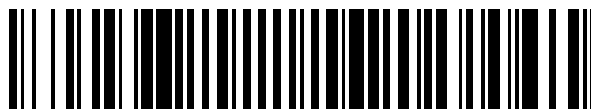


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 402 142**

51 Int. Cl.:

G01N 33/68 (2006.01)

G01N 33/48 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **31.10.2008 E 08845659 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **26.12.2012 EP 2227689**

54 Título: **Biomarcadores para la enfermedad del hígado graso y métodos que utilizan los mismos**

30 Prioridad:

02.11.2007 US 984942 P
04.04.2008 US 42459 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
29.04.2013

73 Titular/es:

METABOLON, INC. (50.0%)
617 Davis Drive, Suite 400
Durham, NC 27713, US y
THE CLEVELAND CLINIC FOUNDATION (50.0%)

72 Inventor/es:

MCCREEDY, BRUCE J., JR.;
BERGER, ALVIN;
HU, YUNFU y
KALHAN, SATISH C.

74 Agente/Representante:

DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto

ES 2 402 142 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

Biomarcadores para la enfermedad del hígado graso y métodos que utilizan los mismos

Campo

5 La invención se refiere en general a biomarcadores para la enfermedad del hígado graso y a los métodos basados en los mismos biomarcadores.

Antecedentes

10 El cambio graso en el hígado es el resultado de la acumulación excesiva de lípidos en los hepatocitos. El hígado graso es la acumulación de triglicéridos y otras grasas en las células del hígado. La enfermedad del hígado graso puede variar de hígado graso solo (hígado graso simple, esteatosis) a hígado graso asociado con inflamación hepática (esteatohepatitis). Aunque tener grasa en el hígado no es normal, ésta, por sí sola, probablemente causa un pequeño perjuicio o un daño permanente. Se cree generalmente que la esteatosis es una afección benigna, con raro progreso a enfermedad hepática crónica. En contraste, la esteatohepatitis puede progresar a fibrosis y cirrosis hepática, puede estar asociada con el carcinoma hepatocelular y puede dar como resultado morbilidad y mortalidad relacionadas con el hígado.

15 La esteatosis se puede producir por el uso de alcohol (hígado graso relacionado con alcohol) o en ausencia de alcohol (enfermedad de hígado graso no alcohólico, EHGNA). La esteatohepatitis puede estar relacionada con el daño hepático inducido por el alcohol o puede no estar relacionada con el alcohol. Si está presente esteatohepatitis, pero no hay un historial de consumo de alcohol, la afección se denomina esteatohepatitis no alcohólica (EHNA).

20 En ausencia de alcohol, los principales factores de riesgo para el hígado graso simple (EHGNA) y EHNA son la obesidad, la diabetes y niveles altos de triglicéridos. En EHNA, la grasa se acumula en el hígado y por último produce tejido cicatrizal. Este tipo de hepatitis parece estar asociado con diabetes, desnutrición proteica, obesidad, enfermedad de las arterias coronarias y tratamiento de medicación con corticosteroides. La fibrosis o cirrosis en el hígado están presentes en 15-50% de los pacientes con EHNA. Aproximadamente 30% de los pacientes con fibrosis desarrolla cirrosis a los 10 años.

25 La enfermedad del hígado graso es actualmente la causa más común para las pruebas de función hepática elevada en los Estados Unidos. Ahora es probablemente la principal causa de elevaciones leves de las transaminasas. La esteatosis afecta aproximadamente a 25-35% de la población general. La EHGNA se encuentra en más de 80% de los pacientes que son obesos. La EHNA afecta del 2 al 5 por ciento de los norteamericanos y se ha detectado en 1,2-9% de los pacientes sometidos a biopsia hepática rutinaria. Más de 50% de los pacientes sometidos a cirugía bariátrica tienen EHNA. La enfermedad afecta a hombres y mujeres; los estudios tempranos indican que >70% de casos se presentaron en mujeres, pero estudios recientes indican que 50% de los pacientes son mujeres. El hígado graso se produce en todos los grupos de edad. En los Estados Unidos la EHNA es la enfermedad hepática más común entre los adolescentes y es la tercera causa más común de enfermedad hepática crónica en los adultos (después de la hepatitis C y el alcohol).

35 Tanto EHNA y EHGNA son cada vez más comunes, posiblemente debido al mayor número de Estadounidenses con obesidad. En los últimos 10 años, la tasa de obesidad se ha duplicado en adultos y se ha triplicado en niños. La obesidad también contribuye a la diabetes y al elevado colesterol en sangre, lo que puede complicar aún más la salud de alguien con EHNA. La diabetes y el colesterol elevado en sangre son también cada vez más comunes entre los estadounidenses.

40 La EHNA es por lo general una enfermedad silenciosa con pocos o ningún síntoma. Los pacientes generalmente se sienten bien en las primeras etapas y sólo comienzan a tener síntomas, como fatiga, pérdida de peso y debilidad, una vez que la enfermedad está más avanzada o se desarrolla cirrosis. La progresión de EHNA puede tardar años, incluso décadas. El proceso se puede detener y, en algunos casos, revertir por sí solo sin terapia específica. O la EHNA puede empeorar lentamente, causando cicatrices o "fibrosis" que aparecen y se acumulan en el hígado. A medida que empeora la fibrosis, se desarrolla cirrosis; el hígado llega a estar gravemente cicatrizado, endurecido, y a ser incapaz de funcionar con normalidad. No todas las personas con EHNA desarrollan cirrosis, pero una vez que está presente la grave cicatrización o la cirrosis, pocos tratamientos pueden detener el progreso. Una persona con cirrosis experimenta retención de líquidos, pérdida de masa muscular, hemorragia en los intestinos, e insuficiencia hepática. El trasplante de hígado es el único tratamiento para la cirrosis avanzada con insuficiencia hepática y el trasplante se realiza cada vez más en personas con EHNA. La EHNA se clasifica como una de las principales causas de cirrosis en los Estados Unidos, detrás de la hepatitis C y la hepatopatía alcohólica.

55 La EHNA es por lo general la primera sospecha en una persona que se encuentra que tiene elevaciones en las pruebas hepáticas que están incluidas en los paneles de pruebas sanguíneas rutinarias, tales como alanina aminotransferasa (ALT) o aspartato aminotransferasa (AST). Cuando la evaluación adicional no muestra una razón aparente para la enfermedad hepática (tal como medicaciones, hepatitis viral o uso excesivo de alcohol) y cuando

las radiografías o estudios por imágenes del hígado graso muestran grasa, se sospecha de la EHNA. El único método de probar un diagnóstico de EHNA y separarlo de hígado graso simple es una biopsia de hígado. Una biopsia de hígado requiere la inserción de una aguja a través de la piel y la separación de una pequeña porción del hígado. Si el tejido muestra grasa sin inflamación y lesión se diagnostica hígado graso simple o EHGNA. La EHNA se diagnostica cuando el examen microscópico del tejido muestra grasa junto con inflamación y lesión de las células hepáticas. Se requiere una biopsia para determinar si se ha desarrollado tejido cicatricial en el hígado. Actualmente, ninguna de las pruebas o análisis de sangre puede proporcionar de manera fiable esta información. Por lo tanto existe la necesidad de un método diagnóstico menos invasivo (es decir, un método que no requiriera biopsia).

Compendio

10 En el sentido más amplio, la presente solicitud se define como sigue:

1. Un método para diagnosticar si un sujeto tiene, o está predispuesto a, esteatohepatitis, que comprende:

analizar una muestra biológica de un sujeto para determinar el nivel de glicocolato en la muestra, y

comparar el nivel de glicocolato en la muestra con niveles de glicocolato de referencia positivos para esteatohepatitis y/o negativos para esteatohepatitis con el fin de diagnosticar si el sujeto tiene, o está predispuesto a, esteatohepatitis.

2. El método del apartado 1, que comprende adicionalmente analizar la muestra biológica para determinar el nivel o los niveles de uno o más biomarcadores adicionales para la esteatosis en la muestra, en donde los uno o más biomarcadores adicionales se seleccionan de las tablas 1, 3, 4B, 6B, 9, 10, 11, 12, 13, y/o la Figura 2 y/o 3, y

comparar el nivel o los niveles de los uno o más biomarcadores adicionales en la muestra con respecto a niveles de referencia positivos para esteatohepatitis y/o negativos para esteatohepatitis de los uno o más biomarcadores adicionales con el fin de diagnosticar si el sujeto tiene, o está predispuesto a, esteatohepatitis.

3. El método del apartado 2, en donde el método es un método para diagnosticar si un sujeto tiene esteatohepatitis y en donde los uno o más biomarcadores adicionales se seleccionan de los biomarcadores de las tablas 1, 3, 4B, 6B, 9, 10, 11, 12, 13, y/o la Figura 2 y/o 3 que tienen valores de p de menos de 0,05 y/o los biomarcadores de las tablas 1, 3, 4B, 6B, 9, 10, 11, 12, 13, y/o la Figura 2 y/o 3 que tienen valores de q de menos de 0,10.

4. El método del apartado 2, en donde el método es un método para diagnosticar si un sujeto tiene esteatohepatitis y en donde la muestra analizada es de un sujeto masculino y los biomarcadores se seleccionan de la Tabla 12.

5. El método del apartado 2, en donde el método es un método para diagnosticar si un sujeto tiene esteatohepatitis y en donde la muestra analizada es de un sujeto femenino y los biomarcadores se seleccionan de la Tabla 13.

6. El método de uno cualquiera de los apartados anteriores, en donde el método es un método para diagnosticar si un sujeto tiene esteatohepatitis y en donde la muestra se analiza utilizando una o más técnicas seleccionadas del grupo que consiste en espectrometría de masas, reacciones enzimáticas o bioquímicas, química clínica, ELISA, y unión de anticuerpos.

7. Un método de acuerdo con el apartado 2, en donde el método es un método para determinar si un sujeto está predispuesto a desarrollar esteatohepatitis y

el nivel o los niveles de glicocolato y los uno o más biomarcadores adicionales de la muestra se comparan con los niveles de referencia de glicocolato y los uno o más biomarcadores adicionales positivos para esteatohepatitis y/o negativos para esteatohepatitis con el fin de determinar si el sujeto está predispuesto a desarrollar esteatohepatitis.

8. Un método para verificar el progreso/regresión de la esteatohepatitis en un sujeto, que comprende:

analizar una primera muestra biológica de un sujeto para determinar el nivel o los niveles de glicocolato y opcionalmente uno o más biomarcadores adicionales para la esteatohepatitis en la muestra, en donde los uno o más biomarcadores se seleccionan de las tablas 1, 3, 4B, 6B, 9, 10, 11, 12, 13, y/o la Figura 2 y/o 3 y la primera muestra se obtiene del sujeto en un primer momento;

analizar una segunda muestra biológica de un sujeto para determinar el nivel o los niveles de glicocolato y opcionalmente los uno o más biomarcadores adicionales, en donde la segunda muestra se obtiene del sujeto en un segundo momento; y

comparar el nivel o los niveles de glicocolato y opcionalmente los uno o más biomarcadores adicionales en la primera muestra con el nivel o los niveles de glicocolato y opcionalmente los uno o más biomarcadores

adicionales en la segunda muestra con el fin de verificar el progreso/regresión de la esteatohepatitis en el sujeto.

9. Un método para evaluar la eficacia de una composición para tratar la esteatohepatitis, que comprende:

5 analizar, a partir de un sujeto que tiene esteatohepatitis y que está siendo tratado actualmente o ha sido tratado previamente con una composición, una muestra biológica para determinar el nivel o los niveles de glicocolato y opcionalmente uno o más biomarcadores adicionales para la esteatohepatitis seleccionados de las tablas 1, 3, 4B, 6B, 9, 10, 11, 12, 13, y/o la Figura 2 y/o 3; y

10 comparar el nivel o los niveles de glicocolato y opcionalmente los uno o más biomarcadores adicionales en la muestra con a) los niveles de glicocolato y opcionalmente los uno o más biomarcadores adicionales en una muestra biológica tomada previamente del sujeto, en donde la muestra biológica tomada previamente se obtuvo del sujeto antes de ser tratado con la composición, b) los niveles de referencia de glicocolato y opcionalmente los uno o más biomarcadores adicionales positivos para esteatohepatitis, y/o c) los niveles de referencia de glicocolato y opcionalmente los uno o más biomarcadores adicionales negativos para esteatohepatitis.

15 10. Un método para evaluar la eficacia de una composición en el tratamiento de la esteatohepatitis, que comprende:

analizar una primera muestra biológica de un sujeto para determinar el nivel o los niveles de glicocolato y opcionalmente uno o más biomarcadores adicionales para la esteatohepatitis seleccionados de las tablas 1, 3, 4B, 6B, 9, 10, 11, 12, 13, y/o la Figura 2 y/o 3, la primera muestra obtenida del sujeto en un primer momento;

20 analizar una segunda muestra biológica del sujeto, al que se ha administrado la composición, para determinar el nivel o los niveles de glicocolato y opcionalmente los uno o más biomarcadores adicionales, la segunda muestra obtenida del sujeto en un segundo momento después de la administración de la composición;

25 comparar el nivel o los niveles de glicocolato y opcionalmente los uno o más biomarcadores adicionales en la primera muestra con el nivel o los niveles de glicocolato y opcionalmente los uno o más biomarcadores adicionales en la segunda muestra con el fin de evaluar la eficacia de la composición para tratar la esteatohepatitis.

11. Un método para escrutar una composición para determinar su actividad en la modulación del glicocolato y opcionalmente uno o más biomarcadores adicionales de la esteatohepatitis, que comprende:

30 poner en contacto una o más células con la composición;

analizar al menos una porción de las una o más células o de una muestra biológica asociada con las células para determinar el nivel o los niveles de glicocolato y opcionalmente uno o más biomarcadores adicionales de la esteatohepatitis seleccionados de las tablas 1, 3, 4B, 6B, 9, 10, 11, 12, 13, y/o la Figura 2 y/o 3; y

35 comparar el nivel o los niveles de glicocolato y opcionalmente los uno o más biomarcadores adicionales con niveles patrón predeterminados para el glicocolato y opcionalmente los uno o más biomarcadores adicionales para determinar si la composición modula el nivel o los niveles de glicocolato y opcionalmente los uno o más biomarcadores adicionales.

40 12. El uso de un biomarcador, o una pluralidad de biomarcadores, en la diagnosis de la esteatohepatitis, en donde dicho biomarcador o pluralidad de biomarcadores comprenden glicocolato y opcionalmente los uno o más biomarcadores adicionales seleccionados de las tablas 1, 3, 4B, 6B, 9, 10, 11, 12, 13, y/o la Figura 2 y/o 3.

13. Un método para distinguir la EHGNA de la EHNA en un sujeto que tiene una enfermedad o trastorno hepáticos, que comprende:

45 analizar una muestra biológica de un sujeto para determinar el nivel o los niveles de glicocolato y opcionalmente uno o más biomarcadores adicionales para la EHGNA y/o EHNA en la muestra, en donde los uno o más biomarcadores se seleccionan de las tablas 2, 3, 4B, 5B, 6B, 8, 9, 10, 11, 12, 13, y las Figuras 1, 2, 3

50 comparar el nivel o los niveles de glicocolato y opcionalmente los uno o más biomarcadores adicionales en la muestra con niveles de referencia positivos para EHGNA que la distinguen de EHNA y/o con niveles de referencia positivos para EHNA que la distinguen de EHGNA con el fin de determinar si el sujeto tiene EHNA.

14. El método del apartado 1, que comprende adicionalmente analizar la muestra biológica del sujeto para determinar el nivel o los niveles de uno o más biomarcadores adicionales para la esteatohepatitis en la muestra, en donde los uno o más biomarcadores adicionales se seleccionan del grupo que consiste en glicoquenodesoxicolato, taurocolato, butirilcarnitina, gamma-glutamiltirosina, quinurenina, glutamilvalina, gamma-glutamilfenilalanina, gamma-glutamil-leucina, glutamato, carnitina, propionilcarnitina, y combinaciones de los mismos, y

comparar el nivel o los niveles de los uno o más biomarcadores adicionales en la muestra con niveles de referencia positivos para esteatohepatitis y/o negativos para esteatohepatitis de los uno o más biomarcadores adicionales con el fin de diagnosticar si el sujeto tiene, o está predispuesto a, esteatohepatitis.

15. El método del apartado 14, en donde la muestra biológica se analiza utilizando una o más técnicas seleccionadas del grupo que consiste en espectrometría de masas, reacciones enzimáticas o bioquímicas, química clínica, ELISA, y unión de anticuerpos.

16. El método del apartado 14, en donde la muestra biológica es una muestra de plasma o una muestra de orina.

17. El método del apartado 14, en donde los uno o más biomarcadores adicionales se seleccionan del grupo que consiste en glicoquenodesoxicolato, taurocolato, y combinaciones de los mismos.

Breve descripción de los dibujos

La Figura 1 proporciona una realización de compuestos biomarcadores que son importantes para distinguir sujetos con esteatosis y sujetos control.

La Figura 2 proporciona una realización de compuestos de biomarcadores que son importantes para distinguir sujetos con esteatohepatitis de sujetos de control.

La Figura 3 proporciona una realización de los compuestos de biomarcadores que son importantes para distinguir sujetos con esteatosis, con esteatohepatitis y de control.

La Figura 4 proporciona un ejemplo de los resultados de partición recursiva que muestran la clasificación de los sujetos de control y con esteatosis utilizando los biomarcadores identificados en la Tabla 8.

La Figura 5 proporciona un ejemplo de los resultados de partición recursiva que muestran la clasificación de esteatosis y esteatohepatitis (EHNA, EH) utilizando los biomarcadores enumerados en la Tabla 9.

La Figura 6 proporciona un ejemplo de los resultados de partición recursiva que muestran la clasificación de control y esteatohepatitis utilizando los biomarcadores enumerados en la Tabla 10.

La Figura 7 proporciona un ejemplo de los resultados de partición recursiva que muestran el uso de los biomarcadores para clasificar sujetos con esteatosis, esteatohepatitis y de control utilizando los biomarcadores enumerados en la Tabla 11.

Descripción detallada

La presente descripción se refiere a biomarcadores de la esteatosis y la esteatohepatitis, a métodos para el diagnóstico (o para ayudar al diagnóstico) de la esteatosis y/o la esteatohepatitis, a métodos para distinguir entre la esteatosis hepática y esteatohepatitis, a métodos de distinguir entre EHGNA y EHNA, a métodos para determinar la predisposición a la esteatohepatitis, fibrosis y cirrosis, a métodos para verificar el progreso/regresión de la esteatohepatitis, a métodos para la evaluación de la eficacia de las composiciones para el tratamiento de la esteatohepatitis, a métodos para escrutar composiciones para determinar su actividad en la modulación de biomarcadores de la esteatohepatitis, a métodos para el tratamiento de la esteatohepatitis, así como a otros métodos basados en biomarcadores de la esteatosis y la esteatohepatitis. Antes de describir esta invención con más detalle, sin embargo, se definirán primero los siguientes términos.

Definiciones:

"Biomarcador" significa un compuesto, preferiblemente un metabolito, que está presente diferencialmente (es decir, en aumento o disminución) en una muestra biológica de un sujeto o un grupo de sujetos que presentan un primer fenotipo (por ejemplo, que tienen una enfermedad) en comparación con una muestra biológica de un sujeto o grupo de sujetos que tienen un segundo fenotipo (por ejemplo, que no tienen la enfermedad). Un biomarcador puede estar presente diferencialmente a cualquier nivel, pero está generalmente presente a un nivel que se incrementa en al menos 5%, en al menos 10%, en al menos 15%, en al menos 20%, en al menos 25%, en al menos 30%, en al menos 35%, en al menos 40%, en al menos 45%, en al menos 50%, en al menos 55%, en al menos 60%, en al menos 65%, en al menos 70%, en al menos 75%, en al menos 80%, en al menos 85%, en al menos 90%, en al menos 95%, en al menos 100%, en al menos 110%, en al menos 120 %, en al menos 130%, en al menos 140%, en

al menos 150%, o más; o está presente generalmente en un nivel que se reduce en al menos 5%, en al menos 10%, en al menos 15%, en al menos 20%, en al menos 25%, en al menos 30%, en al menos 35%, en al menos 40%, en al menos 45%, en al menos 50%, en al menos 55%, por al menos 60%, en al menos 65%, en al menos 70%, en al menos 75%, en al menos 80%, en al menos 85%, en al menos 90%, en al menos 95%, o en 100% (es decir, ausente). Un biomarcador está presente diferencialmente preferiblemente en un nivel que es estadísticamente significativo (es decir, un valor p inferior a 0,05 y/o un valor q de menos de 0,10 según se determina usando cualquiera de la prueba t de Welch o la prueba de suma de rangos de Wilcoxon).

El "nivel" de uno o más biomarcadores significa la cantidad o concentración absoluta o relativa del biomarcador en la muestra.

"Muestra" o "muestra biológica" significa el material biológico aislado de un sujeto. La muestra biológica puede contener cualquier material biológico adecuado para detectar los biomarcadores deseados, y puede comprender material celular y/o no celular del sujeto. La muestra se puede aislar de cualquier tejido o fluido biológico adecuado tal como, por ejemplo, tejido, sangre, plasma sanguíneo, orina o líquido cefalorraquídeo (LCR).

"Sujeto" significa cualquier animal, pero es preferiblemente un mamífero, tal como, por ejemplo, un ser humano, mono, primate no humano, ratón, o conejo.

Un "nivel de referencia" de un biomarcador significa un nivel del biomarcador que es indicativo de un estado de enfermedad concreto, fenotipo, o predisposición a desarrollar un estado de enfermedad concreto o fenotipo, o su carencia, así como combinaciones de estados de enfermedad, fenotipos, o predisposición a desarrollar un estado de enfermedad concretos o fenotipo, o su carencia. Un nivel de referencia "positivo" de un biomarcador significa un nivel que es indicativo de un estado de enfermedad concreto o fenotipo. Un nivel de referencia "negativo" de un biomarcador significa un nivel que es indicativo de una falta de un estado de enfermedad concreto o fenotipo. Por ejemplo, un "nivel de referencia positivo para EHNA" de un biomarcador significa un nivel de un biomarcador que es indicativo de un diagnóstico positivo de EHNA en un sujeto, y un "nivel de referencia negativo para EHNA" de un biomarcador significa un nivel de un biomarcador que es indicativo de un diagnóstico negativo de EHNA en un sujeto. Un "nivel de referencia" de un biomarcador puede ser una cantidad o concentración absoluta o relativa de los biomarcadores, una presencia o ausencia del biomarcador, un intervalo de cantidad o concentración del biomarcador, una cantidad o concentración mínima y/o máxima del biomarcador, una cantidad o concentración media del biomarcador, y/o una cantidad o concentración mediana del biomarcador; y, además, los "niveles de referencia" de combinaciones de biomarcadores también puede ser proporciones de cantidades o concentraciones absolutas o relativas de dos o más biomarcadores con respecto a cada una de las otras. Los niveles de referencia positivos y negativos apropiados de biomarcadores para un estado de enfermedad concreto, fenotipo o su carencia pueden ser determinados mediante la medición de los niveles de biomarcadores deseados en uno o más sujetos apropiados, y estos niveles de referencia pueden ser adaptados a poblaciones específicas de sujetos (por ejemplo, un nivel de referencia puede ser emparejado por edad o emparejado por sexo de manera que se puedan realizar comparaciones entre los niveles de biomarcadores en muestras de sujetos de una cierta edad o sexo y niveles de referencia para un estado de enfermedad concreto, fenotipo, o su carencia en un cierto grupo de edad o sexo). Estos niveles de referencia también pueden ser adaptados a las técnicas específicas que se utilizan para medir los niveles de biomarcadores en muestras biológicas (por ejemplo, LC-MS, GC-MS, etc.), donde los niveles de biomarcadores pueden diferir basándose en la técnica específica que se utiliza.

"Compuesto no biomarcador" significa un compuesto que no está presente diferencialmente en una muestra biológica de un sujeto o grupo de sujetos que presentan un primer fenotipo (por ejemplo, que tienen una primera enfermedad) en comparación con una muestra biológica de un sujeto o grupo de sujetos que tienen un segundo fenotipo (por ejemplo, que no tienen la primera enfermedad). Tales compuestos no biomarcadores pueden, sin embargo, ser biomarcadores en una muestra biológica de un sujeto o un grupo de sujetos que tienen un tercer fenotipo (por ejemplo, que tienen una segunda enfermedad) en comparación con el primer fenotipo (por ejemplo, que tiene la primera enfermedad) o el segundo fenotipo (por ejemplo, que no tiene la primera enfermedad).

"Metabolito", o "molécula pequeña", significa moléculas orgánicas e inorgánicas que están presentes en una célula. El término no incluye macromoléculas grandes, tales como proteínas de gran tamaño (por ejemplo, proteínas con pesos moleculares de más de 2.000, 3.000, 4.000, 5.000, 6.000, 7.000, 8.000, 9.000, o 10.000), ácidos nucleicos grandes (por ejemplo, los ácidos nucleicos con pesos moleculares de más de 2.000, 3.000, 4.000, 5.000, 6.000, 7.000, 8.000, 9.000, o 10.000), o polisacáridos grandes (por ejemplo, polisacáridos con pesos moleculares de más de 2.000, 3.000, 4.000, 5.000, 6.000, 7.000, 8.000, 9.000, o 10.000). Las moléculas pequeñas de la célula se encuentran generalmente libres en disolución en el citoplasma o en otros orgánulos tales como las mitocondrias, donde forman un grupo de compuestos intermedios que pueden metabolizarse adicionalmente o utilizarse para generar moléculas de gran tamaño, llamadas macromoléculas. El término "moléculas pequeñas" incluye moléculas de señalización e intermedios en las reacciones químicas que transforman la energía derivada de los alimentos en formas utilizables. Los ejemplos de las moléculas pequeñas incluyen azúcares, ácidos grasos, aminoácidos, nucleótidos, compuestos intermedios formados durante los procesos celulares, y otras moléculas pequeñas que se encuentran dentro de la célula.

"Perfil metabólico" o "perfil de molécula pequeña", significa un inventario completo o parcial de las pequeñas moléculas dentro de una célula, tejido, órgano, organismo elegido como diana, o una fracción de los mismos (por ejemplo, compartimiento, celular). El inventario puede incluir la cantidad y/o tipo de moléculas pequeñas presentes. El "perfil de molécula pequeña" se puede determinar utilizando una técnica única o múltiples técnicas diferentes.

5 "Metaboloma" significa todas las moléculas pequeñas presentes en un organismo dado.

"Esteatosis" se refiere a la enfermedad del hígado graso sin presencia de inflamación. La afección se puede producir por el uso de alcohol o, en ausencia de uso de alcohol.

10 "Enfermedad del hígado graso no alcohólico" (EHGNA) se refiere a la enfermedad del hígado graso (esteatosis) que se produce en sujetos incluso en ausencia de consumo de alcohol en cantidades consideradas perjudiciales para el hígado.

"Esteatohepatitis" se refiere a la enfermedad de hígado graso que se asocia con inflamación. La esteatohepatitis puede progresar a cirrosis y puede estar asociada con el carcinoma hepatocelular. La afección puede producirse por el uso de alcohol o, en ausencia de uso de alcohol.

15 "Esteatohepatitis no alcohólica" (EHNA) se refiere a la esteatohepatitis que se produce en sujetos incluso en ausencia de consumo de alcohol en cantidades consideradas perjudiciales para el hígado. La EHNA puede progresar a cirrosis y puede estar asociada con el carcinoma hepatocelular.

I. Biomarcadores

20 Los biomarcadores de EHGNA y EHNA descritos en la presente memoria fueron descubiertos utilizando técnicas de perfilado metabólico. Tales técnicas de perfilado metabólico se describen con más detalle en los ejemplos mostrados más abajo, así como en la Patente de los Estados Unidos Núm. 7.005.255 y en las Solicitudes de Patente de los Estados Unidos Núms. 11/357.732, 10/695.265 (Núm. de Publicación 2005/0014132), 11/301.077 (Núm. de Publicación 2006/0134676), 11/301.078(Núm. de Publicación 2006/0134677), 11/301.079 (Núm. de Publicación 2006/0134678), y 11/405.033, cuyo contenido completo se incorpora a la presente como referencia.

