(12) SOLICITUD INTERNACIONAL PUBLICADA EN VIRTUD DEL TRATADO DE COOPERACIÓN EN MATERIA DE PATENTES (PCT)

(19) Organización Mundial de la Propiedad Intelectual
Oficina internacional

(43) Fecha de publicación internacional
26 de septiembre de 2019 (26.09.2019)

WIPO | PCT

(10) Número de publicación internacional
WO 2019/180296 A1

(51) Clasificación internacional de patentes:
C12Q 1/68 (2018.01)

(21) Número de la solicitud internacional:
PCT/ES2019/070189

(22) Fecha de presentación internacional:
20 de marzo de 2019 (20.03.2019)

(25) Idioma de presentación: español

(26) Idioma de publicación: español

(30) Datos relativos a la prioridad:
P201830272 20 de marzo de 2018 (20.03.2018) ES

(71) Solicitantes: **SERVICIO ANDALUZ DE SALUD** [ES/ES]; Avda. de la Constitucion, 18, 41071 Sevilla (ES). **CONSORCIO CENTRO DE INVESTIGACIÓN BIOMÉDICA EN RED, M.P.** [ES/ES]; C/Monforte de Lemos 5, Pabellón 11 bajos, 28029 Madrid (ES).

(72) Inventores: **GARCÍA SERRANO, Sara**; Instituto de Investigación Biomédica de Málaga (IBIMA), C/ Doctor Miguel Diaz Recio, 28, 29010 Málaga (ES). **GARCÍA FUENTES, Eduardo**; Instituto de Investigación Biomédica de Málaga (IBIMA), C/ Doctor Miguel Diaz Recio, 28, 29010 Málaga (ES). **GARRIDO SÁNCHEZ, Lourdes**; Instituto de Investigación Biomédica de Málaga (IBIMA), C/ Doctor Miguel Diaz Recio, 28, 29010 Málaga (ES).

(74) Mandatario: **FUSTER, Gustavo**; Paseo de la Castellana 140, Planta 3ª, Edificio Lima, 28046 Madrid (ES).

(81) Estados designados *(a menos que se indique otra cosa, para toda clase de protección nacional admisible)*: AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) Estados designados *(a menos que se indique otra cosa, para toda clase de protección regional admisible)*: ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), euroasiática (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), europea (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Publicada:
— *con informe de búsqueda internacional (Art. 21(3))*

WO 2019/180296 A1

(54) Title: METHOD FOR PREDICTING THE RESPONSE TO TREATMENTS WITH BARIATRIC SURGERY IN TYPE 2 DIABETES MELLITUS

(54) Título: MÉTODO DE PREDICCIÓN DE RESPUESTA A TRATAMIENTOS CON CIRUGÍA BARIÁTRICA EN DIABETES MELLITUS TIPO 2

(57) Abstract: The present invention relates to a method based on a function for early prognosis or prediction of the response to treatment with bariatric surgery in obese patients with type 2 diabetes mellitus. The invention also relates to methods, a kit or device, computer-implemented methods, and uses.

(57) Resumen: Método de predicción de respuesta a tratamientos con cirugía bariátrica en diabetes mellitus tipo 2 La presente invención se refiere a un método basado en una función para predecir o pronosticar de manera precoz la respuesta a tratamiento con cirugía bariátrica en pacientes obesos con diabetes mellitus tipo 2,métodos, kit o dispositivo, métodos implementados por ordenador y usos.

Método de predicción de respuesta a tratamientos con cirugía bariátrica en diabetes mellitus tipo 2

CAMPO DE LA INVENCIÓN

La presente invención se encuentra dentro del campo de la biomedicina y la biotecnología, y se refiere a un método basado en una función para predecir o pronosticar de manera precoz la respuesta a tratamiento con cirugía bariátrica en pacientes obesos con diabetes mellitus tipo 2.

ANTECEDENTES DE LA INVENCIÓN

La diabetes mellitus tipo 2 es una enfermedad crónica y progresiva cuya prevalencia va en aumento. Su diagnóstico y tratamiento se ha dirigido a retardar su aparición y disminuir la gravedad de sus complicaciones.

La *International Diabetes Federation*, entre otros, ha sugerido el uso de la cirugía bariátrica para el control y remisión de la diabetes mellitus tipo 2. Algunos tipos de cirugía bariátrica son más efectivos que la terapia médica convencional para el tratamiento de la DM2 en pacientes con obesidad incluso con un índice de masa corporal (IMC) ≤ 40. Sin embargo, existen sujetos obesos mórbidos con diabetes mellitus tipo 2 en los que este tipo de intervención no produce una remisión de la enfermedad.

Dado que es un importante problema de Salud Pública, que conlleva además el desarrollo de múltiples patologías asociadas, la identificación de nuevos biomarcadores séricos que permita conocer la respuesta de un paciente ante un método de intervención quirúrgica para revertir la diabetes mellitus tipo 2, supondría una clara reducción de intervenciones invasivas no respondedoras.

Los miRNAs circulantes abren la posibilidad de determinar de manera rápida y por métodos poco invasivos diferencias en la respuesta a un tratamiento o intervención en función del perfil del individuo. Más concretamente, el biomarcador sérico miR-590 podría permitir el desarrollo de un test diagnóstico para la detección de sujetos obesos mórbidos con diabetes mellitus tipo 2 buenos candidatos para la remisión de la enfermedad mediante cirugía bariátrica. En la actualidad no existe ningún biomarcador sérico descrito con estas capacidades predictivas.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LA INVENCIÓN

Un **primer aspecto** de la invención se refiere al uso del marcador mir-590-5p para predecir o pronosticar la remision de la diabetes tipo 2 al año de la intervención por tratamiento con cirugía bariátrica en pacientes obesos mórbidos diabéticos.

Un **segundo aspecto** de la invención se refiere al método de obtención de datos útiles, de ahora en adelante primer método de la invención, para predecir o pronosticar la remisión de la diabetes tipo 2 al año de la intervención por tratamiento con cirugía bariátrica en pacientes obesos mórbidos diabéticos, que comprende:

a) cuantificar el marcador tal como se define en el primer aspecto de la invención en una muestra biológica aislada de un individuo.

En una realización preferida de este aspecto de la invención, el método además comprende cuantificar la glucemia en una muestra biológica aislada de un individuo, y el Índice de Masa Corporal (IMC) o cualquiera de sus combinaciones. En una realización más preferida, la muestra biológica aislada en el paso a) es sangre.

En otra realización preferida, el primer método de la invención además comprende:

b) aplicar la función de formula (I):

$$P= 1 / (1 + e^{-(9.25 - (0.136 \times IMC) - (0.019 \times glucosa) + (0.002 \times n^{o} \text{ copias mir-590-5p}))})$$

Fórmula (I)

Un **tercer aspecto** de la invención se refiere a un método para predecir o pronosticar remisión de la diabetes tipo 2 por tratamiento al año de la intervención con cirugía bariátrica en pacientes obesos mórbidos diabéticos, que comprende los pasos a) y b) según se describe en la presente invención, de ahora en adelante segundo método de la invención, que además comprende:

c) asignar al individuo del paso a) al grupo de individuos que responden al tratamiento con cirugía bariátrica cuando el valor de P>0,7; preferiblemente cuando P>0,750; más preferiblemente cuando P>0,8; y aún más preferiblemente cuando P>0,806.

el resultado del cálculo del paso (b) es una probabilidad que se obtiene de la curva ROC, la cual nos da información de la capacidad de predecir o pronosticar la remisión de la diabetes tipo 2 al año de la intervención por tratamiento con cirugía bariátrica en pacientes obesos mórbidos diabéticos, con una determinada especificidad y

sensibilidad. La inclusión de un individuo en un grupo u otro de diagnóstico dependerá de la sensibilidad y especificidad que se quiera obtener en cada momento.

