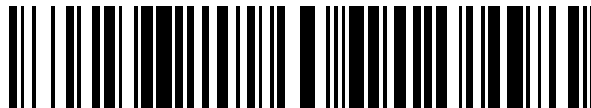


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 665 621**

51 Int. Cl.:

**G01N 33/92** (2006.01)

**G01N 33/68** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **26.11.2010** E 15158409 (1)

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **10.01.2018** EP 2944964

54 Título: **Biomarcadores lipídicos para la enfermedad cardiaca estable e inestable**

30 Prioridad:

**27.11.2009 US 264767 P**

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

**26.04.2018**

73 Titular/es:

**BAKER IDI HEART AND DIABETES INSTITUTE  
HOLDINGS LTD (100.0%)  
75 Commercial Road  
Melbourne VIC, AU**

72 Inventor/es:

**MEIKLE, PETER JOHN;  
HAVIV, IZHAK;  
KINGWELL, BRONWYN ANNE;  
BEDO, JUSTIN y  
GOUDEY, BENJAMIN**

74 Agente/Representante:

**TEMIÑO CENICEROS, Ignacio**

ES 2 665 621 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 lipídicos para la enfermedad cardiaca estable e inestable

Campo de la invención

5 La presente invención se refiere, en general, al campo de los ensayos de diagnóstico y pronóstico para la enfermedad cardiaca. Más particularmente, la presente invención proporciona un ensayo para estratificar un sujeto con respecto a la enfermedad cardiaca. El ensayo de la presente invención también es capaz de integrarse en la arquitectura de la patología para proporcionar un sistema de diagnóstico y elaboración de informes.

Antecedentes

10 Los datos bibliográficos de las referencias proporcionadas en la presente memoria descriptiva se enumeran al final de la misma.

La referencia a cualquier técnica anterior no se toma, ni debe tomarse, como un reconocimiento ni cualquier forma de sugerencia de que esta técnica anterior forme parte del conocimiento general común de ningún país.

15 La aterosclerosis (AS) es la causa más común de enfermedad cardiaca y es el principal contribuyente al desarrollo de la angina de pecho, los ataques cardíacos y la apoplejía. A pesar de la introducción de la terapia a base de estatinas para reducir los niveles de lipoproteínas de baja densidad (LDL) en plasma, la epidemia de la enfermedad cardiaca se lleva decenas de miles de vidas cada año, especialmente en los países occidentales, y le cuesta al sistema sanitario miles de millones de dólares al año (Encuesta Nacional de Salud: Resumen de los resultados, Australia, 2004-05, N° de cat. 4364,0, ABS, Canberra, Vol: Australian Bureau of Statistics, 2006, (AIHW) AloHaW. "Health system expenditure on disease and injury in Australia, 2000-01". Health and Welfare Expenditure Series No. 20 19, 2004; HWE 26).

25 La aterosclerosis se comienza a desarrollar a una edad temprana y va progresando con el tiempo. Sin embargo, la velocidad de progresión es, en gran medida, impredecible y difiere notablemente entre individuos aparentemente comparables. Uno de los primeros hechos que conducen a la aterosclerosis es la formación de "estrías grasas", depósitos de monocitos, macrófagos, células espumosas y lípidos dentro de la íntima de la pared arterial. Existen estrías grasas en la mayoría de los adultos y pueden permanecer como estrías grasas durante años o décadas, con pocos o ningún efecto clínico adverso. Algunas, pero no todas, las estrías grasas progresan a placas de fibrolípidos, que se distinguen por la presencia de células del músculo liso y el aumento de las fibras extracelulares dentro de la íntima. La muerte celular dentro de la placa conduce a la formación de un núcleo necrótico, a la acumulación de material extracelular y a la formación de la placa compleja. En esta etapa, la placa puede restringir gravemente el flujo sanguíneo, conduciendo a una serie de complicaciones clínicas. Sin embargo, muchas personas no serán conscientes del problema y no presentarán síntomas.

35 Las placas complejas pueden convertirse en inestables (una placa "vulnerable") como resultado del adelgazamiento de la capa de células del músculo liso sobre la placa. Las placas inestables pueden romperse, conduciendo a la trombosis, al infarto de miocardio y a la apoplejía con morbilidad y mortalidad asociadas (el paciente "vulnerable"). Aunque la acumulación y el desarrollo de la placa son progresivos a lo largo de la vida, el cambio de placa estable a placa inestable puede ocurrir antes o después en el proceso patológico. Así pues, una persona de 45 años con niveles relativamente bajos de placa puede volverse inestable, conduciendo a un accidente coronario.

40 A pesar del conocimiento detallado que existe acerca de la patología y la progresión de la placa, muchas personas no tienen síntomas clínicos y, por lo tanto, no son conscientes del riesgo que corren. En del 30 al 50 % de estas personas, el primer indicador de aterosclerosis es un ataque cardíaco agudo que suele ser fatal (Estadísticas de la enfermedad cardiaca y apoplejía- actualización del 2006, Dallas TX: Asociación Estadounidense del Corazón, 2006, Disponible en [http://www.americanheart.org/downloadable/heart/1198257493273HS\\_Stats%202008.pdf](http://www.americanheart.org/downloadable/heart/1198257493273HS_Stats%202008.pdf))

45 El documento WO 2008/118413 divulga marcadores en la sangre para detectar la enfermedad de las arterias coronarias. Los niveles de estos marcadores se divulgan por ser indicativos de que un paciente está en riesgo de tener o de desarrollar enfermedad de arterias coronarias.

Holland et al (Endocrine Reviews, 2008, volumen 29, No. 4, páginas 381-402) revisan el papel de la ceramida y otros metabolitos de esfingolípidos en la resistencia a la insulina, la insuficiencia de células  $\beta$ , la cardiomiopatía y la disfunción vascular, centrándose en estudios in vivo que identifican enzimas que controlan el metabolismo de los esfingolípidos como objetivos terapéuticos para combatir la enfermedad metabólica.

50 Mukhin et al (Atherosclerosis, 1992, vol 93, No. 3, páginas 173-177) investigaron el contenido y la composición de glicoesfingolípidos neutros (GSL) en las células aisladas por digestión enzimática a partir de capas íntimas elásticas-

hiperplásicas y músculo-elásticas de regiones extremadamente normales y ateroscleróticas de la aorta humana. El estudio observó una elevación del nivel de GSL neutro en células de lesiones ateroscleróticas de la íntima aórtica humana.

5 El documento US 2007/265216 divulga un método de tratamiento de un mamífero vivo que tiene cardiomiopatía diabética que comprende administrar una cantidad efectiva de un inhibidor al mamífero, realizar un análisis lipídico de escopeta en el mamífero y determinar que el tratamiento fue exitoso cuando y si los niveles de cardioplipina en la biopsia en suero o tejido aumentan y/o disminuyen los niveles de lisocardioplipina.

10 El documento WO 03/028271 divulga métodos para usar datos de metabolitos lipídicos cuantitativos y/o comparativos, particularmente para identificar e interpretar perfiles metabolómicos individuales como indicativos de estado metabólico. Los métodos se divulgan para permitir el análisis de la probabilidad o progresión de aumento de peso o pérdida de peso, crecimiento o emaciación, obesidad, diabetes y envejecimiento en un individuo en base a mediciones de la medición de la cantidad de uno o más biomarcadores de lípidos, perfiles de tales marcadores, o proporciones de tales marcadores.

15 Ichi et al. (Nutrition, 2007, vol.23, No. 7-8, páginas 570 - 574) examinaron si las dietas enriquecidas en grasa y colesterol afectan el metabolismo de la ceramida. Se describe una relación entre los marcadores lipídicos de la aterosclerosis tales como las concentraciones de colesterol, triacilglicerol y ceramida.

20 Michael et al (Circulation, 1997, vol 96, No. 8, páginas 2520 - 2525) examinaron las interrelaciones de triglicéridos en ayunas, otros parámetros lipídicos y factores de riesgo no lipídicos con riesgo de infarto de miocardio entre 340 casos y un número igual de sujetos de control emparejados por edad, sexo y comunidad. El estudio revela que los triglicéridos en ayunas, como marcador de las lipoproteínas ricas en triglicéridos, pueden proporcionar información sobre el potencial aterogénico del perfil de las lipoproteínas.

25 Clarke et al. (New Engl. J. Med, 1971, volumen 284, No. 5, páginas 1085-1086) divulgan estudios histológicos, histoquímicos y de microscopía electrónica de tejido renal obtenidos mediante biopsia abierta de dos hombres no relacionados con proteinuria inexplicada que revelaron cambios típicos de la trihexosidosis por ceramida (enfermedad de Fabry) aunque ninguno de los pacientes presentó otras manifestaciones de la enfermedad. También se encontraron actividades disminuidas de la hidrolasa lisosomal leucocitaria,  $\alpha$ -galactosidasa, en ambos pacientes.

Se necesita un ensayo no invasivo para identificar y monitorizar las enfermedades cardíacas.

### Sumario

30 Cada realización descrita en el presente documento se va a aplicar, *mutatis mutandis*, a todas y cada una de las realizaciones, a menos que se especifique lo contrario.

La presente invención aplica una metodología lipídica para identificar la presencia, o ausencia de la enfermedad cardíaca.

35 Por lo tanto, se identifica una asociación entre el nivel de analitos lipídicos en un sujeto y la enfermedad cardíaca. El término "analito" incluye biomarcador e indicador. "Enfermedad cardíaca" pretende significar una afección individual, así como un conjunto de afecciones dentro del espectro clínico de la enfermedad cardíaca sintomática o asintomática. Los biomarcadores lipídicos proporcionan una selección de indicadores de riesgo de la gravedad de la enfermedad y la velocidad de progresión, y una clasificación de la enfermedad, tal como estable o inestable en relación con las placas. Este riesgo varía de leve a extremo. El conocimiento del nivel de riesgo permite intervenir para mitigar el posterior desarrollo de la enfermedad cardíaca. La capacidad de monitorizar e identificar marcadores de la enfermedad cardíaca, incluyendo el diagnóstico en sujetos asintomáticos, permite además tomar decisiones sobre el tipo de intervención médica requerida por la modificación de la conducta y los medicamentos para la intervención quirúrgica. Los biomarcadores lipídicos también proporcionan información sobre el nivel de riesgo de desarrollo en un individuo de la sintomatología más grave asociada con la enfermedad cardíaca. El perfil lipídico también define un estado deseado de salud en los sujetos. Por lo tanto, la monitorización de los niveles de cambio de los analitos lipídicos es una herramienta útil en los estudios farmacotraduccionales y en el tratamiento clínico de los pacientes.

50 La referencia a "la enfermedad cardíaca" incluye afecciones tales como la enfermedad cardíaca coronaria (incluyendo la enfermedad de las arterias coronarias, angina de pecho e infarto de miocardio), aterosclerosis, cardiomiopatía (incluyendo la asociada con la arritmia), enfermedad cardiovascular, enfermedad cardíaca isquémica, insuficiencia cardíaca (incluyendo cor pulmonale), enfermedad cardíaca hipertensiva (incluyendo la hipertrofia ventricular izquierda y la insuficiencia cardíaca congestiva), enfermedad cardíaca inflamatoria (incluyendo endocarditis, cardiomegalia inflamatoria y miocarditis) y la enfermedad cardíaca valvular (incluyendo estenosis de la válvula aórtica y prolapso de la válvula mitral). El espectro de enfermedades cardíacas también incluye otras

afecciones tales como aneurisma aórtico, hipertensión, trombosis y pericarditis. La enfermedad cardíaca es un espectro de manifestaciones clínicas.

5 La presente invención se basa, en parte, en la determinación de que los sujetos con enfermedad cardíaca o en riesgo de desarrollar la enfermedad cardíaca presentan un metabolismo lipídico alterado. Los niveles de determinados analitos lipídicos se correlacionan con el estado, el estadio y/o la clasificación de la enfermedad cardíaca, y su progresión en pacientes sintomáticos y asintomáticos. El término "clasificación" incluye la identificación de los sujetos con placas estables e inestables y, por tanto, los individuos se pueden clasificar como sujetos vulnerables o no vulnerables. Por lo tanto, la presente invención permite la estratificación de los sujetos en categorías de riesgo, categorías de tratamiento y resultados probables de progresión.

10 Se analizaron veintitrés clases de lípidos diferentes y trescientos veintinueve analitos lipídicos. Diez clases de lípidos diferentes que comprenden treinta analitos lipídicos resultaron ser particularmente útiles para distinguir entre los sujetos vulnerables y no vulnerables. Además, dieciocho clases de lípidos que comprenden noventa y cinco analitos lipídicos resultaron ser útiles para distinguir entre los sujetos normales de control y los sujetos con la enfermedad de las arterias coronarias. Por otra parte, como se resume en la Tabla 16, los lípidos de fosfatidilinositol, que incluyen  
15 diecisiete analitos lipídicos en esta clase resultaron ser, como media, significativamente reducidos en sujetos vulnerables; trece clases de lípidos se redujeron, como media, en los sujetos con enfermedad de las arterias coronarias y una clase de lípidos, los diacilglicerol, aumentó en sujetos con la enfermedad de las arterias coronarias.