25 Generalmente, los perfiles metabólicos se determinaron para muestras biológicas de sujetos humanos diagnosticados de esteatosis, así como de uno o más de otros grupos de sujetos humanos (por ejemplo, sujetos de control sanos no diagnosticados de esteatosis), así como de sujetos humanos diagnosticados de EHNA. El perfil metabólico para muestras biológicas de un sujeto que tiene esteatosis se comparó con el perfil metabólico de las muestras biológicas procedentes de los uno o más de otros grupos de sujetos. Esas moléculas presentes diferencialmente, incluyendo aquellas moléculas presentes diferencialmente a un nivel que es estadísticamente significativo, en el perfil metabólico de muestras de sujetos con esteatosis, comparado con otro grupo (por ejemplo, los sujetos de control sanos no diagnosticados de esteatosis) se identificaron como biomarcadores para distinguir dichos grupos. Además, las moléculas presentes diferencialmente, incluyendo aquellas moléculas presente diferencialmente a un nivel que es estadísticamente significativo, en el perfil metabólico de muestras de sujetos con esteatosis en comparación con EHNA también se identificaron como biomarcadores para distinguir dichos grupos.

35 Los biomarcadores se comentan en la presente memoria con más detalle. Los biomarcadores que fueron descubiertos corresponden al grupo o los grupos siguientes:

Biomarcadores para distinguir los sujetos que tienen esteatosis vs sujetos de control no diagnosticados de

40 enfermedad hepática (véanse las Tablas 2, 4B, 5B, 8, 11, 12, 13, la Figura 1 (gamma-glutamiltirosina, taurocolato, butirilcarnitina, Metabolito - 11235, Tirosina, uridina, glutamato, Metabolito - 11304, Metabolito - 4611, Metabolito - 6488, 10c-undecenoato, Metabolito - 11431, Metabolito - 3107, Glutamilvalina, Metabolito -11230, Metabolito - 3083, Metabolito -11491, Metabolito - 10432, Metabolito - 11422, Metabolito - 11728, Metabolito - 10914, Metabolito - 11432, Metabolito - 11314, Metabolito - 12035, Metabolito - 11242, Metabolito -11529, Metabolito - 11897, gamma-glutamilfenilalanina, Metabolito - 11628, Metabolito - 3108, alanina, glicocolato, Isobar 47 (ácido tauroquenodesoxicólico, ácido taurodesoxicólico), Isobar 66 (ácido glicoquenodesoxicólico, ácido glicodesoxicólico),

45 Lactato, manosa, Metabolito-10026, Metabolito-10951, Metabolito-2347, Metabolito-2821, Metabolito-3016, Metabolito-3019, Metabolito-3025, Metabolito-3026, Metabolito-3073, Metabolito-3077, Metabolito-3098, Metabolito-3165, Metabolito-3330, Metabolito-4167, Metabolito-4361, Metabolito-4759, Metabolito-4806, Metabolito-5346, Metabolito-5769, Metabolito-8506, Tiroxina, urato), y la Figura 3 (gamma-glutamiltirosina, glutamato, Metabolito - 11728, butirilcarnitina, taurocolato, glutamilvalina, tirosina, Metabolito - 11422, quinurenina, glicocolato, gamma-tocoferol, Metabolito -11431, creatina, Metabolito - 10914, Metabolito - 11235, hipurato, Metabolito - 11529, Metabolito - 4611, Metabolito - 01911, Metabolito - 11491, glicerofosforilcolina (GPC), urato-, gamma-glutamilfenilalanina-, Metabolito - 11230, 10c-undecenoato, Metabolito - 11315, histidina, Metabolito - 11304, Metabolito - 11432, Metabolito - 11242, alanina, isocitrato, isoleucina, lactato, leucina, manosa, Metabolito - 10026, Metabolito -10812, Metabolito - 1496, Metabolito - 1911, Metabolito - 2395, Metabolito - 3016, Metabolito - 3026 ,

Metabolito - 3073, Metabolito - 3098, Metabolito - 3330, Metabolito - 4274, Metabolito - 5769, Metabolito - 7187, Metabolito - 8506, Metabolito - 9855, teobromina, tiroxina, urato, valina, xantina));

Biomarcadores para distinguir sujetos que tienen EHNA vs sujetos de control no diagnosticados de

5 enfermedad hepática (véanse las Tablas 1, 6B, 10, 11, 12, 13, la Figura 2 (Metabolito -11728, quinurenina, glicocolato, butirilcarnitina, glutamato, gamma-glutamiltirosina, hipurato, Metabolito - 10914, Metabolito - 11422, gamma-tocoferol, Metabolito - 11564, Glutamilvalina, Metabolito - 11205, Metabolito - 11431, urato, Metabolito - 02272, Tirosina, Metabolito - 11231, gamma-glutamilfenilalanina, manosa, Metabolito - 03951, Metabolito -11315, Metabolito - 11529, Metabolito - 4611, 10c-undecenoato, Metabolito - 11432, Metabolito - 4147, Metabolito -11227, Taurocolato, Metabolito - 11380, ácido 3-metil-2-oxobutírico, Alanina, glutamina, isocitrato, isoleucina, leucina, meso-eritritol, Metabolito-10026, Metabolito-10812, Metabolito-1086, Metabolito-1110, Metabolito-1335, Metabolito-1496, Metabolito-2041, Metabolito-2272, Metabolito-2395, Metabolito-3073, Metabolito-3087 , Metabolito-3098, Metabolito-4274, Metabolito-5769, Metabolito-7187, Valina, xantina));

Biomarcadores para distinguir sujetos que tienen esteatohepatitis (EHNA) vs sujetos que tienen esteatosis

15 (ver Tablas 3, 4B, 9, 11, 12, 13, y la Figura 3 (gamma-glutamiltirosina, glutamato, Metabolito - 11728, butirilcarnitina, taurocolato, glutamilvalina, tirosina, Metabolito - 11422, quinurenina, glicocolato, gamma-tocoferol, Metabolito - 11431, creatina, Metabolito - 10914, Metabolito - 11235, hipurato, Metabolito - 11529, Metabolito - 4611, Metabolito - 01911, Metabolito - 11491, glicerofosforilcolina (GPC), urato-, gamma-glutamilfenilalanina-, Metabolito - 11230, 10c-undecenoato, Metabolito - 11315, histidina, Metabolito - 11304, Metabolito - 11432, Metabolito - 11242, alanina, isocitrato, isoleucina, lactato, leucina, manosa, Metabolito -10026, Metabolito - 10812, Metabolito -1496, Metabolito - 1911, Metabolito - 2395, Metabolito - 3016, Metabolito - 3026, Metabolito - 3073, Metabolito - 3098, Metabolito - 3330, Metabolito - 4274, Metabolito - 5769, Metabolito - 7187, Metabolito - 8506 , Metabolito - 9855, teobromina, tiroxina, urato, valina, xantina));

25 Aunque las identidades de algunos de los compuestos biomarcadores no se conocen en este momento, las identidades no son necesarias para la identificación de los biomarcadores en muestras biológicas de sujetos, puesto que los compuestos "sin nombre" han sido suficientemente caracterizados mediante técnicas analíticas como para permitir dicha identificación. La caracterización analítica de todos estos compuestos "sin nombre" se enumera en los ejemplos. Dichos biomarcadores "sin nombre" se designan en la presente memoria usando la nomenclatura "metabolito" seguido de un número de metabolito específico.

30 Se puede utilizar cualquier número de biomarcadores en los métodos descritos en la presente memoria. Es decir, los métodos descritos pueden incluir la determinación del nivel o los niveles de un biomarcador, dos o más biomarcadores, tres o más biomarcadores, cuatro o más biomarcadores, cinco o más biomarcadores, seis o más biomarcadores, siete o más biomarcadores, ocho o más biomarcadores, nueve o más biomarcadores, diez o más biomarcadores, quince o más biomarcadores, etc., incluyendo una combinación de todos los biomarcadores en cada una o todas las Tablas 1, 2, 3, 4B, 5B, 6B, 8 , 9, 11, 12, 13, la Figura 1, la Figura 3, o cualquier fracción o combinación de los mismos. En otro aspecto, el número de biomarcadores para su uso en los métodos descritos incluye los niveles de aproximadamente treinta o menos biomarcadores, veinticinco o menos, veinte o menos, quince o menos, diez o menos, nueve o menos, ocho o menos, siete o menos, seis o menos, cinco o menos biomarcadores. En otro aspecto, el número de biomarcadores para su uso en los métodos descritos incluyen los niveles de uno, dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete, ocho, nueve, diez, once, doce, trece, catorce, quince, veinte, veinticinco, o treinta biomarcadores.

45 Además, los métodos descritos en la presente memoria que utilizan los biomarcadores enumerados en las tablas se pueden utilizar combinados con medidas clínicas de diagnóstico de enfermedades del hígado graso. Las combinaciones con diagnósticos clínicos pueden facilitar los métodos descritos, o confirmar los resultados de los métodos descritos (por ejemplo, facilitar o confirmar el diagnóstico, verificar el progreso o regresión, y/o determinar la predisposición a enfermedades del hígado graso).

II. Diagnóstico de la esteatosis y/o la esteatohepatitis

La identificación de biomarcadores para la esteatosis permite el diagnóstico de (o ayuda en el diagnóstico de) la esteatosis en sujetos que presentan uno o más síntomas de disfunción hepática. Un método para diagnosticar (o ayudar a diagnosticar) si un sujeto tiene esteatosis comprende (1) analizar una muestra biológica de un sujeto para determinar el nivel o los niveles de uno o más biomarcadores de la esteatosis en la muestra y (2) comparar el nivel o los niveles de los uno o más biomarcadores en la muestra con niveles de referencia positivos para esteatosis y/o negativos para esteatosis de los uno o más biomarcadores en el fin de diagnosticar (o ayudar en el diagnóstico de) si el sujeto tiene esteatosis. Los uno o más biomarcadores que se utilizan se seleccionan de las tablas 2, 3, 4B, 5B, 8, 9, 11, 12, 13, la Figura 1, la Figura 3 y sus combinaciones. Cuando dicho método se utiliza para ayudar en el diagnóstico de la esteatosis, los resultados del método se pueden utilizar junto con otros métodos (o los resultados de los mismos) útiles en la determinación clínica de si un sujeto tiene esteatosis.

- 5 En una realización para el diagnóstico de (o para ayudar en el diagnóstico de) la esteatosis, el método comprende (1) analizar una muestra biológica de un sujeto para determinar el nivel o los niveles de uno o más biomarcadores de la esteatosis en la muestra y (2) comparar el nivel o los niveles de los uno o más biomarcadores en la muestra con niveles de referencia positivos para esteatosis y/o negativos para esteatosis de los uno o más biomarcadores para diagnosticar (o ayudar en el diagnóstico de) si el sujeto tiene esteatosis, y los uno o más biomarcadores que se utilizan se seleccionan de las tablas 2, 3, 4B, 5B, 8, 9, 11, 12, 13, la Figura 1, la Figura 3 y sus combinaciones.
- 10 En una realización para el diagnóstico de (o para ayudar en el diagnóstico de) la esteatohepatitis, el método comprende (1) analizar una muestra biológica de un sujeto para determinar el nivel o los niveles de uno o más biomarcadores de la esteatohepatitis en la muestra y (2) comparar el nivel o los niveles de los uno o más biomarcadores en la muestra con niveles de referencia positivos para esteatohepatitis y/o negativos para esteatohepatitis de los uno o más biomarcadores con el fin de diagnosticar (o ayudar en el diagnóstico de) si el sujeto tiene esteatohepatitis, y los uno o más biomarcadores que se utilizan se seleccionan de las Tablas 1, 3, 4B, 6B, 9, 10, 11, 12, 13, la Figura 2, la Figura 3 y sus combinaciones.
- 15 En una realización para el diagnóstico de (o para ayudar en el diagnóstico de) EHNA, el método comprende (1) analizar una muestra biológica de un sujeto para determinar el nivel o los niveles de uno o más biomarcadores de EHNA en la muestra y (2) comparar el nivel o los niveles de los uno o más biomarcadores en la muestra con niveles de referencia positivos para EHNA y/o negativos para EHNA de los uno o más biomarcadores con el fin de diagnosticar (o ayudar en el diagnóstico de) si el sujeto tiene EHNA, y los uno o más biomarcadores que se utilizan se seleccionan de las Tablas 1, 3, 4B, 6B, 9, 10, 11, 12, 13, Figura 2, Figura 3 y sus combinaciones.
- 20 Se puede utilizar cualquier método adecuado para analizar la muestra biológica con el fin de determinar el nivel o los niveles de los uno o más biomarcadores en la muestra. Los métodos adecuados incluyen cromatografía (por ejemplo, HPLC, cromatografía de gases, cromatografía líquida), espectrometría de masas (por ejemplo, MS, MS-MS), reacciones enzimáticas o bioquímicas, química clínica, análisis de inmunoabsorción ligado a enzima (ELISA), unión de anticuerpos, otras técnicas inmunoquímicas, y combinaciones de los mismos. Además, el nivel o los niveles de los uno o más biomarcadores se pueden medir indirectamente, por ejemplo, mediante el uso de un análisis que mide el nivel de un compuesto (o compuestos) que se corresponde con el nivel del biomarcador o los biomarcadores que se desea medir.
- 25 Los niveles de uno o más de los biomarcadores de las Tablas 1, 2, 3, 4B, 5B, 6B, 8, 9, 10, 11, 12, 13, la Figura 1, la Figura 2, la Figura 3 se pueden determinar en los métodos para diagnosticar y en los métodos para ayudar a diagnosticar si un sujeto tiene esteatosis o esteatohepatitis. Por ejemplo, el nivel o los niveles de un biomarcador, dos o más biomarcadores, tres o más biomarcadores, cuatro o más biomarcadores, cinco o más biomarcadores, seis o más biomarcadores, siete o más biomarcadores, ocho o más biomarcadores, nueve o más biomarcadores, diez o más biomarcadores, etc., incluyendo una combinación de todos los biomarcadores de las Tablas 1, 2, 3, 4B, 5B, 6B, 8, 9, 10, 11, 12, 13, la Figura 1, la Figura 2, la Figura 3 o cualquier fracción de los mismos, se pueden determinar y utilizar en dichos métodos. La determinación de los niveles de las combinaciones de biomarcadores puede permitir una mayor sensibilidad y especificidad en el diagnóstico de la esteatosis y ayudar en el diagnóstico de la esteatosis, y puede permitir una mejor diferenciación de la esteatosis de otros trastornos del hígado (por ejemplo, fibrosis, cirrosis, cáncer de hígado, etc.) que pueden tener biomarcadores similares o coincidentes con los de la esteatosis (en comparación con un sujeto que no tiene esteatosis). Por ejemplo, las proporciones de los niveles de ciertos biomarcadores (y compuestos no biomarcadores) en las muestras biológicas pueden permitir una mayor sensibilidad y especificidad en el diagnóstico de la esteatosis y ayudar en el diagnóstico de la esteatosis y pueden permitir una mejor diferenciación de esteatosis de otros trastornos hepáticos que pueden tener biomarcadores similares o coincidentes con los de la esteatosis (en comparación con un sujeto que no tiene esteatosis).
- 30
- 35
- 40
- 45 También se pueden utilizar uno o más biomarcadores que son específicos para diagnosticar la esteatosis o esteatohepatitis (o ayudar a diagnosticar la esteatosis o la esteatohepatitis) en un cierto tipo de muestra (por ejemplo, muestra de tejido de hígado, biopsia de hígado, muestra de orina, o muestra de plasma sanguíneo). Por ejemplo, cuando la muestra biológica es plasma, se pueden utilizar uno o más biomarcadores enumerados en las Tablas 2, 4B, 5B, 8, 11, 12, 13, la Figura 1, la Figura 3 para diagnosticar (o ayudar a diagnosticar) si un sujeto tiene esteatosis.
- 50 Después de que se han determinado el nivel o los niveles de los uno o más biomarcadores en la muestra, se comparan el nivel o los niveles con niveles de referencia positivos para esteatosis y/o negativos para esteatosis (o niveles de referencia positivos para esteatohepatitis y/o negativos para esteatohepatitis) para ayudar en el diagnóstico o para diagnosticar si el sujeto tiene esteatosis (o esteatohepatitis). Los niveles de los uno o más biomarcadores en una muestra que coinciden con los niveles de referencia positivos para esteatosis (por ejemplo, niveles que son los mismos que los niveles de referencia, sustancialmente los mismos que los niveles de referencia, por encima y/o por debajo del mínimo y/o máximo de los niveles de referencia, y/o dentro del intervalo de los niveles de referencia) son indicativos de un diagnóstico de esteatosis en el sujeto. Los niveles de los uno o más biomarcadores en una muestra que coinciden con niveles de referencia negativos para esteatosis (por ejemplo, niveles que son los mismos que los niveles de referencia, sustancialmente los mismos que los niveles de referencia,
- 55

por encima y/o por debajo del mínimo y/o máximo de los niveles de referencia, y/o dentro del intervalo de los niveles de referencia) son indicativos de un diagnóstico de no esteatosis en el sujeto. Además, los niveles de los uno o más biomarcadores que están diferencialmente presentes (especialmente en un nivel que es estadísticamente significativo) en la muestra, en comparación con los niveles de referencia negativos para esteatosis son indicativos de un diagnóstico de esteatosis en el sujeto. Los niveles de los uno o más biomarcadores que están diferencialmente presentes (especialmente en un nivel que es estadísticamente significativo) en la muestra, en comparación con los niveles de referencia positivos para esteatosis son indicativos de un diagnóstico de no esteatosis en el sujeto.

El nivel o los niveles de los uno o más biomarcadores se pueden comparar con los niveles de referencia positivos para esteatosis y/o negativos para esteatosis y/o positivos para esteatohepatitis y/o negativos para esteatohepatitis utilizando diversas técnicas, incluyendo una comparación simple (por ejemplo, una comparación manual) del nivel o los niveles de los uno o más biomarcadores en la muestra biológica con niveles de referencia positivos para esteatosis y/o negativos para esteatosis y/o positivos para esteatohepatitis y/o negativos para esteatohepatitis. El nivel o los niveles de los uno o más biomarcadores en la muestra biológica se pueden comparar también con los niveles de referencia positivos para esteatosis y/o negativos para esteatosis y/o positivos para esteatohepatitis y/o negativos para esteatohepatitis utilizando uno o más análisis estadísticos (por ejemplo, prueba t, prueba T de Welch, prueba de la suma de rangos de Wilcoxon, ANOVA, partición recursiva, bosque aleatorio).

Además, las muestras biológicas se pueden analizar para determinar el nivel o los niveles de uno o más compuestos no biomarcadores. El nivel o los niveles de tales compuestos no biomarcadores también pueden permitir la diferenciación de la esteatosis de otros trastornos del hígado que pueden tener biomarcadores similares o coincidentes con los de la esteatosis y/o la esteatohepatitis (en comparación con un sujeto que no tiene un trastorno del hígado). Por ejemplo, un compuesto no biomarcador conocido presente en muestras biológicas de sujetos que tienen esteatosis y sujetos no tienen esteatosis podría ser controlado para verificar un diagnóstico de esteatosis en comparación con un diagnóstico de otro trastorno del hígado cuando las muestras biológicas de sujetos que tienen el trastorno del hígado no tienen el compuesto no biomarcador.

Los métodos para diagnosticar (o para ayudar a diagnosticar) si un sujeto tiene esteatosis también se pueden llevar a cabo específicamente para diagnosticar (o ayudar a diagnosticar) si un sujeto tiene EHGNA y/o esteatohepatitis (por ejemplo, EHNA). Tales métodos comprenden (1) analizar una muestra biológica de un sujeto para determinar el nivel o los niveles de uno o más biomarcadores de EHGNA (y/o EHNA) en la muestra y (2) comparar el nivel o los niveles de los uno o más biomarcadores en la muestra con niveles de referencia positivos para EHGNA y/o negativos para EHGNA (o niveles de referencia positivos para EHNA y/o negativos para EHNA) con el fin de diagnosticar (o ayudar en el diagnóstico de) si el sujeto tiene EHGNA (o EHNA). Los biomarcadores específicos para EHGNA se enumeran en las Tablas 2, 4B, 5B, 8, 11, 12, 13, la Figura 1, la Figura 3 y biomarcadores específicos para la EHNA se enumeran en las Tablas 1, 4B, 6B, 10,11,12,13, la Figura 2, la Figura 3.

III. Métodos para distinguir EHGNA de EHNA

La identificación de biomarcadores para distinguir EHGNA de EHNA permite distinguir EHGNA y EHNA en pacientes. Un método para distinguir EHGNA de EHNA en un sujeto que tiene esteatosis comprende (1) analizar una muestra biológica de un sujeto para determinar el nivel o los niveles en la muestra de uno o más biomarcadores de EHGNA que la distinguen de EHNA y/o uno o más biomarcadores de EHNA que la distinguen de EHGNA, y (2) comparar el nivel o los niveles de los uno o más biomarcadores en la muestra con niveles de referencia positivos para EHGNA que la distinguen de EHNA y/o niveles de referencia positivos para EHNA que la distinguen de EHGNA de los uno o más biomarcadores para determinar si el sujeto tiene EHGNA o EHNA. Los uno o más biomarcadores que se pueden utilizar incluyen aquellos biomarcadores seleccionados de las Tablas 1, 2, 3, 4B, 5B, 6B, 8, 9, 10, 11, 12, 13, la Figura 1, la Figura 2, la Figura 3 y sus combinaciones .

Se puede utilizar cualquier método adecuado para analizar la muestra biológica con el fin de determinar el nivel o los niveles de los uno o más biomarcadores en la muestra. Los métodos adecuados incluyen cromatografía (por ejemplo, HPLC, cromatografía de gases, cromatografía líquida), espectrometría de masas (por ejemplo, MS, MS-MS), reacciones enzimáticas o bioquímicas, química clínica, análisis de inmunoabsorción ligado a enzima (ELISA), unión de anticuerpos, otras técnicas inmunoquímica, y combinaciones de los mismos. Adicionalmente, el nivel o los niveles de los uno o más biomarcadores se pueden medir indirectamente, por ejemplo, mediante el uso de un análisis que mide el nivel de un compuesto (o compuestos) que se corresponde con el nivel del biomarcador o los biomarcadores que se desea a medir.

Los niveles de uno o más de los biomarcadores de las Tablas 1, 2, 3, 4B, 5B, 6B, 8, 9, 10, 11, 12, 13, la Figura 1, la Figura 2, la Figura 3 se pueden determinar en los métodos para diagnosticar y en los métodos para ayudar a diagnosticar si un sujeto tiene esteatohepatitis. Por ejemplo, el nivel o los niveles de un biomarcador, dos o más biomarcadores, tres o más biomarcadores, cuatro o más biomarcadores, cinco o más biomarcadores, seis o más biomarcadores, siete o más biomarcadores, ocho o más biomarcadores, nueve o más biomarcadores, diez o más biomarcadores, etc., incluyendo una combinación de todos los biomarcadores en las Tablas 1, 2, 3, 4B, 5B, 6B, 8, 9,

10, 11, 12, 13, la Figura 1, la Figura 2, la Figura 3 o cualquier fracción de la misma, se puede determinar y utilizar en dichos métodos. La determinación de los niveles de las combinaciones de los biomarcadores puede permitir una mayor sensibilidad y especificidad para distinguir entre EHGNA y EHNA.

5 También se pueden utilizar uno o más biomarcadores que son específicos para distinguir entre EHGNA y EHNA en un cierto tipo de muestra (por ejemplo, muestra de tejido hepático, muestra de orina, o muestra de plasma sanguíneo). Por ejemplo, cuando la muestra biológica es plasma sanguíneo, se pueden utilizar uno o más biomarcadores enumerados en las Tablas 1, 2, 3, 4B, 5B, 6B, 8, 9, 10, 11, 12, 13, la Figura 1, la Figura 2, la Figura 3.

10 Una vez que se han determinado el nivel o los niveles de los uno o más biomarcadores en la muestra, se comparan el nivel o los niveles con niveles de referencia positivos para EHGNA que distinguen de niveles de referencia negativos para EHNA y/o positivos para EHNA que la distinguen de EHGNA de los uno o más biomarcadores con el fin de determinar si el sujeto tiene EHGNA o EHNA. Los niveles de los uno o más biomarcadores en una muestra que coinciden con los niveles de referencia positivos para EHGNA que la distinguen de EHNA (por ejemplo, niveles que son los mismos que los niveles de referencia, sustancialmente los mismos que los niveles de referencia, por encima y/o por debajo del mínimo y/o máximo de los niveles de referencia, y/o dentro del intervalo de los niveles de referencia) son indicativos de EHGNA en el sujeto. Los niveles de los uno o más biomarcadores en una muestra que coinciden con los niveles de referencia positivos para EHNA que la distinguen de EHGNA (por ejemplo, niveles que son los mismos que los niveles de referencia, sustancialmente los mismos que los niveles de referencia, por encima y/o por debajo del mínimo y/o máximo de los niveles de referencia, y/o dentro del intervalo de los niveles de referencia) son indicativos de EHNA en el sujeto. Si el nivel o los niveles de los uno o más biomarcadores son más similares a los niveles de referencia positivos para EHGNA que la distinguen de EHNA (o menos similares a los niveles de referencia positivos para EHNA), en ese caso los resultados son indicativos de EHGNA en el sujeto. Si el nivel o los niveles de los uno o más biomarcadores son más similares a los niveles de referencia positivos para EHNA que la distinguen de EHGNA (o menos similares a los niveles de referencia positivos para EHGNA), en ese caso los resultados son indicativos de la EHNA en el sujeto.

15 El nivel o los niveles de los uno o más biomarcadores se pueden comparar con niveles de referencia positivos para EHGNA que la distinguen de EHNA y/o niveles de referencia positivos para EHNA que la distinguen de EHGNA utilizando diversas técnicas, incluyendo una comparación simple (por ejemplo, una comparación manual) del nivel o los niveles de los uno o más biomarcadores en la muestra biológica con los niveles de referencia positivos para EHGNA y/o positivo para EHNA. El nivel o los niveles de los uno o más biomarcadores en la muestra biológica también se pueden comparar con los niveles de referencia positivos para EHGNA que la distinguen de EHNA y/o niveles de referencia positivos para EHNA que la distinguen de EHGNA utilizando uno o más análisis estadísticos (por ejemplo, prueba t, prueba T de Welch, prueba de suma de rangos de Wilcoxon, ANOVA, partición recursiva, bosque aleatorio).

20 Además, las muestras biológicas se pueden analizar para determinar el nivel o los niveles de uno o más compuestos no biomarcadores. El nivel o los niveles de tales compuestos no biomarcadores también pueden permitir la diferenciación entre EHGNA y EHNA.

III. Métodos para determinar la predisposición a la esteatohepatitis y/o esteatosis

25 La identificación de biomarcadores para la esteatosis y la esteatohepatitis también permite la determinación de si un sujeto que no tiene síntomas de esteatohepatitis o esteatosis es predispuesto a desarrollar esteatohepatitis o esteatosis. Por ejemplo, un método para determinar si un sujeto que no tiene síntomas de esteatohepatitis está predispuesto a desarrollar esteatohepatitis comprende (1) analizar una muestra biológica de un sujeto para determinar el nivel o los niveles de uno o más biomarcadores enumerados en las Tablas 1, 3, 4B, 6B, 9, 10, 11, 12, 13, la Figura 2, la Figura 3 en la muestra y (2) comparar el nivel o los niveles de los uno o más biomarcadores en la muestra con niveles de referencia positivos para esteatohepatitis y/o negativos para esteatohepatitis de los uno o más biomarcadores, con el fin de determinar si el sujeto está predispuesto a desarrollar esteatohepatitis. Los resultados del método se pueden utilizar junto con otros métodos (o sus resultados) útiles en la determinación clínica de si un sujeto está predispuesto a desarrollar esteatohepatitis.

30 Como se ha descrito anteriormente en relación con los métodos de diagnóstico (o para ayudar en el diagnóstico de) la esteatohepatitis, se puede utilizar cualquier método adecuado para analizar la muestra biológica con el fin de determinar el nivel o los niveles de los uno o más biomarcadores en la muestra.

35 Al igual que con los métodos de diagnóstico (o para ayudar en el diagnóstico de) la esteatohepatitis o la esteatosis descritos anteriormente, el nivel o los niveles de un biomarcador, dos o más biomarcadores, tres o más biomarcadores, cuatro o más biomarcadores, cinco o más biomarcadores, seis o más biomarcadores, siete o más biomarcadores, ocho o más biomarcadores, nueve o más biomarcadores, diez o más biomarcadores, etc., incluyendo una combinación de todos los biomarcadores, por ejemplo, en las Tablas 1, 3, 4B, 6B, 9, 10, 11, 12, 13,

la Figura 2, la Figura 3 o cualquier fracción de la misma, se puede determinar y utilizar en los métodos para determinar si un sujeto que no tiene síntomas de esteatohepatitis está predispuesto a desarrollar esteatohepatitis.

