maligno en los ovarios que puede ser seroso, mucinoso, endometriode, tumor de
- 35 células claras o tumor indiferenciado, para un tratamiento que comprende la extirpación quirúrgica del tumor, la realización de análisis adicionales para evaluar el grado de invasión del tumor, la aplicación de un tratamiento quimioterápico y/o radioterápico, y un seguimiento posterior; o para
- f) seleccionar un sujeto diagnosticado con un tumor de ovario de un bajo potencial maligno o "*borderline*", con o sin implantaciones extraováricas, para un tratamiento que comprende la extirpación quirúrgica de dicho tumor, la elección de un tratamiento quimioterápico y/o radioterápico, y el seguimiento posterior; o para
- 40 g) seleccionar un sujeto que se sospecha que tiene un tumor maligno de ovario, en donde dicho tumor de ovario maligno es un tumor maligno en los ovarios que puede ser seroso, mucinoso, endometriode, tumor de células claras o tumor indiferenciado, en donde dicho seguimiento comprende la realización de análisis complementarios para evaluar el grado de infiltración tumoral con el fin de determinar el tratamiento posterior; o para
- 45 h) seleccionar un sujeto con un tumor de ovario de un bajo potencial maligno o "*borderline*", con o sin implantaciones extraováricas, en donde dicho seguimiento comprende la resección quirúrgica del tumor y el control de la reaparición del tumor; o para
- 50 i) seleccionar un sujeto con un tumor de ovario de un bajo potencial maligno o "*borderline*", con o sin implantaciones extraováricas, en donde dicho seguimiento comprende el control de la reaparición del tumor.

15. Uso *in vitro* de un anticuerpo específico que reconoce la proteína proCOL11A1 para:

- a) detectar un tumor maligno de ovario, en donde dicho tumor de ovario maligno es un tumor maligno en los ovarios que puede ser seroso, mucinoso, endometriode, tumor de células claras o tumor indiferenciado; o para
- 55 b) realizar un diagnóstico diferencial de un tumor maligno de ovario, en donde dicho tumor de ovario maligno es un tumor maligno en los ovarios que puede ser seroso, mucinoso, endometriode, tumor de células claras o tumor indiferenciado, frente a un tumor benigno o *in situ* de ovario o frente a una lesión benigna no tumoral de ovario; o para
- 60 c) hacer un diagnóstico o pronóstico de la malignidad de un tumor de ovario, o para
- d) determinar la probabilidad de malignización de un tumor de ovario de un bajo potencial maligno o "*borderline*", con o sin implantaciones extraováricas; o para
- e) seleccionar un sujeto que se sospecha que tiene un tumor maligno de ovario, en donde dicho tumor de ovario maligno es un tumor maligno en los ovarios que puede ser seroso, mucinoso, endometriode, tumor de
- 65 células claras o tumor indiferenciado, para un tratamiento que comprende la extirpación quirúrgica del tumor,

la realización de análisis adicionales para evaluar el grado de invasión del tumor, la aplicación de un tratamiento quimioterápico y/o radioterápico, y un seguimiento posterior; o para

- f) seleccionar un sujeto diagnosticado con un tumor de ovario de un bajo potencial maligno o *"borderline"*, con o sin implantaciones extraováricas, para un tratamiento que comprende la extirpación quirúrgica de dicho tumor, la elección de un tratamiento quimioterápico y/o radioterápico, y el seguimiento posterior; o para
- g) seleccionar un sujeto que se sospecha que tiene un tumor maligno de ovario, en donde dicho tumor de ovario maligno es un tumor maligno en los ovarios que puede ser seroso, mucinoso, endometriode, tumor de células claras o tumor indiferenciado, en donde dicho seguimiento comprende la realización de análisis complementarios para evaluar el grado de infiltración tumoral con el fin de determinar el tratamiento posterior; o para
- h) seleccionar un sujeto con un tumor de ovario de un bajo potencial maligno o *"borderline"*, con o sin implantaciones extraováricas, en donde dicho seguimiento comprende la resección quirúrgica del tumor y el control de la reaparición del tumor; o para
- i) seleccionar un sujeto con un tumor de ovario de un bajo potencial maligno o *"borderline"*, con o sin implantaciones extraováricas, en donde dicho seguimiento comprende el control de la reaparición del tumor.

16. El método de acuerdo con la reivindicación 8, o uso de un anticuerpo específico que reconoce la proteína proCOL11A1 de acuerdo con la reivindicación 16, en el que dicho anticuerpo específico contra la proteína proCOL11A1 es un anticuerpo que reconoce un epítipo situado en el dominio VAR del extremo N-terminal de la proteína proCOL11A1.