La metodología lipídica usa uno o más de tres grupos de analitos lipídicos:

20 (i) ceramidas modificadas (modCER), fosfatidilcolinas modificadas (modPC) y ésteres de colesterol modificados (modCE) seleccionados entre los que se enumeran en la Tabla 1;

(ii) dos o más analitos lipídicos no modificados seleccionados de la lista de la Tabla 1; y/o

(iii) dos o más analitos lipídicos en los que al menos uno es un analito lipídico modificado (modCER, modPC y/o modCE) y al menos uno es un analito lipídico no modificado seleccionado de la lista de la Tabla 1,

25 Los niveles o las proporciones de los niveles de los analitos lipídicos se determinan con relación a un control. El ensayo también puede ser automatizado o semiautomatizado. En particular, los niveles o las proporciones de los niveles se pueden usar como datos de entrada para análisis multivariados o univariados que conduzcan a un algoritmo que se pueda usar para generar un índice de probabilidad de tener o de que progrese una enfermedad cardíaca.

30 Los niveles de los biomarcadores lipídicos también se pueden usar en combinación con otros indicadores convencionales de la enfermedad cardíaca, ya sean marcadores bioquímicos, síntomas o técnicas electrocardiales.

Por consiguiente, la presente invención se dirige a un ensayo para estratificar a un sujeto con respecto a enfermedad cardíaca, comprendiendo el ensayo la determinación, en una muestra de dicho sujeto, de los niveles de al menos dos o más analitos lipídicos no modificados seleccionados de la lista que consiste en:

35 los analitos lipídicos alquilfosfatidilcolina (APC), bis(monoacilglicerol)fosfato (BMP), ceramida (Cer), diacilglicerol (DG), dihexosilceramida (DHC), gangliósido GM3 (GM3), factor de activación de lisoplaquetas (LPAF), monohexosilceramida (MHC), fosfatidilcolina de cadena impar (oddPC), fosfatidiletanolamina (PE), fosfatidilglicerol (PG), fosfatidilinositol (PI), fosfatidilserina (PS), triacilglicerol (TG) y trihexosilceramida (THC) enumerados en la Tabla 1;

40 fosfatidilcolina (PC) 30:2, PC 34:0, PC 40:7, PC 40:5, PC 44:12;

esfingomielina (SM) 15:0, SM 16:1, SM 18:1, SM 18:0, SM 20:1, SM 22:1, SM 24:2, SM 24:1;

lisofosfatidilcolina (LPC) 14:0, LPC 15:0, LPC 16:1, LPC 18:1, LPC 20:5, LPC 20:3, LPC 20:2, LPC 20:1, LPC 20:0;

45 éster de colesterol (CE) 14:0, CE 15:0, CE 16:2, CE 16:0, CE 17:1, CE 20:1, CE 17:0, CE 18:0, CE 20:3, CE 20:2, CE 22:5, CE 22:4, CE 22:3, CE 22:2, CE 22:1, CE 22:0, CE 24:6, CE 24:5, CE 24:4, CE 24:3, CE 24:2, CE 24:1, y CE 24:0;

en el que el nivel de un analito lipídico individual es diferente entre sujetos normales y con enfermedad cardíaca y en el que el nivel de los analitos lipídicos en el sujeto con respecto a un control proporciona una indicación de la presencia o ausencia de enfermedad cardíaca.

También se describe aquí un ensayo para estratificar a un sujeto como un sujeto vulnerable o no vulnerable con respecto a las placas, comprendiendo el ensayo determinar los niveles de un analito lipídico seleccionado de la lista que consiste en:

- (i) uno o más analitos lipídicos modificados enumerados en la Tabla 1;
- 5 (ii) dos o más analitos lipídicos no modificados enumerados en la Tabla 1, y
- (iii) dos o más analitos lipídicos en los que al menos uno es un analito lipídico modificado enumerado en la Tabla 1 y al menos uno es un analito lipídico no modificado enumerado en la Tabla 1;
- en el que el nivel o la proporción del analito o analitos lipídicos con respecto a un control identifica al sujeto como vulnerable o no vulnerable.
- 10 Otro aspecto más descrito en el presente documento contempla un ensayo para estratificar a un sujeto con respecto a la enfermedad cardíaca, comprendiendo el ensayo la determinación de los niveles de un analito lipídico seleccionado de la lista que consiste en:
- (i) uno o más analitos lipídicos modificados enumerados en la Tabla 1;
  - (ii) dos o más analitos lipídicos no modificados enumerados en la Tabla 1 y/o
- 15 (iii) dos o más analitos lipídicos, en los que al menos uno es un analito lipídico modificado enumerado en la Tabla 1 y al menos uno es un analito lipídico no modificado enumerado en la Tabla 1;
- en el que el nivel o la proporción del analito o de los analitos lipídicos con respecto a un control proporciona una correlación con la presencia, el estado, la clasificación o la progresión de la enfermedad cardíaca.
- Otro aspecto más descrito en el presente documento contempla el uso de un grupo de analitos lipídicos seleccionados de la lista que consiste en:
- 20
- (i) uno o más analitos lipídicos modificados enumerados en la Tabla 1;
  - (ii) dos o más analitos lipídicos no modificados enumerados en la Tabla 1 y
  - (iii) dos o más analitos lipídicos en los que al menos uno es un analito lipídico modificado enumerado en la Tabla 1 y al menos uno es un analito lipídico no modificado enumerado en la Tabla 1;
- 25 en la fabricación de un ensayo para identificar la presencia, el estado, la clasificación o la progresión de la enfermedad cardíaca en un sujeto. El ensayo puede ser usado para identificar a los sujetos vulnerables o no vulnerables.
- Otro aspecto más descrito en el presente documento se refiere a un método de tratamiento o profilaxis de un sujeto que comprende ensayar el sujeto con respecto a la enfermedad cardíaca mediante la determinación de los niveles de un analito lipídico seleccionado de la lista que consiste en:
- 30
- (i) uno o más analitos lipídicos modificados enumerados en la Tabla 1;
  - (ii) dos o más analitos lipídicos no modificados enumerados en la Tabla 1 y
  - (iii) dos o más analitos lipídicos, en los que al menos uno es un analito lipídico modificado enumerado en la Tabla 1 y al menos uno es un analito lipídico no modificado enumerado en la Tabla 1;
- 35 en el que el nivel o la proporción de analito o de los analitos lipídicos con respecto a un control proporciona una correlación con la presencia, el estado, la clasificación o la progresión de la enfermedad cardíaca, proporcionando luego la modificación terapéutica y/o de comportamiento para el sujeto.
- La "estratificación" es, en efecto, un nivel del riesgo de que un sujeto tenga la enfermedad cardíaca o esté desarrollando la enfermedad cardíaca o sea propenso a desarrollar síntomas de enfermedad cardíaca.
- 40 La determinación de los niveles o las proporciones de los biomarcadores lipídicos se puede usar en combinación con otros indicadores de la enfermedad cardíaca, y se puede usar para monitorizar la eficacia del tratamiento.

Además, el ensayo puede ser útil en la determinación de la intervención terapéutica o de comportamiento más eficaz para tratar la enfermedad cardíaca en sujetos sintomáticos o asintomáticos.

El ensayo también se puede usar en una metodología médica personalizada en el tratamiento de la enfermedad cardíaca y/o como parte de una plataforma de arquitectura de la patología.

**TABLA 1: Analitos lipídicos (biomarcadores)**

<b>Nº (#)</b>	<b>Analito</b>
1	Cer 16:0
<b>S1</b>	<b>Cer 17:0 (IS)</b>
2	Cer 18:1
3	Cer 18:0
4	Cer 20:0
5	Cer 22:0
6	Cer 24:1
7	Cer 24:0
8	MHC 16:0
<b>S2</b>	<b>MHC 16:0d3 (IS)</b>
9	MHC 18:1
10	MHC 18:0
11	MHC 20:0
12	MHC 22:0
13	MHC 24:1
14	MHC 24:0
15	DHC 16:0
<b>S3</b>	<b>DHC 16:0d3 (IS)</b>
16	DHC 18:1
17	DHC 18:0
18	DHC 20:0
19	DHC 22:0
20	DHC 24:1
21	DHC 24:0
22	THC 16:0
<b>S4</b>	<b>THC 17:0 (IS)</b>
23	THC 18:1
24	THC 18:0

ES 2 665 621 T3

25	THC 20:0
26	THC 22:0
27	THC 24:1
28	THC 24:0
29	GM3 16:0
30	GM3 18:0
31	GM3 20:0
32	GM3 22:0
33	GM3 24:1
34	GM3 24:0
35	modCer 576,5/7,68
36	modCer 614,6/5,72
37	modCer 632,6/9,22
38	modCer 651,6/7,56
39	modCer 703,6/5,87
40	modCer 731,6/6,22
41	modCer 766,6/7,17
42	modCer 769,6/8,01
43	modCer 798,7/7,29
<b>S5</b>	<b><i>Acyl Cer 17:0 18:1 (IS)</i></b>
44	modCer 875,7/9,23
45	modCer 883,8/7,75
46	modCer 886,8/9,06
47	modCer 910,8/8,98
48	modCer 921,8/9,05
<b>S6</b>	<b><i>SM 12:0 (IS)</i></b>
<b>S6</b>	<b><i>SM 12:0 (IS)</i></b>
<b>S6</b>	<b><i>SM 12:0 (IS)</i></b>
49	SM 14:0



ES 2 665 621 T3

50	SM 15:0
51	SM 16:1
52	SM 16:0
53	SM 18:1
54	SM 18:0
55	SM 20:1
56	SM 22:1
57	SM 22:0
58	SM 24:2
59	SM 24:1
60	SM 24:0
61	PG 16:1 18:1
62	PG 16:0 18:1
<b>S7</b>	<b><i>PG 17:0 17:0 (IS)</i></b>
63	PG 18:1 18:1
64	PG 18:0 18:1
<b>S8</b>	<b><i>BMP 14:0 14:0 (IS)</i></b>
65	BMP 18:1 18:1
<b>S9</b>	<b><i>PS 17:0/17:0</i></b>
66	PS 36:2
67	PS 36:1
68	PS 38:5
69	PS 38:4
70	PS 38:3
71	PS 40:6
72	PS 40:5
73	PE 32:1
74	PE 32:0
75	PE 34:2

ES 2 665 621 T3

76	PE 34:1
<b>S10</b>	<b><i>PE 17:0/17:0 (IS)</i></b>
77	PE 36:5
78	PE 36:4
79	<b>PE 36:3</b>
80	<b>PE 36:2</b>
81	<b>PE 36:1</b>
82	<b>PE 36:0</b>
83	<b>PE 38:6</b>
84	<b>PE 38:5</b>
85	<b>PE 38:4</b>
86	<b>PE 38:3</b>
87	<b>PE 38:2</b>
88	<b>PE 38:1</b>
89	<b>PE 40:7</b>
90	<b>PE 40:6</b>
91	PI 32:1
92	PI 32:0
93	PI 34:1
94	PI 34:0
95	PI 36:4
96	PI 36:3
97	PI 36:2
98	PI 36:1
99	PI 36:0
100	PI 38:6
101	PI 38:5
102	PI 38:4
103	PI 38:3

ES 2 665 621 T3

104	PI 38:2
105	PI 40:6
106	PI 40:5
107	PI 40:4
<b>S11</b>	<b>LPC 13:0 (IS)</b>
108	LPC 14:0
109	LPC 15:0
110	LPC 16:1
111	LPC 16:0
112	LPC 18:2
113	LPC 18:1
114	LPC 18:0
115	LPC 20:5
116	LPC 20:4
117	LPC 20:3
118	LPC 20:2
119	LPC 20:1
120	LPC 20:0
121	LPC 22:6
122	LPAF 16:0
123	LPAF 18:1
124	LPAF 18:0
<b>S12</b>	<b>PC 13:0/13:0</b>
<b>S12</b>	<b>PC 13:0/13:0</b>
125	PC 30:2
126	PC 32:2
127	PC 32:1
128	PC 32:0
129	PC 34:3

ES 2 665 621 T3

130	PC 34:2
131	PC 34:1
132	PC 34:0
133	PC 36:5
134	PC 36:4
135	PC 36:3
136	PC 36:2
137	PC 38:6
138	PC 38:5
139	PC 38:4
140	PC 40:7
141	PC 40:6
142	PC 40:5
<b>S13</b>	<b><i>PC 21:0 21:0 (IS)</i></b>
<b>S13</b>	<b><i>PC 21:0 21:0 (IS)</i></b>
<b>S13</b>	<b><i>PC 21:0 21:0 (IS)</i></b>
143	PC 44:12
144	oddPC 31:1
145	oddPC 31:0
146	oddPC 33:0
147	oddPC 33:1
148	oddPC 33:2
149	oddPC 35:4
150	oddPC 35:3
151	oddPC 35:2
152	oddPC 35:1
153	oddPC 35:0
154	oddPC 37:6
155	oddPC 37:5

## ES 2 665 621 T3

156	oddPC 37:4
157	oddPC 37:3
158	oddPC 37:2
159	APC 32:1
160	APC 32:0
161	APC 34:2
162	APC 34:1
163	APC 34:0
164	APC 36:5
165	APC 36:4
166	APC 36:3
167	APC 36:2
168	APC 36:1
169	APC 36:0
170	APC 38:6
171	APC 38:5
172	APC 38:4
173	APC 38:3
174	APC 38:2
175	modPC 506,3/3,50
176	modPC 508,3/3,30 (LPAF 18:1)
177	modPC 510,3/4,00 (LPAF 18:0)
178	modPC 512,3/1,70
179	modPC 536,3/3,50
180	modPC 538,3/4,10
181	modPC 552,4/3,90 (LPC 20:0)
182	modPC 564,4/4,70 (LPAF 22:1)
183	modPC 566,4/5,10 (LPAF 22:0)
184	modPC 580,4/4,84 (LPC 22:0)