Después de que se han determinado el nivel o los niveles de los uno o más biomarcadores en la muestra, se comparan el nivel o los niveles con, por ejemplo, los niveles de referencia positivos para esteatohepatitis y/o negativos para esteatohepatitis con el fin de pronosticar si el sujeto está predispuesto a desarrollar esteatohepatitis. Los niveles de los uno o más biomarcadores en una muestra que coinciden con los niveles de referencia positivos para esteatohepatitis (por ejemplo, niveles que son los mismos que los niveles de referencia, sustancialmente los mismos que los niveles de referencia, por encima y/o por debajo del mínimo y/o máximo de los niveles de referencia, y/o dentro del intervalo de los niveles de referencia) son indicativos de que el sujeto está predispuesto a desarrollar esteatohepatitis. Los niveles de los uno o más biomarcadores en una muestra que coinciden con los niveles de referencia negativos para esteatohepatitis (por ejemplo, niveles que son los mismos que los niveles de referencia, sustancialmente los mismos que los niveles de referencia, por encima y/o por debajo del mínimo y/o máximo de los niveles de referencia, y/o dentro del intervalo de los niveles de referencia) son indicativos de que el sujeto no está predispuesto a desarrollar esteatohepatitis. Además, los niveles de los uno o más biomarcadores que están diferencialmente presentes (especialmente a un nivel que es estadísticamente significativo) en la muestra, en comparación con niveles de referencia negativos para esteatohepatitis son indicativos de que el sujeto está predispuesto a desarrollar esteatohepatitis. Los niveles de los uno o más biomarcadores que están diferencialmente presentes (especialmente a un nivel que es estadísticamente significativo) en la muestra, en comparación con los niveles de referencia positivos para la esteatohepatitis son indicativos de que el sujeto no está predispuesto a desarrollar esteatohepatitis.

Además, también puede ser posible determinar niveles de referencia específicos para evaluar si un sujeto que no tiene esteatohepatitis está predispuesto o no a desarrollar esteatohepatitis. Por ejemplo, puede ser posible determinar los niveles de referencia de los biomarcadores para evaluar diferentes grados de riesgo (por ejemplo, bajo, medio, alto) en un sujeto para el desarrollo de la esteatohepatitis. Estos niveles de referencia se podrían utilizar para la comparación con los niveles de los uno o más biomarcadores en una muestra biológica de un sujeto.

Al igual que con los métodos descritos anteriormente, el nivel o los niveles de los uno o más biomarcadores pueden ser comparados con los niveles de referencia positivos para esteatohepatitis y/o negativos para esteatohepatitis utilizando diversas técnicas, incluyendo una comparación simple, uno o más análisis estadísticos, y combinaciones de los mismos.

Al igual que con los métodos para diagnosticar (o para ayudar a diagnosticar) si un sujeto tiene esteatohepatitis y/o esteatosis, los métodos para determinar si un sujeto que no tiene síntomas de esteatohepatitis o esteatosis está predispuesto a desarrollar esteatosis o esteatohepatitis pueden comprender adicionalmente el análisis de la muestra biológica para determinar el nivel o los niveles de uno o más compuestos no biomarcadores.

Los métodos para determinar si un sujeto que no tiene síntomas de esteatohepatitis está predispuesto a desarrollar esteatohepatitis también se pueden llevar a cabo específicamente para determinar si un sujeto que no tiene síntomas de esteatohepatitis está predispuesto a desarrollar EHGNA y/o EHNA. Los biomarcadores específicos para EHGNA se enumeran en las Tablas 2, 4B, 5B, 8, 11, 12, 13, la Figura 1, la Figura 3 y los biomarcadores específicos para EHNA se enumeran en las Tablas 1, 4B, 6B, 10, 11, 12, 13, la Figura 2, la Figura 3.

Además, los métodos para determinar si un sujeto que tiene EHGNA es predispuesto a desarrollar EHNA pueden llevarse a cabo utilizando uno o más biomarcadores seleccionados de las Tablas 1, 4B, 6B, 10, 11, 12, 13, la Figura 2, la Figura 3.

IV. Métodos para verificar el progreso/regresión de la esteatosis y/o la esteatohepatitis

La identificación de biomarcadores para la esteatosis y la esteatohepatitis también permite controlar el progreso/regresión de la esteatosis y/o la esteatohepatitis en un sujeto. Por ejemplo, un método para verificar el progreso/regresión de la esteatosis en un sujeto comprende (1) analizar una primera muestra biológica de un sujeto para determinar el nivel o los niveles de uno o más biomarcadores para la esteatosis seleccionados de las Tablas 2, 3, 4B, 6B, 8, 9, 11, 12, 13, la Figura 1, la Figura 3, la primera muestra obtenida del sujeto en un primer momento, (2) analizar una segunda muestra biológica de un sujeto para determinar el nivel o los niveles de los uno o más biomarcadores, la segunda muestra obtenida del sujeto en un segundo momento, y (3) comparar el nivel o los niveles de uno o más biomarcadores en la primera muestra con el nivel o los niveles de los uno o más biomarcadores en la segunda muestra con el fin de verificar el progreso/regresión de la esteatosis en el sujeto. Los resultados del método son indicativos del curso de la esteatosis (es decir, el progreso o la regresión, si hubiera cualquier cambio) en el sujeto.

El cambio (si lo hubiera) en el nivel o los niveles de los uno o más biomarcadores a lo largo del tiempo puede ser indicativo de progreso o regresión de la esteatosis en el sujeto. Con el fin de caracterizar el curso de la esteatosis en el sujeto, se pueden comparar el nivel o los niveles de los uno o más biomarcadores en la primera muestra, el nivel o los niveles de los uno o más biomarcadores en la segunda muestra, y/o los resultados de la comparación de los

5 niveles de los biomarcadores en la primera y segunda muestras con los niveles de referencia positivos para esteatosis, negativos para esteatosis, positivos para EHGNA, negativos para EHGNA, positivos para esteatosis de alto grado, y/o negativos para EHNA como así como niveles de referencia positivos para EHGNA que la distinguen de EHNA y/o niveles de referencia positivos para EHNA que la distinguen de EHGNA. Si las comparaciones indican que el nivel o los niveles de los uno o más biomarcadores se incrementan o disminuyen con el tiempo (por ejemplo, en la segunda muestra en comparación con la primera muestra) para volverse más similares a los niveles de referencia positivos para esteatosis (o menos similares a los niveles de referencia negativos para esteatosis), a los niveles de referencia de EHNA, o, cuando el sujeto tiene inicialmente EHGNA, a los niveles de referencia positivos para EHNA que la distinguen de EHGNA, en ese caso los resultados son indicativos de progreso de la esteatosis. Si las comparaciones indican que el nivel o los niveles de los uno o más biomarcadores se incrementan o disminuyen con el tiempo para volverse más similares a los niveles de referencia negativos para esteatosis (o menos similares a los niveles de referencia positivos para esteatosis), o, cuando el sujeto tiene inicialmente EHNA, a los niveles de referencia EHGNA y/o a los niveles de referencia positivos para EHGNA que la distinguen de EHNA, en ese caso los resultados son indicativos de regresión esteatosis.

15 Al igual que con los otros métodos descritos en la presente memoria, las comparaciones efectuadas en los métodos de verificación del progreso/regresión de la esteatosis en un sujeto se pueden llevar a cabo utilizando diversas técnicas, incluyendo comparaciones simples, uno o más análisis estadísticos, y combinaciones de los mismos.

Los resultados del método se puede usar junto con otros métodos (o los resultados de los mismos) útiles en la verificación clínica del progresión/regresión de la esteatosis en un sujeto.

20 Como se ha descrito anteriormente en relación con los métodos para diagnosticar (o para ayudar a diagnosticar) la esteatosis, se puede utilizar cualquier método adecuado para analizar las muestras biológicas con el fin de determinar el nivel o los niveles de los uno o más biomarcadores en las muestras. Además, el nivel o los niveles de uno o más biomarcadores, incluyendo una combinación de todos los biomarcadores de las Tablas 2, 4B, 5B, 8, 11, 12, 13, la Figura 1, la Figura 3, o cualquier fracción de la misma, se puede determinar y utilizar en los métodos de verificación del progreso/regresión de la esteatosis en un sujeto.

Tales métodos se podrían llevar a cabo para controlar el curso de la esteatosis en sujetos que tienen esteatosis o se podrían utilizar en sujetos que no tienen esteatosis (por ejemplo, sujetos que se sospecha que están predispuestos a desarrollar esteatosis) con el fin de verificar los niveles de predisposición a la esteatosis.

30 Tales métodos se podrían llevar a cabo para controlar el curso de la esteatohepatitis en sujetos que tienen esteatohepatitis o se podrían utilizar en sujetos que no tienen esteatohepatitis (por ejemplo, sujetos que se sospecha que están predispuestos a desarrollar esteatohepatitis) con el fin de verificar los niveles de predisposición a la esteatohepatitis. El nivel o los niveles de uno o más biomarcadores, incluyendo una combinación de todos los biomarcadores de las Tablas 1, 3, 4B, 6B, 9, 10, 11, 12, 13, la Figura 2 y/o la Figura 3, o cualquier fracción de la misma, se pueden determinar y utilizar en los métodos de verificación del progreso/regresión de la esteatohepatitis en un sujeto.

V. Métodos para evaluar la eficacia de las composiciones para el tratamiento de la esteatohepatitis y/o la esteatosis

40 La identificación de biomarcadores para esteatohepatitis y la esteatosis también permite la evaluación de la eficacia de una composición para el tratamiento de la esteatohepatitis y/o la esteatosis, así como la evaluación de la eficacia relativa de dos o más composiciones para el tratamiento de la esteatohepatitis y/o la esteatosis. Tales evaluaciones se pueden utilizar, por ejemplo, en estudios de eficacia así como en la selección de composiciones de partida para el tratamiento de la esteatohepatitis o esteatosis.

45 Por ejemplo, un método para evaluar la eficacia de una composición para el tratamiento de la esteatohepatitis comprende (1) analizar, a partir de un sujeto que tiene esteatohepatitis y tratado actualmente o previamente con una composición, una muestra biológica para determinar el nivel o los niveles de uno o más biomarcadores seleccionados de las Tablas 1, 3, 4B, 6B, 9, 10, 11, 12, 13, la Figura 2 y/o la Figura 3, y (2) comparar el nivel o los niveles de los uno o más biomarcadores en la muestra con (a) el nivel o los niveles de los uno o más biomarcadores en una muestra biológica tomada previamente del sujeto, en donde la muestra biológica tomada previamente se obtuvo del sujeto antes de ser tratada con la composición, (b) niveles de referencia positivos para esteatohepatitis (incluyendo niveles de referencia positivos para EHNA y/o positivos para EHGNA) de los uno o más biomarcadores, (c) niveles de referencia negativas para esteatohepatitis (incluyendo niveles de referencia negativos para EHNA y/o negativos para EHGNA) de los uno o más biomarcadores, (d) niveles de referencia positivos para EHNA que la distinguen de EHGNA, y/o (e) niveles de referencia positivos para EHNA que la distinguen de EHGNA. Los resultados de la comparación son indicativos de la eficacia de la composición para el tratamiento de la esteatohepatitis.

55 Por lo tanto, con el fin de caracterizar la eficacia de la composición para el tratamiento de la esteatohepatitis, el nivel o los niveles de los uno o más biomarcadores en la muestra biológica se comparan con (1) los niveles de referencia positivos para esteatohepatitis, (2) los niveles de referencia negativos para esteatohepatitis, (3) los niveles previos

de los uno o más biomarcadores en el sujeto antes del tratamiento con la composición, (4) los niveles de referencia positivos para EHNA que la distinguen de EHGNA, y/o (5) los niveles de referencia positivos para EHGNA que la distinguen de EHNA.

5 Al comparar el nivel o los niveles de los uno o más biomarcadores en la muestra biológica (a partir de un sujeto que
 10 tiene esteatohepatitis y tratado actualmente o previamente con una composición) con los niveles de referencia
 positivos para esteatohepatitis y/o los niveles de referencia negativos para esteatohepatitis, el nivel o los niveles en
 la muestra que coinciden con los niveles de referencia negativos para esteatohepatitis (por ejemplo, niveles que son
 los mismos que los niveles de referencia, sustancialmente los mismos que los niveles de referencia, por encima y/o
 por debajo del mínimo y/o máximo de los niveles de referencia, y/o dentro del intervalo de los niveles de referencia)
 son indicativos de que la composición tiene eficacia para el tratamiento de la esteatohepatitis. Los niveles de los uno
 o más biomarcadores en la muestra que coinciden con los niveles de referencia positivos para esteatohepatitis (por
 ejemplo, niveles que son los mismos que los niveles de referencia, sustancialmente los mismos que los niveles de
 referencia, por encima y/o por debajo del mínimo y/o máximo de los niveles de referencia, y/o dentro del intervalo de
 los niveles de referencia) son indicativos de que la composición no tiene eficacia para el tratamiento de la
 15 esteatohepatitis. Las comparaciones también pueden indicar grados de eficacia para el tratamiento de la
 esteatohepatitis basándose en el nivel o los niveles de los uno o más biomarcadores.

Al comparar el nivel o los niveles de uno o más biomarcadores en la muestra biológica (de un sujeto que tiene EHNA
 y tratado actualmente o previamente con una composición) los niveles de referencia positivos para EHNA que la
 distinguen de EHGNA y/o los niveles de referencia positivos para EHGNA que la distinguen de EHNA, el nivel o los
 20 niveles en la muestra que coinciden con los niveles de referencia positivos para EHNA que la distinguen de EHGNA
 (por ejemplo, niveles que son los mismos que los niveles de referencia, sustancialmente los mismos que los niveles
 de referencia, por encima y/o por debajo del mínimo y/o máximo de los niveles de referencia, y/o dentro del intervalo
 de los niveles de referencia) son indicativos de que la composición tiene eficacia para el tratamiento de la
 esteatohepatitis. Los niveles de los uno o más biomarcadores en la muestra que coinciden con los niveles de
 referencia positivos para EHNA que la distinguen de EHGNA (por ejemplo, niveles que son los mismos que los
 niveles de referencia, sustancialmente los mismos que los niveles de referencia, por encima y/o por debajo del
 mínimo y/o máximo de los niveles de referencia, y/o dentro del intervalo de los niveles de referencia) son indicativos
 de que la composición no tiene eficacia para el tratamiento de la esteatohepatitis.

30 Cuando el nivel o los niveles de los uno o más biomarcadores en la muestra biológica (de un sujeto que tiene
 esteatohepatitis y tratado actualmente o previamente con una composición) se comparan con el nivel o los niveles
 de los uno o más biomarcadores en una muestra biológica tomada previamente del sujeto antes del tratamiento con
 la composición, cualquier cambio en el nivel o los niveles de los uno o más biomarcadores es indicativo de la eficacia
 de la composición para el tratamiento de la esteatohepatitis. Es decir, si las comparaciones indican que el nivel o los
 niveles de los uno o más biomarcadores han aumentado o disminuido después del tratamiento con la composición
 para volverse más similares a los niveles de referencia negativos para esteatohepatitis (o menos similares a los
 niveles de referencia positivos para esteatohepatitis) o, cuando el sujeto inicialmente tiene EHGNA, el nivel o los
 niveles han aumentado o disminuido para volverse más similares a los niveles de referencia positivos para EHNA
 que la distinguen de EHGNA (o menos similares a los niveles de referencia positivos para EHGNA que la distinguen
 de EHNA), en ese caso, los resultados son indicativos de que la composición tiene eficacia para el tratamiento de la
 esteatohepatitis. Si las comparaciones indican que el nivel o los niveles de los uno o más biomarcadores no han
 aumentado o disminuido después del tratamiento con la composición para volverse más similares a los niveles de
 referencia negativos para esteatohepatitis (o menos similares a los niveles de referencia positivos para
 esteatohepatitis) o, cuando el sujeto tiene inicialmente EHNA, el nivel o los niveles no han aumentado o disminuido
 para ser más similares a los niveles de referencia positivos para EHGNA que la distinguen de EHNA (o menos
 similares a los niveles de referencia positivos para EHNA que la distinguen de EHGNA), en ese caso los resultados
 son indicativos de que la composición no tiene eficacia para el tratamiento de la esteatohepatitis. Las comparaciones
 también pueden indicar grados de eficacia para el tratamiento de la esteatohepatitis basándose en la cantidad de
 cambios observados en el nivel o los niveles de los uno o más biomarcadores después del tratamiento. Con el fin de
 ayudar a caracterizar dicha comparación, los cambios en el nivel o los niveles de los uno o más biomarcadores, el
 nivel o los niveles de los uno o más biomarcadores antes del tratamiento, y/o el nivel o los niveles de los uno o más
 biomarcadores en el sujeto tratado actualmente o previamente con la composición se pueden comparar con los
 niveles de referencia positivos para esteatohepatitis (incluyendo los niveles de referencia de bajo grado y positivos
 para NAHS), niveles de referencia negativos para esteatohepatitis (incluyendo niveles de referencia de bajo grado y
 negativos para EHNA), niveles de referencia positivos para EHGNA que la distinguen de EHNA, y/o niveles de
 referencia positivos para EHNA que la distinguen de EHGNA.

Otro método para evaluar la eficacia de una composición en el tratamiento de la esteatohepatitis comprende (1)
 analizar una primera muestra biológica de un sujeto para determinar el nivel o los niveles de uno o más
 biomarcadores seleccionados de las Tablas 1, 3, 4B, 6B, 9, 10, 11, 12, 13, la Figura 2 y/o la Figura 3, la primera
 muestra obtenida del sujeto en un primer momento, (2) administrar la composición al sujeto, (3) analizar una
 60 segunda muestra biológica de un sujeto para determinar el nivel o los niveles de los uno o más biomarcadores, la
 segunda muestra obtenida del sujeto en un segundo momento después de la administración de la composición, y (4)

comparar el nivel o los niveles de uno o más biomarcadores en la primera muestra con el nivel o los niveles de los uno o más biomarcadores en la segunda muestra con el fin de evaluar la eficacia de la composición para el tratamiento de la esteatohepatitis. Como se ha indicado anteriormente, si la comparación de las muestras indica que el nivel o los niveles de los uno o más biomarcadores han aumentado o disminuido después de la administración de la composición para volverse más similares a los niveles de referencia negativos para esteatohepatitis (o menos similares a los niveles de referencia positivos para esteatohepatitis) o, cuando el sujeto tiene inicialmente EHNA, si el nivel o los niveles han aumentado o disminuido para ser más similares a los niveles de referencia positivos para EHNA que la distinguen de EHGNA (o menos similares a los niveles de referencia positivos para EHNA que la distinguen de EHGNA), en ese caso los resultados son indicativos de la composición que tiene eficacia para el tratamiento de la esteatohepatitis. Si las comparaciones indican que el nivel o los niveles de los uno o más biomarcadores no han aumentado o disminuido después del tratamiento con la composición para volverse más similares a los niveles de referencia negativos para esteatohepatitis (o menos similares a los niveles de referencia positivos para esteatohepatitis) o, cuando el sujeto tiene inicialmente EHNA, el nivel o los niveles no han aumentado o disminuido para volverse más similares a los niveles de referencia positivos para EHGNA que la distinguen de EHNA (o menos similares a los niveles de referencia positivos para EHNA que la distinguen de EHGNA), en ese caso los resultados son indicativos de que la composición no tiene eficacia para el tratamiento de la esteatohepatitis.

La comparación también puede indicar un grado de eficacia para el tratamiento de la esteatohepatitis basado en la cantidad de los cambios observados en el nivel o los niveles de los uno o más biomarcadores después de la administración de la composición como se discutió anteriormente.

Un método para evaluar la eficacia relativa de dos o más composiciones para el tratamiento de la esteatohepatitis comprende (1) analizar, a partir de un primer sujeto que tiene esteatohepatitis y tratado actualmente o previamente con una primera composición, una primera muestra biológica para determinar el nivel o los niveles de uno o más biomarcadores seleccionados de las Tablas 1, 3, 4B, 6B, 9, 10, 11, 12, 13, la Figura 2 y/o la Figura 3, (2) analizar, a partir de un segundo sujeto que tiene esteatohepatitis y tratado actualmente o previamente con una segunda composición, una segunda muestra biológica para determinar el nivel o los niveles de los uno o más biomarcadores, y (3) comparar el nivel o los niveles de uno o más biomarcadores en la primera muestra con el nivel o los niveles de los uno o más biomarcadores en la muestra de segundo con el fin de evaluar la eficacia relativa de la primera y segunda composiciones para el tratamiento de la esteatohepatitis. Los resultados son indicativos de la eficacia relativa de las dos composiciones, y los resultados (o los niveles de los uno o más biomarcadores en la primera muestra y/o el nivel o los niveles de los uno o más biomarcadores en la segunda muestra) se pueden comparar con los niveles de referencia positivos para esteatohepatitis (incluyendo niveles de referencia de bajo grado y positivos para EHNA), negativas niveles de referencia negativos para esteatohepatitis (incluyendo niveles de referencia de bajo grado y negativos para EHNA), niveles de referencia positivos para EHGNA que la distinguen de EHNA, y/o niveles de referencia positivos para EHNA que la distinguen de EHGNA para ayudar a caracterizar la eficacia relativa.

Cada uno de los métodos de evaluación de la eficacia puede llevarse a cabo en uno o más sujetos o uno o más grupos de sujetos (por ejemplo, siendo tratado un primer grupo con una primera composición y siendo tratado un segundo grupo con una segunda composición).

Como con los otros métodos descritos en la presente memoria, las comparaciones efectuadas en los métodos de evaluación de la eficacia (o eficacia relativa) de las composiciones para el tratamiento de la esteatohepatitis y/o esteatosis se pueden llevar a cabo mediante diversas técnicas, incluyendo las comparaciones simples, uno o más análisis estadísticos, y combinaciones de los mismos. Se puede utilizar cualquier método adecuado para analizar las muestras biológicas con el fin de determinar el nivel o los niveles de los uno o más biomarcadores en las muestras. Además, el nivel o los niveles de uno o más biomarcadores, incluyendo una combinación de todos los biomarcadores de las Tablas 1, 3, 4B, 6B, 9, 10, 11, 12, 13, la Figura 2 y/o la Figura 3 o cualquier fracción de la misma, puede determinarse y utilizarse en métodos de evaluación de la eficacia (o eficacia relativa) de las composiciones para el tratamiento de la esteatohepatitis.

Finalmente, los métodos de evaluación de la eficacia (o eficacia relativa) de una o más composiciones para el tratamiento de la esteatohepatitis pueden comprender adicionalmente el análisis de la muestra biológica para determinar el nivel o los niveles de uno o más compuestos no biomarcadores. Los compuestos no biomarcadores se pueden comparar después con los niveles de referencia de compuestos de biomarcadores no para sujetos que tienen (o no tienen) esteatohepatitis.

VI. Métodos de escrutinio de una composición para determinar su actividad en la modulación de biomarcadores asociados con esteatohepatitis y/o esteatosis

La identificación de biomarcadores para esteatohepatitis y esteatosis también permite el escrutinio de composiciones para determinar su actividad en la modulación de biomarcadores asociados con esteatohepatitis y/o esteatosis, que pueden ser útiles en el tratamiento de la esteatohepatitis y/o la esteatosis. Por ejemplo, los métodos de escrutinio de las composiciones útiles para el tratamiento de la esteatohepatitis comprenden analizar composiciones de ensayo

para determinar su actividad en la modulación de los niveles de uno o más biomarcadores de las Tablas 1, 3, 4B, 6B, 9, 10, 11, 12, 13, la Figura 2 y/o la Figura 3. Tales análisis de escrutinio se pueden realizar in vitro y/o in vivo, y pueden estar en cualquier forma conocida en la técnica útil para analizar la modulación de tales biomarcadores en presencia de una composición de ensayo tal como, por ejemplo, análisis de cultivos celulares, análisis de cultivo de
5 órganos, y análisis in vivo (por ejemplo, análisis que implican modelos animales).

En una realización, un método para escrutar una composición para determinar su actividad en la modulación de uno o más biomarcadores de la esteatohepatitis comprende (1) poner en contacto una o más células con una composición, (2) analizar al menos una porción de las una o más células o una muestra biológica asociada con las células para determinar el nivel o los niveles de uno o más biomarcadores de la esteatohepatitis seleccionados de
10 las Tablas 1, 3, 4B, 6B, 9, 10, 11, 12, 13, la Figura 2 y/o la Figura 3; y (3) comparar el nivel o los niveles de los uno o más biomarcadores con niveles patrón predeterminados para los uno o más biomarcadores para determinar si la composición modula el nivel o los niveles de los uno o más biomarcadores. Como se ha comentado anteriormente, las células se pueden poner en contacto con la composición in vitro y/o in vivo. Los niveles patrón predeterminados para los uno o más biomarcadores pueden ser los niveles de los uno o más biomarcadores en las una o más células
15 en ausencia de la composición. Los niveles patrón predeterminados para los uno o más biomarcadores también pueden ser el nivel o los niveles de los uno o más biomarcadores en células de control que no están en contacto con la composición.

Además, los métodos pueden comprender adicionalmente el análisis de al menos una porción de las una o más células o una muestra biológica asociada con las células para determinar el nivel o los niveles de uno o más compuestos no biomarcadores de la esteatohepatitis y/o la esteatosis. Los niveles de los compuestos no biomarcadores se pueden comparar después con niveles patrón predeterminados de los uno o más compuestos no biomarcadores.
20

Se puede utilizar cualquier método adecuado para analizar al menos una porción de las una o más células o una muestra biológica asociada a las células con el fin de determinar el nivel o los niveles de los uno o más biomarcadores (o niveles de compuestos no biomarcadores). Los métodos adecuados incluyen cromatografía (por ejemplo, HPLC, cromatografía de gases, cromatografía líquida), espectrometría de masas (por ejemplo, MS, MS-MS), reacciones enzimáticas o bioquímicas, química clínica, ELISA, unión de anticuerpos, otras técnicas inmunoquímicas, y combinaciones de los mismos. Adicionalmente, el nivel o los niveles de los uno o más biomarcadores (o niveles de compuestos no biomarcadores) se pueden medir indirectamente, por ejemplo, mediante
25 el uso de un análisis que mide el nivel de un compuesto (o compuestos) que se corresponde con el nivel del biomarcador o los biomarcadores (o compuestos no biomarcadores) que se desea medir.
30

VII. Método de identificación de posibles dianas farmacológicas

La identificación de biomarcadores para esteatohepatitis y esteatosis también permite la identificación de posibles dianas farmacológicas para la esteatohepatitis y/o la esteatosis. Por ejemplo, un método para la identificación de una posible diana farmacológica para la esteatohepatitis comprende (1) identificar una o más rutas bioquímicas asociadas con uno o más biomarcadores para la esteatohepatitis seleccionados de las Tablas 1, 3, 4B, 6B, 9, 10, 11, 12, 13, la Figura 2 y/o la Figura 3, y (2) identificar una proteína (por ejemplo, una enzima) que afecta a al menos una de las una o más rutas bioquímicas identificados, siendo la proteína una posible diana farmacológica para la esteatohepatitis.
35

Otro método para la identificación de una posible diana farmacológica para la esteatohepatitis comprende (1) identificar una o más rutas bioquímicas asociadas con uno o más biomarcadores para la esteatohepatitis seleccionados de las Tablas 1, 3, 4B, 6B, 9, 10, 11, 12, 13, la Figura 2 y/o la Figura 3, y uno o más compuestos no biomarcadores de la esteatohepatitis y (2) identificar una proteína que afecta a al menos una de las una o más rutas bioquímicas identificadas, siendo la proteína una posible diana farmacológica para la esteatohepatitis.
40

Se identifican una o más rutas bioquímicas (por ejemplo, ruta biosintética y/o metabólica (catabólica)) que están asociadas con uno o más biomarcadores (o compuestos no biomarcadores). Después de identificar las rutas bioquímicas, se identifican una o más proteínas que afectan a al menos una de las rutas. Preferiblemente, se identifican aquellas proteínas que afectan a más de una de las rutas.
45

Una acumulación de un metabolito (por ejemplo, un intermedio de la ruta) puede indicar la presencia de un "bloqueo" aguas abajo del metabolito y el bloqueo puede dar lugar a un nivel bajo/ausente de un metabolito aguas abajo (por ejemplo, el producto de una ruta biosintética). De una manera similar, la ausencia de un metabolito podría indicar la presencia de un "bloqueo" en la ruta aguas arriba del metabolito resultante de una o varias enzimas inactivas o no funcionales o de la falta de disponibilidad de intermedios bioquímicos que se son sustratos requeridos para producir el producto. Alternativamente, un aumento en el nivel de un metabolito podría indicar una mutación genética que produce una proteína aberrante que da como resultado la producción en exceso y/o acumulación de un metabolito que conduce después a una alteración de otras rutas bioquímicas relacionadas y da como resultado la desregulación del flujo normal a través de la ruta; adicionalmente, la acumulación del metabolito intermedio
50
55

bioquímico puede ser tóxica o puede comprometer la producción de un intermedio necesario para una ruta relacionada. Es posible que la relación entre las rutas sea actualmente desconocida y estos datos podrían revelar tal relación.