17. El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 8 o 17, o uso de un anticuerpo específico que reconoce la proteína proCOL11A1 de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 16 o 17, en el que dicho anticuerpo específico contra la proteína proCOL11A1 es el anticuerpo monoclonal 1E8.33.

18. Uso *in vitro* de un kit que comprende un reactivo que reconoce la proteína proCOL11A1, o un reactivo para la detección y/o cuantificación de la expresión de la proteína proCOL11A1, para:

- a) detectar un tumor maligno de ovario, en donde dicho tumor de ovario maligno es un tumor maligno en los ovarios que puede ser seroso, mucinoso, endometriode, tumor de células claras o tumor indiferenciado; o para
- b) realizar un diagnóstico diferencial de un tumor maligno de ovario, en donde dicho tumor de ovario maligno es un tumor maligno en los ovarios que puede ser seroso, mucinoso, endometriode, tumor de células claras o tumor indiferenciado, frente a un tumor benigno o *in situ* de ovario o frente a una lesión benigna no tumoral de ovario; o para
- c) hacer un diagnóstico o pronóstico de la malignidad de un tumor de ovario, o para
- d) determinar la probabilidad de malignización de un tumor de ovario de un bajo potencial maligno o *"borderline"*, con o sin implantaciones extraováricas; o para
- e) seleccionar un sujeto que se sospecha que tiene un tumor maligno de ovario, en donde dicho tumor de ovario maligno es un tumor maligno en los ovarios que puede ser seroso, mucinoso, endometriode, tumor de células claras o tumor indiferenciado, para un tratamiento que comprende la extirpación quirúrgica del tumor, la realización de análisis adicionales para evaluar el grado de invasión del tumor, la aplicación de un tratamiento quimioterápico y/o radioterápico, y un seguimiento posterior; o para
- f) seleccionar un sujeto diagnosticado con un tumor de ovario de un bajo potencial maligno o *"borderline"*, con o sin implantaciones extraováricas, para un tratamiento que comprende la extirpación quirúrgica de dicho tumor, la elección de un tratamiento quimioterápico y/o radioterápico, y el seguimiento posterior; o para
- g) seleccionar un sujeto que se sospecha que tiene un tumor maligno de ovario, en donde dicho tumor de ovario maligno es un tumor maligno en los ovarios que puede ser seroso, mucinoso, endometriode, tumor de células claras o tumor indiferenciado, en donde dicho seguimiento comprende la realización de análisis complementarios para evaluar el grado de infiltración tumoral con el fin de determinar el tratamiento posterior; o para
- h) seleccionar un sujeto con un tumor de ovario de un bajo potencial maligno o *"borderline"*, con o sin implantaciones extraováricas, en donde dicho seguimiento comprende la resección quirúrgica del tumor y el control de la reaparición del tumor; o para
- i) seleccionar un sujeto con un tumor de ovario de un bajo potencial maligno o *"borderline"*, con o sin implantaciones extraováricas, en donde dicho seguimiento comprende el control de la reaparición del tumor.

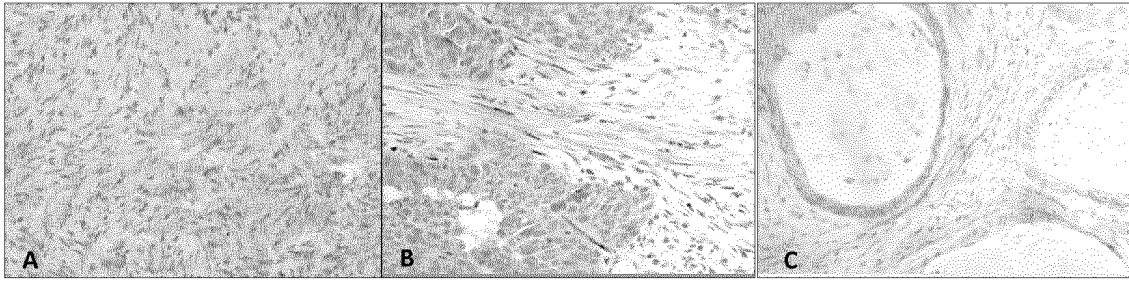


Figura 1

	n total	Tinción de COL11A1	
		positivos	negativos
Tumores benignos e <i>in situ</i>	4	1	3
Tumores malignos	27	20	7
Endometrioides	3	2	1
Mucinosos	4	3	1
Serosos papilares	14	10	4
Mixtos/inespecíficos	3	2	1
Metástasis en colon	3	3	0

Figura 2