## ES 2 665 621 T3

187	modPC 594,4/3,26
189	modPC 608,4/3,84
190	modPC 610,4/2,03
191	modPC 622,4/4,54 (PC 24:0)
192	modPC 633,4/4,51
193	modPC 636,4/3,37
194	modPC 645,4/4,49
195	modPC 650,4/3,24
196	modPC 650,4/4,44
197	modPC 650,4/3,94
198	modPC 664,4/4,22
199	modPC 666,4/2,99
200	modPC 678,4/4,37
201	modPC 678,4/4,94
202	modPC 678,4/5,51 (PC 28:0)
203	modPC 690,4/4,11
204	modPC 690,4/4,90
205	modPC 690,4/6,00
206	modPC 692,4/5,05
207	modPC 692,4/5,52 (APC 30:0)
208	modPC 692,4/6,10
209	modPC 694,4/6,20
210	modPC 703,5/4,09
211	modPC 704,5/3,81
212	modPC 706,5/3,79
213	modPC 720,5/4,52
214	modPC 736,5/5,38
215	modPC 743,5/5,91
217	modPC 752,5/5,58 (PC34:5)

ES 2 665 621 T3

220	modPC 772,5/5,37
221	modPC 773,6/6,47
222	modPC 788,6/5,19
223	modPC 801,6/6,70
224	modPC 816,6/5,58
225	modPC 818,6/6,10
226	modPC 818,6/6,48 (APC 40:7)
227	modPC 828,6/6,03
228	modPC 843,6/7,10
229	modPC 866,6/7,24
230	modPC 878,6/5,98 (modPC877,6/7,1)
231	modPC 881,6/6,05 (modPC879,6/6,1)
232	COH
<b>S14</b>	<b>COH d7 (IS)</b>
233	CE 14:0
234	CE 15:0
235	CE 16:2
236	CE 16:1
237	CE 16:0
238	CE 17:1
239	CE 17:0
240	CE 18:3
241	CE 18:2
242	CE 18:1
243	CE 18:0
<b>S15</b>	<b>CE 18:0 d6 (IS)</b>
<b>S15</b>	<b>CE 18:0 d6 (IS)</b>
<b>S15</b>	<b>CE 18:0 d6 (IS)</b>
244	CE 20:5

## ES 2 665 621 T3

245	CE 20:4
246	CE 20:3
247	CE 20:2
248	CE 20:1
249	CE 22:6
250	CE 22:5
251	CE 22:4
252	CE 22:3
253	CE 22:2
254	CE 22:1
255	CE 22:0
256	CE 24:6
257	CE 24:5
258	CE 24:4
259	CE 24:3
260	CE 24:2
261	CE 24:1
262	CE 24:0
263	modCE 558,5/7,74
264	modCE 588,5/7,94
265	modCE 682,7/8,76
266	modCE 790,8/6,57
267	DG 14:0 14:0
268	DG 14:1 16:0
269	DG 14:0 16:0
S16	DG 15:0 15:0 (IS)
270	DG 14:0 18:2
271	DG 14:0 18:1
272	DG 16:0 16:0



ES 2 665 621 T3

273	DG 16:0 18:2
274	DG 16:1 18:1
275	DG 16:0 18:1
276	DG 18:016:1
277	DG 16:0 18:0
278	DG 16:0 20:4
279	DG 18:1 18:3
280	DG 18:2 18:2
281	DG 16:0 20:3
282	DG 18:1 18:2
283	DG 18:0 18:2
284	DG 18:1 18:1
285	DG 18:0 18:1
286	DG 16:0 20:0
287	DG 18:0 18:0
288	DG 16:0 22:6
289	DG 16:0 22:5
290	DG 18:1 20:4
291	DG 18:0 20:4
292	DG 18:1 20:3
293	DG 18:1 20:0
294	TG 14:0 16:1 18:2
295	TG 16:1 16:1 16:1
296	TG 14:0 16:0 18:2
297	TG 14:0 16:1 18:1
298	TG 14:1 16:0 18:1
299	TG 14:1 16:1 18:0
300	TG 18:1 14:0 16:0
301	TG 16:0 16:0 16:0

ES 2 665 621 T3

302	TG 15:0 18:1 16:0
303	TG 17:0 16:0 16:1
304	TG 17:0 18:1 14:0
305	TG 14:0 18:2 18:2
306	TG 14:1 18:0 18:2
307	TG 14:1 18:1 18:1
308	TG 16:1 16:1 18:1
309	TG 16:0 16:0 18:2
310	TG 16:1 16:1 18:0
311	TG 16:0 16:1 18:1
312	TG 14:0 18:0 18:1
313	TG 16:0 16:0 18:1
314	TG 16:0 16:0 18:0
315	TG 15:0 18:1 18:1
316	TG 17:0 18:1 16:1
317	TG 17:0 18:2 16:0
318	TG 17:0 18:1 16:0
319	TG 17:0 16:0 18:0
S17	TG 17:0 17:0 17:0 (IS)
S17	TG 17:0 17:0 17:0 (IS)
320	TG 16:0 18:2 18:2
321	TG 16:1 18:1 18:2
322	TG 16:1 18:1 18:1
323	TG 16:0 18:1 18:2
324	TG 16:0 18:1 18:1
325	TG 16:0 18:0 18:1
326	TG 17:0 18:1 18:1
327	TG 18:2 18:2 18:2
328	TG 18:1 18:2 18:2

## ES 2 665 621 T3

329	TG 18:0 18:2 18:2
330	TG 18:1 18:1 18:2
331	TG 18:1 18:1 18:1
332	TG 18:0 18:1 18:1
333	TG 18:0 18:0 18:1
334	TG 18:0 18:0 18:0
335	TG. 18:2 18:2 20:4
336	TG 18:1 18:1 20:4
337	TG 18:1 18:1 22:6

**Lista de abreviaturas:**

acCer	acilceramida
APC	alquilfosfatidilcolina
BMP	bis(monoacilglicero)fosfato
CE	éster de colesterol
Cer	ceramida
COH	colesterol
DG	diacilglicerol
DHC	dihexosilceramida
GM3	Gangliósido GM <sub>3</sub>
LPAF	Factor de activación de lisoplaquetas
LPC	lisofosfatidilcolina
MHC	monohexosilceramida
modCE	éster de colesterol modificado
modCer	Ceramida modificada
modPC	fosfatidilcolina modificada
oddPC	fosfatidilcolina de cadena impar
PC	fosfatidilcolina

PE	fosfatidiletanolamina
PG	fosfatidilglicerol
PI	fosfatidilinositol
PS	fosfatidilserina
SM	enfingomielina
TG	triaciglicerol
THC	trihexosilceramida

### Breve descripción de las figuras

5 Algunas figuras contienen representaciones o entidades a color. Las fotografías a color pueden ser proporcionadas por el titular de la patente bajo previa petición o en la oficina de patentes correspondiente. Se puede aplicar una tarifa si se obtienen de una oficina de patentes.

10 Las **Figuras 1(A) y (B)** son representaciones gráficas del área bajo la curva y de la tasa de error resultante de modelos de EAC estable frente a EAC inestable. Se usó la eliminación de características recursivas (RFE) con triple validación cruzada (repetida 100 veces) para desarrollar modelos multivariados, usando el aprendizaje de máquinas de soporte vectorial. Esto se hizo para los modelos de tamaño de elemento variable (por ejemplo, 1, 2, 4, 8, 16, 32 y 64) y para los modelos que incluían bien factores de riesgo tradicionales solos (círculos azules), lípidos solos (cuadrados verdes) o lípidos con factores de riesgo tradicionales (triángulos rojos). Se realizó un análisis ROC para dar el área bajo la curva (panel A) y las tasas de error (panel B). Las barras de error representan límites de confianza del 95 %.

15 Las **Figuras 2 (A) y (B)** son representaciones gráficas del área bajo la curva y de la tasa de error resultante de modelos de control frente a modelos de EAC. Se usó la eliminación de características recursivas (RFE) con triple validación cruzada (repetida 100 veces) para desarrollar modelos multivariados, usando el aprendizaje de máquinas de soporte vectorial. Esto se hizo para los modelos de tamaño de elemento variable (por ejemplo, 1, 2, 4, 8, 16, 32 y 64) y para los modelos que incluían bien factores tradicionales de riesgo solos (círculos azules), lípidos solos (cuadrados verdes) o lípidos con factores de riesgo tradicionales (triángulos rojos). Se realizó un análisis ROC para dar el área bajo la curva (panel A) y las tasas de error (panel B). Las barras de error representan límites de confianza del 95 %.

20 La **Figura 3** es una representación gráfica del análisis ROC de modelos de clasificación de EAC estable frente a EAC inestable. Se validaron modelos multivariados creados bien con los 13 factores de riesgo tradicionales (Tabla 5), los 8 lípidos de rango más alto (Tabla 13) o una combinación de ambos mediante triple validación cruzada repetida 10 veces y los resultados combinados en un análisis ROC.

25 La **Figura 4** es una representación gráfica del análisis ROC de modelos de clasificación de control frente a EAC. Se validaron modelos multivariados creados bien con los 13 factores de riesgo tradicionales (Tabla 5), los 16 lípidos de rango más alto (Tabla 14) o una combinación de ambos mediante triple validación cruzada repetida 10 veces y los resultados combinados en un análisis ROC.

30 La **Figura 5** proporciona una representación gráfica de los datos que muestran el análisis de eliminación de características recursivas de la EAC. Se crearon modelos multivariados que contenían diferentes cantidades de lípidos solos (círculos) o factores de riesgo tradicionales (cuadrados) o lípidos y factores de riesgo combinados (triángulos) para diferenciar entre el control y la EAC (paneles de la izquierda) y entre la EAC estable e inestable (paneles de la derecha). Se representan los datos estadísticos de C (paneles superiores) y el % de precisión (paneles inferiores) con intervalos de confianza del 95 % para cada modelo frente al número de variables del modelo.

35 La **Figura 6** proporciona una representación gráfica de los datos que muestran el análisis de las características operativas del receptor (ROC) de los modelos multivariados. Los modelos de clasificación multivariados se crearon mediante la eliminación de las características recursivas con triple validación cruzada (repetida 100 veces) usando el aprendizaje de máquinas de soporte vectorial. El análisis ROC se realizó en los modelos optimizados que contenían bien 16 lípidos solos, 8 factores de riesgo solos o una combinación de 8 lípidos y factores de riesgo.

40

5 La **Figura 7** proporciona representaciones gráficas de los datos que muestran los niveles en plasma de las especies de lípidos seleccionadas. Se midieron las especies de lípidos de cada grupo como se describe en el apartado de Materiales y métodos. Se representa la concentración de cada especie de lípido expresada como pmol/ml para cada grupo. La barra representa el valor de la mediana, el recuadro representa del percentil 25 al 75, y los topes, el límite superior e inferior. Los círculos muestran los valores atípicos ( $> 1,5 \times$  altura del recuadro de la mediana) y los asteriscos muestran los valores atípicos extremos ( $> 3,0 \times$  altura del recuadro de la mediana).

### Breve descripción de las tablas

10 La **Tabla 1** proporciona una lista numerada de 331 analitos lipídicos (biomarcadores) identificados en sujetos vulnerables o no vulnerables de control predeterminados, sujetos normales (sanos) o sujetos con enfermedad cardiaca. Los números precedidos por "s" identifican los patrones internos usados como controles internos para el análisis de lípidos como se describe en los Ejemplos.

La **Tabla 2** proporciona una descripción de la composición mixta y la concentración del patrón interno.

La **Tabla 3** proporciona las configuraciones del espectrómetro de masas usadas para las exploraciones de los iones precursores.

15 La **Tabla 4** tabula los métodos de exploración usados para crear métodos de adquisición MRM para perfiles de lípidos en plasma para cada clase de lípido.

La **Tabla 5** proporciona características clínicas y bioquímicas de los pacientes.

La **Tabla 6** proporciona el medicamento de cohortes de EAC estable e inestable.

20 La **Tabla 7** proporciona los datos de analitos lipídicos medidos en el experimento de MRM 1 como se describe en los Ejemplos.

La **Tabla 8** proporciona los datos de analitos lipídicos medidos en el experimento de MRM 2 como se describe en los Ejemplos.

La **Tabla 9** proporciona los datos de los niveles de analitos lipídicos en las cohortes estable e inestable.

25 La **Tabla 9a** proporciona los datos de los niveles de analitos lipídicos en las cohortes de control y de EAC (continuación).

La **Tabla 10** proporciona un resumen del análisis univariado de los lípidos en plasma en las cohortes de control, de EAC estable y EAC inestable.

La **Tabla 11** proporciona un análisis de varianza de la cohorte estable frente a la cohorte inestable.

La **Tabla 12** proporciona un análisis de varianza de la cohorte de control frente a la cohorte de EAC.

30 La **Tabla 13** proporciona la lista ordenada de analitos basándose en la eliminación de las características recursivas de la cohorte de EAC estable y de EAC inestable.

La **Tabla 14** proporciona una lista ordenada de analitos basada en la eliminación de características recursivas del control frente a la EAC.

35 La **Tabla 15** proporciona las condiciones finales para los métodos de exploración del ión precursor y de adquisición MRM para la identificación y cuantificación de los lípidos.

La **Tabla 16** ofrece un resumen final de análisis univariado de los lípidos en plasma de los grupos de control, EAC, EAC estable y EAC inestable.

La **Tabla 17** proporciona modelos de regresión logística de EAC estable frente a EAC inestable, y modelos de regresión logística del control frente a la EAC.