Un **cuarto aspecto** de la invención se refiere a un kit o dispositivo, de ahora en adelante kit o dispositivo de la invención, que comprende un:

componente A, formado por un kit y un equipo de extracción de miARN, y/o

componente B, formado por un kit y un termociclador para la síntesis de ADNc, y/o

componente C, formado por los reactivos básicos para la realización de una PCR cuantitativa a tiempo real con una curva estándar del Spike-in sintético UniSp6 ARN para cuantificar el marcador descrito en el primer aspecto de la invención y/o

componente D, formado por la cantidad de referencia de la función de formula I para la comparación y asignación del individuo del paso b) y c) tal y como se definen en la presente invención,

o cualquiera de sus combinaciones.

En una realización preferida, el kit o dispositivo de la invención además comprende un:

componente D, formado por un colector de sangre, y/o

componente E, formado por el método colorimétrico de la glucosa oxidasa, y/o

componente F, formado por los elementos necesarios para calcular el IMC,

o cualquiera de sus combinaciones.

Un **quinto aspecto** de la invención se refiere al uso del marcador, el método, o el kit o dispositivo según se describe en la presente invención para predecir o pronosticar la respuesta a tratamiento con cirugía bariátrica en pacientes diabéticos obesos.

En una realización preferida de este aspecto de la invención, la diabetes es tipo 2.

En otra realización preferida de este aspecto de la invención, la obesidad es mórbida.

Un **sexto aspecto** de la invención se refiere a un programa de ordenador que comprende instrucciones de programa para hacer que un ordenador lleve a la práctica el procedimiento de acuerdo con cualquiera de los métodos que se describen en la presente invención.

Un **séptimo aspecto** de la invención se refiere a un medio de almacenamiento legible por un ordenador que comprende instrucciones de programa capaces de hacer que un ordenador lleve a cabo los pasos de cualquiera de los métodos que se describen en la presente invención.

Un **octavo aspecto** de la invención se refiere a una señal transmisible que comprende instrucciones de programa capaces de hacer que un ordenador lleve a cabo los pasos de cualquiera de los métodos que se describen en la presente invención.

DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

Figura 1. Curvas ROC obtenidas con los datos del nº de copias del mir-590-5p, la combinación de los niveles de glucosa y del índice de masa corporal, y de la combinación del nº de copias del mir-590-5p, de los niveles de glucosa y del índice de masa corporal. Cómo se observa en la gráfica, el valor diagnóstico, representado como el AUC, para el nº de copias del mir-590-5p (línea color azul) es de 0.772 y el de la combinación de las variables IMC y glucosa (línea color ocre) es de 0.801. Al combinar estas tres variables, nº de copias del mir-590-5p, IMC y glucosa (línea color verde), obtenemos un modelo de predicción con mayor discriminación, ya que se alcanzan unos valores de AUC que rozan el 0.90, lo que dentro de la interpretación de las curvas ROC se establecería como un test de diagnóstico muy bueno.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCIÓN

Los autores de la presente invención describen el uso de un método basado en una función para predecir o pronosticar la remisión de la diabetes tipo 2 al año de la intervención por tratamiento con cirugía bariátrica en pacientes obesos mórbidos diabéticos.

La relevancia y el potencial de los resultados pueden despertar un gran interés en empresas de desarrollo de test diagnósticos y/o generación de innovaciones tecnológicas al ofrecer una interesante aplicación clínica. La presente invención permite el desarrollo de un test diagnóstico para la detección de sujetos obesos mórbidos con diabetes mellitus tipo 2 que puedan ser buenos candidatos para la remisión de la diabetes mediante cirugía bariátrica. Esto permite identificar, antes de la prescripción del tratamiento, pacientes que serían candidatos a otras opciones de

tratamiento no invasivos o bien a realizar un reajuste del tratamiento una vez que se haya iniciado el mismo.

USO DEL MARCADOR

Por tanto, un **primer aspecto** de la invención se refiere al uso del marcador mir-590-5p para predecir o pronosticar la respuesta a tratamiento con cirugía bariátrica en pacientes diabéticos obesos. En una realización preferida de este aspecto de la invención, adicionalmente se puede emplear, junto con el marcador mir-590, la glucemia y el IMC.

El término "marcador, biomarcador o marcador biológico" se utiliza para designar aquella sustancia utilizada como indicador de un estado biológico. Debe poder medirse objetivamente y ser evaluado como un indicador de un proceso biológico normal, estado patogénico o de respuesta a un tratamiento farmacológico. Más concretamente, en la presente invención, se cuantifican los marcadores mir-590-5p, glucemia, e Índice de Masa Corporal (IMC). La determinación de los marcadores se puede hacer por cualquier medio conocido por el experto en la materia.

En esta memoria, el término "mir-590-5p" hace referencia a un miRNAs circulante que permite determinar de manera rápida y por métodos poco invasivos diferencias en la respuesta a un tratamiento o intervención en función del perfil del individuo. Este marcador se determina como el número de copias del mir-590-5p, para lo cual, en la presente invención, se ha empleado las técnicas de extracción de miRNA, síntesis de ADNc y cuantificación conocidas por el experto en la materia. Tiene de secuencia:

SEQ ID NO:1

GAGCUUAUUCAUAAAAGUGCAG

En esta memoria, el término "glucemia" hace referencia a la medida de la concentración de glucosa libre en la sangre, suero o plasma sanguíneo. En la presente invención se han determinado los niveles de glucosa sérica, expresados en miligramos por decilitro (mg/dl). En clínica, la hiperglucemia, es decir, niveles de glucosa en sangre superiores a 130 mg/dl en ayunas y antes de las comidas o a 180 mg/dl después de las comidas, es el indicador más habitual de la diabetes, que se produce como resultado de una deficiencia de insulina, en el caso de la diabetes de tipo I o una resistencia a la insulina, en el caso de la diabetes de tipo 2.

Más concretamente, el término "Índice de Masa Corporal IMC" es una razón matemática que asocia la masa y la talla de un individuo calculado como peso/altura^2

En la presente invención se entiende por "pronóstico" la evolución esperada de una enfermedad y se refiere a la valoración de la probabilidad según la cual un sujeto padece una enfermedad así como a la valoración de su inicio, estado de desarrollo, evolución, o de su regresión, y/o el pronóstico del curso de la enfermedad en el futuro.

El término “cirugía bariátrica“ tal como se describe en la presente invención, hace referencia al conjunto de procedimientos quirúrgicos usados para tratar la obesidad, buscando disminución del peso corporal y como alternativa al tratamiento con otros medios no quirúrgicos. El objetivo de la cirugía bariátrica es disminuir el aporte energético y la formación de grasa corporal sin estimular el consumo de la ya formada, bajo dos principios: la restricción o reducción de alimentos ingeridos (controlando metabólicamente el consumo de alimentos, sin alterar el apetito) y modificando su absorción, para que de esta manera la ingesta calórica sea adecuada para la reducción gastroesofágica sin afectar directamente el metabolismo corporal.