- 5 Las proteínas identificadas como posibles dianas farmacológicas se puede utilizar después para identificar composiciones que pueden ser candidatos potenciales para el tratamiento de la esteatohepatitis, incluyendo composiciones para terapia génica.

VIII. Métodos de tratamiento de la esteatohepatitis y/o la esteatosis

- 10 La identificación de biomarcadores para la esteatohepatitis y la esteatosis también permite el tratamiento de la esteatohepatitis y/o la esteatosis. Por ejemplo, con el fin de tratar a un sujeto que tiene esteatohepatitis, se puede administrar al sujeto una cantidad eficaz de uno o más biomarcadores de esteatohepatitis que están reducidos en la esteatohepatitis en comparación con un sujeto sano no tiene esteatohepatitis. Los biomarcadores que se pueden administrar pueden comprender uno o más de los biomarcadores de las Tablas 1, 3, 4B, 6B, 9, 10, 11, 12, 13, la Figura 2, la Figura 3 que disminuyen en la esteatohepatitis. En algunas realizaciones, los biomarcadores que se administran son uno o más biomarcadores enumerados en las Tablas 1, 3, 4B, 6B, 9, 10, 11, 12, 13, la Figura 2, la Figura 3 que disminuyen en la esteatohepatitis y que tienen un valor p inferior a 0,10. En otras realizaciones, los biomarcadores que se administran son uno o más biomarcadores enumerados en las Tablas 1, 3, 4B, 6B, 9, 10, 11, 12, 13, la Figura 2, la Figura 3 que disminuyen en la esteatohepatitis en al menos 5%, en al menos 10%, en al menos 15%, en al menos 20%, en al menos 25%, en al menos 30%, en al menos 35%, en al menos 40%, en al menos 45%, en al menos 50%, en al menos 55%, en al menos 60%, en al menos 65%, en al menos 70%, en al menos 75%, en al menos 80%, en al menos 85%, en al menos 90 %, en al menos 95%, o en 100% (es decir, ausente).

IX. Métodos de uso de los biomarcadores esteatohepatitis y esteatosis para otros trastornos del hígado

- 25 Se cree que algunos de los biomarcadores para la esteatosis y la esteatohepatitis descritos en la presente memoria también pueden ser biomarcadores de trastornos del hígado (por ejemplo, fibrosis hepática, cirrosis, cáncer de hígado, etc.) en general. Por lo tanto, se cree que al menos algunos de los biomarcadores de la esteatosis o de los biomarcadores de la esteatohepatitis se pueden usar en los métodos descritos en la presente memoria para trastornos del hígado en general. Es decir, los métodos descritos en la presente memoria con respecto a la esteatosis y/o la esteatohepatitis también se pueden utilizar para diagnosticar (o ayudar en el diagnóstico de) un trastorno del hígado, métodos de verificación progresión/regresión de un trastorno del hígado, métodos de evaluación de la eficacia de las composiciones para el tratamiento de un trastorno del hígado, métodos de escrutinio de una composición para determinar su actividad en la modulación de biomarcadores asociados con un trastorno del hígado, métodos de identificación de posibles dianas farmacológicas para un trastorno de hígado, y métodos de tratamiento de un trastorno del hígado. Tales métodos se podrían llevar a cabo como se describe en la presente memoria con respecto a la esteatosis.

X. Otros métodos

- 35 También se contemplan otros métodos de uso de los biomarcadores comentados en la presente memoria. Por ejemplo, los métodos descritos en la Patente de los Estados Unidos Núm. 7.005.255 y en la Solicitud de Patente de los Estados Unidos Núm. 10/695,265 se puede llevar a cabo utilizando un perfil de pequeña molécula que comprende uno o más de los biomarcadores descritos en la presente memoria.

- 40 En cualquiera de los métodos enumerados en la presente memoria, los biomarcadores que se utilizan se pueden seleccionar entre los biomarcadores de las Tablas 1, 2, 3, 4B, 5B, 6B, 8, 9, 10, 11, 12, 13, las Figuras 1, 2, y 3, que tienen valores de p de menos de 0,05 y/o aquellos biomarcadores de las Tablas 1, 2, 3, 4B, 5B, 6B, 8, 9, 10, 11, 12, 13, las Figuras 1, 2, y 3, que tiene valores de q de menos de 0,10. Los biomarcadores que se utilizan en cualquiera de los métodos descritos en la presente memoria también se pueden seleccionar entre aquellos biomarcadores de las Tablas 1, 2, 3, 4B, 5B, 6B, 8, 9, 10, 11, 12, 13, las Figuras 1, 2, y 3 que disminuyen en la esteatosis y/o la esteatohepatitis (en comparación con el control) o que disminuyen en remisión (en comparación con el control o esteatosis y/o esteatohepatitis) en al menos 5%, en al menos 10%, en al menos 15%, en al menos 20%, en al menos 25%, en al menos 30%, en al menos 35%, en al menos 40%, en al menos 45%, en al menos 50%, en al menos 55 %, en al menos 60%, en al menos 65%, en al menos 70%, en al menos 75%, en al menos 80%, en al menos 85%, en al menos 90%, en al menos 95%, o en 100% (es decir, ausente), y/o aquellos biomarcadores de las Tablas 1, 2, 3, 4B, 5B, 6B, 8, 9, 10, 11, 12, 13, la Figura 1, la Figura 2, la Figura 3 que aumentan en la esteatosis y/o la esteatohepatitis (en comparación con el control o remisión) o que aumentan en remisión (en comparación con el control o esteatosis o esteatohepatitis) en al menos 5%, en al menos 10%, en al menos 15 %, en al menos 20%, en al menos 25%, en al menos 30%, en al menos 35%, en al menos 40%, en al menos 45%, en al menos 50%, en al menos 55%, en al menos 60%, en al menos 65%, en al menos 70%, en al menos 75%, en al menos 80%, en al menos 85%, en al menos 90%, en al menos 95%, por menos al menos 100%, en al menos 110%, en al menos 120%, en al menos 130%, en al menos 140%, en al menos 150%, o más.

Ejemplos

La invención se explica adicionalmente mediante los siguientes ejemplos ilustrativos que se pretende que no sean limitantes.

I. Métodos generales

A. Identificación de los perfiles metabólicos de la esteatosis y la esteatohepatitis

5 Cada muestra se analizó para determinar la concentración de varios cientos de metabolitos. Se utilizaron técnicas analíticas tales como GC-MS (cromatografía de gases-espectrometría de masas) y LC-MS (cromatografía líquida-espectrometría de masas) para analizar los metabolitos. Se analizaron simultáneamente, y en paralelo, múltiples alícuotas, y, después de un control de calidad apropiado (QC), se combinó la información derivada de cada análisis. Cada muestra se caracterizó de acuerdo con varios miles de características, que en última instancia, ascendieron a
10 varios cientos de especies químicas. Las técnicas utilizadas pudieron identificar nuevos compuestos y químicamente anónimos.

B. Análisis estadístico

15 Los datos se analizaron utilizando pruebas de significación estadística para identificar las moléculas (ya sean metabolitos conocidos, con nombre o metabolitos anónimos) presentes a niveles diferenciales en una población o subpoblación definible (p. ej., biomarcadores para muestras biológicas de esteatosis en comparación con muestras biológicas de control o en comparación con pacientes en remisión de esteatosis) útiles para distinguir entre las poblaciones definibles (p. ej., esteatosis (EHGNA) y su control, esteatohepatitis (EHNA) y su control, EHGNA y EHNA). También se identificaron otras moléculas (ya sean metabolitos conocidos, con nombre o metabolitos anónimos) en la población o subpoblación definible. Para las pruebas de significación, se utilizaron el Análisis de la
20 varianza (ANOVA), el análisis de la covarianza (ANCOVA) y la prueba de los rangos con signo de Wilcoxon para analizar estadísticamente los datos. Para las pruebas de clasificación, se utilizaron el Bosque Aleatorio y la Partición Recursiva para analizar los datos.

C. Identificación de biomarcadores

25 Los diferentes picos identificados en los análisis (p. ej., GC-MS, LC-MS, MS-MS), incluyendo aquellos identificados como estadísticamente significativos, se sometieron a procesos de identificación química basados en espectrometría de masas.

Ejemplo 1

30 Los biomarcadores se descubrieron (1) analizando muestras de plasma sanguíneo de diferentes grupos de sujetos humanos para determinar los niveles de metabolitos en las muestras y después (2) analizando estadísticamente los resultados para determinar aquellos metabolitos que estaban presentes diferencialmente en los dos grupos.

Las muestras de plasma utilizadas para el análisis fueron 25 muestras de control que procedían de sujetos sanos, 11 muestras de pacientes con esteatosis y 24 muestras de pacientes con EHNA. Los sujetos de todos los grupos incluyeron hombres y mujeres. Una vez que se hubieron determinado los niveles de metabolitos, se analizaron los datos utilizando pruebas de significación (ANOVA, ANCOVA, Wilcoxon).

35 Se utilizó ANOVA para identificar las diferencias significativas en los niveles medio de metabolitos entre dos poblaciones (es decir, Esteatosis vs. Control, EHNA vs. Control, Esteatosis vs. EHNA).

Biomarcadores:

40 Como se enumera más abajo en las Tablas 1, 2 y 3, se descubrieron biomarcadores que estaban presentes diferencialmente entre las muestras de plasma de pacientes con esteatosis y sujetos de Control, biomarcadores que se descubrió que estaban presentes diferencialmente entre las muestras de plasma de pacientes con EHNA y de sujetos de Control y biomarcadores que se descubrió que estaban presentes diferencialmente entre las muestras de plasma de esteatohepatitis (EHNA) y muestras de plasma de sujetos con esteatosis.

45 Las Tablas 1, 2 y 3 incluyen, para cada biomarcador enumerado, el valor p y el valor q determinados en el análisis estadístico de los datos relativos a los biomarcadores en el nivel medio de esteatosis en comparación con el nivel medio de control, el nivel medio de EHNA en comparación con el nivel medio de control, y el nivel medio de esteatohepatitis (EHNA) en comparación con el nivel medio de esteatosis. Biblioteca indica la biblioteca química que se utilizó para identificar los compuestos. El número 50 hace referencia a la biblioteca GC y los números 61, 200 y 201 hacen referencia a la biblioteca LC. ID Comp hace referencia al número de identificación para el compuesto en la base de datos interna de compuestos químicos de los autores de la presente invención. Los datos se presentan
50 como un cambio de porcentaje basado en la razón de las medias e indica los biomarcadores que aumentan o disminuyen en EHNA con respecto al control (Tabla 1), en la esteatosis con respecto al control (Tabla 2) y/o en EHNA con respecto a la esteatosis (Tabla 3).

ES 2 402 142 T3

Tabla 1. Biomarcadores de sujetos con esteatohepatitis (EHNA) en comparación con sujetos de Control

ID	Biomarcador	Biblioteca	valor p	valor q	% Cambio
32868	glicocolato*	201	8,56E-06	0,0005	331%
12751	Metabolito-3073	50	1,36E-07	1,08E-05	129%
32322	glutamato	50	1,52E-07	3,11E-05	137%
1113	isocitrato	61	3,94E-07	0,000021	85%
1125	isoleucina	50	6,7E-07	2,27E-05	52%
18706	Metabolito-5769	61	7,12E-07	2,27E-05	64%
33073	Metabolito-11728	200	1,36E-06	0,0001	-57%
60	leucina	50	3,12E-06	0,0001	11%
16511	Metabolito-4274	50	3,22E-06	0,0001	61%
32393	glutamilvalina	200	8,94E-06	0,0005	33%
1126	alanina	50	0,000011	0,0002	40%
1299	tirosina	61	1,77E-05	0,0003	30%
24285	Metabolito-10026	61	2,22E-05	0,0003	52%
2734	gamma-glutamiltirosina	200	2,23E-05	0,0009	29%
15140	quinurenina	61	2,96E-05	0,0004	33%
31489	Metabolito-10914	50	4,45E-05	0,0014	-45%
1647	glutamina	50	0,0001	0,0007	37%
8509	Metabolito-2041	61	0,0001	0,0008	34%
12780	Metabolito-3098	50	0,0001	0,0007	40%
17068	Metabolito-4627	61	0,0001	0,0009	250%
20267	Metabolito-7187	61	0,0001	0,001	85%
32701	urato-	200	0,0001	0,0023	22%
33362	gamma-glutamilfenilalanina-	200	0,0001	0,0023	29%
33420	gamma-tocoferol-	50	0,0001	0,0023	87%

ES 2 402 142 T3

ID	Biomarcador	Biblioteca	valor p	valor q	% Cambio
12774	Metabolito-3094	50	0,0001	0,0023	52%
16865	Metabolito-4522	50	0,0001	0,0011	30%
20699	eritritol	50	0,0001	0,0007	36%
30821	Metabolito-10812	50	0,0001	0,0007	21%
2761	tiroxina	61	0,0002	0,0013	46%
6847	Metabolito-1496	61	0,0002	0,0014	50%
13600	Metabolito-3330	61	0,0002	0,0014	362%
18882	Isobar-47-incluye-ácido tauroquenodesoxicólico-y-ácido taurodesoxicólico	61	0,0002	0,0014	268%
32497	10c-undecenoato	201	0,0002	0,003	-9%
32675	Metabolito-03951	200	0,0002	0,003	25%
32881	Metabolito-11564	201	0,0002	0,003	33%
584	manosa	50	0,0002	0,0012	29%
1336	palmitato (16:0)	50	0,0002	0,0012	10%
16650	Metabolito-4360	50	0,0002	0,0012	213%
5628	Metabolito-1086	61	0,0003	0,0016	105%
24233	Metabolito-9855	61	0,0003	0,0017	146%
18497	taurocolato	201	0,0003	0,0042	303%
22570	Metabolito-9033	50	0,0003	0,0017	1%
5687	Metabolito-1110	61	0,0004	0,0021	-71%
59	histidina	201	0,0004	0,0042	-14%
32863	Metabolito-11546	201	0,0004	0,0042	223%
33133	Metabolito-11788	200	0,0004	0,0042	20%
64	fenilalanina	61	0,0004	0,002	13%
31595	Metabolito-10951	61	0,0005	0,0022	60%

ES 2 402 142 T3

ID	Biomarcador	Biblioteca	valor p	valor q	% Cambio
12783	Metabolito-3101	50	0,0005	0,0042	61%
15990	glicerofosforilcolina (GPC)	200	0,0005	0,0042	-28%
17028	Metabolito-4611	50	0,0005	0,0046	35%
32632	Metabolito-11315	200	0,0005	0,0042	-32%
12767	Metabolito-3087	50	0,0006	0,0025	46%
12791	Metabolito-3109	50	0,0006	0,0025	-28%
32564	Metabolito-11247	201	0,0006	0,0048	-67%
32808	Metabolito-11491	201	0,0006	0,0048	130%
527	lactato	50	0,0006	0,0025	26%
21047	3-metil-2-oxobutirato	61	0,0006	0,0025	10%
7933	Metabolito-1911	61	0,0007	0,0027	112%
31510	Metabolito-10932	61	0,0007	0,0028	34%
32735	Metabolito-01911	200	0,0007	0,0052	99%
1358	estearato (18:0)	50	0,0008	0,0029	-1%
3147	xantina	61	0,0009	0,0031	91%
27801	Metabolito-10589	61	0,0009	0,0031	64%
1494	5-oxoprolina	50	0,0009	0,0031	0%
32552	Metabolito-11235	201	0,001	0,0065	90%
32739	Metabolito-11422	201	0,001	0,0066	31%
599	piruvato	50	0,001	0,0065	44%
25602	Metabolito-10432	50	0,001	0,0065	73%
10551	Metabolito-2347	61	0,0011	0,0036	214%
16016	Metabolito-3994	61	0,0011	0,0037	-45%
32846	Metabolito-11529	201	0,0011	0,0071	151%
13296	Metabolito-3230	61	0,0013	0,004	25%

ES 2 402 142 T3

ID	Biomarcador	Biblioteca	valor p	valor q	% Cambio
32519	Metabolito-11205	200	0,0013	0,0077	-28%
32549	Metabolito-02269	201	0,0014	0,0077	-67%
32550	Metabolito-02272	201	0,0014	0,0077	-28%
8210	Metabolito-1981	61	0,0015	0,0048	-41%
15753	hipurato	201	0,0016	0,0085	-32%
32656	Metabolito-11339	201	0,0017	0,0087	-10%
13214	Metabolito-3183	61	0,0018	0,0055	30%
32544	Metabolito-11227	201	0,0019	0,0096	13%
10286	Metabolito-2272	61	0,002	0,006	-26%
22803	Isobar-66-incluye-ácido glicoquenodesoxicólico-ácido glicodesoxicólico	61	0,002	0,006	195%
10245	Metabolito-2269-	61	0,0021	0,006	-62%
32548	Metabolito-11231	201	0,0022	0,0108	82%
32559	Metabolito-11242	201	0,0022	0,0108	60%
1110	araquidonato-20-4-n-6-	50	0,0023	0,0064	11%
32637	Metabolito-11320	201	0,0024	0,0115	-27%
10715	Metabolito-2395	61	0,0025	0,0068	107%
32813	Metabolito-11496	201	0,0027	0,0122	-18%
32412	butirilcarnitina	200	0,0029	0,0129	27%
10672	Metabolito-2390	61	0,0031	0,0084	35%
15529	Metabolito-3951	61	0,0034	0,009	27%
16308	Metabolito-4147	50	0,0034	0,015	43%
32641	Metabolito-11324	201	0,0037	0,0159	-25%
32786	Metabolito-11469	200	0,0039	0,0163	-68%
32346	glicoquenodesoxicolato	201	0,004	0,0165	102%

ES 2 402 142 T3

ID	Biomarcador	Biblioteca	valor p	valor q	% Cambio
20488	glucosa	50	0,004	0,0105	18%
607	urocanato	200	0,0041	0,0165	-20%
7941	Metabolito-1914	61	0,0043	0,0112	-69%
32748	Metabolito-11431	201	0,0045	0,0179	73%
21421	Metabolito-8214	50	0,0051	0,013	30%
15122	glicerol	50	0,0053	0,0131	18%
15996	aspartato	50	0,0055	0,021	40%
18657	Metabolito-5726	61	0,0057	0,0137	65%
32910	Metabolito-11593	201	0,0057	0,021	23%
33131	Metabolito-11786	200	0,0057	0,021	-34%
17627	Metabolito-4986	50	0,0057	0,0137	-26%
22600	Metabolito-9043	50	0,0057	0,0137	28%
30728	Metabolito-10797	61	0,0064	0,015	72%
32547	Metabolito-11230	201	0,0065	0,0232	70%
32854	Metabolito-11537	200	0,0066	0,0232	-47%
32752	Metabolito-11435	201	0,0067	0,0233	68%
12644	Metabolito-3016	50	0,0072	0,0164	14%
18118	Metabolito-5346	50	0,0072	0,0164	31%
27710	N-acetilglicina	50	0,0076	0,017	-32%
32749	Metabolito-11432	201	0,0079	0,027	71 %
18291	ácido 3-4-5-trimetoxicinámico	61	0,008	0,0178	-64%
19462	Metabolito-6446	50	0,0083	0,0181	24%
3141	Betaína	200	0,0084	0,0283	-16%
10414	Metabolito-2291	61	0,0086	0,0186	-79%
33386	Metabolito-12035	50	0,0086	0,0284	42%

ES 2 402 142 T3

ID	Biomarcador	Biblioteca	valor p	valor q	% Cambio
16496	Metabolito-4251	50	0,0087	0,0186	36%
1769	Cortisona	201	0,0089	0,0287	-22%
15500	carnitina	200	0,009	0,0287	10%
18369	gamma-glutamil leucina	200	0,0093	0,0294	19%
32848	Metabolito-11531	201	0,0095	0,0296	78%
16518	Metabolito-4276	50	0,0098	0,0205	79%
32545	Metabolito-11228	201	0,0099	0,0303	79%
19323	docosahexaenoato-DHA-	50	0,0101	0,0209	-27%
19490	Metabolito-6488	50	0,0102	0,0308	54%
32684	Metabolito-11367	201	0,0105	0,0313	-37%
27738	treonato	50	0,0106	0,0216	-25%
1301	lisina	50	0,0107	0,0216	12%
33242	Metabolito-11897	201	0,011	0,0318	61%
9905	Metabolito-2231	61	0,0112	0,0223	17%
27288	Metabolito-10517	50	0,0114	0,0325	39%
1431	p-hidroxifenil lactato-HPLA-	50	0,0115	0,0226	34%
25522	Metabolito-10407	50	0,0116	0,0226	25%
32515	valina*	200	0,0117	0,0327	10%
22154	bradiquinina	200	0,0118	0,0327	1226%
32751	Metabolito-11434	201	0,0125	0,0341	33%
10247	Metabolito-2270	61	0,0127	0,0244	-68%
19397	Metabolito-6326	50	0,0132	0,0251	24%
15958	fenilacetato	201	0,0134	0,0362	-23%
15506	colina	61	0,0138	0,026	-3%
10737	Isobar-1-incluye-manosa-fructosa-glucosa-galactosa-alfa-L-sorbopiranosal-Inositol-D-alosa-D-altrosa-D-psiconal-L-gulosa-alo-	61	0,014	0,026	9%

ES 2 402 142 T3

ID	Biomarcador	Biblioteca	valor p	valor q	% Cambio
	inositol				
587	gluconato	50	0,0142	0,0261	22%
33154	Metabolito-11809	200	0,0145	0,0387	-18%
12782	Metabolito-3100	50	0,0152	0,0276	64%
33227	Metabolito-11882	201	0,0154	0,0406	-41%
31787	ácido 3-carboxil-4-metil-5-propil-2-furanpropanoico	201	0,017	0,0436	-43%
32197	3-(4-hidroxifenil)lactato	201	0,0178	0,0449	25%
9130	Metabolito-2139	61	0,0198	0,0355	26%
33087	péptido-RPPGFSPF	200	0,0212	0,0516	818%
32682	Metabolito-11365	201	0,0216	0,0521	-17%
32746	Metabolito-11429	201	0,0221	0,0526	18%
16337	Metabolito-4167	61	0,0222	0,0394	32%
5689	Metabolito-1111	61	0,0225	0,0395	66%
27727	glutaciona, oxidada (GSSG)	200	0,0228	0,0536	-69%
11923	Metabolito-2821	61	0,025	0,0432	21%
14837	Metabolito-3707	61	0,0251	0,0432	-39%
13142	Metabolito-3165	61	0,0263	0,0446	14%
32769	Metabolito-11452	201	0,0267	0,0622	51%
606	uridina	61	0,0274	0,0461	-8%
18591	Metabolito-5646	61	0,0278	0,0463	-34%
10087	Metabolito-2249	61	0,029	0,0477	34%
32551	Metabolito-11234	201	0,0302	0,069	26%
33228	Metabolito-11883	200	0,0303	0,069	-24%
12656	Metabolito-3025	50	0,0308	0,0502	13%
22261	Isobar-60-incluye-ácido s-2-hidroxi-butírico-ácido 2-hidroxiisobutírico	61	0,0312	0,0502	55%

ES 2 402 142 T3

ID	Biomarcador	Biblioteca	valor p	valor q	% Cambio
32405	3-indolpropionato	200	0,0313	0,0704	-36%
10156	Metabolito-2259	61	0,0314	0,0502	73%
7650	Metabolito-1834	61	0,0328	0,0518	47%
32741	Metabolito-11424	200	0,0329	0,0732	15%
32757	Metabolito-11440	201	0,0339	0,074	39%
33012	Metabolito-11674	200	0,0339	0,074	13%
12658	Metabolito-3026	50	0,0343	0,0537	15%
32110	Metabolito-11086	50	0,0344	0,0742	-14%
1284	treonina	50	0,0352	0,0546	-7%
32648	Metabolito-11331	201	0,0356	0,0758	-4%
32517	Metabolito-11203	200	0,0359	0,0758	-17%
10092	Metabolito-2250	61	0,0363	0,0557	55%
63	colesterol	50	0,0373	0,0561	12%
1507	palmitoleato	50	0,0376	0,0561	28%
12768	Metabolito-3088	50	0,0376	0,0561	-18%
32578	Metabolito-11261	200	0,0389	0,0806	26%
8796	Metabolito-2074	61	0,0391	0,0578	90%
33140	Metabolito-11795	200	0,04	0,082	24%
21127	1-palmitoilglicerol-1-monopalmitina-	50	0,0424	0,0621	13%
27256	Metabolito-10500	50	0,0432	0,0871	15%
13024	Metabolito-3139	61	0,0433	0,0628	33%
32599	Metabolito-11282	201	0,0434	0,0871	39%
30633	Metabolito-10785	61	0,044	0,0633	-22%
9491	Metabolito-2185	61	0,0445	0,0634	25%
32880	Metabolito-11563	201	0,0449	0,0893	-16%

ES 2 402 142 T3

ID	Biomarcador	Biblioteca	valor p	valor q	% Cambio
594	nicotinamida	61	0,045	0,0636	-13%
12663	Metabolito-3030	50	0,0457	0,0638	-11%
30281	Metabolito-10743	50	0,047	0,0644	-17%
17390	Metabolito-4806	50	0,0478	0,0644	21%
12790	Metabolito-3108	50	0,048	0,0946	24%
19370	Metabolito-6268	50	0,048	0,0644	4%
6413	Metabolito-1342	61	0,0481	0,0644	-13%
18015	Metabolito-3113	61	0,0487	0,0644	-15%
17033	Metabolito-4613	61	0,049	0,0644	53%
12645	Metabolito-3017	50	0,0499	0,0644	-13%
17304	Metabolito-4759	61	0,0502	0,0644	26%
22895	Metabolito-9299	50	0,0503	0,0644	-9%
12647	Metabolito-3019	50	0,0513	0,0646	12%
16045	Metabolito-4006	50	0,0513	0,0646	26%
24077	Metabolito-9727	50	0,0519	0,0647	19%
27275	Metabolito-10507	50	0,0527	0,0653	-11%
32315	serina	50	0,0532	0,1028	-15%
31401	Metabolito-10892	50	0,0543	0,1029	36%
32452	propionilcarnitina	200	0,055	0,1029	18%
21631	Metabolito-8403	50	0,0552	0,1029	19%
32348	2-aminobutirato	200	0,0561	0,1036	-13%
16019	Metabolito-3995	61	0,0584	0,0716	-24%
32776	Metabolito-11459	200	0,0584	0,1065	19%
10629	Metabolito-2386	61	0,0587	0,0716	26%
1572	Glicerato	50	0,0588	0,1065	-16%

ES 2 402 142 T3

ID	Biomarcador	Biblioteca	valor p	valor q	% Cambio
12035	pelargonato-9-0-	50	0,0592	0,0716	-1%
31529	Metabolito-10941	61	0,0597	0,0717	18%
32762	Metabolito-11445	201	0,06	0,1078	-55%
32691	Metabolito-11374	200	0,0607	0,108	19%
528	alfa-ceto-glutarato	61	0,0625	0,0744	28%
32792	Metabolito-11475	201	0,0631	0,1115	54%
32572	Metabolito-11255	200	0,0644	0,112	-51%
6398	Metabolito-1335	61	0,0645	0,0763	41%
27718	creatina	200	0,0652	0,112	17%
16666	Metabolito-4365	50	0,0656	0,112	-22%
18335	quinato	50	0,0656	0,112	-52%
12666	Metabolito-3033	50	0,0683	0,08	-11%
1366	trans-4-hidroxiprolina	50	0,0699	0,0809	35%
32385	Metabolito-11180	50	0,0702	0,1172	-10%
18477	glicodesoxicolato	201	0,0704	0,1172	247%
10501	Metabolito-2321	61	0,0709	0,0815	-25%
32328	hexanoilcarnitina	200	0,0713	0,1177	17%
22133	DL-hexanoil-carnitina	61	0,0719	0,082	28%
32596	Metabolito-02250	200	0,0722	0,1178	36%
32740	Metabolito-11423	201	0,0725	0,1178	13%
12785	Metabolito-3103	50	0,0743	0,1195	42%
32697	Metabolito-11380	200	0,0747	0,1195	13%
13557	Metabolito-3323	61	0,0779	0,0883	71%
32761	Metabolito-11444	201	0,0805	0,1278	31%
32952	Metabolito-02277	201	0,0819	0,1286	-75%

ES 2 402 142 T3

ID	Biomarcador	Biblioteca	valor p	valor q	% Cambio
32945	Metabolito-11628	201	0,0822	0,1286	38%
32338	glicina	50	0,084	0,1292	-15%
1712	hidrocortisona	201	0,0854	0,1292	-19%
21418	Isobar-56-incluye-ácido DL-pipecólico-ácido 1-amino-1-ciclopentanocarboxílico	61	0,0856	0,0958	-24%
1105	linoleato	50	0,0858	0,0958	11%
32638	Metabolito-11321	201	0,0867	0,1296	-12%
12919	Metabolito-3130	61	0,0889	0,0978	67%
33203	Metabolito-11858	201	0,0893	0,1321	-63%
33366	Metabolito-12020	200	0,0896	0,1321	-27%
22842	colato	201	0,0996	0,144	125%
32814	Metabolito-11497	201	0,1001	0,144	-7%
32743	bradiquinina, forma hidroxiprolina-	200	0,1007	0,144	158%
32671	Metabolito-11354	200	0,1009	0,144	-13%
25459	Metabolito-10395	50	0,1012	0,144	-14%
12067	undecanoato	201	0,1035	0,1452	-5%
18868	Metabolito-5847	50	0,1035	0,1452	70%
21762	Metabolito-8506	61	0,1759	0,1569	-16%

Tabla 2. Biomarcadores de sujetos con Esteatosis (EHGNA) en comparación con sujetos de Control.