40 La **Tabla 18** proporciona lípidos clasificados en el modelo logístico de EAC estable frente a EAC inestable.

La **Tabla 19** proporciona factores de riesgo clasificados en los modelos logísticos de EAC estable frente a EAE

inestable.

La **Tabla 20** proporciona características clasificadas en el modelo logístico de EAC estable frente a EAC inestable.

La **Tabla 21** proporciona lípidos clasificados en el modelo logístico de control frente a EAC.

La **Tabla 22** proporciona factores de riesgo clasificados en el modelo logístico de control frente a EAC.

5 La **Tabla 23** proporciona características clasificadas en el modelo logístico de control frente a EAC.

La **Tabla 24** proporciona características clasificadas en los modelos de eliminación de características recursivas de EAC estable frente a EAC inestable.

La **Tabla 25** proporciona características clasificadas en los modelos de eliminación de características recursivas de control frente a EAC.

10 La **Tabla 26** proporciona una descripción de las especies de lípidos afectadas por el uso de estatinas.

La **Tabla 27** proporciona el medicamento de las cohortes de EAC estable e inestable.

### Descripción detallada

15 A lo largo de la presente memoria descriptiva y las reivindicaciones que le siguen, a menos que el contexto requiera lo contrario, se entenderá que el término "comprender" y las variaciones tales como "comprende" y "que comprende" implican la inclusión de un número entero o etapa o grupo de números enteros o etapas indicados, pero no la exclusión de ningún otro número entero o etapa o grupo de números enteros o etapas.

20 Como se usa en la presente memoria descriptiva, las formas en singular "un", "una", "el" y "ella" incluyen aspectos en plural a menos que el contexto indique claramente lo contrario. Así pues, por ejemplo, la referencia a "un biomarcador" incluye un solo biomarcador, así como dos o más biomarcadores; la referencia a "un analito" incluye un solo analito, o dos o más analitos; la referencia a "la invención" incluye aspectos individuales y múltiples de la invención, etcétera.

25 El uso de valores numéricos en los diversos intervalos especificados en la presente solicitud, a menos que se indique expresamente lo contrario, se establecen como aproximaciones, como si tanto el valor mínimo como el máximo de los intervalos establecidos estuvieran precedidos por el término "aproximadamente". De esta manera, se pueden usar ligeras variaciones por encima y por debajo de los intervalos indicados para conseguir sustancialmente los mismos resultados que los valores incluidos en los intervalos. Además, la divulgación de estos intervalos se considera un intervalo continuo que incluye cada valor entre los valores mínimo y máximo. También se describen en el presente documento las proporciones de dos o más marcadores que proporcionan un valor numérico asociado con un nivel de riesgo de desarrollo o presencia de la enfermedad cardíaca.

30 Se proporciona un ensayo rápido, eficaz y sensible para la estratificación de la enfermedad cardíaca en sujetos sintomáticos y asintomáticos.

35 La "estratificación" incluye la identificación, el diagnóstico, la aclaración, la monitorización y/o la determinación de la presencia, del nivel, de la gravedad, del estado y/o de la clasificación de la enfermedad cardíaca. En general, esto se basa en la comparación de una base de conocimientos de los niveles o las proporciones de analitos lipídicos en el fluido corporal o extracto de tejido con otra base de conocimientos de los niveles predeterminados, estadísticamente correlacionados con la enfermedad cardíaca o una afección o síntoma en el espectro de la enfermedad cardíaca.

40 Por lo tanto, el ensayo descrito en el presente documento identifica una correlación entre el nivel o las proporciones de determinados analitos lipídicos en un sujeto y la enfermedad cardíaca. La expresión "enfermedad cardíaca" como se usa en el presente documento se ha de considerar como una afección individual, así como un espectro de afecciones incluyendo una serie de indicadores de riesgo del nivel de progresión de la enfermedad. Este riesgo varía de leve a extremo. La capacidad de monitorizar e identificar marcadores de la enfermedad cardíaca permite tomar decisiones sobre el tipo de intervención médica requerida por la modificación de la conducta y los medicamentos para la intervención quirúrgica. Este es el caso en particular de los individuos asintomáticos o de los que tienen antecedentes familiares de enfermedades cardíacas.

45 La presente invención se extiende a cualquiera o todas las afecciones pertenecientes al espectro clínico de "la enfermedad cardíaca".

5 Dichas afecciones incluyen, sin limitación, cardiomiopatías tales como cardiomiopatía alcohólica, enfermedad de las arterias coronarias, enfermedad cardíaca congénita, enfermedades nutricionales que afectan al corazón, cardiomiopatía isquémica, cardiomiopatía hipertensiva, cardiomiopatía valvular, cardiomiopatía inflamatoria, enfermedades cardiovasculares tales como aterosclerosis, enfermedad cardíaca isquémica, insuficiencia cardíaca, enfermedades cardíacas hipertensivas tales como, hipertrofia ventricular izquierda, enfermedad coronaria, insuficiencia cardíaca (congestiva), cardiomiopatía hipertensiva, arritmias cardíacas, enfermedades cardíacas inflamatorias tales como endocarditis, cardiomegalia inflamatoria, miocarditis, valvulopatías tales como estenosis de la válvula aórtica, prolapso de la válvula mitral y cardiomiopatía valvular

10 La referencia en el presente documento a un "sujeto" incluye un ser humano que también se puede considerar un individuo, paciente, huésped, receptor o diana. El sujeto también puede ser un animal o un modelo animal. El término "analito" incluye un biomarcador, marcador, indicador, factor de riesgo y similares.

La metodología lipídómica usa uno o más de tres grupos de analitos lipídicos:

(i) ceramidas modificadas (modCER), fosfatidilcolinas modificadas (modPC) y ésteres de colesterol modificados (modCE) seleccionados entre los enumerados en la Tabla 1;

15 (ii) dos o más analitos lipídicos no modificados seleccionados de la lista de la Tabla 1; y/o

(iii) dos o más analitos lipídicos, en los que al menos uno es un analito lipídico modificado (modCER, modPC y/o modCE) y al menos uno es un analito lipídico no modificado seleccionado de la lista de la Tabla 1,

20 Por consiguiente, se describe en este documento un ensayo para estratificar a un sujeto como un sujeto vulnerable o no vulnerable con respecto a las placas, comprendiendo el ensayo determinar los niveles de un analito lipídico seleccionado de la lista que consiste en:

(i) uno o más analitos lipídicos modificados enumerados en la Tabla 1;

(ii) dos o más analitos lipídicos no modificados enumerados en la Tabla 1, y

(iii) dos o más analitos lipídicos en los que al menos uno es un analito lipídico modificado enumerado en la Tabla 1 y al menos uno es un analito lipídico no modificado enumerado en la Tabla 1;

25 en el que el nivel o proporción del analito lipídico o analitos con respecto a un control identifica al sujeto como vulnerable o no vulnerable.

El ensayo descrito permite, por lo tanto, la determinación de un perfil de riesgos para un sujeto basándose en un perfil lipídómico. La estratificación o clasificación permite el diagnóstico temprano, la configuración de un diagnóstico clínico, el seguimiento del tratamiento y la selección del tratamiento.

30 El perfil lipídómico puede ser asociado con la enfermedad cardíaca, la predisposición de desarrollo y/o el nivel de riesgo para la gravedad y la progresión.

También se describe en el presente documento un ensayo para estratificar a un sujeto como un sujeto vulnerable o no vulnerable con respecto a las placas, comprendiendo el ensayo la determinación de los niveles de al menos dos analitos lipídicos seleccionados de la lista que consiste en:

35 (i) uno o más analitos lipídicos modificados enumerados en la Tabla 1;

(ii) dos o más analitos lipídicos no modificados enumerados en la Tabla 1; y/o

(iii) dos o más analitos lipídicos, en los que al menos uno es un analito lipídico modificado enumerado en la Tabla 1 y al menos uno es un analito lipídico no modificado enumerado en la Tabla 1;

40 en el que el nivel de un analito lipídico individual enumerado en la Tabla 1 es diferente entre los sujetos vulnerables y los sujetos no vulnerables, y en el que el nivel de los analitos lipídicos en el sujeto con respecto a un control identifica al sujeto como vulnerable o no vulnerable.

45 Como se describe en este documento, los ensayos pueden comprender comparar el nivel de los al menos dos analitos lipídicos en el sujeto con respecto a los niveles de los mismos analitos lipídicos en al menos un sujeto de control seleccionado entre un sujeto vulnerable y un sujeto que no es vulnerable, en el que una similitud en los respectivos niveles de los al menos dos analitos lipídicos entre el sujeto y el sujeto no vulnerable identifica al sujeto

como no vulnerable, y en el que una similitud en los respectivos niveles de los al menos dos analitos lipídicos entre el sujeto y el sujeto vulnerable identifica al sujeto como vulnerable.

La referencia a un "control" incluye, en términos generales, datos que el experto en la materia usaría para facilitar la interpretación exacta de los datos técnicos. En un ejemplo ilustrativo, se compara el nivel o los niveles de analito/s lipídico/s de un sujeto con el respectivo nivel o niveles del/de los mismo/s analito/s lipídico/s en una o más cohortes (poblaciones/grupos) de sujetos de control seleccionados entre una cohorte de sujetos vulnerables, en la que los sujetos han sido diagnosticados con la enfermedad cardíaca inestable, una cohorte de sujetos no vulnerables, en la que los sujetos han sido diagnosticados con enfermedad cardíaca estable, una cohorte de sujetos normales, en la que se ha predeterminado que los sujetos no padecen enfermedad cardíaca, y una cohorte de sujetos con enfermedad cardíaca que comprende los miembros de las cohortes vulnerables y no vulnerables. Como se describe y/o como se reivindica en este documento, el control puede ser el nivel o la proporción de uno o más analitos lipídicos en una muestra del sujeto de ensayo tomada en un punto temporal previo. Por lo tanto, se puede usar un cambio temporal en los niveles de analito para identificar la vulnerabilidad o proporcionar una correlación en cuanto al estado de las enfermedades cardíacas. En algunas realizaciones, los niveles relativos de dos o más analitos lipídicos proporcionan un control útil.

En algunas realizaciones, un sujeto de control es un grupo de sujetos de control. El nivel de analitos de un grupo de sujetos de control puede ser un valor medio o un nivel preseleccionado, umbral o intervalo de niveles que definan, caractericen o distingan un determinado grupo. Se pueden seleccionar umbrales que proporcionen una capacidad aceptable de predecir el riesgo de diagnóstico o pronóstico, el éxito del tratamiento, etc. En ejemplos ilustrativos, se calculan las curvas de las características operativas del receptor (ROC) trazando el valor de una o más variables frente a su frecuencia relativa en dos poblaciones (denominadas arbitrariamente grupos de "enfermedad" y "normal" o "de bajo riesgo" y de "alto riesgo", por ejemplo). Para cualquier analito o clase de lípido particular, la distribución del/de los nivel/es para los sujetos de las dos poblaciones es probable que se superponga. En dichas condiciones, un nivel de ensayo no distingue absolutamente "enfermedad" y "normal" o "vulnerable" y "no vulnerable" con un 100 % de precisión, y el área de superposición indica que el ensayo no puede distinguir entre los grupos. Por consiguiente, en algunas realizaciones, se selecciona un umbral o un intervalo, por encima del cual (o por debajo del cual, dependiendo de cómo varíe un nivel de analito lipídico con la enfermedad cardíaca o el pronóstico) se considera que el ensayo es "positivo" y por debajo del cual se considera que el ensayo es "negativo". Como se describe en el Ejemplo 4, se usaron ensayos no paramétricos para establecer la significación estadística de las diferencias entre los distintos niveles de analitos en los diferentes grupos de control (véase la Tabla 16). También se usó un análisis de regresión lineal para identificar los analitos lipídicos que son predictores independientes de la asignación a los grupos. Se encontraron varios analitos lipídicos como predictor independiente de la EAC estable o inestable, en concreto, PI 34:0, DHC 18:1, modCer 703,6/5,87, SM 22:1 y GM3 18:0. Del mismo modo, se pudieron distinguir veintidós analitos lipídicos individualmente entre los pacientes de control y EAC (Tabla 12, modelo 6). El análisis multivariado es particularmente adecuado para el desarrollo de un modelo predictivo basado en los perfiles de lípidos en plasma. Se examinó un intervalo de modelos que incluían diferentes números de analitos lipídicos (1, 2, 4, 8, 16, 22, 64 ...329) bien solos o con factores de riesgo tradicionales por su capacidad para distinguir un determinado grupo (Tablas 18 a 20). Se usaron los valores de estos modelos para realizar los análisis ROC con el fin de determinar la gravedad y la especificidad de los modelos (véase el Ejemplo 6, Figura 6). Por consiguiente, como se ha demostrado, en el presente documento se puede usar todo un intervalo de analitos lipídicos o seleccionar subconjuntos particulares de analitos lipídicos capaces de distinguir entre determinados grupos.

Como alternativa, o además, se pueden establecer umbrales mediante la obtención de un nivel de analito del mismo paciente, con el que después se pueden comparar los resultados. En estas realizaciones, el individuo, en efecto, actúa como su propio "grupo de control". En los marcadores que aumentan con la gravedad de la enfermedad o el riesgo de pronóstico, un aumento a lo largo del tiempo en el mismo paciente puede indicar un empeoramiento o desarrollo de la enfermedad o el riesgo de enfermedad o un fracaso de un régimen de tratamiento, mientras que una disminución a lo largo del tiempo puede indicar la remisión de la enfermedad o el éxito de un régimen de tratamiento. El experto en la materia aplicará otros controles adicionales de forma rutinaria. En un ejemplo ilustrativo, se determinan los niveles de una variedad o grupo de analitos lipídicos de una o más clases de lípidos y se comparan con niveles predeterminados de uno o más grupos de sujetos de control. Los analitos lipídicos que, en el presente documento, se determinan como no correlacionados con la enfermedad cardíaca o las placas inestables se pueden incluir como controles internos, siendo también, por tanto, útiles en algunas realizaciones.