El término “diabetes“ o “diabetes mellitus” tal como se describe en la presente invención, hace referencia a un conjunto de trastornos metabólicos, cuya característica común principal es la presencia de concentraciones elevadas de glucosa en la sangre de manera persistente o crónica, debido ya sea a un defecto en la producción de insulina, a una resistencia a la acción de ella para utilizar la glucosa, a un aumento en la producción de glucosa o a una combinación de estas causas. También se acompaña de anormalidades en el metabolismo de los lípidos, proteínas, sales minerales y electrolitos. Según la Organización Mundial de la Salud, se reconocen tres formas de diabetes mellitus: tipo 1, tipo 2 y diabetes gestacional (ocurre durante el embarazo), cada una con diferentes causas y con distinta incidencia. Así mismo se entiende por el término “diabetes mellitus tipo 2”, aquella generada como consecuencia de un defecto progresivo en la secreción de insulina, de un aumento de la resistencia periférica a la misma y de un aumento de la producción de glucosa. Representa entre un 90 a un 95% de los casos de diabetes mellitus.

El término “obeso u obesidad” tal como se describe en la presente invención, es una enfermedad crónica de origen multifactorial prevenible que se caracteriza por acumulación excesiva de grasa o hipertrofia general del tejido adiposo en el cuerpo, es decir, un incremento de la reserva natural de energía almacenada en forma de grasa corporal. La Organización Mundial de la Salud (OMS) define como obesidad cuando el índice de masa corporal (IMC) es igual o superior a 30 kg/m². También se considera signo de obesidad un perímetro abdominal en hombres mayor o igual a 102 cm y en mujeres mayor o igual a 88 cm. La obesidad forma parte del síndrome metabólico, y es

un factor de riesgo conocido, es decir, es una indicación de la predisposición a varias enfermedades, particularmente enfermedades cardiovasculares, diabetes mellitus tipo 2, apnea del sueño, ictus y osteoartritis, así como para algunas formas de cáncer, padecimientos dermatológicos y gastrointestinales. Así mismo, el término "obesidad mórbida", "obesidad grave" u "obesidad clase III" es el término para la obesidad caracterizada por un IMC (índice de masa corporal) de 40 o mayor, o de un IMC de 35 o mayor ante la presencia de al menos una u otra enfermedad significativa o discapacidad grave y minusvalía a causa del exceso de peso.

Un "individuo" o "sujeto", como se usa aquí, se refiere a un mamífero, humano o no humano, en observación, y más preferiblemente un ser humano. El individuo puede ser cualquiera, un individuo predispuesto a una enfermedad (por ejemplo diabetes) o un individuo que padece dicha enfermedad.

MÉTODOS DE LA INVENCIÓN

Un **segundo aspecto** de la invención se refiere al método de obtención de datos útiles, de ahora en adelante primer método de la invención, para predecir o pronosticar la respuesta a tratamiento con cirugía bariátrica en pacientes diabéticos obesos, que comprende:

a) cuantificar el marcador tal como se define en el primer aspecto de la invención en una muestra biológica aislada de un individuo.

En una realización preferida de este aspecto de la invención, el método además comprende cuantificar la glucemia en una muestra biológica aislada de un individuo, y el Índice de Masa Corporal (IMC) o cualquiera de sus combinaciones. En una realización más preferida, la muestra biológica aislada en el paso a) es sangre.

En otra realización preferida, el primer método de la invención además comprende:

b) aplicar la función de formula (I):

$$P= 1 / (1 + e^{-(9.25 - (0.136 \times IMC) - (0.019 \times glucosa) + (0.002 \times n^{o} \text{ copias mir-590-5p}))})$$

Fórmula (I)

Donde P es la probabilidad pronosticada de remisión de la diabetes tipo 2 al año de la intervención por tratamiento con cirugía bariátrica en pacientes obesos mórbidos diabéticos.

Un **tercer aspecto** de la invención se refiere a un método para predecir o pronosticar la respuesta a tratamiento con cirugía bariátrica en pacientes diabéticos obesos, de ahora en adelante segundo método de la invención, que comprende los pasos a) y b) según se describe en la presente invención, que además comprende:

c) asignar al individuo del paso a) al grupo de individuos que responden al tratamiento con cirugía bariátrica cuando el valor de P>0,7; preferiblemente cuando P>0,750; más preferiblemente cuando P>0,8; y aún más preferiblemente cuando P>0,806.

Por tanto, mediante el método de la invención además comprende recomendar la cirugía bariátrica cuando el individuo pertenece al grupo que responde a terapia del paso c).

Por tanto, otro aspecto de la invención se refiere a un método de tratamiento de la obesidad que comprende realizar cirugía bariátrica en un individuo seleccionado mediante el primer o segundo método de la invención.

El término “cuantificar” tal y como se utiliza en la descripción, se refiere pero no se limita, a la determinación de la cantidad absoluta o relativa de los marcadores, de su concentración en sangre, así como a cualquier otro valor o parámetro relacionado con los mismos o que pueda derivarse de éstos. Dichos valores o parámetros comprenden valores de intensidad de la señal obtenidos a partir de cualquiera de las propiedades físicas o químicas de dichos productos de expresión obtenidos mediante medida directa. Adicionalmente, dichos valores o parámetros incluyen todos aquellos obtenidos mediante medida indirecta, por ejemplo, cualquiera de los sistemas de medida descritos en otra parte del presente documento. Los pasos a) y/o b), de los métodos descrito anteriormente pueden ser total o parcialmente automatizados, por ejemplo, por medio de un equipo robótico sensor para la cuantificación en el paso a) o la aplicación de la función en el paso b).

Una "muestra biológica" tal como se define aquí, es una pequeña parte de un sujeto, representativa del conjunto y puede estar constituida por una biopsia o una muestra de fluido corporal. Las biopsias son pequeñas piezas de tejido y pueden ser frescas, congeladas o fijas, como fijada con formalina y embebidas en parafina (formalin- fixed and paraffin embedded FFPE). Muestras de fluidos corporales pueden ser sangre, plasma, suero, orina, esputo, líquido cefalorraquídeo, leche o muestras de fluido ductal y pueden asimismo ser frescos, congelados o fijados. Las muestras se pueden extirpar quirúrgicamente, mediante extracción, es decir, con agujas hipodérmicas o de otro tipo, por microdisección o captura láser. La muestra debe contener cualquier material

biológico adecuado para detectar el marcador, biomarcador o biomarcadores deseado/s, por lo tanto, dicha muestra debe comprender ventajosamente material de las células del sujeto. Por lo tanto, en una realización particular, la muestra biológica aislada del paso a) es una muestra de fluido corporal, preferiblemente de sangre.

El término “función, función de probabilidad o función P” hace referencia a un tipo de análisis utilizado para predecir el resultado de una variable categórica (una variable que puede adoptar un número limitado de categorías) en función de las variables independientes o predictoras. Entre otros, es útil para modelar la probabilidad de un evento ocurriendo como función de otros factores.

En otra realización preferida de este aspecto de la invención, el nivel de expresión de uno o más microRNAs se mide mediante perfiles de expresión de microarrays, PCR, PCR de transcriptasa inversa, PCR de tiempo real de transcriptasa inversa, PCR cuantitativa en tiempo real, PCR de punto final, PCR multiplex de punto final, *cold* PCR, *ice cold* PCR, espectrometría de masas, hibridación *in situ* (ISH), hibridación multiplex in situ o secuenciación de ácidos nucleicos. Preferiblemente, el nivel de expresión de los miRNAs puede obtener por medio de:

(i) un método de perfilado genético, tal como un microarray; y/o

(ii) un método que comprende PCR, tal como la PCR en tiempo real; y/o.