ID	Biomarcador	Biblioteca	valor p	valor q	% Cambio
18706	Metabolito-5769	61	2,09E-06	0,0004	80%
12644	Metabolito-3016	50	2,08E-05	0,0021	30%
12751	Metabolito-3073	50	0,0001	0,0043	102%
24285	Metabolito-10026	61	0,0001	0,0031	64%
1125	isoleucina	50	0,0002	0,0076	48%

ES 2 402 142 T3

ID	Biomarcador	Biblioteca	valor p	valor q	% Cambio
18882	Isobar-47-incluye-ácido tauroquenedesoxicólico-y-ácido taurodesoxicólico	61	0,0003	0,0076	309%
18476	glicocolato	61	0,0004	0,0092	248%
32322	glutamato	50	0,0005	0,0384	-91%
32497	10c-undecenoato	201	0,0005	0,0384	11%
31489	Metabolito-10914	50	0,0006	0,0384	47%
33073	Metabolito-11728	200	0,0006	0,0384	53%
12658	Metabolito-3026	50	0,0007	0,0136	30%
33386	Metabolito-12035	50	0,0007	0,0384	-80%
584	manosa	50	0,001	0,0177	-25%
1299	tirosina	200	0,0011	0,0499	-27%
17068	Metabolito-4627	61	0,0012	0,0203	263%
12780	Metabolito-3098	50	0,0015	0,0208	34%
60	leucina	50	0,0015	0,0208	-13%
18118	Metabolito-5346	50	0,0016	0,0208	42%
32393	glutamilvalina	200	0,0016	0,0577	-28%
2734	gamma-glutamiltirosina	200	0,0018	0,0577	-24%
11923	Metabolito-2821	61	0,0019	0,0227	38%
27801	Metabolito-10589	61	0,002	0,0231	80%
32846	Metabolito-11529	201	0,002	0,0577	-172%
32701	urato-	200	0,0021	0,0577	-23%
10672	Metabolito-2390	61	0,0023	0,0245	57%
1649	valina	50	0,0024	0,0247	37%
32749	Metabolito-11432	201	0,003	0,0722	-106%
13142	Metabolito-3165	61	0,0031	0,029	25%
7650	Metabolito-1834	61	0,0035	0,029	144%

ES 2 402 142 T3

ID	Biomarcador	Biblioteca	valor p	valor q	% Cambio
10715	Metabolito-2395	61	0,0035	0,029	661%
10551	Metabolito-2347	61	0,0036	0,029	154%
22133	DL-hexanoil-carnitina	61	0,0036	0,029	317%
59	histidina	201	0,0036	0,0804	14%
16337	Metabolito-4167	61	0,0038	0,029	66%
22803	Isobar-66-incluye-ácido glicoquenodesoxicólico-ácido glicodesoxicólico	61	0,0039	0,029	194%
10737	Isobar-1-incluye-manosa-fructosa-glucosa-galactosa-alfa-L-sorbopiranososa-Inositol-D-alosa-D-altrosa-D-psicono-L-gulosa-alo-inositol	61	0,004	0,029	13%
25602	Metabolito-10432	50	0,0044	0,0867	-62%
12770	Metabolito-3090	50	0,0045	0,0867	-67%
9491	Metabolito-2185	61	0,0048	0,0338	50%
606	uridina	201	0,0049	0,0882	22%
12656	Metabolito-3025	50	0,0052	0,0354	22%
32776	Metabolito-11459	200	0,006	0,0975	-40%
21047	ácido 3-metil-2-oxobutírico	61	0,0062	0,0409	20%
32748	Metabolito-11431	201	0,0062	0,0975	-82%
32641	Metabolito-11324	201	0,0065	0,0975	29%
18369	gamma-glutamil leucina	61	0,0065	0,0414	-18%
22600	Metabolito-9043	50	0,0068	0,0414	-51%
1126	alanina	50	0,0071	0,0414	26%
32412	butirilcarnitina	200	0,0073	0,1038	-38%
16511	Metabolito-4274	50	0,0089	0,0489	39%
17304	Metabolito-4759	61	0,0094	0,0503	48%
17028	Metabolito-4611	50	0,0095	0,1279	-31%

ES 2 402 142 T3

ID	Biomarcador	Biblioteca	valor p	valor q	% Cambio
32548	Metabolito-11231	201	0,0102	0,1281	-75%
13214	Metabolito-3183	61	0,0109	0,0524	28%
30821	Metabolito-10812	50	0,0112	0,0524	-20%
16016	Metabolito-3994	61	0,0113	0,0524	-45%
21762	Metabolito-8506	61	0,0118	0,0536	50%
33362	gamma-glutamilfenilalanina-	200	0,0122	0,1281	-23%
9130	Metabolito-2139	61	0,0126	0,0557	40%
13600	Metabolito-3330	61	0,013	0,0557	139%
31401	Metabolito-10892	50	0,0132	0,1281	-64%
32552	Metabolito-11235	201	0,0134	0,1281	-53%
64	fenilalanina	61	0,0134	0,0557	-9%
32564	Metabolito-11247	201	0,0135	0,1281	62%
19490	Metabolito-6488	50	0,0139	0,1281	-47%
32578	Metabolito-11261	200	0,0144	0,1281	-54%
16308	Metabolito-4147	50	0,0145	0,1281	-48%
32754	Metabolito-11437	201	0,0148	0,1281	50%
32547	Metabolito-11230	201	0,0151	0,1281	-83%
32808	Metabolito-11491	201	0,0154	0,1281	-86%
12783	Metabolito-3101	50	0,0158	0,1281	-39%
1769	cortisona	201	0,0162	0,1281	28%
32945	Metabolito-11628	201	0,0179	0,1339	-68%
2761	tiroxina	61	0,018	0,0734	31%
12647	Metabolito-3019	50	0,0184	0,0734	17%
12763	Metabolito-3083	50	0,0186	0,1339	-36%
32881	Metabolito-11564	201	0,0186	0,1339	-26%

ES 2 402 142 T3

ID	Biomarcador	Biblioteca	valor p	valor q	% Cambio
15500	carnitina	200	0,0189	0,1339	-11%
16865	Metabolito-4522	50	0,0192	0,075	22%
1494	5-oxoprolina	50	0,0197	0,075	20%
30805	Metabolito-10810	50	0,0198	0,1349	-75%
32753	Metabolito-09789	201	0,0201	0,1349	51%
1642	caprato-10-0-	201	0,0219	0,1425	7%
32854	Metabolito-11537	200	0,0223	0,1425	46%
32863	Metabolito-11546	201	0,0257	0,1608	-116%
9905	Metabolito-2231	61	0,0262	0,0921	18%
12790	Metabolito-3108	50	0,0276	0,1669	-26%
527	lactato	50	0,0276	0,0952	-20%
32926	Metabolito-11609	201	0,028	0,1669	-44%
8509	Metabolito-2041	61	0,0298	0,0996	22%
8210	Metabolito-1981	61	0,0309	0,1016	-35%
32519	Metabolito-11205	200	0,0312	0,1764	22%
32813	Metabolito-11496	201	0,0347	0,1875	16%
32698	Metabolito-11381_200	200	0,036	0,1875	-22%
32631	Metabolito-11314	200	0,0365	0,1875	-11%
32517	Metabolito-11203	200	0,037	0,1875	26%
32807	Metabolito-11490	201	0,04	0,1972	-125%
18497	taurocolato	201	0,0404	0,1972	-115%
15140	L-quinurenina	61	0,0407	0,1275	24%
12782	Metabolito-3100	50	0,0422	0,1978	-49%
27727	glutaciona, oxidada (GSSG)	200	0,0426	0,1978	72%
32621	Metabolito-11304	200	0,0427	0,1978	-43%

ES 2 402 142 T3

ID	Biomarcador	Biblioteca	valor p	valor q	% Cambio
13557	Metabolito-3323	61	0,0447	0,135	68%
31595	Metabolito-10951	61	0,0451	0,135	27%
20699	eritritol	50	0,0452	0,2057	-23%
32878	Metabolito-11561	201	0,0477	0,2137	-32%
1113	isocitrato	61	0,0497	0,144	34%
32910	Metabolito-11593	201	0,0507	0,2233	-20%
17390	Metabolito-4806	50	0,0519	0,1462	27%
32752	Metabolito-11435	201	0,0533	0,2263	-41%
1647	glutamina	50	0,0534	0,147	21%
33242	Metabolito-11897	201	0,0544	0,2263	-38%
32452	propionilcarnitina	200	0,0545	0,2263	-27%
32978	Metabolito-11656	200	0,0547	0,2263	6%
27710	N-acetilglicina	50	0,0581	0,155	-29%
12785	Metabolito-3103	50	0,0581	0,2331	-48%
33228	Metabolito-11883	200	0,0581	0,2331	18%
1336	palmitato	50	0,0586	0,155	14%
594	nicotinamida	200	0,0598	0,2337	16%
15996	aspartato	50	0,0606	0,2337	-29%
10245	Metabolito-2269-	61	0,0622	0,1602	-42%
33131	Metabolito-11786	200	0,0626	0,2367	33%
32559	Metabolito-11242	201	0,0641	0,2372	-27%
15529	Metabolito-3951	61	0,0658	0,1647	22%
5687	Metabolito-1110	61	0,0702	0,1672	-43%
19370	Metabolito-6268	50	0,0707	0,1672	25%
32549	Metabolito-02269	201	0,0733	0,2653	44%

ES 2 402 142 T3

ID	Biomarcador	Biblioteca	valor p	valor q	% Cambio
12789	Metabolito-3107	50	0,0741	0,2653	-59%
528	alfa-ceto-glutarato	61	0,0742	0,1717	-27%
31510	Metabolito-10932	61	0,0764	0,1746	21%
19985	Metabolito-6957	50	0,0799	0,2678	-20%
10247	Metabolito-2270	61	0,0802	0,1773	-64%
18868	Metabolito-5847	50	0,0804	0,2678	-67%
32675	Metabolito-03951_200	200	0,0812	0,2678	-15%
20488	glucosa	50	0,0819	0,1773	11%
18335	quinato	50	0,0822	0,2678	20%
15676	3-metil-2-oxovalerato	201	0,0827	0,2678	-17%
25601	Metabolito-10431	50	0,0828	0,2678	-41%
12593	Metabolito-2973	50	0,0852	0,2678	-22%
32838	Metabolito-11521	200	0,0856	0,2678	-35%
19397	Metabolito-6326	50	0,086	0,1815	19%
31787	ácido 3-carboxil-4-metil-5-propil-2-furanpropanoico	201	0,0861	0,2678	53%
12604	Metabolito-2981	50	0,0864	0,2678	-15%
21631	Metabolito-8403	50	0,0885	0,2678	-26%
1515	ácido salicílico	50	0,0887	0,2678	-140%
1301	lisina	200	0,09	0,2687	-14%
32511	EDTA*	201	0,0942	0,2759	-7%
32971	Metabolito-11654	200	0,0945	0,2759	-36%
12767	Metabolito-3087	50	0,096	0,1954	35%
32795	Metabolito-11478	201	0,0982	0,2796	-35%
32793	Metabolito-11476	200	0,0988	0,2796	6%

ES 2 402 142 T3

Tabla 3. Biomarcadores de sujetos con Esteatosis en comparación con sujetos con Esteatohepatitis.

ID	Biomarcador	Biblioteca	valor p	valor q	% Cambio
21762	Metabolito-8506	61	0,0006	0,1449	-44%
528	alfa-ceto-glutarato	61	0,0017	0,1921	75%
6847	Metabolito-1496	61	0,0025	0,1921	49%
16650	Metabolito-4360	50	0,0033	0,1921	-144%
18591	Metabolito-5646	61	0,0041	0,1921	-53%
27718	creatina	200	0,0071	1	-50%
599	piruvato	61	0,0087	0,253	-42%
32621	Metabolito-11304	200	0,0124	1	31%
1113	isocitrato	61	0,0151	0,3249	38%
15506	colina	61	0,0163	0,3249	-28%
32729	Metabolito-11412	200	0,0166	1	-14%
10501	Metabolito-2321	61	0,0183	0,3249	-40%
12644	Metabolito-3016	50	0,0186	0,3249	-13%
32735	Metabolito-01911	200	0,0199	1	-99%
15753	hipurato	201	0,0255	1	44%
30805	Metabolito-10810	50	0,0302	1	37%
12768	Metabolito-3088	50	0,0305	0,4178	-25%
10629	Metabolito-2386	61	0,0335	0,4178	25%
33209	Metabolito-11864	201	0,0376	1	45%
32855	Metabolito-11538	201	0,0429	1	34%
32416	alfa linolenato (18:3 (n- 3))	201	0,0486	1	32%
16518	Metabolito-4276	50	0,0499	0,481	63%
20267	Metabolito-7187	61	0,0521	0,481	37%
19462	Metabolito-6446	50	0,0552	0,481	22%
33420	gamma-tocoferol-	50	0,0556	1	-54%

ES 2 402 142 T3

ID	Biomarcador	Biblioteca	valor p	valor q	% Cambio
1515	ácido salicílico	50	0,0569	1	60%
32567	Metabolito-11250	200	0,0573	1	40%
32769	Metabolito-11452	201	0,0608	1	-79%
12774	Metabolito-3094	50	0,0625	1	-24%
32632	Metabolito-11315	200	0,0651	1	21%
32741	Metabolito-11424	200	0,0655	1	-13%
12658	Metabolito-3026	50	0,0658	0,525	-12%
32110	Metabolito-11086	50	0,0659	1	17%
30728	Metabolito-10797	61	0,0693	0,525	65%
32625	Metabolito-11308	201	0,0697	1	27%
15140	quinurenina	200	0,0702	1	-14%
12645	Metabolito-3017	50	0,0709	0,525	-22%
33154	Metabolito-11809	200	0,0711	1	19%
12067	undecanoato	201	0,072	1	6%
5628	Metabolito-1086	61	0,0723	0,525	45%
19402	Metabolito-6346	50	0,077	1	-20%
32631	Metabolito-11314	200	0,0779	1	8%
7933	Metabolito-1911	61	0,0792	0,5308	75%
32797	Metabolito-11480	201	0,0818	1	-213%
18254	paraxantina	200	0,0824	1	-69%
32912	Metabolito-11595	201	0,0834	1	25%
32717	Metabolito-11400	200	0,0855	1	39%
33133	Metabolito-11788	200	0,0862	1	-11%
22261	Isobar-60-incluye-ácido s-2-hidroxi-butírico-ácido 2-hidroxiisobutírico	61	0,0869	0,5308	42%
19374	Metabolito-6270	50	0,09	1	27%

ID	Biomarcador	Biblioteca	valor p	valor q	% Cambio
6398	Metabolito-1335	61	0,0908	0,5308	28%
12770	Metabolito-3090	50	0,0919	1	28%
18392	teobromina	200	0,0956	1	-118%
32978	Metabolito-11656	200	0,0961	1	-6%
32761	Metabolito-11444	201	0,0962	1	-11%
31548	péptido- DSGEGDFXAEGGGVR	200	0,0981	1	-323%
3141	betaína	200	0,0986	1	14%
606	uridina	201	0,0987	1	-17%
24233	Metabolito-9855	61	0,0996	0,5308	99%

Ejemplo 2 Clasificación de Sujetos por Bosque Aleatorio

Se utilizaron análisis de bosque aleatorio para la clasificación de las muestras en grupos (p. ej. enfermo o sano, esteatosis o sano, esteatohepatitis o sano, esteatosis o EHNA). Los bosques aleatorios proporcionan una estimación de cuán bien pueden los autores de la presente invención clasificar a los individuos en nuevos conjuntos de datos dentro de cada grupo, en contraste con una prueba t, que somete a ensayo si las medias desconocidas para dos poblaciones son diferentes o no. Los bosques aleatorios crean un conjunto de árboles de clasificación basados en el muestreo continuo de las unidades y compuestos experimentales. A continuación cada observación se clasifica basándose en los votos de la mayoría de todos los árboles de clasificación.

Los resultados de los bosques aleatorios demuestran que las muestras se pueden clasificar correctamente con grados variables de exactitud utilizando los biomarcadores enumerados en las Tablas 1, 2, y/o 3. Las matrices de confusión demuestran que utilizando muestras de plasma se pueden distinguir sujetos con esteatosis, sujetos con esteatohepatitis y sujetos de control (Tabla 4), se pueden distinguir sujetos con esteatosis de sujetos de control (Tabla 5), se pueden distinguir sujetos con esteatohepatitis de sujetos de control (Tabla 6) y se pueden distinguir sujetos con esteatosis de sujetos con esteatohepatitis (Tabla 7). La tasa de error "Out-of-Bag" (OOB) proporciona una estimación de cuán exactamente se pueden pronosticar nuevas observaciones utilizando el modelo de bosque aleatorio (p. ej., ya sea la muestra de un sujeto que tiene esteatosis o de un sujeto de control).

Tabla 4. La Matriz de Confusión que muestra sujetos de Control, sujetos con Esteatosis y sujetos con EHNA puede distinguirlos entre sí.

Matriz de Confusión: Control vs. Esteatosis vs. EHNA				
	Control_ Pronosticado	Esteatosis_ Pronosticado	EHNA_ Pronosticado	Error
Control	23	0	2	8%
Esteatosis	3	9	12	63%
EHNA	2	4	5	55%
Error Out_of_bag		38%		

5 Basándose en la tasa de error OOB de 38%, se pudo utilizar el modelo de Bosque Aleatorio que se había creado para pronosticar si un sujeto tiene esteatosis, esteatohepatitis, o ninguna enfermedad de hígado graso con una exactitud de aproximadamente 62% a partir del análisis de los niveles de los biomarcadores en las muestras del sujeto. Los biomarcadores que son los biomarcadores más importantes para distinguir los grupos se enumeran en la Tabla 4B y se presentan en la Figura 3.

Tabla 4B. Los biomarcadores más importantes para distinguir sujetos de control, con esteatosis y con esteatohepatitis a partir del Gráfico de Importancia del Bosque Aleatorio se muestran en la Figura 3.

ID	Biomarcador
2734	gamma-glutamiltirosina
32322	glutamato
33073	Metabolito - 11728
32412	butirilcarnitina
18497	taurocolato
32393	glutamilvalina
1299	tirosina
32739	Metabolito - 11422
15140	quinurenina
32868	glicocolato*
33420	gamma-tocoferol-
32748	Metabolito - 11431
27718	creatina
31489	Metabolito - 10914
32552	Metabolito - 11235
15753	hipurato
32846	Metabolito - 11529
17028	Metabolito-4611
32735	Metabolito - 01911_200
32808	Metabolito-11491
15990	glicerofosforilcolina (GPC)
32701	urato-

ID	Biomarcador
33362	gamma-glutamilfenilalanina-
32547	Metabolito - 11230
32497	10c-undecenoato
32632	Metabolito - 11315
59	histidina
32621	Metabolito - 11304
32749	Metabolito - 11432
32559	Metabolito - 11242
1126	alanina
1113	isocitrato
1125	isoleucina
527	lactato
60	leucina
584	manosa
24285	Metabolito - 10026
30821	Metabolito - 10812
6847	Metabolito - 1496
7933	Metabolito - 1911
10715	Metabolito - 2395
12644	Metabolito - 3016
12658	Metabolito - 3026
12751	Metabolito - 3073
12780	Metabolito - 3098
13600	Metabolito - 3330
16511	Metabolito - 4274

ID	Biomarcador
18706	Metabolito - 5769
20267	Metabolito - 7187
21762	Metabolito - 8506
24233	Metabolito - 9855
18392	teobromina
2761	tiroxina
1604	urato
1649	valina
3147	xantina

Tabla 5. Matriz de Confusión que muestra que los sujetos de Control se pueden distinguir de los sujetos con Esteatosis.

Matriz de Confusión: Control vs. Esteatosis			
	Control_ Pronosticado	Esteatosis_ Pronosticado	Error
Control	22	3	12%
Esteatosis	1	10	9%
Error Out_of_bag		11%	

5 Basándose en la tasa de Error OOB del 11%, se pudo utilizar el modelo de Bosque Aleatorio que se había creado para pronosticar si un sujeto tiene esteatosis o no tiene enfermedad de hígado graso con una exactitud de aproximadamente 89% a partir del análisis de los niveles de los biomarcadores en las muestras del sujeto. Los biomarcadores que son los biomarcadores más importantes para distinguir los grupos se enumeran en la Tabla 5B y se presentan en la Figura 1.

10 Tabla 5B. Biomarcadores más importantes del Gráfico de Importancia del Bosque Aleatorio mostrado en la Figura 1.

ID	Biomarcador
2734	gamma-glutamiltirosina
18497	taurocolato
32412	butirilcarnitina
32552	Metabolito - 11235

ES 2 402 142 T3

ID	Biomarcador
1299	tirosina
606	uridina
32322	glutamato
32621	Metabolito - 11304
17028	Metabolito - 4611
19490	Metabolito - 6488
32497	10c-undecenoato
32748	Metabolito - 11431
12789	Metabolito - 3107
32393	glutamilvalina
32547	Metabolito - 11230
12763	Metabolito-3083
32808	Metabolito-11491
25602	Metabolito-10432
32739	Metabolito - 11422
33073	Metabolito - 11728
31489	Metabolito - 10914
32749	Metabolito - 11432
32631	Metabolito - 11314
33386	Metabolito - 12035
32559	Metabolito - 11242
32846	Metabolito - 11529
33242	Metabolito - 11897
33362	gamma-glutamilfenilalanina-
32945	Metabolito - 11628

ES 2 402 142 T3

ID	Biomarcador
12790	Metabolito - 3108
1126	alanina
18476	glicocolato
	Isobar 47 (ácido tauroquenodesoxicólico, ácido taurodesoxicólico)
	Isobar 66 (ácido glicoquenodesoxicólico, ácido glicodesoxicólico)
57	lactato
584	manosa
24285	Metabolito-10026
31595	Metabolito-10951
10551	Metabolito-2347
11923	Metabolito-2821
12644	Metabolito-3016
12647	Metabolito-3019
12656	Metabolito-3025
12658	Metabolito-3026
12751	Metabolito-3073
	Metabolito-3077
12780	Metabolito-3098
13142	Metabolito-3165
13600	Metabolito-3330
16337	Metabolito-4167
	Metabolito-4361
17304	Metabolito-4759
17390	Metabolito-4806
18118	Metabolito-5346

ID	Biomarcador
18706	Metabolito-5769
21762	Metabolito-8506
2761	tiroxina
1604	urato

Tabla 6. Matriz de Confusión que muestra que los sujetos de Control se pueden distinguir de los sujetos con EHNA.

Matriz de Confusión: Control vs. EHNA			
	Control_ Pronosticado	EHNA_ Pronosticado	Error
Control	23	2	8%
EHNA	2	22	8%
Error Out_of_bag		8%	

5 Basándose en la tasa de Error OOB del 8%, se pudo utilizar el modelo de Bosque Aleatorio que se había creado para pronosticar si un sujeto tiene esteatohepatitis o no tiene enfermedad de hígado graso con una exactitud de aproximadamente 92% a partir del análisis de los niveles de los biomarcadores en las muestras del sujeto. Los biomarcadores que son los biomarcadores más importantes para distinguir los grupos se enumeran en la Tabla 6B y se presentan en el gráfico de importancia en la Figura 2.

Tabla 6B. Biomarcadores más importantes del Gráfico de Importancia del Bosque Aleatorio mostrado en la Figura 2.

ID	Biomarcador
33073	Metabolito - 11728
15140	quinurenina
32868	glicocolato*
32412	butirilcarnitina
32322	glutamato
2734	gamma-glutamiltirosina
15753	hipurato
31489	Metabolito - 10914
32739	Metabolito - 11422
33420	gamma-tocoferol-

ID	Biomarcador
32881	Metabolito - 11564
32393	glutamilvalina
32519	Metabolito - 11205
32748	Metabolito - 11431
32701	urato-
32550	Metabolito - 02272_201
1299	tirosina
32548	Metabolito - 11231
33362	gamma-glutamilfenilalanina-
584	manosa
32675	Metabolito - 03951_200
32632	Metabolito - 11315
32846	Metabolito - 11529
17028	Metabolito-4611
32497	10c-undecenoato
32749	Metabolito - 11432
16308	Metabolito - 4147
32544	Metabolito - 11227
18497	taurocolato
32697	Metabolito - 11380
21047	ácido 3-metil-2-oxobutírico
1126	alanina
1647	glutamina
1113	isocitrato
1125	isoleucina

ID	Biomarcador
60	leucina
20699	meso-eritritol
24285	Metabolito-10026
30821	Metabolito-10812
5628	Metabolito-1086
5687	Metabolito-1110
6398	Metabolito-1335
6847	Metabolito-1496
8509	Metabolito-2041
10286	Metabolito-2272
10715	Metabolito-2395
12751	Metabolito-3073
12767	Metabolito-3087
12780	Metabolito-3098
16511	Metabolito-4274
18706	Metabolito-5769
20267	Metabolito-7187
1649	valina
3147	xantina

Tabla 7. Matriz de Confusión que muestra que los sujetos con Esteatosis se pueden distinguir de los sujetos con esteatohepatitis (EHNA).

Matriz de Confusión: Esteatosis vs. EHNA			
	Esteatosis_ Pronosticado	EHNA_ Pronosticado	Error
Esteatosis	10	14	58%
EHNA	5	6	45%

Matriz de Confusión: Esteatosis vs. EHNA			
	Esteatosis_ Pronosticado	EHNA_ Pronosticado	Error
Error Out_of_bag		54%	

Basándose en la tasa de Error OOB de 54%, se pudo utilizar el modelo de Bosque Aleatorio que se había creado para pronosticar si un sujeto tiene esteatosis o esteatohepatitis con una exactitud de aproximadamente 46% a partir del análisis de los niveles de los biomarcadores en las muestras del sujeto.

- 5 Los compuestos que son los biomarcadores más importantes para distinguir los grupos se muestran en los gráficos de importancia en las Figuras 1, 2, 3. La Figura 1 enumera los compuestos biomarcadores que son más importantes al distinguir los sujetos con esteatosis y los sujetos de Control. En la Figura 2 se enumeran los compuestos biomarcadores que son más importantes al distinguir los sujetos con esteatohepatitis de los sujetos de control. En la Figura 3 se enumeran los compuestos biomarcadores que son más importantes al distinguir los sujetos con esteatosis, con esteatohepatitis y de control.

Ejemplo 3 Clasificación por partición Recursiva y Curvas Receptor-Operador (ROC)

Se realizó la partición recursiva para revelar los biomarcadores que pueden diferenciar mejor los dos grupos de sujetos. Ésta relaciona una variable 'dependiente' (p. ej. Grupo o Y) con una colección de variables independientes ('indicador') (p. ej. metabolitos o X) con el fin de revelar -- o simplemente comprender -- la relación elusiva, $Y=f(X)$. Esto se realizó con un programa JMP (SAS) para generar un árbol de decisión. El nivel de significación de cada "división" de datos en los nodos o ramas del árbol se computó como valores p, que disciernen la cualidad de la división con respecto a un evento al azar. Se proporcionó como LogWorth, que es el log10 negativo de un valor p bruto.

Los resultados de la partición recursiva que muestran la clasificación de los sujetos de Control y con esteatosis se muestran en la Figura 4. Los biomarcadores que contribuyen a la clasificación se enumeran en la Tabla 8. Los resultados de la partición recursiva que muestran la clasificación de la esteatosis y esteatohepatitis (EHNA, EH) se muestran en la Figura 5 y los biomarcadores utilizados en la clasificación se enumeran en la Tabla 9. Los resultados de la partición recursiva que muestran la clasificación de control y de esteatohepatitis se muestran en la Figura 6 y los biomarcadores se enumeran en la Tabla 10. Los resultados de la partición recursiva que muestran en uso de los biomarcadores para clasificar a los sujetos como esteatosis, esteatohepatitis y de control se muestran en la Figura 7 y los biomarcadores se enumeran en la Tabla 11.