En algunas realizaciones, los niveles de analito lipídico de los grupos de control se usan para generar un perfil de niveles de analito lipídico que reflejen la diferencia entre los niveles en dos grupos de control. Por lo tanto, un analito lipídico en particular puede ser más abundante o menos abundante en un grupo de control en comparación con otro grupo de control. Los datos se pueden representar como una puntuación distintiva global o el perfil se puede representar como un código de barras u otra representación gráfica. Los niveles de analito lipídico de un sujeto de ensayo se pueden representar del mismo modo, y de manera similar al distintivo, se puede determinar el alcance o nivel de "ajuste" con un código de barras distintivo u otra representación gráfica. En otras realizaciones, se analizan los niveles de un determinado analito lipídico o clase de lípido y se determina una tendencia a la baja o al alza en un nivel de analito determinado. Así pues, por ejemplo, como se muestra en los ejemplos, el total de especies PI fue un



13,8 % inferior en la EAC inestable frente a la EAC estable, por encima de una reducción del 13,5 % en el grupo de EAC en comparación con los grupos de control. En otro ejemplo, los niveles inferiores de especies LPC (a excepción de LPC 20:4 y LPC 20:2) resultaron ser predictivos de la gravedad de la enfermedad/EAC inestable, por ejemplo, LPC 16:1 y LPC 14:0, En otro ejemplo, SMI 018:0 fue sobrerrepresentado en el grupo de EAC inestable.

- 5 Como se describe en este documento, los ensayos pueden comprender además comparar el nivel de los al menos dos analitos lipídicos del sujeto con los respectivos niveles de los mismos analitos lipídicos en al menos un sujeto normal, de manera que una similitud en los respectivos niveles de los al menos dos analitos lipídicos entre el sujeto y el sujeto normal identifica al sujeto como normal con respecto a las placas.

10 Como se describe y/o como se reivindica en este documento, los ensayos comprenden determinar o determinar y comparar el nivel de al menos 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30 o más analitos lipídicos, incluyendo 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 136, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 149, 150, 151, 152, 153, 154, 155, 156, 157, 158, 159, 160, 161, 162, 163, 164, 165, 166, 167, 168, 169, 170, 171, 172, 173, 174, 175, 176, 177, 35 1 78, 179, 180, 181, 182, 183, 184, 185, 186, 187, 188, 189, 190, 191, 192, 193, 194, 195, 196, 197, 198, 199, 200, 201, 202, 203, 204, 205, 206, 207, 208, 209, 210, 211, 212, 213, 214, 215, 216, 217, 218, 219, 220, 221, 222, 223, 224, 225, 226, 227, 228, 229, 230, 231, 232, 233, 234, 235, 236, 237, 238, 239, 240, 241, 242, 243, 244, 245, 246, 247, 248, 249, 250, 251, 252, 253, 254, 255, 256, 257, 258, 259, 260, 261, 262, 263, 264, 265, 266, 267, 268, 269, 270, 271, 272, 273, 274, 275, 276, 277, 278, 279, 280, 281, 282, 283, 284, 285, 286, 287, 288, 289, 290, 291, 292, 293, 294, 295, 296, 297, 40 298, 299, 300, 301, 302, 303, 304, 305, 306, 307, 308, 309, 310, 311, 312, 313, 314, 315, 316, 317, 318, 319, 320, 321, 322, 323, 324, 325, 326, 327, 328, 329, 330 o 331 biomarcadores (analitos lipídicos).

- 25 En algunas realizaciones, se seleccionan analitos lipídicos que pertenecen a una sola clase de lípidos. Por lo tanto, en algunas realizaciones, se determina y se compara el nivel de dos o más analitos lipídicos de una o más clases de lípidos.

30 La invención proporciona un ensayo para estratificar un sujeto con respecto a enfermedad cardíaca, comprendiendo los ensayos la determinación de los niveles de al menos dos analitos lipídicos no modificados seleccionados de la lista que consiste en:

35 los analitos lipídicos alquilfosfatidilcolina (APC), bis(monoacilglicerol)fosfato (BMP), ceramida (Cer), diacilglicerol (DG), dihexosilceramida (DHC), gangliósido GM3 (GM3), factor de activación de lisoplaquetas (LPAF), monohexosilceramida (MHC), fosfatidilcolina de cadena impar (oddPC), fosfatidiletanolamina (PE), fosfatidilglicerol (PG), fosfatidilinositol (PI), fosfatidilserina (PS), triacilglicerol (TG) y trihexosilceramida (THC) enumerados en la Tabla 1;

fosfatidilcolina (PC) 30:2, PC 34:0, PC 40:7, PC 40:5, PC 44:12;

esfingomielina (SM) 15:0, SM 16:1, SM 18:1, SM 18:0, SM 20:1, SM 22:1, SM 24:2, SM 24:1;

lisofosfatidilcolina (LPC) 14:0, LPC 15:0, LPC 16:1, LPC 18:1, LPC 20:5, LPC 20:3, LPC 20:2, LPC 20:1, LPC 20:0;

40 éster de colesterol (CE) 14:0, CE 15:0, CE 16:2, CE 16:0, CE 17:1, CE 20:1, CE 17:0, CE 18:0, CE 20:3, CE 20:2, CE 22:5, CE 22:4, CE 22:3, CE 22:2, CE 22:1, CE 22:0, CE 24:6, CE 24:5, CE 24:4, CE 24:3, CE 24:2, CE 24:1, y CE 24:0;

en el que el nivel de un analito lipídico individual es diferente entre sujetos normales y con enfermedad cardíaca y en el que el nivel de los analitos lipídicos en el sujeto con respecto a un control proporciona una indicación de la presencia o ausencia de enfermedad cardíaca.

- 45 También se describen en el presente documento ensayos que comprenden además determinar los niveles de al menos dos analitos lipídicos seleccionados de la lista que consiste en:

(i) uno o más analitos lipídicos modificados enumerados en la Tabla 1;

(ii) dos o más analitos lipídicos no modificados enumerados en la Tabla 1; y/o

50 (iii) dos o más analitos lipídicos, en los que al menos uno es un analito lipídico modificado enumerado en la Tabla 1 y al menos uno es un analito lipídico no modificado enumerado en la Tabla 1;

## ES 2 665 621 T3

en los que el nivel de un analito lipídico individual enumerado en la Tabla 1 es diferente entre sujetos normales y sujetos con enfermedad cardiaca, y en los que el nivel de los analitos lipídicos en el sujeto respecto a un control identifica al sujeto como un sujeto normal o un sujeto con enfermedad cardiaca.

5 Como se describe en este documento, el o cada analito lipídico modificado de (i) puede ser seleccionado entre una ceramida modificada (modCER) y una fosfatidilcolina modificada (modPC).

Como se describe y/o se reivindica en este documento, los analitos lipídicos no modificados de (ii) se seleccionan entre una dihexosilceramida (DHC), una esfingomielina (SM), un fosfatidilinositol (PI), una lisofosfatidilcolina (LPC), una fosfatidilcolina (PC), una alquilfosfatidilcolina (APC), un éster de colesterol (CE), un diacilglicerol (DG) y un triacilglicerol (TG).

10 Como se describe y/o se reivindica en este documento, el o cada analito lipídico modificado de (iii) se selecciona entre una ceramida modificada (modCER) y una fosfatidilcolina modificada (modPC), y el o cada lípido no modificado de (iii) se selecciona entre una dihexosilceramida (DHC), una esfingomielina (SM), un fosfatidilinositol (PI), una lisofosfatidilcolina (LPC), un alquilfosfatidilcolina (APC), un éster de colesterol (CE), un diacilglicerol (DG) y un triacilglicerol (TG).

15 Como se describe y/o se reivindica en este documento, los ensayos comprenden determinar los niveles de al menos dos analitos lipídicos seleccionados entre modCer 731,6, GM3 18:0, PC34:5, DHC 18:1, APC 34:2, SM 18:0, Cer 18:1, PI 36:1, APC 36:0, DG 18:1 20:0, LPC 14:0, LPC 16:1, PC 24:0, Cer 18:0, PI 36:3, PI 38:2, modPC. 622,4/40, LPC 18:2, LPC 24:0, PC 34:3, modPC 752,6/5,58, PI 34:0, modCer 703,6/5,87 y SM 22:1,

20 Como se describe y/o se reivindica en este documento, los ensayos comprenden determinar los niveles de al menos cuatro, seis, ocho o dieciséis analitos lipídicos seleccionados del grupo que consiste en modCer 731,6, GM3 18:0, PC34:5, DHC 18:1, APC 34:2, SM 18:0, Cer 18:1, PI 36:1, APC 36:0, DG 18:1 20:0, LPC 14:0, LPC 16:1, PC 24:0, Cer 18:0, PI 36:3, PI 38:2, modPC.622,4/40, LPC 18:2, LPC 24:0, PC 34:3, modPC 752,6/5,58, PI 34:0, modCer 703,6/5,87 y SM 22:1,

25 En realizaciones particulares, los niveles de analitos lipídicos ensayados se usan en combinación con uno o más factores de riesgo tradicionales seleccionados entre edad, sexo, tabaquismo, diabetes, hipertensión, antecedentes familiares de EAC, índice de masa corporal, colesterol total, LDL, HDL, triglicéridos, glucosa y hsCRP para identificar de esta manera el sujeto como vulnerable o no vulnerable.

30 Lo adecuado es que los ensayos comprendan, en algunas realizaciones, comparar el nivel de los al menos dos analitos lipídicos del sujeto con los respectivos niveles de los mismos analitos lipídicos en al menos un sujeto de control seleccionado entre un sujeto normal y un sujeto con enfermedad cardiaca, en los que una similitud en los respectivos niveles de los al menos dos analitos lipídicos entre el sujeto y el sujeto con enfermedad cardiaca identifica al sujeto como aquel que tiene enfermedad cardiaca, y en los que una similitud en los respectivos niveles de los al menos dos analitos lipídicos entre el sujeto y el sujeto normal identifica al sujeto como normal con respecto a la enfermedad cardiaca.

35 Los ensayos descritos y/o reivindicados en este documento comprenden determinar o determinar y comparar los niveles de 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94 o 95 analitos lipídicos, preferentemente de 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 o 16 analitos lipídicos de la Tabla 1, en los que  
40 el nivel de un analito lipídico individual enumerado en la Tabla 1 es diferente entre los sujetos normales y los sujetos con enfermedad cardiaca.

Como se describe en este documento, el analito lipídico modificado de (i) puede ser uno o más de entre una ceramida modificada (modCER) y una fosfatidilcolina modificada (modPC).

45 Como se describe y/o se reivindica en este documento, el analito lipídico no modificado de (ii) es dos o más de entre una ceramida (CER), monohexoxilceramida (MHC), dihexoxilceramida (DHC), trihexoxilceramida (THC), gangliósido GM3 (GM3), ceramidas modificados (modCer), esfingomielina (SM), fosfatidilserina (PS), fosfatidilinositol (PI), lisofosfatidilcolina (LPC), factor activador de lisoplaquetas (LPAF), fosfatidilcolina (PC), fosfatidilcolina de cadena impar (oddPC), alquilfosfatidilcolina (APC), fosfatidilcolina modificada (modPC), ésteres de colesterol (CE), diacilglicerol (DG) y triacilglicerol (TG).

50 Como se describe y/o se reivindica en este documento, el o cada analito lipídico modificado de (iii) es uno o más de entre una ceramida modificada (modCER) y una fosfatidilcolina modificada (modPC), y el o cada lípido no modificado de (iii) se selecciona entre una ceramida (CER), una monohexoxilceramida (MHC), una dihexoxilceramida (DHC), trihexoxilceramida (THC), gangliósidos GM3 (GM3), ceramidas modificadas (modCer),

esfingomielina (SM), fosfatidilserina (PS), fosfatidilinositol (PI), lisofosfatidilcolina (LPC), factor activador de lisoplaquetas (LPAF), fosfatidilcolina (PC), fosfatidilcolina de cadena impar (oddPC), alquilfosfatidilcolina (APC), fosfatidilcolina modificada (modPC), ésteres de colesterol (CE), diacilglicerol (DG) y un triacilglicerol (TG).