(iii) transferencia Northern.

Más preferiblemente, el resultado se obtiene mediante PCR de tiempo real de transcriptasa inversa (RT-qPCR). Otras técnicas podrías ser, pero sin limitarnos, RT combinado con LAMP, o bien alguna técnica nueva como LASH (ligase-assisted sandwich hybridization (LASH).

Una "muestra de referencia", como se usa aquí, significa una muestra obtenida de los individuos, preferiblemente dos o más individuos, de los que se sabe que están libres de la enfermedad (diabetes, preferiblemente diabetes mellitus tipo 2) o, alternativamente, de la población general. Los niveles adecuados de miRNAs se pueden determinar mediante la medición de los niveles de dichos miRNAs en varios individuos adecuados, y tales niveles de referencia se pueden ajustar para poblaciones de individuos o sujetos específicos. En una realización preferida, la muestra de referencia se obtiene de un grupo de individuos o sujetos sanos o de sujetos sin historia previa de padecer diabetes, preferiblemente diabetes mellitus tipo 2. La cantidad y/o concentración de los miRNAs en la muestra de referencia puede,

preferiblemente, generarse a partir de una población de dos o más individuos; por ejemplo, la población puede comprender 3, 4, 5, 10, 15, 20, 30, 40, 50 o más individuos o sujetos.

Otro **aspecto** de la invención se refiere a un método para clasificar un sujeto humano en uno de dos grupos, en el que el grupo 1 comprende los sujetos que pueden identificarse por medio del método de acuerdo con el primer aspecto de la invención, y en el que el grupo 2 representa los sujetos restantes.

Otro **aspecto** de la invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende un agente terapéutico adecuado para tratar a un sujeto humano del grupo 1 que se puede identificar mediante cualquiera de los métodos de la invención.

USOS MÉDICOS

Un **quinto aspecto** de la invención se refiere al uso del marcador, el método, o el kit o dispositivo según se describe en la presente invención para predecir o pronosticar la remisión de la diabetes tipo 2 al año de la intervención por tratamiento con cirugía bariátrica en pacientes obesos mórbidos diabéticos.

En una realización preferida de este aspecto de la invención, la diabetes es tipo 2.

En otra realización preferida de este aspecto de la invención, la obesidad es mórbida.

KIT O DISPOSITIVOS

Un **cuarto aspecto** de la invención se refiere a un kit o dispositivo, de ahora en adelante kit o dispositivo de la invención, que comprende al menos un oligonucleótido capaz de hibridar con la SEQ ID NO. 1, y medios para detectar dicha hibridación.

En una realización preferida de este aspecto de la invención el kit o dispositivo de la invención comprende cebadores y/o sondas anticuerpos capaces de cuantificar el miRNA-590-5p, y donde:

- los cebadores o primers son secuencias de polinucleótidos de entre 10 y 30 pares de bases, más preferiblemente de entre 15 y 25 pares de bases, aún más preferiblemente de entre 18 y 22 pares de bases, y aún mucho más preferiblemente de alrededor de 20 pares de bases, que presentan una identidad de al menos un 80%, más

preferiblemente de al menos un 90%, aún más preferiblemente de al menos un 95%, aún mucho más preferiblemente de al menos un 98%, y particularmente de un 100%, con la secuencia complementaria a la SEQ ID NO: 1;

- las sondas son secuencias de polinucleótidos de entre 30 y 1100 pares de bases, más preferiblemente de entre 100 y 1000 pares de bases, y aún más preferiblemente de entre 200 y 500 pares de bases, que presentan una identidad de al menos un 80%, más preferiblemente de al menos un 90%, aún más preferiblemente de al menos un 95%, aún mucho más preferiblemente de al menos un 98%, y particularmente de un 100%, con la secuencia complementaria a la SEQ ID NO: 1.

En otra realización preferida, el Kit o dispositivo de la invención comprende un:

componente A, formado por un kit y un equipo de extracción de miARN, y/o

componente B, formado por un kit y un termociclador para la síntesis de ADNc, y/o

componente C, formado por los reactivos básicos para la realización de una PCR cuantitativa a tiempo real con una curva estándar del Spike-in sintético UniSp6 ARN para cuantificar el marcador descrito en el primer aspecto de la invención y/o

componente D, formado por la cantidad de referencia de la función de formula I para la comparación y asignación del individuo del paso b) y c) tal y como se definen en la presente invención,

o cualquiera de sus combinaciones.

En una realización preferida, el kit o dispositivo de la invención además comprende un:

componente D, formado por un colector de sangre, y/o

componente E, formado por el método colorimétrico de la glucosa oxidasa, y/o

componente F, formado por los elementos necesarios para calcular el IMC,

o cualquiera de sus combinaciones.

Por otro lado, el kit o dispositivo puede incluir todos los soportes y recipientes necesarios para su puesta en marcha y optimización. Preferiblemente, el kit o dispositivo comprende además las instrucciones para llevar a cabo los métodos de la invención.

Otro aspecto de la invención se refiere al uso del kit o dispositivo de la invención para identificar los individuos con mayor probabilidad de respuesta al tratamiento con cirugía bariátrica en pacientes obesos con diabetes mellitus tipo 2

En otra realización preferida de este aspecto de la invención, los oligonucleótidos presentan modificaciones en alguno de sus nucleótidos, como por ejemplo, pero sin limitarnos a, nucleótidos que tengan alguno de sus átomos con un isótopo radiactivo, normalmente 32P o tritio, nucleótidos marcados inmunológicamente, como por ejemplo con una molécula de digoxigenina, y/o inmovilizadas en una membrana. Varias posibilidades son conocidas en el estado de la técnica, y la invención no se limita a ninguna.

En otra realización preferida de este aspecto de la invención, el kit o dispositivo de la invención además comprende todos aquellos elementos necesarios para llevar a cabo un procedimiento PCR.

El kit además puede incluir, sin ningún tipo de limitación, tampones, soluciones de extracción de proteínas, agentes para prevenir la contaminación, inhibidores de la degradación de las proteínas, etc.

Por otro lado, el kit puede incluir todos los soportes y recipientes necesarios para su puesta en marcha y optimización. Preferiblemente, el kit comprende además las instrucciones para llevar a cabo los métodos de la invención.

Otro aspecto de la invención se refiere a una secuencia totalmente complementaria (complementaria al 100%) de DNA, RNA o de cadenas de ácidos nucléicos modificados, (i.e. una sonda), capaz de hibridar con la secuencia de nucleótidos del l miRNA-590-5p.

Dispositivos capaces de cuantificar de forma automática las secuencias, como se describe por ejemplo, pero sin limitarnos, en Zhang *et al.,* 2015. Lab Chip Nov 7;15(21):4217-26, en US2017233799A, Kolbert *et al.,*2013. PLoS ONE 8(1): e52517 or nCounter® miRNA assays

MÉTODOS IMPLEMENTADOS POR ORDENADOR

Un **sexto aspecto** de la invención se refiere a un programa de ordenador que comprende instrucciones de programa para hacer que un ordenador lleve a la práctica

el procedimiento de acuerdo con cualquiera de los métodos que se describen en la presente invención.