La sensibilidad y especificidad de un biomarcador dado fueron determinadas mediante la curva de Características Operativas del receptor (o curva ROC), que traza la tasa de verdaderos positivos frente a la tasa de falsos positivos para los diferentes puntos de corte posibles del biomarcador específico. El área bajo la curva es una medida de la exactitud del ensayo. Un área de 1 representa un ensayo perfecto mientras que un área de 0,5 representa una prueba sin valor. Una guía aproximada para clasificar la exactitud de un ensayo diagnóstico es el tradicional sistema de puntuación académica:

- 0,90-1 = sobresaliente
- 0,80-0,90 = notable
- 35 0,70-0,80 = aprobado
- 0,60-0,70 = insuficiente
- 0,50-0,60 = muy deficiente

Las curvas ROC se muestran en las Figuras 4, 5, 6 y 7. Los sujetos de control se separan de los sujetos con esteatosis con una exactitud >90 (Figura 4). Los sujetos con esteatosis y esteatohepatitis se pueden distinguir con una exactitud >82% (Figura 5). Los sujetos de Control y con esteatohepatitis se clasifican con una exactitud >87% (Figura 6). Los tres grupos se pueden clasificar utilizando los biomarcadores con una exactitud >70% (EHNA), >77% (Esteatosis), >86% (control) (Figura 7).

ES 2 402 142 T3

Tabla 8. Biomarcadores de Partición Recursiva, Esteatosis vs control.

ID	COMPUESTO	Biblioteca	LogWorth	Candidato G ²
2734	gamma glutamiltirosina	200	7,2110	29,7676
18497	taurocolato	201	4,5487	20,2589
32599	Metabolito - 11282	201	3,4916	17,2822
20699	eritritol	50	3,4916	17,2822
32552	Metabolito - 11235	201	3,3649	16,7903
32322	glutamato	50	3,3649	16,7903
32393	glutamilvalina	200	3,0618	15,2513
12763	Metabolito - 3083	50	3,0147	15,2513
32497	10c undecenoato	201	2,9895	15,3210
19490	Metabolito - 6488	50	2,9743	15,2513
1299	tirosina	200	2,9718	15,2513
33242	Metabolito - 11897	201	2,9718	15,2513
32748	Metabolito - 11431	201	2,9601	15,2052
32621	Metabolito - 11304	200	2,8266	14,6774
606	uridina	201	2,8266	14,6774
17028	Metabolito - 4611	50	2,8266	14,6774
12789	Metabolito - 3107	50	2,4680	12,6627
32808	Metabolito - 11491	201	2,3944	12,6627
32412	butirilcarnitina	200	2,3372	12,6627
32547	Metabolito - 11230	201	2,3242	12,6627
12790	Metabolito - 3108	50	2,2779	12,4746
33073	Metabolito - 11728	200	2,2201	12,1291
32739	Metabolito - 11422	201	2,1932	12,1291
30805	Metabolito - 10810	50	2,1932	12,1291
32776	Metabolito - 11459	200	2,1488	11,9121

ES 2 402 142 T3

ID	COMPUESTO	Biblioteca	LogWorth	Candidato G ²
32697	Metabolito - 11380	200	2,1443	11,9121
32701	urato	200	2,1403	11,9121
32559	Metabolito - 11242	201	2,1279	11,8611
32631	Metabolito - 11314	200	2,1279	11,8611
32945	Metabolito - 11628	201	2,1279	11,8611
33386	Metabolito - 12035	50	2,0266	11,2117

Tabla 9. Candidatos Biomarcadores PR, esteatosis vs. esteatohepatitis.

ID	COMPUESTO	Biblioteca	LogWorth	Candidato G ²
27718	creatina	200	2,8020	14,5688
12067	undecanoato	201	2,7871	14,5095
32729	Metabolito - 11412	200	2,5472	13,5499
32855	Metabolito - 11538	201	2,5472	13,5499
32735	Metabolito - 01911_200	200	2,4708	13,0756
32621	Metabolito - 11304	200	2,1940	12,1162
27275	Metabolito - 10507	50	2,0579	11,5561

Tabla 10. Biomarcadores PR de esteatohepatitis (EHNA) vs Control.

ID	COMPUESTO	Biblioteca	LogWorth	Candidato G ²
33073	Metabolito - 11728	200	7,3726	31,8519
32868	glicocolato	201	6,5169	28,4230
15140	quinurenina	200	6,4082	27,7714
2734	gamma glutamiltirosina	200	5,5940	24,5076
32412	butirilcarnitina	200	5,4888	24,6395
15753	hipurato	201	5,2301	23,5921
32322	glutamato	50	4,5652	21,1976

ES 2 402 142 T3

ID	COMPUESTO	Biblioteca	LogWorth	Candidato G ²
33420	gamma tocoferol	50	4,5330	21,1976
32748	Metabolito - 11431	201	4,3254	20,3263
32739	Metabolito - 11422	201	4,2214	19,9467
32393	glutamilvalina	200	3,9888	19,1924
32550	Metabolito - 02272	201	3,9860	19,0839
31489	Metabolito - 10914	50	3,8423	18,5637
32519	Metabolito - 11205	200	3,8117	18,4417
33133	Metabolito - 11788	200	3,6919	17,9988
32632	Metabolito - 11315	200	3,6913	17,9988
32548	Metabolito - 11231	201	3,6260	17,7540
16308	Metabolito - 4147	50	3,6255	17,7540
32881	Metabolito - 11564	201	3,5761	17,5685
32675	Metabolito - 03951	200	3,5752	17,5685
32697	Metabolito-11380	200	3,4581	17,1290
32863	Metabolito - 11546	201	3,4182	16,9876
17028	Metabolito - 4611	50	3,3802	16,8375
584	manosa	50	3,3005	16,5389
33362	gamma glutamilfenilalanina	200	3,1967	16,1427
32749	Metabolito - 11432	201	3,1952	16,1427
32701	urato	200	3,1486	15,9669
32846	Metabolito - 11529	201	3,1224	15,8433
1299	tirosina	200	3,1159	15,8433
32544	Metabolito - 11227	201	3,1019	15,7905
32564	Metabolito - 11247	201	2,9040	15,0281
32517	Metabolito-11203	200	2,9012	15,0281

ES 2 402 142 T3

ID	COMPUESTO	Biblioteca	LogWorth	Candidato G ²
32808	Metabolito - 11491	201	2,8993	14,9830
33012	Metabolito - 11674	200	2,8909	14,9830
31787	ácido 3-carboxil-4-metil-5-propil-2-furanpropanoico	201	2,8894	14,9830
20699	eritritol	50	2,8894	14,9830
32110	Metabolito-11086	50	2,8894	14,9830
12783	Metabolito - 3101	50	2,8894	14,9830
19402	Metabolito - 6346	50	2,8894	14,9830
18497	taurocolato	201	2,6891	13,9546
59	histidina	201	2,6508	14,0671
12774	Metabolito - 3094	50	2,6508	14,0671
32682	Metabolito - 11365	201	2,6217	13,9546
33227	Metabolito - 11882	201	2,5727	13,7651
15990	glicerofosforilcolina (GPC)	200	2,5636	13,7298
32547	Metabolito - 11230	201	2,5131	13,5334
32497	X10c undecanoato	201	2,4846	13,4226
32549	Metabolito - 02269	201	2,4738	13,3217
32552	Metabolito - 11235	201	2,4690	13,3619
32385	Metabolito - 11180	50	2,4078	13,0513
32621	Metabolito - 11304	200	2,3922	13,0617
20488	glucosa	50	2,3922	13,0617
16865	Metabolito - 4522	50	2,3036	12,7022
64	fenilalanina	200	2,2026	12,3145
32637	Metabolito-11320	201	2,1916	12,2709
32813	Metabolito - 11496	201	2,1916	12,2709
32854	Metabolito - 11537	200	2,1916	12,2709

ES 2 402 142 T3

ID	COMPUESTO	Biblioteca	LogWorth	Candidato G ²
27256	Metabolito - 10500	50	2,1916	12,2709
32346	glicoquenodesoxicolato	201	2,1443	11,9681
32656	Metabolito - 11339	201	2,0482	11,6993
16650	Metabolito - 4360	50	2,0204	11,5103
607	urocanato	200	2,0135	10,2237
32559	Metabolito-11242	201	2,0012	11,5103

Tabla 11. Biomarcadores PR de Esteatosis vs Esteatohepatitis (EHNA) vs Control.

ID	COMPUESTO	Biblioteca	LogWorth	Candidato G ²
2734	gamma glutamiltirosina	200	8,7610	39,6669
33073	Metabolito - 11728	200	6,9137	33,1250
32868	glicocolato	201	5,6594	28,4476
32412	butirilcarnitina	200	5,5221	27,9670
15140	quinurenina	200	5,4648	27,7794
32322	glutamato	50	5,4202	27,6254
18497	taurocolato	201	4,8465	25,6695
32748	Metabolito - 11431	201	4,5458	24,5681
32393	glutamilvalina	200	4,4325	24,1102
1299	tirosina	200	4,4170	24,1102
15753	hipurato	201	4,2727	23,5947
32739	Metabolito - 11422	201	3,9941	22,5914
17028	Metabolito-4611	50	3,7736	21,7885
33420	gamma tocoferol	50	3,6961	21,4058
20699	eritritol	50	3,4424	20,5670
31489	Metabolito - 10914	50	3,4147	20,4362
32552	Metabolito - 11235	201	3,4135	20,4592

ES 2 402 142 T3

ID	COMPUESTO	Biblioteca	LogWorth	Candidato G ²
32697	Metabolito - 11380	200	3,2207	19,7221
32519	Metabolito - 11205	200	3,2148	19,7148
32749	Metabolito - 11432	201	3,1735	19,5592
33362	gamma glutamilfenilalanina	200	3,1317	19,2619
32846	Metabolito - 11529	201	3,1175	19,1830
32550	Metabolito - 02272_201	201	3,0781	19,1976
32808	Metabolito - 11491	201	2,9873	18,6852
32547	Metabolito - 11230	201	2,9438	18,6852
16308	Metabolito - 4147	50	2,8966	18,4875
32548	Metabolito - 11231	201	2,8923	18,4875
33133	Metabolito - 11788	200	2,8602	18,3636
32735	Metabolito - 01911_200	200	2,8564	18,1394
32863	Metabolito-11546	201	2,8379	18,1709
32881	Metabolito - 11564	201	2,8103	18,1709
33242	Metabolito - 11897	201	2,8094	18,1676
32675	Metabolito - 03951_200	200	2,7808	18,0072
59	histidina	201	2,7802	18,0542
32632	Metabolito - 11315	200	2,7704	17,9993
27718	creatina	200	2,6480	17,5391
32701	urato	200	2,6462	17,5321
584	manosa	50	2,6462	17,5321
32599	Metabolito - 11282	201	2,5826	17,2822
32559	Metabolito - 11242	201	2,5799	17,2717
32497	10c undecenoato	201	2,5001	16,9560
606	uridina	201	2,4079	16,5890

ID	COMPUESTO	Biblioteca	LogWorth	Candidato G ²
32621	Metabolito - 11304	200	2,4027	16,5683
12783	Metabolito - 3101	50	2,4027	16,5683
32564	Metabolito - 11247	201	2,3935	16,4772
32517	Metabolito - 11203	200	2,3800	16,4772
12763	Metabolito - 3083	50	2,3715	16,2338
32544	Metabolito - 11227	201	2,3539	16,3727
19490	Metabolito - 6488	50	2,3240	16,2338
12067	undecanoato	201	2,3176	16,2264
32854	Metabolito - 11537	200	2,2206	15,7775
32813	Metabolito - 11496	201	2,2068	15,7775
32945	Metabolito - 11628	201	2,1937	15,7238
32110	Metabolito-11086	50	2,1659	15,6103
19402	Metabolito - 6346	50	2,1659	15,6103
31787	ácido 3-carboxil-4-metil-5-propil-2-furanpropanoico	201	2,1292	15,4023
32729	Metabolito - 11412	200	2,1279	15,4545
32549	Metabolito - 02269	201	2,0837	15,0750
15990	glicerofosforilcolina GPC	200	2,0516	15,1396
33012	Metabolito - 11674	200	2,0280	14,9832
32385	Metabolito - 11180	50	2,0268	14,8693

Ejemplo 4 Biomarcadores y sexo

5 Los biomarcadores se descubrieron (1) analizando muestras de plasma sanguíneo de diferentes grupos de sujetos humanos femeninos y de diferentes grupos de sujetos humanos masculinos para determinar los niveles de metabolitos en las muestras y a continuación (2) analizando estadísticamente los resultados para determinar aquellos metabolitos que estaban presentes diferencialmente en los dos grupos.

10 Para los hombres, las muestras de plasma utilizadas para el análisis 7 muestras de control que procedían de sujetos sanos, 6 muestras de pacientes con esteatosis y 8 muestras de pacientes con esteatohepatitis. Para las mujeres, las muestras de plasma utilizadas para el análisis fueron 18 muestras de control que procedían de sujetos sanos, 5 muestras de pacientes con esteatosis y 16 muestras de pacientes con esteatohepatitis. Tanto en los estudios con hombres como con mujeres, una vez que se determinaron los niveles de metabolitos, se analizaron los datos utilizando pruebas de significación (ANOVA, ANCOVA, Wilcoxon).

El ANOVA se utilizó para identificar diferencias significativas en los niveles medios de metabolitos entre dos poblaciones (esto es, Esteatosis vs. Control, Esteatohepatitis vs. Control, Esteatosis vs. Esteatohepatitis).

Biomarcadores:

- 5 Según se enumera en las Tablas 12 (sujetos masculinos) y 13 (sujetos femeninos), se descubrieron biomarcadores que estaban presentes diferencialmente entre las muestras de plasma de pacientes con esteatosis y de sujetos de Control, se descubrieron biomarcadores que estaban presentes diferencialmente entre las muestras de plasma de pacientes con esteatohepatitis y de sujetos de Control y se descubrieron biomarcadores que estaban presentes diferencialmente entre las muestras y plasma de sujetos con esteatosis y las muestras de plasma de sujetos con esteatohepatitis (esto es, EHNA).
- 10 Las Tablas 12 y 13 incluyen, para cada biomarcador enumerado, el valor p y el valor q determinados en los análisis estadísticos de los datos relativos a los biomarcadores en el nivel medio de esteatosis en comparación con el nivel medio de control, el nivel medio de EHNA en comparación con el nivel medio de control, y el nivel medio de esteatosis en comparación con el nivel medio de EHNA. Biblioteca indica la biblioteca química que se utilizó para identificar los compuestos. El número 50 hace referencia a la biblioteca GC y el número 61 se refiere a la biblioteca LC. ID Comp se refiere al número de identificación para el compuesto en la base de datos interna de compuestos químicos de los autores de la presente invención.
- 15

La Tabla 12 enumera los biomarcadores para hombre, incluyendo, para cada biomarcador, el valor p y el valor q para las comparaciones especificadas de grupos como se ha descrito anteriormente.

- 20 Tabla 12. Biomarcadores de sujetos masculinos con Esteatosis en comparación con sujetos de Control, sujetos con **esteatohepatitis** (EHNA) en comparación con el Control y sujetos con Esteatosis en comparación con **esteatohepatitis** (EHNA).

COMPUESTO	COMP_ID	BIBLIOTECA	Control vs. EHNA		Control vs. ESTEATOSIS		EHNA vs. ESTEATOSIS	
			valor p	valor q	valor p	valor q	valor p	valor q
estearato	1358	50	4,00E-04	0,0633	0,0128	0,2286	0,3457	0,7893
palmitato	1336	50	9,00E-04	0,0633	0,0091	0,1836	0,5612	0,8289
isoleucina	1125	50	0,0011	0,0633	0,0025	0,1264	0,9729	0,8893
glutamato	57	50	0,0011	0,0633	0,0305	0,2368	0,3124	0,7803
Metabolito-9033	22570	50	0,0021	0,0872	0,2901	0,66	0,0507	0,6206
Metabolito-3087	12767	50	0,0031	0,0872	0,1491	0,4771	0,1507	0,7628
valina	1649	50	0,0034	0,0872	0,0243	0,2368	0,5868	0,832
isoleucina	18118	50	0,0036	0,0872	0,0019	0,1264	0,6472	0,8475
glutamato	12751	50	0,0036	0,0872	0,0472	0,2804	0,4112	0,8022
Metabolito-4274	16511	50	0,0038	0,0872	0,106	0,3961	0,2349	0,7803
linoleato	1105	50	0,0049	0,0872	0,051	0,2862	0,4508	0,8145
leucina	60	50	0,0054	0,0872	0,0175	0,2368	0,8025	0,8527
Metabolito-5769	18706	61	0,0054	0,0872	0,0025	0,1264	0,626	0,8421
isocitrato	1113	61	0,0055	0,0872	0,094	0,3845	0,3151	0,7803

ES 2 402 142 T3

COMPUESTO	COMP_ID	BIBLIOTECA	Control vs. EHNA		Control vs. ESTEATOSIS		EHNA vs. ESTEATOSIS	
			valor p	valor q	valor p	valor q	valor p	valor q
Metabolito-2041	8509	61	0,0059	0,0872	0,0536	0,2922	0,4791	0,8182
Metabolito-2270	10247	61	0,0061	0,0872	0,0206	0,2368	0,7827	0,8519
Metabolito- 10932	31510	61	0,007	0,0872	0,0338	0,2455	0,6578	0,8475
alanina	1126	50	0,0072	0,0872	0,0298	0,2368	0,7063	0,8475
tirosina	12780	50	0,0073	0,0872	0,0272	0,2368	0,7393	0,8519
Metabolito-8214	21421	50	0,0085	0,0948	0,0925	0,3845	0,398	0,8022
glucosa	20488	50	0,0095	0,0948	0,0911	0,3845	0,4236	0,8022
Metabolito-10439	25609	50	0,0098	0,0948	0,0341	0,2455	0,7445	0,8519
Metabolito-1496	6847	61	0,0098	0,0948	0,9827	0,8655	0,0124	0,348
colina	15506	61	0,01	0,0948	0,6398	0,7767,	0,0429	0,6206
glutamina	1647	50	0,0116	0,1058	0,1325	0,4409	0,3566	0,7893
Metabolito-9855	24233	61	0,0121	0,1061	0,8754	0,8551	0,0105	0,3457
Metabolito-7187	20267	61	0,0145	0,1218	0,4129	0,698	0,1218	0,7385
Metabolito-5646	18591	61		0,1272	0,4187		0,0021	0,2874
ácido 3-metil-2-oxobutírico	21047	61	0,0164	0,1281	0,1039	0,3961	0,5063	0,8289
Metabolito-4096	16186	61	0,0169	0,1281	0,1525	0,4771	0,3895	0,8005
Metabolito-9727	24077	50	0,0185	0,1342	0,0298	0,2368	0,9767	0,8893
Metabolito-1911	7933	61	0,0189	0,1342	0,6182	0,7691	0,0064	0,2874

La Tabla 13 enumera los biomarcadores para mujeres, incluyendo, para cada biomarcador, el valor p y el valor q para las comparaciones especificada de grupos como se ha descrito anteriormente.

ES 2 402 142 T3

Tabla 13. Biomarcadores de sujetos femeninos con Esteatosis en comparación con sujetos de Control, sujetos con **esteatohepatitis** (EHNA) en comparación con el Control y sujetos con Esteatosis en comparación con esteatohepatitis (EHNA).

COMPUESTO	COMP_ID	LIB_ID	Control vs. EHNA		Control vs. ESTEATOSIS		EHNA vs. ESTEATOSIS	
			valor p	valor q	valor p	valor q	valor p	valor q
glutamato	57	50	1,73E-08	3,22E-06	0,0023	0,0904	0,2067	0,6864
urato	1604	50	3,32E-07	3,08E-05	0,0278	0,2958	0,1005	0,6474
glutamato	12751	50	8,91E-07	1,00E-04	0,0036	0,0977	0,4745	0,6864
Metabolito-5769	18706	61	4,24E-06	2,00E-04	8,00E-04	0,0661	0,9332	0,7199
isocitrato	1113	61	8,14E-06	3,00E-04	0,255	0,4932	0,0342	0,4905
Metabolito-10026	24285	61	1,94E-05	6,00E-04	0,0231	0,2804	0,4083	0,6864
glicocolato	18476	61	2,91E-05	8,00E-04	0,0172	0,2557	0,5271	0,6864
L-quinurenina	15140	61	1,00E-04	0,0013	0,9893	0,73	0,0051	0,432
Metabolito-3330	13600	61	1,00E-04	0,0016	0,1335	0,3923	0,1878	0,6864
leucina	60	50	1,00E-04	0,0016	0,104	0,3726	0,241	0,6864
valina	1649	50	1,00E-04	0,0019	0,0938	0,3726	0,288	0,6864
isoleucina	1125	50	1,00E-04	0,0013	0,0574	0,3465	0,3262	0,6864
Metabolito-1110	5687	61	1,00E-04	0,0016	0,0032	0,0977	0,8124	0,6937
Metabolito-10951	31595	61	2,00E-04	0,0026	0,2368	0,4917	0,1503	0,6474
Metabolito-4522	16865	50	2,00E-04	0,0021	0,0689	0,359	0,3877	0,6864
Metabolito-4274	16511	50	2,00E-04	0,0021	0,0431	0,3397	0,516	0,6864
Isobar-47-incluye-ácido tauroquenosoxicólico-y-ácido taurodesoxicólico	18882	61	2,00E-04	0,0021	0,032	0,3148	0,5941	0,6868
tirosina	1299	61	3,00E-04	0,0026	0,0548	0,3465	0,492	0,6864
alanina	1126	50	4,00E-04	0,0036	0,1507	0,414	0,2717	0,6864
tiroxina	2761	61	5,00E-04	0,0043	0,2645	0,5014	0,1712	0,6644
Metabolito-2347	10551	61	5,00E-04	0,0048	0,0022	0,0904	0,4853	0,6864

ES 2 402 142 T3

COMPUESTO	COMP_ID	LIB_ID	Control vs. EHNA		Control vs. ESTEATOSIS		EHNA vs. ESTEATOSIS	
			valor p	valor q	valor p	valor q	valor p	valor q
Metabolito-10812	30821	50	7,00E-04	0,0058	0,1583	0,421	0,3247	0,6864
Metabolito-2269-	10245	61	7,00E-04	0,0056	0,0025	0,0904	0,4809	0,6864
glutamina	1647	50	9,00E-04	0,0067	0,1091	0,3726	0,458	0,6864
meso-eritritol	20699	50	0,001	0,0067	0,1995	0,463	0,2975	0,6864
Metabolito-3183	13214	61	0,001	0,0067	0,106	0,3726	0,4805	0,6864
docosahexaenoato-DHA-	19323	50	0,001	0,0067	0,0405	0,3397	0,7884	0,6896
Metabolito-4627	17068	61	0,001	0,0067	0,0268	0,2958	0,9307	0,7199
Isobar-66-incluye-ácido glicoquenodesoxicólico-ácido glicodesoxicólico	22803	61	0,0011	0,0067	0,0519	0,3465	0,7198	0,6896
5-oxoprolina	1494	50	0,0012	0,0076	0,1022	0,3726	0,5195	0,6864
Metabolito-10589	27801	61	0,0013	0,0078	0,2598	0,4988	0,2575	0,6864
manosa	584	50	0,0013	0,0078	0,0435	0,3397	0,8177	0,6937
Metabolito-4360	16650	50	0,0015	0,0083	0,6433	0,6655	0,0796	0,5826
gamma-L-glutamil-L-tirosina	2734	61	0,0016	0,009	0,3615	0,5823	0,1942	0,6864
Metabolito-1086	5628	61	0,0017	0,0092	0,6934	0,6655	0,0743	0,5826
fenilalanina	64	61	0,0019	0,0095	0,1746	0,4408	0,4085	0,6864
lactato	527	50	0,0019	0,0095	0,1018	0,3726	0,586	0,6868
araquidonato	1110	50	0,002	0,0098	0,8148	0,6934	0,0194	0,4834
Metabolito-7187	20267	61	0,0021	0,0098	0,747	0,6811	0,0705	0,5824
Metabolito-1914	7941	61	0,0021	0,0098	0,0075	0,1505	0,5693	0,6868
Metabolito-3109	12791	50	0,0024	0,0109	0,783	0,6934	0,0195	0,4834
tirosina	12780	50	0,0031	0,0138	0,0321	0,3148	0,9228	0,7184
xantina	3147	61	0,0032	0,0138	0,2695	0,5014	0,3371	0,6864
Metabolito-1496	6847	61	0,0035	0,0149	0,3752	0,5823	0,005	0,432

ES 2 402 142 T3

COMPUESTO	COMP_ID	LIB_ID	Control vs. EHNA		Control vs. ESTEATOSIS		EHNA vs. ESTEATOSIS	
			valor p	valor q	valor p	valor q	valor p	valor q
Metabolito-2041	8509	61	0,0037	0,0154	0,3041	0,5383	0,3177	0,6864
ácido 3-4-5-trimetoxicinámico	18291	61	0,0045	0,0183	0,0182	0,2557	0,6793	0,6896
Metabolito-3951	15529	61	0,0049	0,0192	0,0586	0,3465	0,9515	0,7253
Metabolito-3994	16016	61	0,005	0,0192	0,0249	0,2887	0,7558	0,6896
Metabolito-3094	12774	50	0,0055	0,0209	0,6697	0,6655	0,0218	0,4834
Metabolito-9855	24233	61	0,0058	0,0216	0,124	0,3816	0,7024	0,6896
Metabolito-5726	18657	61	0,006	0,022	0,7399	0,6781	0,1182	0,6474
glicerol	15122	50	0,0065	0,0229	0,0928	0,3726	0,8347	0,6975
Metabolito-2395	10715	61	0,0066	0,0229	0,0016	0,0904	0,1741	0,6654
Metabolito-4986	17627	50	0,0067	0,0229	0,1963	0,4608	0,5502	0,6868
ácido 3-metil-2-oxobutírico	21047	61	0,0069	0,0234	0,0928	0,3726	0,8462	0,6991
Metabolito-2259	10156	61	0,0071	0,0235	0,6427	0,6655	0,1628	0,6474
Metabolito-3230	13296	61	0,0072	0,0235	0,6656	0,6655	0,1545	0,6474
palmitato	1336	50	0,0075	0,0237	0,3757	0,5823	0,3312	0,6864
Metabolito-1911	7933	61	0,0075	0,0237	0,1736	0,4408	0,6183	0,6868
Metabolito-2291	10414	61	0,0079	0,0245	0,0098	0,1787	0,4316	0,6864
piruvato	599	61	0,0118	0,0359	0,9667	0,7259	0,0792	0,5826
Isobar-1-incluye-manosa-fructosa-glucosa-galactosa-alfa-L-sorbopiranosas-Inositol-D-alosa-D-altrosa-D-psiconas-L-gulosa-alo-inositol	10737	61	0,0126	0,0375	0,055	0,3465	0,8389	0,6975
Metabolito-2272	10286	61	0,0128	0,0375	0,0731	0,359	0,94	0,7208
lisina	1301	50	0,0132	0,0384	0,271	0,5014	0,5375	0,6864
uridina	606	61	0,0139	0,0397	0,1016	0,3726	0,9509	0,7253
Metabolito-2390	10672	61	0,0143	0,0402	0,0557	0,3465	0,8179	0,6937
Metabolito-9043	22600	50	0,0154	0,0427	0,0118	0,2006	0,375	0,6864