5 En un ejemplo ilustrativo, los analitos lipídicos son dos o más de LPC 22:0, PS 40:6, PI 34:0, Cer 20:0, Cer 18:0, APC 34:2, PC 34:5, LPC 20:3, PC 28:0, modPC 692,4/5,8, APC 30:0, modPC 736,5/5,7, LPC 20:4, APC 38:6, modPC 720,5/4,5, PI 36:0, LPC 24:0, PS 40:5, LPC 20:0, modPC 877,6/6,0 y CE 22:4,

10 En un ejemplo ilustrativo adicional, los analitos lipídicos son dos o más de LPC 22:0, PS 40:6, PI 34:0, Cer 20:0, Cer 18:0, APC 34:2, PC 34:5, LPC 20:3, PC 28:0, modPC 692,4/5,8, APC 30:0, modPC 736,5/5,7, LPC 20:4, APC 38:6, modPC 720,5/4,5, PI 36:0, LPC 24:0, PS 40:5, LPC 20:0, modPC 877,6/6,0, CE 22:4, ModPC 580,4/4,84, PS 40: 6, modPC 752,6/5,58, APC 32:1, oddPC 37:3, GM3 24:1, oddPC 33:0, APC 36:0, CE 24:3, SM 20:1, SM 18:0, LPC 20:0, modCE 682,7/8,76, COH, Cer 20:0, LPC 16:1, TG 16:1 16:1 16:1, modPC 564,4/4,70, modPC 720,6/4,52, modPC 608,4/5,33, PE 38:3, PE 38:1, modPC 580,4/4,84, PS 40:6, GM3 22:0, PC 37:3, PC 33:0, modPC 788,6/5,19, C24:3, C24:4, modPC 666,4/2,99, modPC 678,4/4,37, modCer 731,6/6,22, SM 18:1, APC 36:5, modPC 769,6/6,25, APC 36:3, oddPC 35:4, PG 18:1 18:1, TG 18:1 18:1 18:2, modPC 881,7/6,05, CE 17:0 y PI 38:5,

15 En otro ejemplo ilustrativo, los analitos lipídicos son cuatro o más, seis o más, ocho o más o dieciséis o más de LPC 22:0, PS 40:6, PI 34:0, Cer 20:0, Cer 18:0, APC 34:2, PC 34:5, LPC 20:3, PC 28:0, modPC 692,4/5,8, APC 30:0, modPC 736,5/5,7, LPC 20:4, APC 38:6, modPC 720,5/4,5, PI 36:0, LPC 24:0, PS 40:5, LPC 20:0, modPC 877,6/6,0, CE 22:4, ModPC 580,4/4,84, PS 40:6, modPC 752,6/5,58, APC 32:1, oddPC 37:3, GM3 24:1, oddPC 33:0, APC 36:0, CE 24:3, SM 20:1, SM 18:0, LPC 20:0, modCE 682,7/8,76, COH, Cer 20:0, LPC 16:1, TG 16:1 16:1 16:1, modPC 564,4/4,70, modPC 720,6/4,52, modPC 608,4/5,33, PE 38:3, PE 38:1, modPC 580,4/4,84, PS 40:6, GM3 22:0, PC 37:3, PC 33:0, modPC 788,6/5,19, C24:3, C24:4, modPC 666,4/2,99, modPC 678,4/4,37, modCer 731,6/6,22, SM 18:1, APC 36:5, modPC 769,6/6,25, APC 36:3, oddPC 35:4, PG 18:1 18:1, TG 18:1 18:1 18:2, modPC 881,7/6,05, CE 17:0 y PI 38:5,

25 En realizaciones particulares, los niveles de analitos lipídicos ensayados se usan en combinación con uno o más factores de riesgo tradicionales seleccionados entre edad, sexo, tabaquismo, diabetes, hipertensión, antecedentes familiares de EAC, índice de masa corporal, colesterol total, LDL, HDL, triglicéridos, glucosa y hsCRP para identificar de esta manera el sujeto como normal o con enfermedad cardíaca.

30 También se describe en el presente documento un ensayo para estratificar a un sujeto con respecto a la enfermedad cardíaca, comprendiendo el ensayo la determinación de los niveles de un analito lipídico seleccionado de la lista que consiste en:

(i) uno o más analitos lipídicos modificados enumerados en la Tabla 1;

(ii) dos o más analitos lipídicos no modificados enumerados en la Tabla 1, y

(iii) dos o más analitos lipídicos, en los que al menos uno es un analito lipídico modificado enumerado en la Tabla 1 y al menos uno es un analito lipídico no modificado enumerado en la Tabla 1;

35 en el que el nivel o la proporción del analito o de los analitos lipídicos con respecto a un control proporciona una indicación o correlación en cuanto a la presencia, ausencia, estado, clasificación o progresión de la enfermedad cardíaca.

40 También se describe en el presente documento un ensayo para estratificar un sujeto con respecto a la enfermedad cardíaca, comprendiendo el ensayo la determinación de los niveles de al menos dos analitos lipídicos seleccionados de la lista que consiste en:

(i) uno o más analitos lipídicos modificados enumerados en la Tabla 1;

(ii) dos o más analitos lipídicos no modificados enumerados en la Tabla 1, y/o

(iii) dos o más analitos lipídicos, en los que al menos uno es un analito lipídico modificado enumerado en la Tabla 1 y al menos uno es un analito lipídico no modificado enumerado en la Tabla 1;

45 en el que el nivel de un analito lipídico individual enumerado en la Tabla 1 es diferente entre los sujetos normales y con enfermedad cardíaca, y en el que el nivel de los analitos lipídicos en el sujeto con respecto a un control proporciona una indicación de la presencia o ausencia de la enfermedad cardíaca.

En algunas realizaciones, los ensayos comprenden comparar el nivel de los al menos dos analitos lipídicos del

sujeto con los respectivos niveles de los mismos analitos lipídicos en al menos un sujeto de control seleccionado entre un sujeto normal y un sujeto con enfermedad cardiaca, en los que una similitud en los respectivos niveles de los al menos dos analitos lipídicos entre el sujeto y el sujeto con enfermedad cardiaca identifica al sujeto que tiene enfermedad cardiaca, y en los que una similitud en los respectivos niveles de los al menos dos analitos lipídicos entre el sujeto y el sujeto normal identifica al sujeto como un sujeto normal con respecto a la enfermedad cardiaca.

En realizaciones ilustrativas, los ensayos comprenden determinar o determinar y comparar los niveles de 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 o 16 analitos lipídicos, en los que el nivel de un analito lipídico individual de acuerdo con el ensayo reivindicado es diferente entre los sujetos normales y los que tienen enfermedad cardiaca.

Como se describe en este documento, el analito lipídico modificado de (i) puede ser uno o más de entre una ceramida modificada (modCER) y una fosfatidilcolina modificada (modPC).

Como se describe y/o se reivindica en este documento, el analito lipídico no modificado de (ii) es dos o más de entre una ceramida (CER), monohexoxilceramida (MHC), dihexoxilceramida (DHC), trihexoxilceramida (THC), gangliósido GM3 (GM3), ceramidas modificados (modCer), esfingomielina (SM), fosfatidilserina (PS), fosfatidilinositol (PI), lisofosfatidilcolina (LPC), factor activador de lisoplaquetas (LPAF), fosfatidilcolina (PC), fosfatidilcolina de cadena impar (oddPC), alquilfosfatidilcolina (APC), fosfatidilcolina modificada (modPC), ésteres de colesterol (CE), diacilglicerol (DG) y triacilglicerol (TG).

Como se describe y/o se reivindica en este documento, el o cada analito lipídico modificado de (iii) es uno o más de entre una ceramida modificada (modCER) y una fosfatidilcolina modificada (modPC), y el o cada lípido no modificado de (iii) se selecciona entre una ceramida (CER), una monohexoxilceramida (MHC), una dihexoxilceramida (DHC), trihexoxilceramida (THC), gangliósidos GM3 (GM3), ceramidas modificadas (modCer), esfingomielina (SM), fosfatidilserina (PS), fosfatidilinositol (PI), lisofosfatidilcolina (LPC), factor activador de lisoplaquetas (LPAF), fosfatidilcolina (PC), fosfatidilcolina de cadena impar (oddPC), alquilfosfatidilcolina (APC), fosfatidilcolina modificada (modPC), ésteres de colesterol (CE), diacilglicerol (DG) y un triacilglicerol (TG).

En un ejemplo ilustrativo, los analitos lipídicos son dos o más de LPC 22:0, PS 40:6, PI 34:0, Cer 20:0, Cer 18:0, APC 34:2, PC 34:5, LPC 20:3, PC 28:0, modPC 692,4/5,8, APC 30:0, modPC 736,5/5,7, LPC 20:4, APC 38:6, modPC 720,5/4,5, PI 36:0, LPC 24:0, PS 40:5, LPC 20:0, modPC 877,6/6,0, CE 22:4, ModPC 580,4/4,84, PS 40: 6, modPC 752,6/5,58, APC 32:1, oddPC 37:3, GM3 24:1, oddPC 33:0, APC 36:0, CE 24:3, SM 20:1, SM 18:0, LPC 20:0, modCE 682,7/8,76, COH, Cer 20:0, LPC 16:1, TG 16:1 16:1 16:1, modPC 564,4/4,70, modPC 720,6/4,52, modPC 608,4/5,33, PE 38:3, PE 38:1, modPC 580,4/4,84, PS 40:6, GM3 22:0, PC 37:3, PC 33:0, modPC 788,6/5,19, C24:3, C24:4, modPC 666,4/2,99, modPC 678,4/4,37, modCer 731,6/6,22, SM 18:1, APC 36:5, modPC 769,6/6,25, APC 36:3, oddPC 35:4, PG 18:1 18:1, TG 18:1 18:1 18:2, modPC 881,7/6,05, CE 17:0 y PI 38:5,

En otro ejemplo ilustrativo, los analitos lipídicos son cuatro o más, seis o más, ocho o más, o dieciséis o más de LPC 22:0, PS 40:6, PI 34:0, Cer 20:0, Cer 18:0, APC 34:2, PC 34:5, LPC 20:3, PC 28:0, modPC 692,4/5,8, APC 30:0, modPC 736,5/5,7, LPC 20:4, APC 38:6, modPC 720,5/4,5, PI 36:0, LPC 24:0, PS 40:5, LPC 20:0, modPC 877,6/6,0, CE 22:4, ModPC 580,4/4,84, PS 40: 6, modPC 752,6/5,58, APC 32:1, oddPC 37:3, GM3 24:1, oddPC 33:0, APC 36:0, CE 24:3, SM 20:1, SM 18:0, LPC 20:0, modCE 682,7/8,76, COH, Cer 20:0, LPC 16:1, TG 16:1 16:1 16:1, modPC 564,4/4,70, modPC 720,6/4,52, modPC 608,4/5,33, PE 38:3, PE 38:1, modPC 580,4/4,84, PS 40:6, GM3 22:0, PC 37:3, PC 33:0, modPC 788,6/5,19, C24:3, C24:4, modPC 666,4/2,99, modPC 678,4/4,37, modCer 731,6/6,22, SM 18:1, APC 36:5, modPC 769,6/6,25, APC 36:3, oddPC 35:4, PG 18:1 18:1, TG 18:1 18:1 18:2, modPC 881,7/6,05, CE 17:0 y PI 38:5,

En algunas realizaciones adicionales, los niveles de analitos lipídicos ensayados se usan en combinación con uno o más factores de riesgo tradicionales seleccionados entre edad, sexo, tabaquismo, diabetes, hipertensión, antecedentes familiares de EAC, índice de masa corporal, colesterol total, LDL, HDL, triglicéridos, glucosa y hsCRP para identificar de esta manera el sujeto como normal o con enfermedad cardiaca.

En el presente documento, se describe además el uso de un panel de analitos lipídicos seleccionados de la lista que consiste en:

(i) uno o más analitos lipídicos modificados enumerados en la Tabla 1;

(ii) dos o más analitos lipídicos no modificados enumerados en la Tabla 1, y

(iii) dos o más analitos lipídicos, en los que al menos uno es un analito lipídico modificado enumerado en la Tabla 1 y al menos uno es un analito lipídico no modificado enumerado en la Tabla 1;

en la fabricación de un ensayo para identificar la presencia, el estado, la clasificación o la progresión de la enfermedad cardiaca en un sujeto.