En particular, la invención abarca programas de ordenador dispuestos sobre o dentro de una portadora. La portadora puede ser cualquier entidad o dispositivo capaz de soportar el programa. Cuando el programa va incorporado en una señal que puede ser transportada directamente por un cable u otro dispositivo o medio, la portadora puede estar constituida por dicho cable u otro dispositivo o medio. Como variante, la portadora podría ser un circuito integrado en el que va incluido el programa, estando el circuito integrado adaptado para ejecutar, o para ser utilizado en la ejecución de los procesos correspondientes.

Por ejemplo, los programas podrían estar incorporados en un medio de almacenamiento, como una memoria ROM, una memoria CD ROM o una memoria ROM de semiconductor, una memoria USB, o un soporte de grabación magnética, por ejemplo, un disco flexible o un disco duro. Alternativamente, los programas podrían estar soportados en una señal portadora transmisible. Por ejemplo, podría tratarse de una señal eléctrica u óptica que podría transportarse a través de cable eléctrico u óptico, por radio o por cualesquiera otros medios.

Un **séptimo aspecto** de la invención se refiere a un medio de almacenamiento legible por un ordenador que comprende instrucciones de programa capaces de hacer que un ordenador lleve a cabo los pasos de cualquiera de los métodos que se describen en la presente invención.

Un **octavo aspecto** de la invención se refiere a una señal transmisible que comprende instrucciones de programa capaces de hacer que un ordenador lleve a cabo los pasos de cualquiera de los métodos que se describen en la presente invención.

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

EJEMPLOS DE LA INVENCIÓN

En este trabajo, se aplicó una herramienta para la determinación de un biomarcador sérico, mir-590-5p, para predecir si sujetos con obesidad mórbida y diabetes mellitus tipo 2 serían buenos candidatos para el tratamiento/remisión de dicha diabetes mediante cirugía bariátrica. Esto podría traducirse en la no recomendación de la cirugía bariátrica en aquellos pacientes obesos mórbidos con diabetes mellitus tipo 2 que a través del test diagnóstico se determinen que no son buenos candidatos para someterse a este tipo de intervención quirúrgica para remitir su diabetes. Dado que es un importante problema de Salud Pública, que conlleva además el desarrollo de múltiples patologías asociadas, es importante saber si una persona con obesidad mórbida va a responder de antemano a la cirugía bariátrica. En este sentido, la identificación de nuevos biomarcadores séricos que nos permitan conocer la respuesta de un paciente ante un método de intervención quirúrgica para revertir la diabetes, supondría una reducción en el número de intervenciones invasivas no indicadas. Actualmente no existe ningún biomarcador sérico descrito con capacidad de predecir la remisión de la diabetes mellitus tipo 2 en sujetos obesos mórbidos con esta patología tras ser intervenidos mediante cirugía bariátrica.

Ejemplo 1. Materiales y Métodos

Pacientes

El estudio se realizó en un total de 25 pacientes obesos mórbidos con diabetes mellitus tipo 2 en tratamiento solo con metformina, los cuales se dividieron en dos grupos:

17 obesos mórbidos (7 hombres + 10 mujeres) (IMC ≥ 40 kg/m2) con diabetes mellitus tipo 2 previa a la intervención quirúrgica que remitieron la enfermedad tras un año de la cirugía bariátrica (OM-R).

8 obesos mórbidos (3 hombres + 5 mujeres) (IMC ≥ 40 kg/m2) con diabetes mellitus tipo 2 previa a la intervención quirúrgica que no remitieron la enfermedad tras un año de la cirugía bariátrica (OM-NoR).

Criterios de Remisión

Los criterios considerados para remisión de diabetes mellitus tipo 2 han sido:

1. Niveles basales de glucosa ≤100 mg/dL en ausencia de medicación.

2. Niveles de HbA1c iguales o por debajo del 6% (Stacy A. Brethauer, MD, et al. Standardized outcomes reporting in metabolic and bariatric surgery. Surg Obes Relat Dis. 2015 May-Jun;11(3):489-506).

Recogida de muestras

A todos los pacientes incluidos en el estudio se les recogió una muestra de sangre que se centrifugó para la obtención del suero, el cual se almacenó a -80ºC en el Biobanco del Hospital Regional Universitario de Málaga.

Variables de estudio

Los niveles de glucosa de determinaron en suero mediante el método colorimétrico de la glucosa oxidasa y el IMC se determinó mediante la fórmula peso/altura^2.

Extracción de miRNA del suero y chequeo de la calidad de las muestras

La extracción de miRNA se realizó en la plataforma de Genómica del Instituto de Investigación Biomédica de Málaga (IBIMA). La extracción de los miRNAs se realizó por un método automatizado con el kit Maxwell 16 miRNA Tissue Kit de Promega® en un equipo Maxwell (Maxwell® 16MDx Instrument) partiendo de 200 µl de suero, y resuspendiendo en 40 µl del tampón de elución proporcionado por el kit comercial. A continuación, 2 µl de dicha elución fue convertido a microcDNA por reverso-trascripción (RT) con el kit miRCURY LNA™ Universal RT microRNA PCR, Polyadenylation and cDNA synthesis kit II (8-64 rxns) de Exiqon siguiendo las instrucciones del fabricante.

Para la evaluación de la calidad de las muestras de suero y la eficiencia en el proceso de extracción y RT-PCR, se incluyeron distintos miRNAS sintéticos (spike-in) durante estos procesos, evaluándose después en miRCURY™ microRNA QC PCR Panels:

- Los spike-in UniSp2, UniSp4 y UniSp5 se utilizaron para evaluar la eficiencia de la extracción. Se seleccionaron las muestras cuyos Cts a través del conjunto de la muestra fueron <2-3 Ct y la ΔCt entre Spike-ins alrededor de 5-7 Cts. La presencia de UniSp5 en las muestras nos indicó eficiencia en la purificación de miRNAs de baja expresión.
- Se incluyó el spike-in Cel-39-3p y el UniSp6 para verificar la eficacia de la síntesis de cDNA. Se seleccionaron aquellas muestras con una varianza no mayor de <1-2 Ct a lo largo de toda la muestra.

- Se utilizó spike-in UniSp3 para evaluar la eficiencia de la reacción de PCR. Se seleccionaron aquellas muestras con valores de Ct en todo el conjunto de datos no superior a <2 Ct.

- La evaluación de la hemólisis se realizó comprobando la diferencia entre miR-23a y miR-451. Las muestras con valores de Ct superiores a 7, consideradas fuera del rango de aceptación de hemólisis, se eliminaron del estudio.

La expresión de los miRNAs se realizó mediante PCR cuantitativa a tiempo real en el Light Cycler 480 de Roche en placas de 384. Previamente, para la obtención del cDNA, en la mezcla para la realización de la RT se añadieron 0.5µl de Spike-in sintético UniSp6 RNA (10^8 copias/µl) para la posterior cuantificación en referencia al número de copias.

Análisis estadístico

El número de copias de mir-590-5p por pocillo se calculó en referencia a una curva estándar que se realizó a partir de una concentración conocida inicial de partida de $2x10^8$ copias de RNA sintético (UniSp6 RNA) por pocillo. La curva estándar se realizó con 6 puntos de estándares en duplicado con diluciones 1:10. A partir de la curva se hizo la interpolación de los datos de Cts para mir-590-5p. Las diferencias significativas en los niveles de expresión del miRNA entre ambos grupos se determinaron mediante comparación de medias con el test de Mann-Witney.