ES 2 402 142 T3

COMPUESTO	COMP_ID	LIB_ID	Control vs. EHNA		Control vs. ESTEATOSIS		EHNA vs. ESTEATOSIS	
			valor p	valor q	valor p	valor q	valor p	valor q
Metabolito-2329	10544	61	0,0157	0,0429	0,3917	0,5823	0,4157	0,6864
Metabolito-9033	22570	50	0,0163	0,0437	0,0719	0,359	0,883	0,7052
Metabolito-4251	16496	50	0,018	0,0478	0,7335	0,6781	0,1998	0,6864
Metabolito-4276	16518	50	0,0183	0,0479	0,3795	0,5823	0,4523	0,6864
Metabolito-10932	31510	61	0,02	0,0515	0,6694	0,6655	0,2414	0,6864
Metabolito-3323	13557	61	0,0221	0,0561	0,4812	0,657	0,3823	0,6864
Metabolito-3016	12644	50	0,0229	0,0575	0,0038	0,0977	0,1636	0,6474
Metabolito-1981	8210	61	0,0248	0,0613	0,2371	0,4917	0,7138	0,6896
Metabolito-3088	12768	50	0,0272	0,0663	0,8115	0,6934	0,0842	0,5956
Metabolito-3087	12767	50	0,0295	0,0712	0,2356	0,4917	0,7535	0,6896
Metabolito-10797	30728	61	0,0309	0,0735	0,7815	0,6934	0,2311	0,6864
Metabolito-3100	12782	50	0,0316	0,0742	0,0624	0,3465	0,6928	0,6896
2-amino butirato	12645	50	0,033	0,0756	0,3666	0,5823	0,5717	0,6868
treonina	1284	50	0,033	0,0756	0,1048	0,3726	0,8734	0,7052
Metabolito-3707	14837	61	0,0338	0,0761	0,019	0,2557	0,3591	0,6864
Metabolito-1834	7650	61	0,0343	0,0761	4,00E-04	0,0646	0,0289	0,4905
Metabolito-10785	30633	61	0,0344	0,0761	0,0612	0,3465	0,6678	0,6896
Metabolito-2139	9130	61	0,0349	0,0762	0,4999	0,6647	0,4382	0,6864
Metabolito-4613	17033	61	0,0375	0,0808	0,4934	0,663	0,4563	0,6864
gluconato	587	50	0,039	0,083	0,9105	0,7087	0,1966	0,6864
N-acetilglicina	27710	50	0,0396	0,083	0,1303	0,3923	0,9192	0,7177
Metabolito-10507	27275	50	0,0398	0,083	0,8432	0,6996	0,1135	0,6474
treonato	27738	50	0,0404	0,0834	0,5847	0,6655	0,3906	0,6864
p-hidroxifenil lactato-HPLA-	1431	50	0,0411	0,0837	0,7669	0,6934	0,0954	0,6428

ES 2 402 142 T3

COMPUESTO	COMP_ID	LIB_ID	Control vs. EHNA		Control vs. ESTEATOSIS		EHNA vs. ESTEATOSIS	
			valor p	valor q	valor p	valor q	valor p	valor q
palmitoleato	1507	50	0,0427	0,0854	0,6825	0,6655	0,3285	0,6864
Metabolito-3995	16019	61	0,0428	0,0854	0,6036	0,6655	0,3849	0,6864
Metabolito-2231	9905	61	0,0463	0,0913	0,3818	0,5823	0,6207	0,6868
Metabolito-3165	13142	61	0,0481	0,0939	0,0439	0,3397	0,4996	0,6864
estearato	1358	50	0,0486	0,0939	0,7225	0,6781	0,3214	0,6864
Metabolito-9726	24076	50	0,0504	0,0954	0,6042	0,6655	0,0688	0,5824
serina	12663	50	0,0504	0,0954	0,578	0,6655	0,4331	0,6864
Metabolito-5774	18723	61	0,0514	0,0964	0,8537	0,6996	0,254	0,6864
Metabolito-10933	31518	50	0,0578	0,1062	0,2685	0,5014	0,0197	0,4834
Metabolito-2321	10501	61	0,0918	0,1468	0,3393	0,5814	0,0402	0,4905
Isobar-60-incluye-ácido s-2-hidroxiibutírico-ácido 2-hidroxiisobutírico	22261	61	0,1198	0,1696	0,2887	0,5228	0,0389	0,4905
treonina	12666	50	0,131	0,18	0,3057	0,5383	0,0454	0,5204
Metabolito-2821	11923	61	0,1533	0,1987	5,00E-04	0,0646	0,0098	0,4834
creatina	27718	61	0,1942	0,2211	0,1218	0,3816	0,0183	0,4834
paraxantina	18254	61	0,2253	0,247	0,0823	0,3726	0,013	0,4834
Metabolito-3443	14125	61	0,2434	0,258	0,1778	0,4408	0,0371	0,4905
fructosa	577	50	0,2708	0,2732	0,2032	0,4674	0,0487	0,5204
teofilina	18394	61	0,3262	0,301	0,15	0,414	0,0399	0,4905
alfa-ceto-glutarato	528	61	0,364	0,3232	0,0187	0,2557	0,004	0,432
Metabolito-6346	19402	50	0,4153	0,3451	0,0919	0,3726	0,029	0,4905
Metabolito-8506	21762	61	0,4328	0,3491	0,0711	0,359	0,0227	0,4834
Metabolito-1667	7132	61	0,4557	0,3628	0,1102	0,3726	0,0398	0,4905
cafeína	569	61	0,462	0,3658	0,036	0,3397	0,0114	0,4834

COMPUESTO	COMP_ID	LIB_ID	Control vs. EHNA		Control vs. ESTEATOSIS		EHNA vs. ESTEATOSIS	
			valor p	valor q	valor p	valor q	valor p	valor q
Metabolito-4238	16471	61	0,9278	0,51	0,0226	0,2804	0,0282	0,4905

Ejemplo 5 Características analíticas

Caracterización analítica de compuestos biomarcadores anónimos:

5 La Tabla 14 de más abajo incluye características analíticas de cada una de las isobaras y los metabolitos anónimos enumerados en las Tablas 1-3 y 8-13 anteriores. La tabla incluye, para cada Metabolito enumerado, el ID del Metabolito (ID), el tiempo de retención (TR), el índice de retención (IR), la masa, la biblioteca, y la polaridad obtenida utilizando los métodos analíticos descritos anteriormente. "ID del Metabolito" se refiere al identificador único para ese compuesto en la base de datos interna de la biblioteca química de los autores de la presente invención. "Masa" se refiere a la masa del isótopo C12 del ión parental utilizado en la cuantificación del compuesto. Los valores para la "Biblioteca" proporcionan una indicación del método analítico utilizado para la cuantificación: "50" indica GC-MS y "61", "200" y "201" indica LC-MS. "Polaridad" indica la polaridad del ión cuantitativo que es positiva (+) o negativa (-).

Tabla 14. Características Analíticas de los Metabolitos Anónimos.

ID	Biomarcador	Biblioteca	TR	IR	MASA	Polaridad
1882	Isobar 47 incluye ácido tauroquenosodesoxicólico y ácido taurodesoxicólico	61	15,51	15700,0	498,4	-
5628	Metabolito - 1086	61	4,56	4811,0	294,1	+
6398	Metabolito - 1335	61	8,74	9162,2	367,2	+
6847	Metabolito-1496	61	1,53	1562,0	133,0	-
7933	Metabolito-1911	61	11,42	11799,6	464,1	+
10501	Metabolito- 2321	61	13,44	12940,0	314,3	+
10629	Metabolito- 2386	61	11,94	12150,0	539,2	-
10737	Isobar 1 incluye manosa, fructosa, glucosa, galactosa, alfa-L-sorbopiranososa, Inositol, D-alosa, D-(+)-altrosa, D-psiconona, L-(+)-gulosa, alo-inositol	61	1,45	1481,0	215,0	-
11923	Metabolito - 2821	61	6,80	7980,0	119,1	+
12593	Metabolito-2973	50	4,74	1213,4	281	+
12604	Metabolito-2981	50	5,21	1265,2	210,9	+
12626	Metabolito-3003	50	6,79	1446,6	218,1	+
12754	Metabolito-3075	50	10,36	1857,9	204	+
12757	Metabolito-3078	50	10,65	1887	203,1	+

ES 2 402 142 T3

ID	Biomarcador	Biblioteca	TR	IR	MASA	Polaridad
12761	Metabolito-3081	50	10,89	1911,5	204	+
12763	Metabolito-3083	50	10,94	1916,1	204	+
12769	Metabolito-3089	50	11,28	1951,5	116,9	+
12770	Metabolito-3090	50	11,31	1955	243,1	+
12771	Metabolito-3091	50	11,41	1966,2	232,1	+
12774	Metabolito-3094	50	11,55	1980,6	299	+
12781	Metabolito-3099	50	11,77	2005,2	204	+
12782	Metabolito-3100	50	11,85	2013,2	204	+
12783	Metabolito-3101	50	11,93	2022,2	290	+
12785	Metabolito-3103	50	12,09	2039,8	290,1	+
12789	Metabolito-3107	50	12,21	2053,2	204,1	+
12790	Metabolito-3108	50	12,24	2056,5	246	+
13142	Metabolito-3165	61	8,38	8472,2	265,0	+
13214	Metabolito - 3183	61	9,37	9441,0	295,2	+
13296	Metabolito - 3230	61	3,10	3043,2	245,0	+
13557	Metabolito - 3323	61	14,47	14696,5	624,4	-
13600	Metabolito - 3330	61	14,06	14292,2	514,3	-
15529	Metabolito-3951	61	8,41	8705,4	367,1	+
16016	Metabolito- 3994	61	1,63	1640,4	427,0	+
16019	Metabolito- 3995	61	2,19	2230,0	207,7	-
16138	Metabolito-4080	50	14,02	2270,2	299	+
16308	Metabolito-4147	50	10,07	1767,1	290,2	+
16337	Metabolito-4167	61	11,03	10920,4	286,2	+
16650	Metabolito-4360	50	9,15	1678,2	347,2	+
16665	Metabolito-4364	50	10,66	1852,4	232	+

ES 2 402 142 T3

ID	Biomarcador	Biblioteca	TR	IR	MASA	Polaridad
16666	Metabolito-4365	50	11,05	1892,9	204	+
16819	Metabolito-4496	50	6,76	1398,2	204	+
16829	Metabolito-4503	50	8,39	1589	227,2	+
16865	Metabolito-4522	50	12,26	2025,4	217,1	+
16959	Metabolito-4595	50	5,65	1274,4	130	+
17028	Metabolito-4611	50	8,07	1546,6	292,1	+
17033	Metabolito-4613	61	12,73	12778,0	541,4	-
17068	Metabolito - 4627	61	10,84	11034,9	591,3	+
17304	Metabolito-4759	61	11,80	11906,0	310,2	+
17627	Metabolito-4986	50	11,56	1956,4	204,1	+
18232	Metabolito-5403	50	5,92	1300,2	319	+
18591	Metabolito- 5646	61	8,96	8750,0	228,0	-
18657	Metabolito- 5726	61	14,05	13757,0	417,3	-
18706	Metabolito - 5769	61	11,12	10753,2	485,2	-
18868	Metabolito-5847	50	12,35	2040	288,2	+
18929	Metabolito-5907	50	8,69	1643,2	229,1	+
19363	Metabolito-6227	50	5	1210,5	196,1	+
19368	Metabolito-6267	50	9,32	1704,5	257,1	+
19370	Metabolito-6268	50	9,91	1773,8	271,1	+
19374	Metabolito-6270	50	11,35	1929,6	320,2	+
19402	Metabolito-6346	50	8	1550,8	263,2	+
19490	Metabolito-6488	50	12,25	2021,7	204,1	+
19985	Metabolito-6957	50	11,71	1966	290,1	+
20267	Metabolito - 7187	61	8,38	8500,0	328,0	+
20950	Metabolito-7846	50	5,1	1208,1	145,1	+

ES 2 402 142 T3

ID	Biomarcador	Biblioteca	TR	IR	MASA	Polaridad
21418	Isobar 56 - pipercolato; ácido aminociclopentano-carboxílico	61	2,45	2850,0	130,1	+
21762	Metabolito - 8506	61	8,92	8811,0	475,1	+
22261	Isobar 60 incluye ácido (s)-2-hidroxi-butírico, ácido 2-hidroxiisobutírico	61	4,26	4725,0	148,9	-
24233	Metabolito - 9855	61	11,85	11605,3	462,2	-
24285	Metabolito - 10026	61	9,47	9300,3	259,1	-
27801	Metabolito - 10589	61	15,43	17536,8	619,3	-
30633	Metabolito - 10785	61	11,49	12073,4	363,0	+
30728	Metabolito - 10797	61	10,92	11563,3	352,2	-
31510	Metabolito -10932	61	11,54	11928,0	190,0	+
31529	Metabolito-10941	61	3,60	4101,0	191,8	+
32514	Metabolito-11200	200	5,62	5637	496,4	+
32516	Metabolito-11202	200	5,8	5823	524,4	+
32517	Metabolito-11203	200	5,65	5665	522,4	+
32518	Metabolito-11204	200	5,26	5263	229,2	+
32519	Metabolito-11205	200	5,55	5558	520,4	+
32520	Metabolito-11206	200	0,59	575	138,8	+
32545	Metabolito-11228	201	1,15	1136	278,1	-
32547	Metabolito-11230	201	1,44	1438	278,1	-
32548	Metabolito-11231	201	1,47	1471	330	-
32549	Metabolito-02269	201	1,55	1551	255,1	-
32550	Metabolito-02272	201	1,97	1958	189	-
32551	Metabolito-11234	201	2,01	2001	334,1	-
32552	Metabolito-11235	201	2,04	2033	326,1	-
32553	Metabolito-03832	201	2,2	2199	173,1	-

ES 2 402 142 T3

ID	Biomarcador	Biblioteca	TR	IR	MASA	Polaridad
32557	Metabolito-06126	201	2,69	2684	203,1	-
32559	Metabolito-11242	201	2,96	2958	360	-
32560	Metabolito-07765	201	3,71	3705	245,1	-
32561	Metabolito-11244	201	3,78	3771	224,2	-
32562	Metabolito-11245	201	3,91	3902	238,3	-
32563	Metabolito-11246	201	3,94	3930	143,2	-
32564	Metabolito-11247	201	3,94	3932	213,1	-
32566	Metabolito-11249	200	1,24	1271	280,1	+
32567	Metabolito-11250	200	1,3	1339	150,2	+
32571	Metabolito-11254	200	2,05	2095	328,1	+
32572	Metabolito-11255	200	2,38	2442	247,1	+
32575	Metabolito-11258	200	2,89	2941	362	+
32578	Metabolito-11261	200	3,69	3732	286,2	+
32587	Metabolito-02249	201	4,03	4025	267,2	-
32588	Metabolito-01327	201	4,25	4242	583,2	-
32590	Metabolito-11273	201	4,56	4552	369,2	-
32593	Metabolito-02036	200	4,94	4985	616,2	+
32596	Metabolito-02250	200	5,14	5158	286,2	+
32599	Metabolito-11282	201	4,77	4763	254,8	-
32602	Metabolito-11285	200	5,28	5260	288,1	+
32609	Metabolito-01345	201	4,9	4887	369,2	-
32616	Metabolito-11299	201	4,9	4893	507,2	-
32619	Metabolito-11302	201	5,01	4998	397,3	-
32620	Metabolito-11303	201	5,02	5015	512,3	-
32621	Metabolito-11304	200	0,8	801	217,1	+

ES 2 402 142 T3

ID	Biomarcador	Biblioteca	TR	IR	MASA	Polaridad
32625	Metabolito-11308	201	5,15	5133	365,3	-
32631	Metabolito-11314	200	0,64	634	243	+
32632	Metabolito-11315	200	1,19	1210	130,2	+
32634	Metabolito-11317	201	5,81	5703	219,3	-
32635	Metabolito-11318	201	5,81	5699	476,3	-
32636	Metabolito-11319	201	5,81	5700	269,4	-
32637	Metabolito-11320	201	5,85	5740	593,9	-
32638	Metabolito-11321	201	6,15	5997	569,9	-
32641	Metabolito-11324	201	6,24	6075	596	-
32643	Metabolito-11326	201	6,35	6160	213,2	-
32644	Metabolito-11327	200	5,16	5176	269,2	+
32648	Metabolito-11331	201	0,69	686	164,2	-
32651	Metabolito-11334	200	0,96	982	259,1	+
32652	Metabolito-11335	200	0,97	991	229,2	+
32654	Metabolito-11337	200	1	1020	160,2	+
32656	Metabolito-11339	201	0,69	689	156,2	-
32670	Metabolito-11353	200	0,8	811	203,2	+
32671	Metabolito-11354	200	0,76	770	146,2	+
32672	Metabolito-02546	200	0,75	764	129,2	+
32675	Metabolito-03951	200	1,87	1912	367,1	+
32682	Metabolito-11365	201	5,61	5527	303,3	-
32689	Metabolito-11372	201	5,35	5303	467,4	-
32691	Metabolito-11374	200	0,69	690	370,9	+
32692	Metabolito-11375	200	0,73	732	309,1	+
32694	Metabolito-11377	200	0,77	770	249,2	+

ES 2 402 142 T3

ID	Biomarcador	Biblioteca	TR	IR	MASA	Polaridad
32696	Metabolito-11379	201	5,65	5566	267,3	-
32697	Metabolito-11380	200	1,04	1053	339,8	+
32698	Metabolito-11381	200	1,11	1126	186,2	+
32699	Metabolito-11382	200	1,16	1180	250,8	+
32702	Metabolito-11385	200	1,38	1430	312,1	+
32703	Metabolito-11386	200	1,47	1525	344,1	+
32704	Metabolito-11387	200	1,65	1699	294,1	+
32707	Metabolito-11390	200	2	2041	100,2	+
32709	Metabolito-03056	200	2,21	2264	185,2	+
32710	Metabolito-11393	200	2,34	2403	367,1	+
32717	Metabolito-11400	200	2,81	2855	710,1	+
32718	Metabolito-01342	200	2,8	2848	265,1	+
32722	Metabolito-11405	200	3,02	3075	264,8	+
32729	Metabolito-11412	200	3,78	3836	204,2	+
32732	Metabolito-11415	201	0,69	692	313,1	-
32734	Metabolito-10954	200	4,14	4229	288,2	+
32735	Metabolito-01911	200	4,26	4354	464,1	+
32738	Metabolito-11421	200	4,54	4634	314,2	+
32739	Metabolito-11422	201	0,89	884	151,1	-
32740	Metabolito-11423	201	1,05	1038	260,1	-
32741	Metabolito-11424	200	4,58	4664	227,1	+
32744	Metabolito-11427	201	1,16	1145	181,1	-
32746	Metabolito-11429	201	1,16	1151	245,1	-
32747	Metabolito-01142	201	1,19	1176	117,2	-
32748	Metabolito-11431	201	1,58	1575	330	-

ES 2 402 142 T3

ID	Biomarcador	Biblioteca	TR	IR	MASA	Polaridad
32749	Metabolito-11432	201	1,89	1886	292,1	-
32751	Metabolito-11434	201	2,11	2107	370,1	-
32752	Metabolito-11435	201	2,14	2131	365,1	-
32753	Metabolito-09789	201	2,62	2613	153,1	-
32754	Metabolito-11437	201	2,89	2888	231	-
32755	Metabolito-11438	201	3,1	3092	241,2	-
32756	Metabolito-02276	201	3,35	3339	199,1	-
32757	Metabolito-11440	201	3,58	3571	246,3	-
32758	Metabolito-11441	201	3,78	3773	331,1	-
32759	Metabolito-11442	201	3,91	3902	331,1	-
32760	Metabolito-11443	201	3,92	3910	225,3	-
32761	Metabolito-11444	201	3,99	3983	541,2	-
32762	Metabolito-11445	201	4,01	3995	239,3	-
32764	Metabolito-11447	200	0,98	989	278,1	+
32767	Metabolito-11450	201	4,11	4103	224,2	-
32769	Metabolito-11452	201	4,12	4109	352,1	-
32776	Metabolito-11459	200	2,49	2545	246,2	+
32786	Metabolito-11469	200	3,82	3874	239,1	+
32787	Metabolito-11470	201	4,16	4151	525,2	-
32792	Metabolito-11475	201	4,25	4240	383,2	-
32793	Metabolito-11476	200	4,52	4616	189,1	+
32795	Metabolito-11478	201	4,3	4286	165,2	-
32797	Metabolito-11480	201	4,42	4406	229	-
32800	Metabolito-11483	201	4,45	4443	505,2	-
32802	Metabolito-11485	201	4,49	4478	378,2	-

ES 2 402 142 T3

ID	Biomarcador	Biblioteca	TR	IR	MASA	Polaridad
32807	Metabolito-11490	201	4,77	4762	279,8	-
32808	Metabolito-11491	201	4,85	4846	567,3	-
32813	Metabolito-11496	201	5,58	5508	271,3	-
32814	Metabolito-11497	201	5,37	5324	233,3	-
32815	Metabolito-11498	201	5,78	5674	500,3	-
32822	Metabolito-11505	201	1,61	1614	101,2	-
32825	Metabolito-11508	201	2,97	2987	173,2	-
32827	Metabolito-11510	201	3,92	3925	385,2	-
32829	Metabolito-03653	200	0,82	826	144,2	+
32838	Metabolito-11521	200	3,71	3755	286,2	+
32839	Metabolito-11522	201	4,76	4754	313,2	-
32845	Metabolito-11528	200	4,74	4832	316,3	+
32846	Metabolito-11529	201	4,85	4845	624,3	-
32847	Metabolito-11530	201	4,87	4866	313,2	-
32848	Metabolito-11531	201	4,86	4850	391,3	-
32854	Metabolito-11537	200	5,14	5160	366,3	+
32855	Metabolito-11538	201	4,93	4920	311,3	-
32858	Metabolito-11541	201	4,99	4984	399	-
32863	Metabolito-11546	201	5,02	5015	448,4	-
32865	Metabolito-11548	201	5,09	5081	391,3	-
32866	Metabolito-11549	201	5,11	5093	339,3	-
32878	Metabolito-11561	201	1,26	1252	267,1	-
32879	Metabolito-11562	201	0,98	972	197,1	-
32880	Metabolito-11563	201	0,98	971	115,2	-
32881	Metabolito-11564	201	1,2	1188	177,1	-

ES 2 402 142 T3

ID	Biomarcador	Biblioteca	TR	IR	MASA	Polaridad
32910	Metabolito-11593	201	0,79	790	189,2	-
32912	Metabolito-11595	201	0,92	919	665	-
32914	Metabolito-11597	201	1	991	665	-
32926	Metabolito-11609	201	1,48	1490	310,1	-
32945	Metabolito-11628	201	3,14	3133	360,1	-
32952	Metabolito-02277	201	3,61	3604	201,1	-
32954	Metabolito-06132	201	3,66	3655	321,1	-
32965	Metabolito-11648	201	4,84	4819	534,3	-
32970	Metabolito-11653	201	5,82	5686	331,3	-
32971	Metabolito-11654	200	2,53	2500	246,2	+
32978	Metabolito-11656	200	0,6	612	227	+
33012	Metabolito-11674	200	1,14	1151	189,1	+
33072	Metabolito-11727	200	0,71	709	241	+
33073	Metabolito-11728	200	0,8	804	427	+
33084	Metabolito-11739	200	3,15	3239	769	+
33131	Metabolito-11786	200	0,87	864	136	+
33132	Metabolito-11787	200	1,13	1126	148,1	+
33133	Metabolito-11788	200	1,17	1161	245	+
33138	Metabolito-11793	200	3,57	3634	601,1	+
33140	Metabolito-11795	200	1,46	1457	148,1	+
33154	Metabolito-11809	200	5,23	5248	381,5	+
33159	Metabolito-11814	200	2,39	2372	152,1	+
33163	Metabolito-11818	200	2,56	2535	146,1	+
33169	Metabolito-11824	201	1,4	1402	326,1	-
33171	Metabolito-11826	201	1,48	1489	194,1	-

ES 2 402 142 T3

ID	Biomarcador	Biblioteca	TR	IR	MASA	Polaridad
33173	Metabolito-11828	201	1,69	1703	246,1	-
33174	Metabolito-11829	201	1,8	1813	230	-
33178	Metabolito-11833	201	1,97	1977	260,1	-
33183	Metabolito-11838	201	2,3	2314	276	-
33188	Metabolito-11843	201	2,69	2710	230,1	-
33190	Metabolito-11845	201	2,87	2891	615	-
33192	Metabolito-11847	201	3,05	3074	259,2	-
33194	Metabolito-11849	201	3,2	3229	266,2	-
33198	Metabolito-11853	201	3,59	3602	187,1	-
33203	Metabolito-11858	201	4,42	4400	437,1	-
33206	Metabolito-11861	201	4,63	4617	229,2	-
33209	Metabolito-11864	201	5,02	5012	280,9	-
33216	Metabolito-11871	200	5,25	5249	370,3	+
33219	Metabolito-11874	201	5,23	5199	197,3	-
33225	Metabolito-11880	201	5,44	5378	537,4	-
33227	Metabolito-11882	201	5,52	5445	301,3	-
33228	Metabolito-11883	200	5,54	5524	544,3	+
33232	Metabolito-11887	201	5,85	5736	307,4	-
33237	Metabolito-11892	201	0,71	710	367,1	-
33242	Metabolito-11897	201	1,69	1664	292,1	-
33248	Metabolito-11903	201	2,53	2484	283,1	-
33250	Metabolito-11905	201	4,44	4401	283,2	-
33252	Metabolito-11907	201	5,06	5036	313,3	-
33254	Metabolito-11909	201	5,3	5272	297,3	-
33258	Metabolito-11913	201	5,43	5402	275,3	-

ES 2 402 142 T3

ID	Biomarcador	Biblioteca	TR	IR	MASA	Polaridad
33265	Metabolito-11920	200	0,68	686	268,1	+
33323	Metabolito-11977	200	3,21	3287	270,1	+
33366	Metabolito-12020	200	5,15	5178	424,4	+
33380	Metabolito-12029	201	0,68	683	329,1	-

Si bien la invención se ha descrito en detalle y con referencia a realizaciones específicas de la misma, resultará evidente para un experto en la técnica que se pueden realizar diversos cambios y modificaciones sin apartarse del alcance de la invención.