Como se describe y/o se reivindica en este documento, los analitos lipídicos son dos o más seleccionados entre una ceramida (Cer) incluyendo Cer 16:0, Cer 30 18:1, Cer 18:0, Cer 20:0, Cer 22:0, Cer 24:1, Cer 24:0; una monohexosilceramida (MHC) incluyendo MHC 16:0, MHC 18:1, MHC 18:0, MHC 20:0, MHC 22:0, MHC 24:1, MHC 24:0; una dihexosilceramida (DHC) incluyendo DHC 16:0, DHC 18:1, DHC 18:0, DHC 20:0, DHC 22:0, DHC 24:1, DHC 24:0; una trihexosilceramida (THC) incluyendo THC 16:0, THC 18:1, THC 18:0, THC 20:0, THC 22:0, THC 24:1, THC 24:0; un gangliósido GM3 (GM3) incluyendo GM3 16:0, GM3 18:0, GM3 20:0, GM3 22:0, GM3 24:1, GM3 24:0; una esfingomielina (SM) incluyendo SM 14:0, SM 15:0, SM 16:1, SM 16:0, SM 18:1, SM 35 18:0, SM 20:1, SM 22:1, SM 22:0, SM 24:2, SM 24:1, SM 24:0; un fosfatidilglicerol (PG) incluyendo PG 16:1 18:1, PG 16:0 18:1, PG 18:1 18:1, PG 18:0 18:1; un bis(monoacilglicerol)fosfato (BMP) incluyendo BMP 18:1 18:1; fosfatidilserina (PS) incluyendo PS 36:2, PS 36:1, PS 38:5, PS 38:4, PS 38:3, PS 40:6, PS 40:5; fosfatidiletanolamina (PE) incluyendo PE 32:1, PE 32:0, PE 34:2, PE 34:1, PE 36:5, PE 36:4, PE 36:3, PE 36:2, PE 36:1, PE 36:0, PE 38:6, PE 38:5, PE 38:4, PE 38:3, PE 38:2, PE 38:1, PE 40:7, PE 40:6; un fosfatidilinositol (PI) incluyendo PI 32:1, PI 32:0, 40 PI 34:1, PI 34:0, PI 36:4, PI 36:3, PI 36:2, PI 36:1, PI 36:0, PI 38:6, PI 38:5, PI 38:4, PI 38:3, PI 38:2, PI 40:6, PI 40:5, PI 40:4; una lisofosfatidilcolina (LPC) incluyendo LPC 14:0, LPC 15:0, LPC 16:1, LPC 16:0, LPC 18:2, LPC 18:1, LPC 18:0, LPC 20:5 LPC 20:4, LPC 20:3, LPC 20:2, LPC 20:1, LPC 20:0, LPC 22:6; un factor activador de lisoplaquetas (LPAF) incluyendo LPAF 16:0, LPAF 18:1, LPAF 18:0; una fosfatidilcolina (PC) incluyendo PC 30:2, PC 32:2, PC 32:1, PC 32:0, PC 34:3, PC 34:2, PC 34:1, PC 34:0, PC 36:5, PC 36:4, PC 36:3, PC 36:2, PC 38:6, PC 38:5, PC 38:4, PC 40:7, PC 45 40:6, PC 40:5, PC 44:12; una alquilfosfatidilcolina (APC) incluyendo APC 32:1, APC 32:0, APC 34:2, APC 34:1, APC 34:0, APC 36:5, APC 36:4, APC 36:3, APC 36:2, APC 36:1, APC 36:0, APC 38:6, APC 38:5, APC 38:4, APC 38:3, APC 38:2; un éster de colesterol (CE) incluyendo CE 14:0, CE 15:0, CE 16:2, CE 16:1, CE 16:0, CE 17:1, CE 17:0, CE 18:3, CE 18:2, CE 18:1, CE 18:0, CE 20:5, CE 20:4, CE 20:3, CE 20:2, CE 20:1, CE 22:6, CE 22:5, CE 22:4, CE 22:3; CE 22:2, CE 22:1, CE 22:0, CE 24:6, CE 24:5, CE 24:4, CE 24:3, CE 24:2, CE 24:1, CE 24:0; un diacilglicerol (DG) incluyendo DG 50 14:0 14:0, DG 14:1 16:0, DG 14:0 16:0, DG 14:0 18:2, DG 14:0 18:1, DG 16:0 16:0, DG 16:0 18:2, DG 16:1 18:1, DG 16:0 18:1, DG 18:0 16:1, DG 16:0 18:0, DG 16:0 20:4, DG 18:1 18:3, DG 18:2 18:2, DG 16:0 20:3, DG 18:1 18:2, DG 18:0 18:2, DG 18:1 18:1, DG 18:0 18:1, DG 16:0 20:0, DG 18:0 18:0, DG 16:0 22:6, DG 16:0 22:5, DG 18:1 20:4, DG 18:0 20:4, DG 18:1 20:3, DG 18:1 20:0; y un triacilglicerol (TG) incluyendo TG 14:0 16:1 18:2, TG 16:1 16:1 16:1, TG 14:0 16:0 18:2, TG 14:0 16:1 18:1, TG 14:1 16:0 18:1, TG 14:1 16:1 18:0, TG 14:0 18:2 18:2, TG 14:1 18:0 18:2, TG 14:1 18:1 18:1, TG 16:1 16:1 18:1, TG 16:0 16:0 18:2, TG 16:1 16:1 18:0, TG 16:0 16:1 18:1, TG 14:0 18:0 18:1, TG 16:0 16:0 18:1, TG 16:0 16:0 18:0, TG 15:0 18:1 18:1, TG 17:0 18:1 16:1, TG 17:0 18:2 16:0, TG 17:0 18:1 16:0, TG 17:0 16:0 18:0, TG 16:0 18:2 18:2, TG 16:1 18:1 18:2, TG 16:1 18:1 18:1, TG 16:0 18:1 18:2, TG 16:0 18:1 18:1, TG 16:0 18:0 18:1, TG 17:0 18:1 18:1, TG 18:2 18:2 18:2, TG 18:1 18:2 18:2, TG 18:0 18:2 18:2, TG 18:1 18:1 18:2, TG 18:1 18:1 18:1, TG 18:0 18:1 18:1, TG 18:0 18:0 18:1, TG 18:0 18:0 18:0, TG 18:2 18:2 20:4, TG 18:1 18:1 20:4, TG 18:1 18:1 22:6; una ceramida modificada (modCer) incluyendo modCer 576,5/7,68, modCer 614,6/5,72, modCer 632,6/9,22, modCer 651,6/7,56, modCer 703,6/5,87, modCer 731,6/6,22, modCer 766,6/7,17, modCer 769,6/8,01, modCer 798,7/7,29, modCer 875,7/9,23, modCer 883,8/7,75, modCer 886,8/9,06, modCer 910,8/8,98, modCer 921,8/9,05; fosfatidilcolina (modPC) incluyendo modPC 506,3/3,50, modPC 508,3/3,30, modPC 510,3/4,00, modPC 512,3/1,70, modPC 536,3/3,50, modPC 538,3/4,10, modPC 552,4/3,90, modPC 564,4/4,70, modPC 566,4/5,10, modPC 580,4/4,84, modPC 594,4/3,26, modPC 608,4/3,84, modPC 610,4/2,03, modPC 622,4/4,54, modPC 633,4/4,51, modPC 636,4/3,37, modPC 645,4/4,49, modPC 650,4/3,24, modPC 650,4/4,44, modPC 650,4/3,94, modPC 664,4/4,22, modPC 666,4/2,99, modPC 678,4/4,37, modPC 678,4/4,94, modPC 678,4/5,51, modPC 690,4/4,11, modPC 690,4/4,90, modPC 690,4/6,00, modPC 692,4/5,05, modPC 692,4/5,52, modPC 692,4/6,10, modPC 694,4/6,20, modPC 703,5/4,09, modPC 704,5/3,81, modPC 706,5/3,79, modPC 720,5/4,52, modPC 736,5/5,38, modPC 743,5/5,91, modPC 752,5/5,58, modPC 772,5/5,37, modPC 773,6/6,47, modPC 788,6/5,19, modPC 801,6/6,70, modPC 816,6/5,58, modPC 818,6/6,10, modPC 818,6/6,48, modPC 828,6/6,03, modPC 843,6/7,10, modPC 866,6/7,24, modPC 878,6/5,98, modPC 881,6/6,05; y un éster de colesterol (modCE) incluyendo modCE 558,5/7,74, modCE 588,5/7,94, modCE 682,7/8,76, modCE 790,8/6,57.

El perfil lipídómico permite además la determinación de criterios de valoración en los estudios farmacotraduccionales. Por ejemplo, los ensayos clínicos pueden tardar muchos meses o incluso años en establecer los parámetros farmacológicos de un medicamento para su uso en el cuidado coronario. Sin embargo, estos parámetros pueden estar asociados con un perfil lipídómico asociado con un estado de salud. Por lo tanto, se puede acelerar el ensayo clínico seleccionando primero un medicamento y los parámetros farmacéuticos que producen un perfil lipídómico asociado con el estado de salud deseado.

Por consiguiente, en el presente documento, se describe un método para determinar la eficacia farmacológica de un medicamento para su uso en el tratamiento de la enfermedad cardiaca, comprendiendo el método la selección de un medicamento y sus parámetros de concentración y/o de formulación que proporcionan un perfil lipídómico asociado o característico de un individuo sano, perfil lipídómico identificado mediante la determinación de los niveles de un analito lipídico seleccionado de la lista que consiste en:

(i) uno o más analitos lipídicos modificados enumerados en la Tabla 1;

(ii) dos o más analitos lipídicos no modificados enumerados en la Tabla 1 y

(iii) dos o más analitos lipídicos, en los que al menos uno es un analito lipídico modificado enumerado en la Tabla 1 y al menos uno es un analito lipídico no modificado enumerado en la Tabla 1;

en el que el nivel o la proporción de analito o analitos lipídicos con respecto a un control proporciona una correlación de la presencia, del estado, de la clasificación o de la progresión de la enfermedad cardiaca.

5 También se describe en el presente documento es un método de realización de un ensayo clínico para un medicamento para el tratamiento o la profilaxis de la enfermedad cardiaca, comprendiendo el método la realización del ensayo clínico usando una formulación del medicamento que genera un perfil lipídico asociado o característico de un individuo sano, perfil lipídico identificado mediante la determinación de los niveles de un analito lipídico seleccionado de la lista que consiste en:

10 (i) uno o más analitos lipídicos modificados enumerados en la Tabla 1;

(ii) dos o más analitos lipídicos no modificados enumerados en la Tabla 1 y

(iii) dos o más analitos lipídicos, en los que al menos uno es un analito lipídico modificado enumerado en la Tabla 1 y al menos uno es un analito lipídico no modificado enumerado en la Tabla 1;

15 en el que el nivel o la proporción de analito o analitos lipídicos con respecto a un control proporciona una correlación de la presencia, del estado, de la clasificación o de la progresión de la enfermedad cardiaca.

Por lo tanto, el perfil lipídico se puede usar como un marcador para definir un estado deseado de salud en un individuo. Se puede considerar, por lo tanto, un criterio de valoración indirecto definido o un criterio de valoración deseado en el tratamiento clínico de los sujetos que reciben tratamiento de la enfermedad cardiaca.

20 Hay muchos métodos que se pueden usar para detectar los niveles de analitos lipídicos, incluyendo la espectrometría de masas. En particular, se usa cromatografía de líquidos, espectrometría de masas en tándem con ionización por electronebulización.

También se pueden realizar ensayos inmunológicos en cualquier formato conveniente conocido en la técnica. Estos incluyen transferencias Western, ensayos de inmunohistoquímica y ensayos ELISA. Se puede usar cualquier medio para detectar un nivel de un analito lipídico de acuerdo con la presente invención.

25 La muestra biológica es cualquier fluido, o extracto celular o extracto de tejido en un sujeto que comprenda lípidos. En una realización, la muestra biológica es un tejido del corazón o que rodea el corazón. En otra realización, la muestra biológica incluye sangre, plasma, suero, linfa, orina y saliva o extractos celulares.

30 La presente invención identifica la presencia de un perfil lipídico asociado con la enfermedad cardiaca. Para detectar un analito lipídico, se prepara una muestra biológica y se analiza en cuanto a una diferencia en los niveles entre el sujeto que se está ensayando y un control. En este contexto, un "control" incluye los niveles de una población normal estadísticamente significativa.

35 La identificación de la asociación entre la fisiopatología de la enfermedad cardiaca y los niveles o las proporciones de lípidos permite la detección temprana presintomática de los individuos para identificar a aquellos en riesgo de desarrollar la enfermedad cardiaca o para identificar la causa de un trastorno de este tipo, o el riesgo de que cualquier individuo desarrolle la misma. El presente ensayo permite a los profesionales identificar o estratificar a los individuos en riesgo de ciertos estados de comportamiento asociados con la enfermedad cardiaca o sus manifestaciones, incluyendo la incapacidad para superar los síntomas de la enfermedad cardiaca después del tratamiento inicial. Entonces, se pueden introducir ciertos protocolos de comportamiento o terapéuticos o dietéticos para reducir el riesgo de desarrollar la enfermedad cardiaca. El diagnóstico presintomático permitirá un mejor tratamiento de la enfermedad cardiaca, incluyendo el uso de terapias médicas existentes. La tipificación lipídica de los individuos es útil para (a) identificar una forma de enfermedad cardiaca que responda a determinados fármacos; (b) identificar los tipos de enfermedad cardiaca que responden bien a medicamentos o tipos de medicamentos específicos con menos efectos adversos; y (c) orientar el descubrimiento y ensayo de nuevos fármacos.

45 También se describe en el presente documento un método de tratamiento o profilaxis de un sujeto que comprende ensayar el sujeto con respecto a la enfermedad cardiaca mediante la determinación de los niveles de un analito lipídico seleccionado de la lista que consiste en:

(i) uno o más analitos lipídicos modificados enumerados en la Tabla 1;

(ii) dos o más analitos lipídicos no modificados enumerados en la Tabla 1 y

(iii) dos o más analitos lipídicos, en los que al menos uno es un analito lipídico modificado enumerado en la Tabla 1 y al menos uno es un analito lipídico no modificado enumerado en la Tabla 1;

5 en el que el nivel o la proporción de analito o analitos lipídicos con respecto a un control proporciona una correlación con la presencia, el estado, la clasificación o la progresión de la enfermedad cardiaca, proporcionando después la modificación terapéutica y/o de comportamiento al sujeto.

10 En el presente documento, también se describe un sistema basado en la Web donde los datos sobre los niveles de expresión de los lípidos son proporcionados por un servidor de cliente a un procesador central que los analiza y los compara con un control y, opcionalmente, considera otra información tal como la edad, el sexo, el peso y otras afecciones médicas del paciente, y a continuación, proporciona un informe tal como, por ejemplo, un factor de riesgo para la gravedad o la progresión o el estado de la enfermedad, o un índice de probabilidad de la enfermedad cardiaca en individuos sintomáticos o asintomáticos.

Por lo tanto, en el presente documento, también se describe el soporte lógico y físico informático basado en el conocimiento.

15 En particular, los ensayos de la presente invención se pueden usar en arquitectura o plataformas existentes o recién desarrolladas basadas en el conocimiento asociadas con los servicios de patología. Por ejemplo, los resultados de los ensayos se transmiten a través de una red de comunicaciones (por ejemplo, Internet) a un sistema de procesamiento en el que se almacena un algoritmo y se usa para generar un valor de probabilidad posterior predicho que se traduce en el índice de probabilidad de la enfermedad, que luego es enviado a un usuario final en forma de un informe de diagnóstico o predictivo.

20 Por lo tanto, el ensayo puede estar en forma de un kit o un sistema basado en ordenador que comprenda los reactivos necesarios para detectar la concentración de los biomarcadores lipídicos, y el soporte lógico y/o físico informático para facilitar la determinación y la transmisión de informes a un clínico.