Ejemplo 2. Resultados

*Se consideraron sujetos OM a los que le remite la DM2 (OM-R) a aquellos que, al año de la cirugía bariátrica, presentan unos niveles de glucosa en ayunas ≤100 mg/dL, en ausencia de medicación frente a la diabetes, y con niveles de HbA1c iguales o por debajo del 6%. Aquellos que no cumplieron dichas consideraciones se les incluyeron en el grupo de sujetos OM en los que no remite la DM2 tras un año de la cirugía (OM-NoR). Los datos bioquímicos y antropométricos de los pacientes con obesidad morbida incluidos en el estudio se muestran en la Tabla 1.

Tabla 1. Variables bioquímicas y antropométricas de los sujetos obesos mórbidos antes de la cirugía bariátrica, en función de si remite (OM-R) o no la diabetes tipo 2 (OM-NoR) un año después de ser operados de cirugía bariátrica.

	No remite DM2	Remite DM2
Edad (años)	51.8 ± 5.5	48.4 ± 8.8
Peso (kg)	145.4 ± 17.7	131.4 ± 21.9
IMC (kg/m^2)	55.3 ± 9.3	48.0 ± 7.8
Glucosa (mg/dl)	173.8 ± 80.8	131.5 ± 56.6
Colesterol (mg/dl)	190.9 ± 42.4	187.8 ± 44.1
Triglicéridos (mg/dl)	145.4 ± 66.4	242.9 ±209.3
HbA1c	7.85 ± 1.29	7.17 ± 1.78
Mir-590-5p (nº copias)	365.5 ± 406.3	1189.5 ± 1143.6

Los datos están expresados como media ± desviación estándar. Diferencias significativas entre ambos grupos de pacientes: $^1p<0.05$.

Expresión mir-590-5p

Al comparar las medias del número de copias de mir-590-5p encontramos diferencias significativas entre los grupos de respondedores (OM-R) y no respondedores (OM-NoR) (media ± desviación estándar, tabla 1). En la tabla 2 se muestra el nº de copias del mir-590-5p en los dos grupos de sujetos.

Tabla 2. nº de copias del mir-590-5p en los sujetos obesos mórbidos antes de la cirugía bariátrica, en función de si remite (OM-R) o no la diabetes tipo 2 (OM-NoR) un año después de ser operados de cirugía bariátrica

No remite DM2	Remite DM2
8	80
39	94

199	171
273	292
321	358
352	383
427	583
1303	674
	782
	1132
	1136
	1502
	1740
	1965
	2035
	3040
	4250

Curvas ROC

A partir de los datos obtenidos de glucosa IMC y nº de copias de mir-590-5p, se realizaron diferentes curvas ROC para comparar la capacidad de mir-590-5p o su combinación con otras variables para distinguir entre sujetos respondedores vs. no respondedores (Tabla 3, Figura 1).

Descripción grafica curva ROC:

El valor diagnóstico, representado como el AUC, para el nº de copias del mir-590-5p (línea color azul) es de 0.772, y el de la combinación de las variables IMC y glucosa (línea color ocre) es de 0.801. Al combinar estas tres variables, nº de copias del mir-

590-5p, IMC y glucosa (línea color verde), obtenemos un modelo de predicción con mayor discriminación, ya que se alcanzan unos valores de AUC que rozan el 0.90, lo que dentro de la interpretación de las curvas ROC se establecería como un test de diagnóstico muy bueno.

Tabla 3. Área bajo la curva de la capacidad de predicción del nº de copias del mir-590-5p sólo y en combinación con otras variables.

Variables	Área bajo la curva
Nº copias mir-590-5p	0,772
IMC – glucosa	0,801
Nº copias mir-590-5p – IMC - glucosa	0,890

Estudio de la capacidad predictiva del nº de copias del mir-590-5p

Al realizar la curva ROC con los datos del nº de copias del mir-590-5p obtuvimos que el punto de corte con mayor sensibilidad y especificidad es de 505 copias (Tabla 4). Con ese punto de corte en el nº de copias de mir-590-5p se obtuvieron los siguientes datos (tabla 3):

Tabla 4. Distribución de los pacientes obesos mórbidos en función de si su DM2 remite o no al año de ser operados de cirugía bariátrica, y del resultado de la prueba diagnóstica del nº de copias del mir-590-5p.

		Verdadero diagnostico o Criterio de referencia del mir 590-5p		
		Remite DM2	**No remite DM2**	**Total**
Resultado de la prueba diagnostica	**Remite DM2**	11	1	12
	No remite DM2	6	7	13
	Total	17	8	25

Pacientes correctamente diagnosticados: 72.00%

Sensibilidad: 64.71 %

Especificidad: 87.50 %

Valor predictivo positivo: 91.67 %

Valor predictivo negativo: 53.85 %

Estudio de la capacidad predictiva de la combinación IMC - glucosa

Al realizar la curva ROC con los datos combinados de los niveles de glucosa y de IMC de los pacientes obtuvimos que el punto de corte con mayor sensibilidad y especificidad era de 0.685. Para obtener el valor en cada paciente se hizo un cálculo a partir de la siguiente ecuación:

$$P = 1 / (1 + e^{-(10.37 - (0.141 \times IMC) - (0.015 \times glucosa))})$$

Con ese punto de corte (0.685) se obtuvieron los siguientes datos (tabla 5):

Tabla 5. Distribución de los pacientes obesos mórbidos en función de si su DM2 remite o no al año de ser operados de cirugía bariátrica, y del resultado de la prueba que combina los niveles de glucosa y de IMC.

		Verdadero diagnostico o criterio de referencia de la combinación IMC-glucosa		
		Remite DM2	**No remite DM2**	**Total**
Resultado de la prueba diagnostica	**Remite DM2**	12	1	13
	No remite DM2	5	7	12
	Total	17	8	25

Pacientes correctamente diagnosticados: 76.00 %

Sensibilidad: 70.59 %

Especificidad: 87.50 %

Valor predictivo positivo: 92.31 %

Valor predictivo negativo: 58.33 %

Estudio de la capacidad predictiva del mir-590-5p - IMC – glucosa

Al realizar la curva ROC con los datos combinados del nº de copias del mir-590-5p, los niveles de glucosa y de IMC de los pacientes, obtuvimos que el punto de corte con mayor sensibilidad y especificidad era de 0.806. Para obtener el valor en cada paciente se hizo un cálculo a partir de la siguiente ecuación:

$$P= 1 / (1 + e^{-(9.25 - (0.136 \times IMC) - (0.019 \times glucosa) + (0.002 \times nº\ copias\ mir\text{-}590\text{-}5p))})$$

Con ese punto de corte (0.806) se obtuvieron los siguientes datos (tabla 5):

Tabla 6. Distribución de los pacientes obesos mórbidos en función de si su DM2 remite o no al año de ser operados de cirugía bariátrica, y del resultado de la prueba que combina el nº de copias de mir-590-5p, los niveles de glucosa y de IMC.