REIVINDICACIONES

1. Un método para diagnosticar si un sujeto tiene, o está predispuesto a, esteatohepatitis, que comprende:
 analizar una muestra biológica de un sujeto para determinar el nivel de glicocolato en la muestra, y
 comparar el nivel de glicocolato en la muestra con niveles de referencia de glicocolato positivos para esteatohepatitis y/o negativos para esteatohepatitis con el fin de diagnosticar si el sujeto tiene, o está predispuesto a, esteatohepatitis.
 5
2. El método de la reivindicación 1, que comprende adicionalmente analizar la muestra biológica para determinar el nivel o los niveles de uno o más biomarcadores adicionales para la esteatohepatitis en la muestra, en donde los uno o más biomarcadores adicionales se seleccionan de las Tablas 1, 3, 4B, 6B, 9, 10, 11, 12, 13, y/o la Figura 2 y/o 3, y
 10
 comparar el nivel o los niveles de los uno o más biomarcadores adicionales en la muestra con niveles de referencia de los uno o más biomarcadores adicionales positivos para esteatohepatitis y/o negativos para esteatohepatitis con el fin de diagnosticar si el sujeto tiene, o está predispuesto a, esteatohepatitis.
3. El método de la reivindicación 2, en donde el método es un método para diagnosticar si un sujeto tiene esteatohepatitis y en donde los uno o más biomarcadores adicionales se seleccionan entre los biomarcadores de las Tablas 1, 3, 4B, 6B, 9, 10, 11, 12, 13, y/o la Figura 2 y/o 3 que tienen valores p de menos de 0,05 y/o los biomarcadores de las Tablas 1, 3, 4B, 6B, 9, 10, 11, 12, 13, y/o la Figura 2 y/o 3 que tienen valores q de menos de 0,10.
 15
4. El método de la reivindicación 2, en donde el método es un método para diagnosticar si un sujeto tiene esteatohepatitis y en donde la muestra analizada es de un sujeto masculino y los biomarcadores se seleccionan de la Tabla 12.
5. El método de la reivindicación 2, en donde el método es un método para diagnosticar si un sujeto tiene esteatohepatitis y en donde la muestra analizada es de un sujeto femenino y los biomarcadores se seleccionan de la Tabla 13.
 20
6. El método de una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde el método es un método para diagnosticar si un sujeto tiene esteatohepatitis y en donde la muestra se analiza utilizando una o más técnicas seleccionadas del grupo que consiste de espectrometría de masas, reacciones enzimáticas o bioquímicas, química clínica, ELISA, y unión de anticuerpos.
 25
7. Un método de acuerdo con la reivindicación 2, en donde el método es un método para determinar si un sujeto está predispuesto a desarrollar esteatohepatitis y
 30
 el nivel o los niveles de glicocolato y los uno o más biomarcadores adicionales en la muestra se comparan con niveles de referencia de glicocolato y los uno o más biomarcadores adicionales positivos para esteatohepatitis y/o negativos para esteatohepatitis con el fin de determinar si el sujeto está predispuesto a desarrollar esteatohepatitis.
8. Un método para verificar el progreso/regresión de la esteatohepatitis en un sujeto que comprende:
 35
 analizar una primera muestra biológica de un sujeto para determinar el nivel o los niveles de glicocolato y opcionalmente uno o más biomarcadores adicionales para la esteatohepatitis en la muestra, en donde los uno o más biomarcadores se seleccionan de las Tablas 1, 3, 4B, 6B, 9, 10, 11, 12, 13, y/o la Figura 2 y/o 3 y la primera muestra se obtiene del sujeto en un primer momento;
 analizar una segunda muestra biológica de un sujeto para determinar el nivel o los niveles de glicocolato y opcionalmente los uno o más biomarcadores adicionales, en donde la segunda muestra se obtiene del sujeto en un segundo momento; y
 40
 comparar el nivel o los niveles de glicocolato y opcionalmente los uno o más biomarcadores adicionales en la primera muestra con el nivel o los niveles de glicocolato y opcionalmente los uno o más biomarcadores adicionales en la segunda muestra con el fin de verificar el progreso/regresión de la esteatohepatitis en el sujeto.
9. Un método para evaluar la eficacia de una composición para el tratamiento de la esteatohepatitis que comprende:
 45
 analizar, a partir de un sujeto que tiene esteatohepatitis y tratado actualmente o previamente con una composición, una muestra biológica para determinar el nivel o los niveles de glicocolato y opcionalmente uno o más biomarcadores adicionales para la esteatohepatitis seleccionados de las Tablas 1, 3, 4B, 6B, 9, 10, 11, 12, 13, y/o la Figura 2 y/o 3; y

- comparar el o los niveles de glicocolato y opcionalmente los uno o más biomarcadores adicionales en la muestra con (a) niveles de glicocolato y opcionalmente los uno o más biomarcadores adicionales en una muestra biológica tomada previamente del sujeto, en donde la muestra biológica tomada previamente se obtuvo del sujeto antes de ser tratado con la composición, (b) niveles de referencia de glicocolato y opcionalmente los uno o más biomarcadores adicionales positivos para esteatohepatitis, y/o (c) niveles de referencia de glicocolato y opcionalmente los uno o más biomarcadores adicionales negativos para esteatohepatitis.
- 5
10. Un método para evaluar la eficacia de una composición en el tratamiento de la esteatohepatitis, que comprende:
- analizar una primera muestra biológica de un sujeto para determinar el nivel o los niveles de glicocolato y opcionalmente uno o más biomarcadores adicionales para la esteatohepatitis seleccionados de las Tablas 1, 3, 4B, 6B, 9, 10, 11, 12, 13, y/o la Figura 2 y/o 3, la primera muestra obtenida del sujeto en un primer momento;
- 10
- analizar una segunda muestra biológica del sujeto al que se ha administrado la composición para determinar el nivel o los niveles de glicocolato y opcionalmente los uno o más biomarcadores adicionales, la segunda muestra obtenida del sujeto en un segundo momento después de la administración de la composición; y
- comparar el nivel o los niveles de glicocolato y, opcionalmente, los uno o más biomarcadores adicionales en la primera muestra con el nivel o los niveles de glicocolato y opcionalmente los uno o más biomarcadores adicionales en la segunda muestra con el fin de evaluar la eficacia de la composición para el tratamiento de la esteatohepatitis.
- 15
11. Un método para escrutar una composición para determinar su actividad en la modulación del glicocolato y opcionalmente uno o más biomarcadores adicionales de la esteatohepatitis, que comprende:
- poner en contacto una o más células con una composición;
- 20
- analizar al menos una porción de las una o más células o una muestra biológica asociada a las células para determinar el nivel o los niveles de glicocolato y opcionalmente uno o más biomarcadores adicionales de la esteatohepatitis seleccionados de las Tablas 1, 3, 4B, 6B, 9, 10, 11, 12, 13, y/o la Figura 2 y/o 3; y
- comparar el nivel o los niveles de glicocolato y opcionalmente los uno o más biomarcadores adicionales con niveles patrón predeterminados para el glicocolato y opcionalmente los uno o más biomarcadores adicionales para determinar si la composición modula el nivel o los niveles de glicocolato y opcionalmente los uno o más biomarcadores adicionales.
- 25
12. El uso in vitro de un biomarcador, o una pluralidad de biomarcadores, en el diagnóstico de la esteatohepatitis, en donde dicho biomarcador o pluralidad de biomarcadores comprenden glicocolato y opcionalmente uno o más biomarcadores adicionales seleccionados de las Tablas 1, 3, 4B, 6B, 9, 10, 11, 12, 13, y/o la Figura 2 y/o 3.
- 30
13. Un método para distinguir la enfermedad del hígado graso no alcohólico (EHGNA) de la esteatohepatitis no alcohólica (EHNA) en un sujeto que tiene una enfermedad o trastorno del hígado, que comprende:
- analizar una muestra biológica de un sujeto para determinar el nivel o los niveles de glicocolato y opcionalmente uno o más biomarcadores adicionales para EHGNA y/o EHNA en la muestra, en donde los uno o más biomarcadores se seleccionan de las Tablas 1, 2, 3, 4b, 5b, 6B, 8, 9, 10, 11, 12, 13, y las Figuras 1,2,3
- 35
- comparar el nivel o los niveles de glicocolato y opcionalmente los uno o más biomarcadores adicionales en la muestra con niveles de referencia positivos para EHGNA que la distinguen de EHNA y/o niveles de referencia positivos para EHNA que la distinguen de EHGNA con el fin de determinar si el sujeto tiene EHNA.
- 40
14. El método de la reivindicación 1, que comprende adicionalmente analizar la muestra biológica del sujeto para determinar el nivel o los niveles de uno o más biomarcadores adicionales para la esteatohepatitis en la muestra, en donde los uno o más biomarcadores adicionales se seleccionan del grupo que consiste de glicocolato, taurocolato, butirilcarnitina, gamma-glutamiltirosina, quinurenina, glutamilvalina, gamma-glutamifenilalanina, gamma-glutamil leucina, glutamato, carnitina, propionilcarnitina, y combinaciones de los mismos, y
- comparar el nivel o los niveles de los uno o más biomarcadores adicionales en la muestra con niveles de referencia de los uno o más biomarcadores adicionales positivos para esteatohepatitis y/o negativos para esteatohepatitis con el fin de diagnosticar si el sujeto tiene, o está predisuesto a, esteatohepatitis.
- 45
15. El método de la reivindicación 14, en donde la muestra biológica se analiza utilizando una o más técnicas seleccionadas del grupo que consiste de espectrometría de masas, reacciones enzimáticas o bioquímicas, química clínica, ELISA, y unión de anticuerpos.
- 50
16. El método de la reivindicación 15, en donde la muestra biológica es una muestra de plasma o una muestra de orina.

17. El método de la reivindicación 14, en donde los uno o más biomarcadores adicionales se seleccionan del grupo que consiste en glicoquenodesoxicolato, taurocolato, y combinaciones de los mismos.

Gráfico de Importancia: Control vs Esteatosis

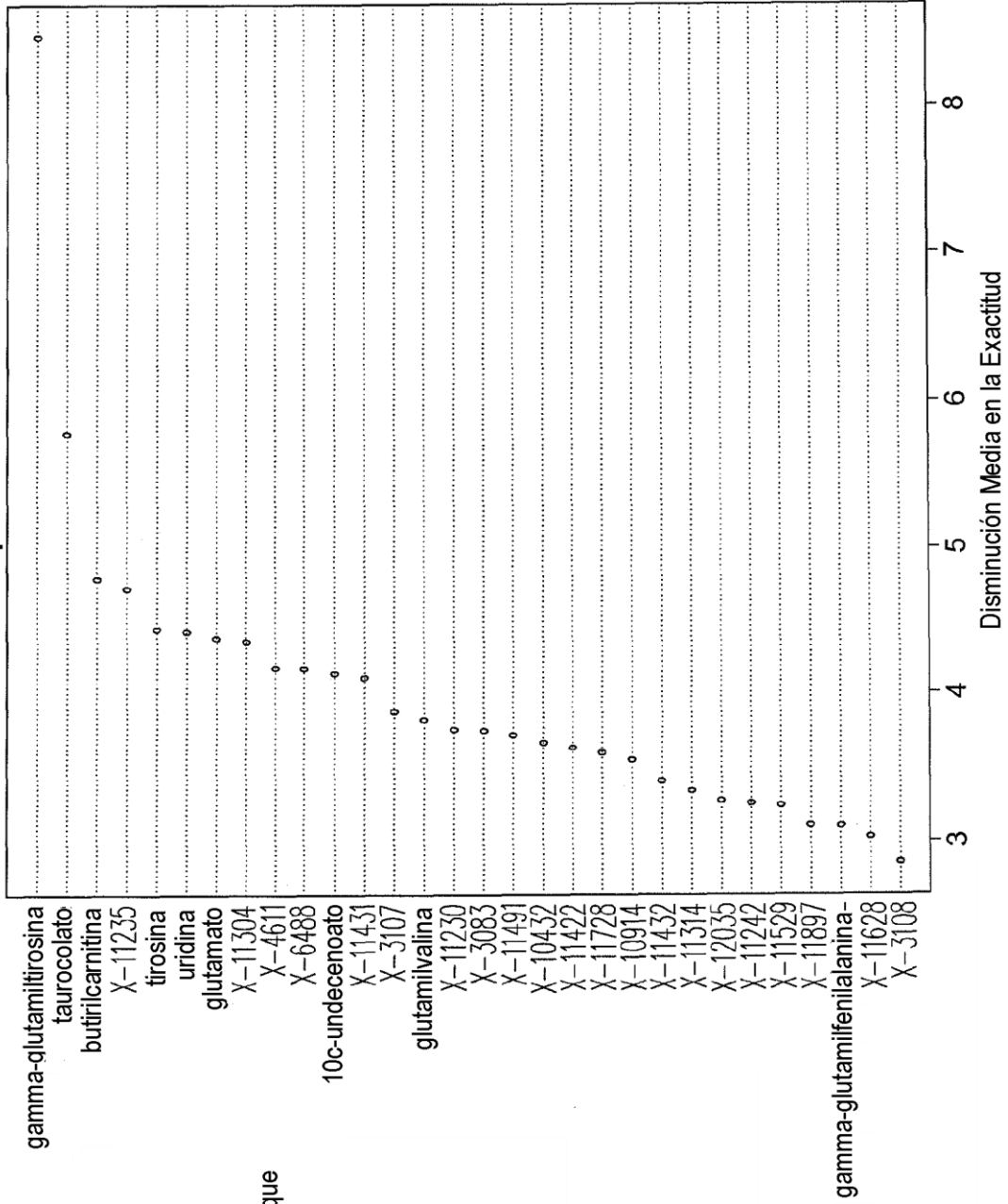


FIG. 1

Gráfico de Importancia RF, compuestos biomarcadores que son útiles para distinguir los sujetos de control y los sujetos con esteatosis

Gráfico de Importancia: Control vs EHNA

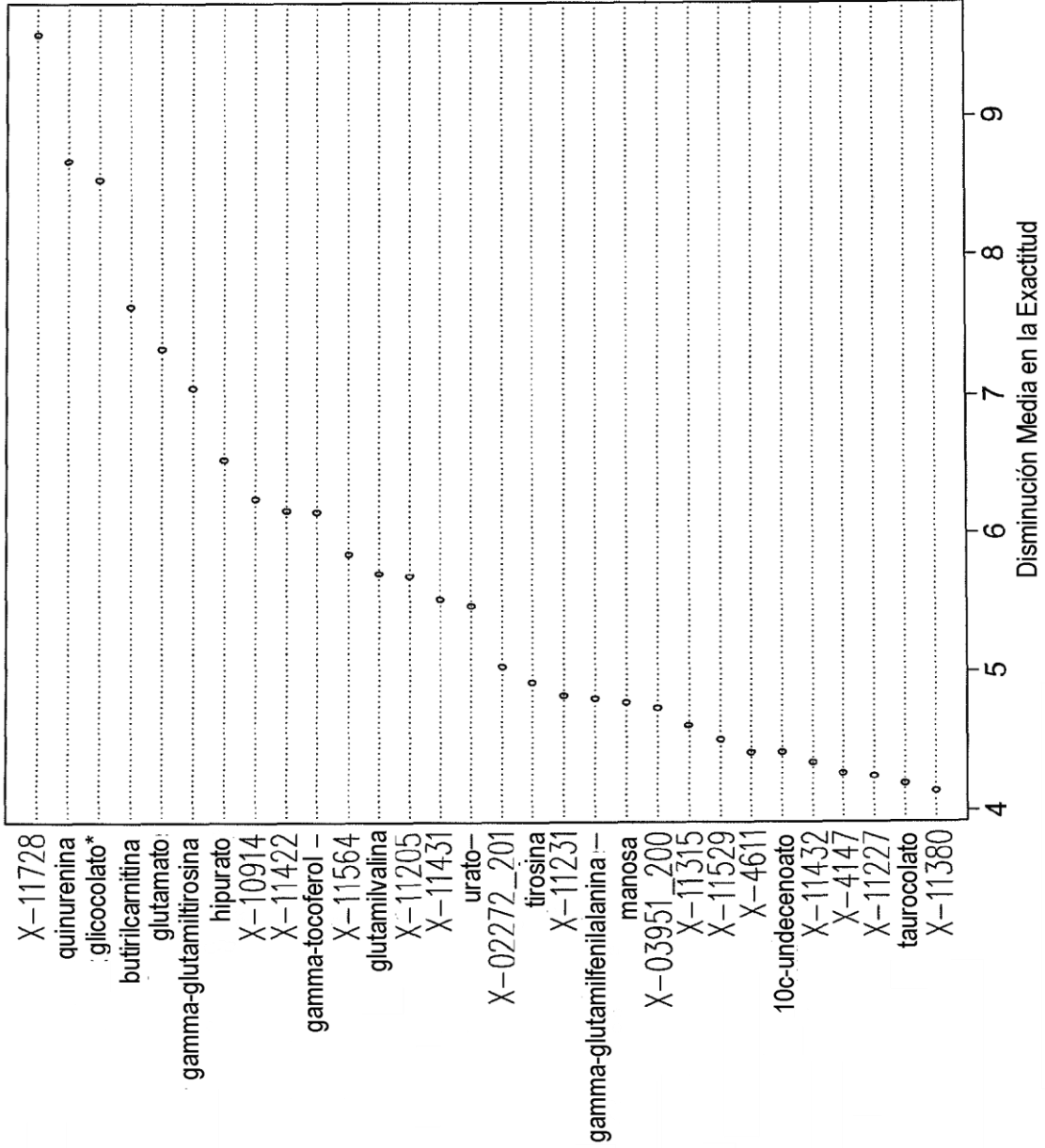


FIG. 2

Gráfico de Importancia RF. compuestos biomarcadores que son útiles para distinguir sujetos de Control de sujetos con esteatohepatitis (EHNA)

Gráfico de Importancia: Control vs EHNA vs Esteatosis

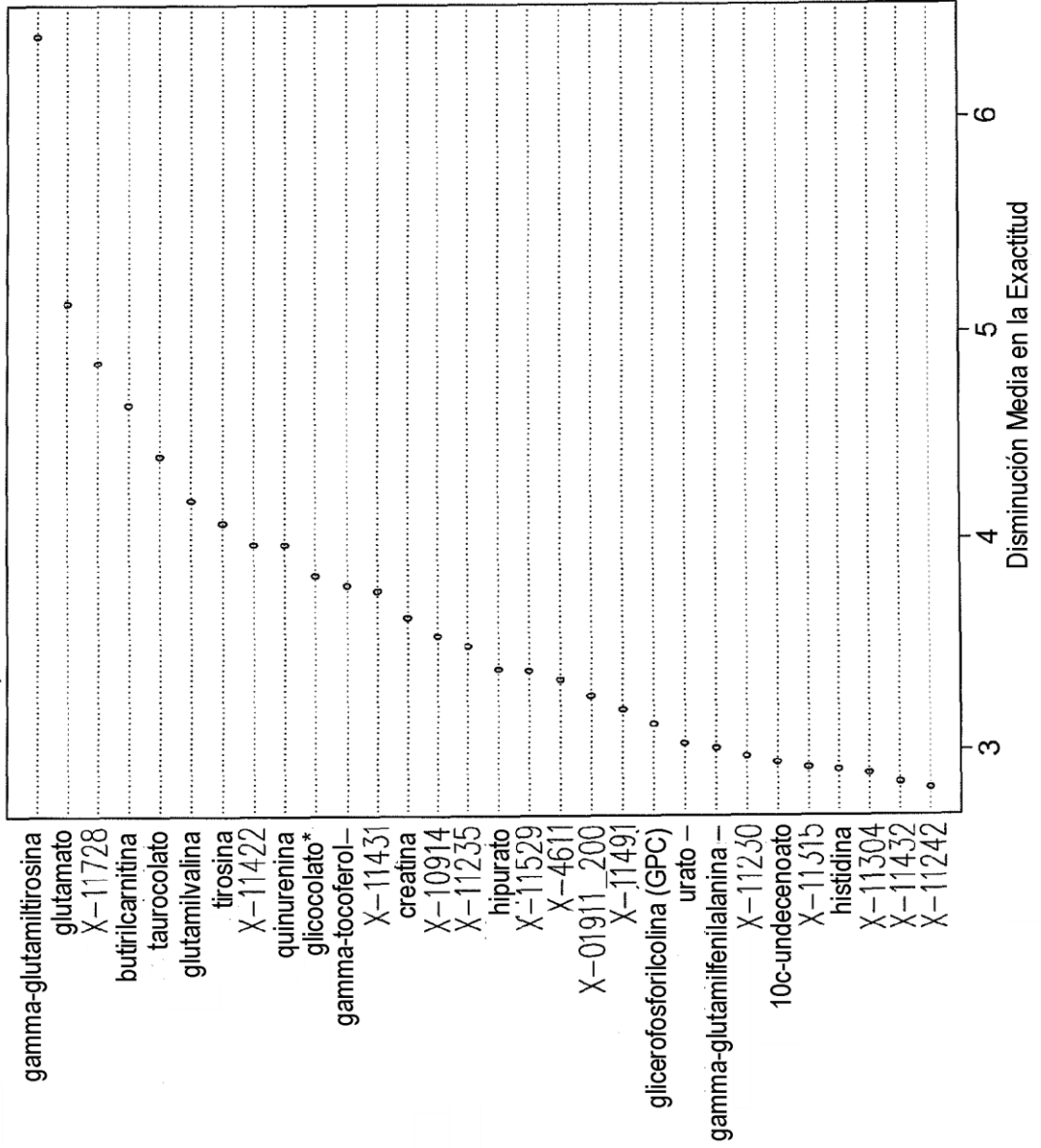


FIG. 3

Gráfico de Importancia RF, compuestos biomarcadores que son útiles para distinguir sujetos sanos (control), con esteatosis, con esteatohepatitis (EH).

FIG. 4

PR y ROC de Esteatosis (Derecha) vs Control (Izquierda)

Primera División de la Partición Recursiva

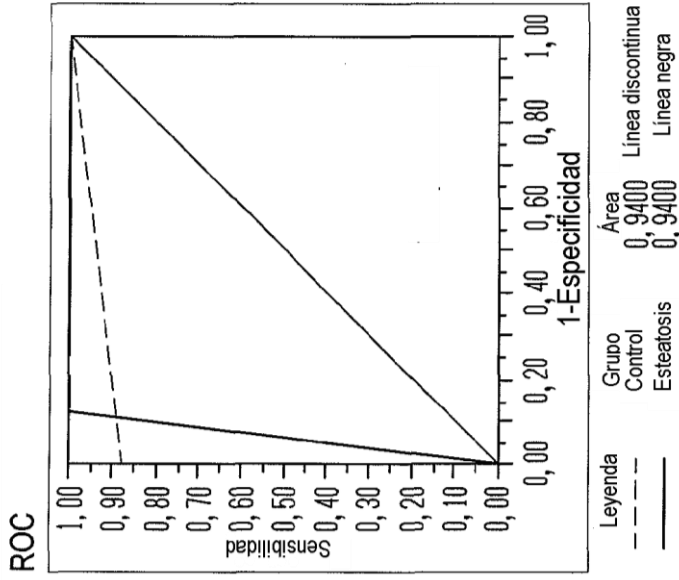
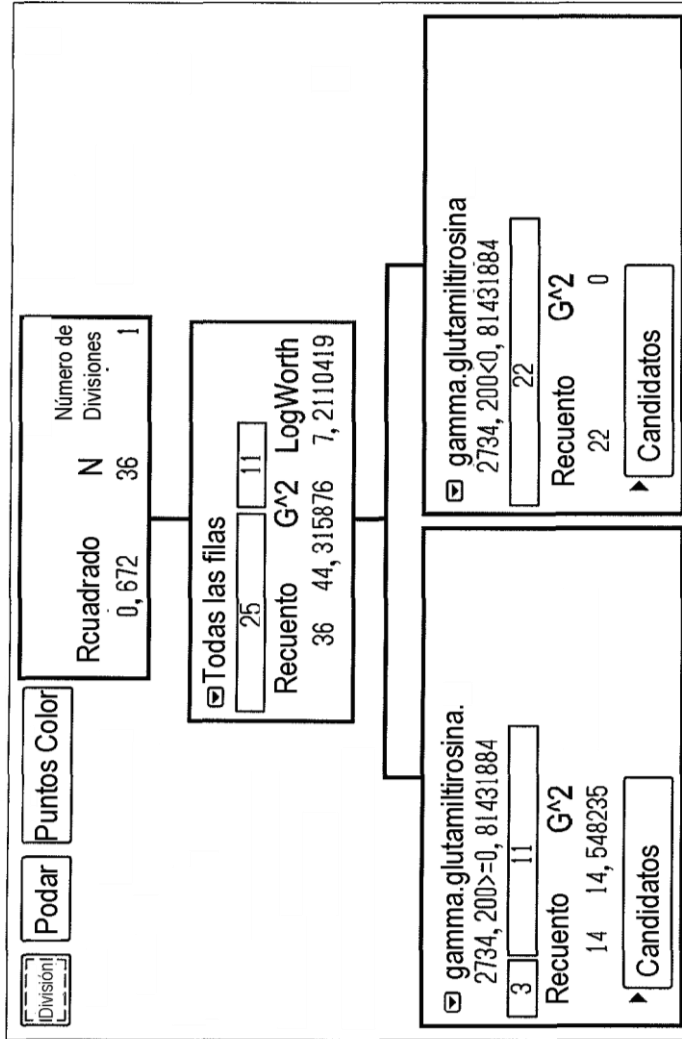


FIG. 5
 PR y ROC de Esteatosis (Casilla derecha) vs EHNA (Casilla Izquierda)

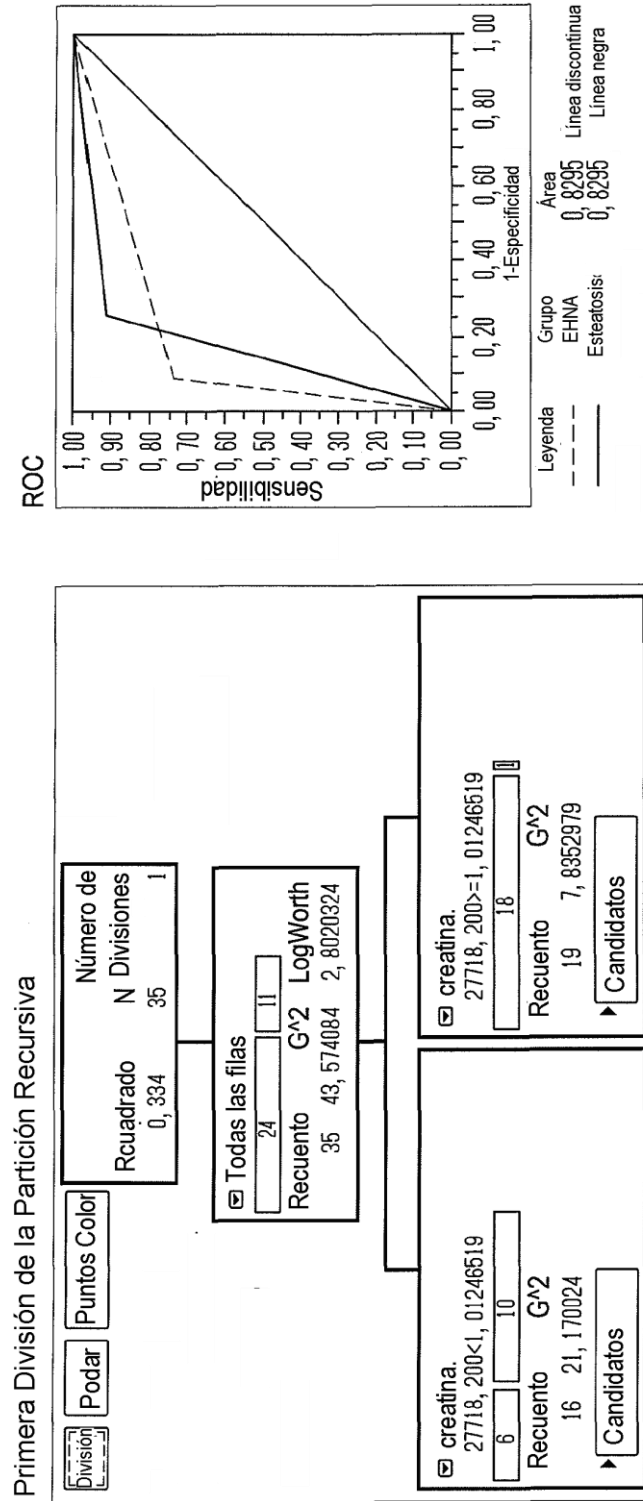


FIG. 6

PR y ROC de Control (Casilla izquierda) vs Esteatohepatitis EHNA (Casilla derecha)

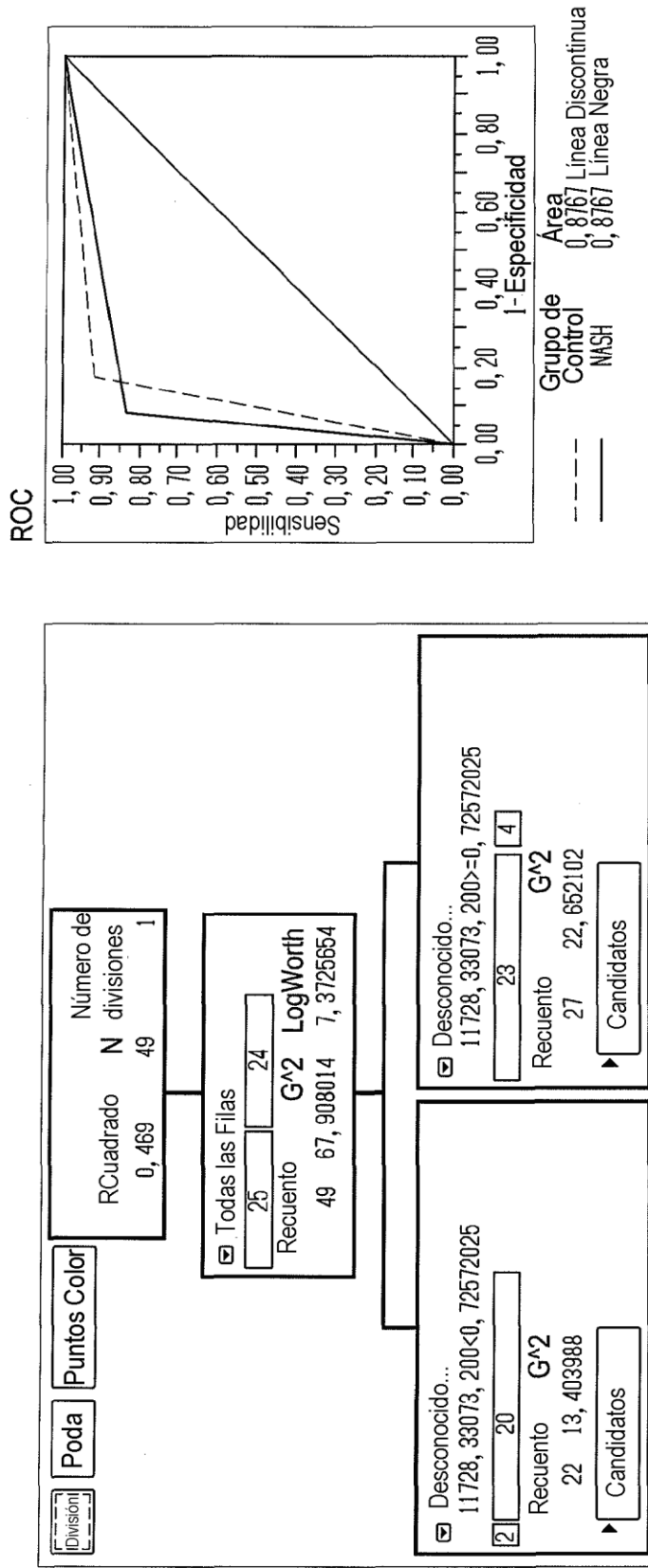


FIG. 7

PR y ROC de EHNA (Casilla intermedia) vs Esteatosis (Casilla derecha) vs Control (Casilla izquierda)