		Verdadero diagnostico o Criterio de referencia de la combinación mir 590-IMC-glucosa		
		Remite DM2	**No remite DM2**	**Total**
Resultado de la prueba diagnostica	**Remite DM2**	13	0	13
	No remite DM2	4	7	11
	Total	17	7	24

Pacientes correctamente diagnosticados: 84.00 %

Sensibilidad: 76.47 %

Especificidad: 100.00 %

Valor predictivo positivo: 100.00 %

Valor predictivo negativo: 66.67%

Ejemplo 3. Conclusión

El método algorítmico que tiene mayor sensibilidad y especificidad es el que combina mir-590-5p + glucemia + IMC de fórmula:

$$P= 1 / (1 + e^{-(9.25 - (0.136 \times IMC) - (0.019 \times glucosa) + (0.002 \times n^{o} copias\ mir\text{-}590\text{-}5p))})$$

donde P es la probabilidad pronosticada de reemisión de la diabetes tipo 2 al año de la intervención por tratamiento con cirugía bariátrica en pacientes obesos mórbidos diabéticos, el IMC es el índice de masa corporal calculado como peso/altura^2, la glucosa son los niveles de glucosa sérica en mg/dl, y nº copias mir-590-5p es el número de copias del mir-590-5p que se obtienen como se especifica en la presente memoria.

El punto de corte determinado para este algoritmo es 0.806. Un valor de P>0.806 mostraría a aquellos pacientes con obesidad mórbida y diabetes mellitus tipo 2 en los que remitiría dicha diabetes al año de la intervención por cirugía bariátrica, con un valor predictivo positivo y una especificidad del 100%.

REIVINDICACIONES

1. Uso del marcador mir-590-5p para predecir o pronosticar la respuesta a tratamiento con cirugía bariátrica en pacientes diabéticos obesos, donde preferiblemente la respuesta es la remisión de la diabetes tipo II.

2. Un método de obtención de datos útiles para predecir o pronosticar la respuesta a tratamiento con cirugía bariátrica en pacientes diabéticos obesos, que comprende:

a) cuantificar el marcador descrito en la reivindicación 1 en una muestra biológica aislada de un individuo.

3. El método según la reivindicación anterior, que además comprende cuantificar la glucemia en una muestra biológica aislada de un individuo, y el Índice de Masa Corporal (IMC) o cualquiera de sus combinaciones.

4.- El método según cualquiera de las reivindicaciones 2-3, donde la remisión de la diabetes tipo 2 se produce al año de la intervención.

5. El método según cualquiera de las reivindicaciones 2-4, donde la muestra biológica aislada en el paso a) es sangre.

6. El método según cualquiera de las reivindicaciones 2-5, que además comprende:

b) aplicar el modelo de regresión logística de formula (I):

$$P= 1 / (1 + e^{-(9.25 - (0.136 \times IMC) - (0.019 \times glucosa) + (0.002 \times nº\ copias\ mir\text{-}590\text{-}5p))})$$

7. Un método para predecir o pronosticar la respuesta a tratamiento con cirugía bariátrica en pacientes diabéticos obesos, que comprende los pasos a) y b) según cualquiera de las reivindicaciones 2-6, que además comprende:

c) asignar al individuo del paso a) al grupo de individuos que responden al tratamiento con cirugía bariátrica cuando el valor de cuando el valor de P>0,7; preferiblemente cuando P>0,750; más preferiblemente cuando P>0,8; y aún más preferiblemente cuando P>0,806.

8. Un kit o dispositivo que comprende al menos un oligonucleótido capaz de hibridar con la SEQ ID NO. 1, y medios para detectar dicha hibridación.

9.- El kit o dispositivo según la reivindicación anterior que comprende los reactivos básicos para la realización de una PCR cuantitativa a tiempo real con una curva estándar del Spike-in sintético UniSp6 ARN para cuantificar el marcador descrito en la reivindicación 1.

10. El kit o dispositivo según cualquiera de las reivindicaciones 8-9, que además comprende cebadores y/o sondas anticuerpos capaces de cuantificar el miRNA-590-5p, y donde:

- los cebadores o primers son secuencias de polinucleótidos de entre 10 y 30 pares de bases, más preferiblemente de entre 15 y 25 pares de bases, aún más preferiblemente de entre 18 y 22 pares de bases, y aún mucho más preferiblemente de alrededor de 20 pares de bases, que presentan una identidad de al menos un 80%, más preferiblemente de al menos un 90%, aún más preferiblemente de al menos un 95%, aún mucho más preferiblemente de al menos un 98%, y particularmente de un 100%, con la secuencia complementaria a la SEQ ID NO: 1;

- las sondas son secuencias de polinucleótidos de entre 30 y 1100 pares de bases, más preferiblemente de entre 100 y 1000 pares de bases, y aún más preferiblemente de entre 200 y 500 pares de bases, que presentan una identidad de al menos un 80%, más preferiblemente de al menos un 90%, aún más preferiblemente de al menos un 95%, aún mucho más preferiblemente de al menos un 98%, y particularmente de un 100%, con la secuencia complementaria a la SEQ ID NO: 1.

11. Uso del marcador según la reivindicación 1, el método según cualquiera de las reivindicaciones 2-7, o el kit o dispositivo según cualquiera de las reivindicaciones 8-10, para predecir o pronosticar la respuesta a tratamiento con cirugía bariátrica en pacientes diabéticos obesos, donde preferiblemente la respuesta es la remisión de la diabetes, y más preferiblemente la remisión de la diabetes se produce al año de la intervención.

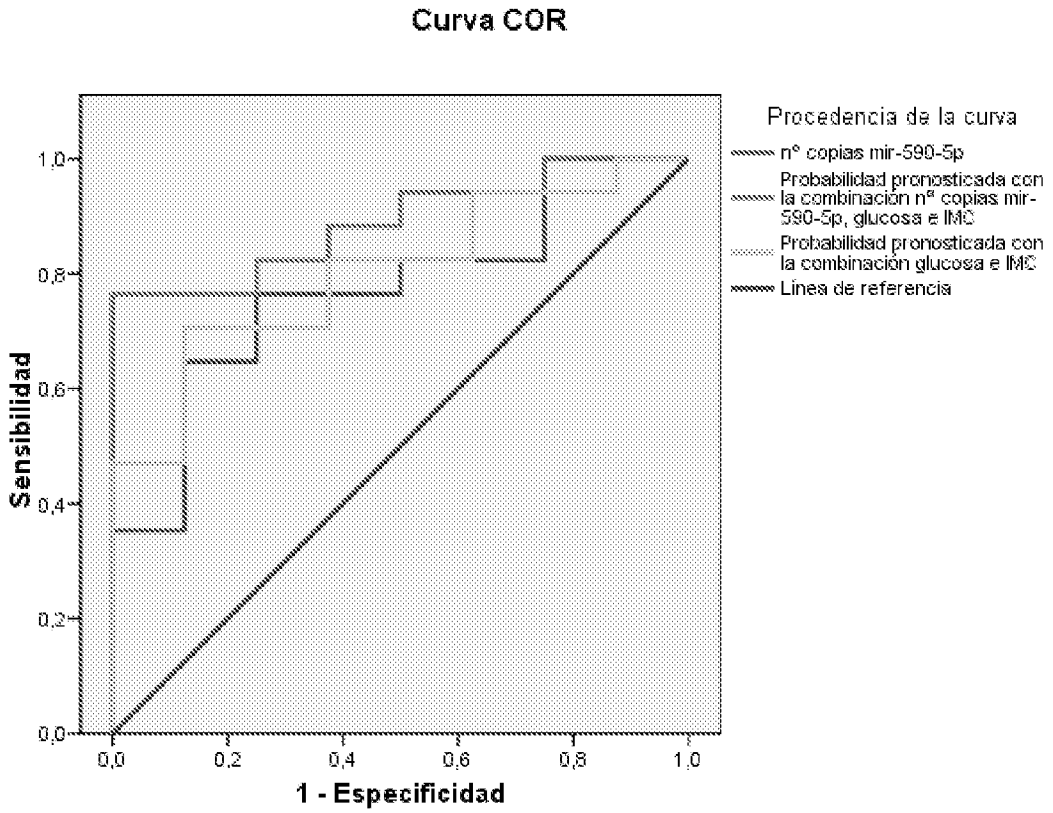
12. Uso del marcador, el método, o el kit o dispositivo según la reivindicación anterior, donde la diabetes es tipo 2.

13. Uso del marcador, el método, o el kit o dispositivo según cualquiera de las reivindicaciones 11-12, donde la obesidad es mórbida.

14.- Una secuencia totalmente complementaria (complementaria al 100%) de DNA, RNA o de cadenas de ácidos nucléicos modificados, (i.e. una sonda), capaz de hibridar con la secuencia del miRNA-590-5p.

FIGURAS

Figura 1.



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/ES2019/070189

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

C12Q1/68 (2018.01)

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
C12Q

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

EPODOC, INVENES, WPI, EMBASE, BIOSIS, MEDLINE, INTERNET SEARCH

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X A	ALKANDARI A. Epigenetic control of the post-bariatric phenotype: the role of microRNAs. 2015. [Retrieved the 10/06/2019]. Retrieved from internet. https://core.ac.uk/download/pdf/144577163.pdf.. pages 105, 124, 127, 136, 137; tables 4.4 - 4.6	1-5, 8-15. 6 ,7
X	ALKANDARI ABDULLAH et al. Improved physiology and metabolic flux after Roux-in-Y gastric bypass is associated with temporal changes in the circulating microRNAome: a longitudinal study in humans.. BMC obesity England 2018. 30/11/2017, Vol. 5, Pages 20, ISSN 2052-9538 (Print), <DOI: doi:10.1186/s40608-018-0199-z pubmed:29881628> figures 1, 3f; pages 3-5.	1-3, 5, 8-10, 15

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance.
"E" earlier document but published on or after the international filing date
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
"O" document referring to an oral disclosure use, exhibition, or other means.
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other documents , such combination being obvious to a person skilled in the art
"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
10/06/2019	**(18/06/2019)**
Name and mailing address of the ISA/ OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS Paseo de la Castellana, 75 - 28071 Madrid (España) Facsimile No.: 91 349 53 04	Authorized officer J. Manso Tomico Telephone No. 91 3495583

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/ES2019/070189

C (continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of documents, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	ATKIN STEPHEN L et al.. Changes in Blood microRNA Expression and Early Metabolic Responsiveness 21 Days Following Bariatric Surgery. Frontiers in endocrinology Switzerland 2018. 30/11/2017, Vol. 9, Pages 773, ISSN 1664-2392 (Print), <DOI: doi:10.3389/fendo.2018.00773 pubmed:30687230> results, methods.	1-15

INFORME DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL

Solicitud internacional nº
PCT/ES2019/070189

A. CLASIFICACIÓN DEL OBJETO DE LA SOLICITUD
C12Q1/68 (2018.01)

De acuerdo con la Clasificación Internacional de Patentes (CIP) o según la clasificación nacional y CIP.

B. SECTORES COMPRENDIDOS POR LA BÚSQUEDA

Documentación mínima buscada (sistema de clasificación seguido de los símbolos de clasificación)
C12Q

Otra documentación consultada, además de la documentación mínima, en la medida en que tales documentos formen parte de los sectores comprendidos por la búsqueda

Bases de datos electrónicas consultadas durante la búsqueda internacional (nombre de la base de datos y, si es posible, términos de búsqueda utilizados)
EPODOC, INVENES, WPI, EMBASE, BIOSIS, MEDLINE, INTERNET SEARCH

C. DOCUMENTOS CONSIDERADOS RELEVANTES

Categoría*	Documentos citados, con indicación, si procede, de las partes relevantes	Relevante para las reivindicaciones nº
X A	ALKANDARI A. Epigenetic control of the post-bariatric phenotype: the role of microRNAs. 2015. [Recuperado el 10/06/2019]. Recuperado de internet. https://core.ac.uk/download/pdf/144577163.pdf.. páginas 105, 124, 127, 136, 137; tablas 4.4 - 4.6	1-5, 8-15. 6, 7
X	ALKANDARI ABDULLAH et al. Improved physiology and metabolic flux after Roux-en-Y gastric bypass is associated with temporal changes in the circulating microRNAome: a longitudinal study in humans.. BMC obesity England 2018. 30/11/2017, Vol. 5, Páginas 20, ISSN 2052-9538 (Print), <DOI: doi:10.1186/s40608-018-0199-z pubmed:29881628> figuras 1, 3f; páginas 3-5.	1-3, 5, 8-10, 15

☒ En la continuación del recuadro C se relacionan otros documentos ☐ Los documentos de familias de patentes se indican en el anexo

* Categorías especiales de documentos citados:

"A" documento que define el estado general de la técnica no considerado como particularmente relevante.

"E" solicitud de patente o patente anterior pero publicada en la fecha de presentación internacional o en fecha posterior.

"L" documento que puede plantear dudas sobre una reivindicación de prioridad o que se cita para determinar la fecha de publicación de otra cita o por una razón especial (como la indicada).

"O" documento que se refiere a una divulgación oral, a una utilización, a una exposición o a cualquier otro medio.

"P" documento publicado antes de la fecha de presentación internacional pero con posterioridad a la fecha de prioridad reivindicada.

"T" documento ulterior publicado con posterioridad a la fecha de presentación internacional o de prioridad que no pertenece al estado de la técnica pertinente pero que se cita por permitir la comprensión del principio o teoría que constituye la base de la invención.

"X" documento particularmente relevante; la invención reivindicada no puede considerarse nueva o que implique una actividad inventiva por referencia al documento aisladamente considerado.

"Y" documento particularmente relevante; la invención reivindicada no puede considerarse que implique una actividad inventiva cuando el documento se asocia a otro u otros documentos de la misma naturaleza, cuya combinación resulta evidente para un experto en la materia.

"&" documento que forma parte de la misma familia de patentes.

Fecha en que se ha concluido efectivamente la búsqueda internacional.	Fecha de expedición del informe de búsqueda internacional.
10/06/2019	**18 de junio de 2019 (18/06/2019)**
Nombre y dirección postal de la Administración encargada de la búsqueda internacional OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS Paseo de la Castellana, 75 - 28071 Madrid (España) Nº de fax: 91 349 53 04	Funcionario autorizado J. Manso Tomico Nº de teléfono 91 3495583

INFORME DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL

Solicitud internacional nº
PCT/ES2019/070189

C (Continuación). DOCUMENTOS CONSIDERADOS RELEVANTES

Categoría *	Documentos citados, con indicación, si procede, de las partes relevantes	Relevante para las reivindicaciones nº
A	ATKIN STEPHEN L et al. Changes in Blood microRNA Expression and Early Metabolic Responsiveness 21 Days Following Bariatric Surgery. Frontiers in endocrinology Switzerland 2018. 30/11/2017, Vol. 9, Páginas 773, ISSN 1664-2392 (Print), <DOI: doi:10.3389/fendo.2018.00773 pubmed:30687230> resultados, métodos.	1-15