25 El ensayo de la presente invención permite la integración en sistemas de arquitectura o plataforma de patologías existentes o recientemente desarrolladas. Por ejemplo, en el presente documento, se describe un método para permitir a un usuario determinar el estado de un sujeto con respecto a una enfermedad cardiaca o subtipo de la misma o etapa de la enfermedad cardiaca, método que incluye:

(a) recibir datos en forma de niveles o concentraciones de un analito lipídico seleccionado de la lista que consiste en:

(i) uno o más analitos lipídicos modificados enumerados en la Tabla 1;

(ii) dos o más analitos lipídicos no modificados enumerados en la Tabla 1 y

30 (iii) dos o más analitos lipídicos, en el que al menos uno es un analito lipídico modificado enumerado en la Tabla 1 y al menos uno es un analito lipídico no modificado enumerado en la Tabla 1;

en el que el nivel o la proporción de analito o analitos lipídicos con respecto a un control proporciona una correlación con la presencia, el estado, la clasificación o la progresión de la enfermedad cardiaca;

desde el usuario a través de una red de comunicaciones;

35 (b) procesar los datos del sujeto a través de análisis multivariado para proporcionar un valor de índice de la enfermedad;

(c) determinar el estado del sujeto de acuerdo con los resultados del valor del índice de la enfermedad en comparación con valores predeterminados; y

40 (d) transferir una indicación del estado del sujeto al usuario a través de la red de comunicaciones. La referencia al análisis multivariado incluye un algoritmo que realiza la función del análisis multivariado o univariado.

Convenientemente, el método generalmente incluye además:

(a) que el usuario tenga que determinar los datos usando una estación final remota; y

(b) transferir los datos desde la estación final a la estación base a través de la red de comunicaciones.

La estación base puede incluir un primer y segundo sistema de procesamiento, en cuyo caso el método puede

incluir:

(a) transferir los datos al primer sistema de procesamiento;

(b) transferir los datos al segundo sistema de procesamiento; y

5 (c) hacer que el primer sistema de procesamiento realice la función de análisis multivariado para generar el valor de índice de la enfermedad.

El método también puede incluir:

(a) transferir los resultados de la función de análisis multivariado al primer sistema de procesamiento; y

(b) hacer que el primer sistema de procesamiento determine el estado del sujeto.

En este caso, el método también incluye al menos uno de:

10 (a) transferir los datos entre la red de comunicaciones y el primer sistema de procesamiento a través de un primer servidor de seguridad; y

(b) transferir los datos entre el primer y segundo sistema de procesamiento a través de un segundo servidor de seguridad.

15 El segundo sistema de procesamiento puede estar acoplado a una base de datos adaptada para almacenar datos predeterminados y/o la función de análisis multivariado, incluyendo el método:

(a) consultar la base de datos para obtener al menos datos predeterminados seleccionados o acceso a la función de análisis multivariado de la base de datos; y

(b) comparar los datos predeterminados seleccionados con los datos del sujeto, o generar un índice de probabilidad predicha.

20 El segundo sistema de procesamiento se puede acoplar a una base de datos, incluyendo el método el almacenamiento de los datos en la base de datos.

25 El método también puede incluir que el usuario tenga que determinar los datos usando una matriz segura, la matriz segura de elementos capaces de determinar el nivel de biomarcador y que tiene un número de características, cada una situada en la o las posiciones correspondientes en el respectivo código. En este caso, el método normalmente incluye hacer que la estación base:

(a) determine el código de los datos;

(b) determine una disposición que indique la posición de cada característica en la matriz; y

(c) determine los valores de los parámetros de acuerdo con la posición determinada y los datos.

El método también puede incluir hacer que la estación base:

30 (a) determine la información de pago, representando la información de pago la prestación del pago por parte del usuario; y

(b) realice la comparación en respuesta a la determinación de la información de pago.

35 También se describe en el presente documento una estación base para determinar el estado de un sujeto con respecto a una enfermedad cardíaca o un subtipo de la misma o una etapa de la enfermedad cardíaca, incluyendo la estación base:

(a) un método de almacenamiento;

(b) un sistema de procesamiento, estando el sistema de procesamiento adaptado a:

(c) recibir datos del sujeto desde el usuario a través de una red de comunicaciones, incluyendo los datos los niveles



o las concentraciones de un analito lipídico seleccionado de la lista que consiste en:

(i) uno o más analitos lipídicos modificados enumerados en la Tabla 1;

(ii) dos o más analitos lipídicos no modificados enumerados en la Tabla 1 y

5 (iii) dos o más analitos lipídicos, en los que al menos uno es un analito lipídico modificado enumerado en la Tabla 1 y al menos uno es un analito lipídico no modificado enumerado en la Tabla 1;

en el que el nivel o la proporción de analito o analitos lipídicos con respecto a un control proporciona una correlación con la presencia, el estado, la clasificación o la progresión de la enfermedad cardiaca;

(d) realizar una función algorítmica que incluya la comparación de los datos con datos predeterminados;

10 (e) determinar el estado del sujeto de acuerdo con los resultados de la función algorítmica incluyendo la comparación; y

(f) generar una indicación del estado del sujeto para el usuario a través de la red de comunicaciones.

El sistema de procesamiento puede estar adaptado para recibir datos de una estación final remota adaptada para determinar los datos.

El sistema de procesamiento puede incluir:

15 (a) un primer sistema de procesamiento adaptado para:

(i) recibir los datos; y

(ii) determinar el estado del sujeto de acuerdo con los resultados de la función de análisis multivariado incluyendo la comparación de los datos; y

(b) un segundo sistema de procesamiento adaptado para:

20 (i) recibir los datos procedentes del sistema de procesamiento;

(ii) realizar la función de análisis multivariado o univariado incluyendo la comparación; y

(iii) transferir los resultados al primer sistema de procesamiento.

La estación base normalmente incluye:

25 (a) un primer servidor de seguridad para el acoplamiento del primer sistema de procesamiento a la red de comunicaciones; y

(b) un segundo servidor de seguridad para el acoplamiento del primer y segundo sistema de procesamiento.

El sistema de procesamiento se puede acoplar a una base de datos, estando el sistema de procesamiento adaptado para almacenar los datos en la base de datos.

30 También se describe en el presente documento el uso de un grupo de analitos lipídicos seleccionados de la lista que consiste en:

(i) uno o más analitos lipídicos modificados enumerados en la Tabla 1;

(ii) dos o más analitos lipídicos no modificados enumerados en la Tabla 1 y

(iii) dos o más analitos lipídicos, en los que al menos uno es un analito lipídico modificado enumerado en la Tabla 1 y al menos un analito lipídico no modificado enumerado en la Tabla 1;

35 en la fabricación de un ensayo para identificar la presencia, el estado, la clasificación o la progresión de la enfermedad cardiaca en un sujeto.

También se describe en el presente documento un ensayo para determinar la presencia de enfermedad cardiaca en un sujeto, comprendiendo el ensayo la determinación de la concentración de un analito lipídico seleccionado de la lista que consiste en:

(i) uno o más analitos lipídicos modificados enumerados en la Tabla 1;

5 (ii) dos o más analitos lipídicos no modificados enumerados en la Tabla 1 y

(iii) dos o más analitos lipídicos, en los que al menos uno es un analito lipídico modificado enumerado en la Tabla 1 y al menos uno es un analito lipídico no modificado enumerado en la Tabla 1;

10 en el que el nivel o la proporción de analito o analitos lipídicos con respecto a un control proporciona una correlación con la presencia, el estado, la clasificación o la progresión de la enfermedad cardiaca en una muestra biológica del sujeto en la que una concentración alterada en el lípido o lípidos indica que el sujeto tiene una enfermedad cardiaca.

Los niveles de lipídicos se pueden rastrear solos o en combinación con otros biomarcadores o indicadores de la enfermedad cardiaca. Un nivel "alterado" significa un aumento o una elevación o una disminución o una reducción de las concentraciones de los lípidos.

15 La determinación de las concentraciones o de los niveles de los biomarcadores permite el establecimiento de una regla de diagnóstico basada en las concentraciones con respecto a los controles. Como alternativa, la regla de diagnóstico se basa en la aplicación de un algoritmo estadístico y de aprendizaje de máquinas. Dicho algoritmo usa las relaciones entre los biomarcadores y el estado patológico observado en los datos de preparación (con estado patológico conocido) para inferir las relaciones que luego se usan para predecir el estado de los pacientes con estado desconocido. Se emplea un algoritmo que proporciona un índice de probabilidad de que un paciente tenga una enfermedad cardiaca o un estado o una forma o una clase de la misma. El algoritmo realiza una función de análisis multivariado.

20 Por lo tanto, en el presente documento, se describe una regla de diagnóstico basada en la aplicación de algoritmos estadísticos y de aprendizaje de máquinas. Dicho algoritmo usa las relaciones que existen entre los biomarcadores lipídicos y el estado patológico observado en los datos de preparación (con estado patológico conocido) para inferir las relaciones que luego se usan para predecir el estado de los pacientes con estado desconocido. Los expertos en la materia del análisis de datos reconocen que se pueden usar muchas formas diferentes de inferir relaciones en los datos de preparación sin causar cambios materiales.

25 Por lo tanto, en el presente documento, se describe el uso de una base de conocimiento de datos de preparación que comprenden niveles de biomarcadores lipídicos de un sujeto con una afección cardiaca para generar un algoritmo que, tras la entrada de una segunda base de conocimiento de datos que comprenden niveles de los mismos biomarcadores de un paciente con una afección cardiaca desconocida, proporciona un índice de probabilidad que predice la naturaleza de la afección cardiaca.

30 La expresión "datos de preparación" incluye el conocimiento de los niveles de biomarcadores lipídicos con respecto a un control. Un "control" incluye una comparación con los niveles de biomarcadores en un sujeto carente de la afección cardiaca o curado de la afección, o puede ser un nivel determinado estadísticamente basado en ensayos. El término "niveles" también engloba las proporciones de los niveles de los biomarcadores lipídicos.

35 Por lo tanto, los "datos de preparación" incluyen los niveles o las proporciones de uno o más de los tres grupos de analitos lipídicos seleccionados entre:

40 (i) ceramidas modificadas (modCER), fosfatidilcolinas modificadas (modPC) y ésteres de colesterol modificados (modCE) seleccionados entre los que se enumeran en la Tabla 1;

(ii) dos o más analitos lipídicos no modificados seleccionados de la lista de la Tabla 1; y/o

(iii) dos o más analitos lipídicos, en los que al menos uno es un analito lipídico modificado enumerado en la Tabla 1 (modCER, modPC y/o modCE) y al menos uno es un analito lipídico no modificado seleccionado de la lista de la Tabla 1.

45 También se describe en el presente documento, un grupo de biomarcadores lipídicos útiles en la detección de una enfermedad cardiaca, comprendiendo el grupo analitos lipídicos seleccionados de la lista que consiste en:

(i) uno o más analitos lipídicos modificados enumerados en la Tabla 1;

(ii) dos o más analitos lipídicos no modificados enumerados en la Tabla 1 y

(iii) dos o más analitos lipídicos, en los que al menos uno es un analito lipídico modificado enumerado en la Tabla 1 y al menos uno es un analito lipídico no modificado enumerado en la Tabla 1;

5 en el que el nivel o la proporción del analito o de los analitos lipídicos con respecto a un control proporciona una correlación con la presencia, del estado, de la clasificación o de la progresión de la enfermedad cardíaca.

Los biomarcadores lipídicos contemplados en el presente documento incluyen de uno a 331 biomarcadores tales como 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 30, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 136, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 149, 150, 35, 151, 152, 153, 154, 155, 156, 157, 158, 159, 160, 161, 162, 163, 164, 165, 166, 167, 168, 169, 170, 171, 172, 173, 174, 175, 176, 177, 178, 179, 180, 181, 182, 183, 184, 185, 186, 187, 188, 189, 190, 191, 192, 193, 194, 195, 196, 197, 198, 199, 200, 201, 202, 203, 204, 205, 206, 207, 208, 209, 210, 211, 212, 213, 214, 215, 216, 217, 218, 219, 220, 221, 222, 223, 224, 225, 226, 227, 228, 229, 230, 231, 232, 233, 234, 235, 236, 237, 238, 239, 240, 241, 242, 243, 244, 245, 246, 247, 248, 249, 250, 251, 252, 253, 254, 255, 256, 257, 258, 259, 260, 261, 262, 263, 264, 265, 266, 267, 268, 269, 270, 40, 271, 272, 273, 274, 275, 276, 277, 278, 279, 280, 281, 282, 283, 284, 285, 286, 287, 288, 289, 290, 291, 292, 293, 294, 295, 296, 297, 298, 299, 300, 301, 302, 303, 304, 305, 306, 307, 308, 309, 310, 311, 312, 313, 314, 315, 316, 317, 318, 319, 320, 321, 322, 323, 324, 325, 326, 327, 328, 329, 330 o 331 biomarcadores. Los niveles o las concentraciones de los biomarcadores proporcionan los datos de ensayo de entrada denominados en el presente documento "segunda base de conocimiento de datos". La segunda base de conocimiento de datos bien se considera en relación con un control o se introduce en un algoritmo generado por una "primera base de conocimiento de datos" que comprende información de los niveles de biomarcadores de un sujeto con una afección cardíaca conocida. La segunda base de conocimiento de datos procede de un sujeto de estado desconocido con respecto a una afección cardíaca. La generación del algoritmo o de la comparación con un control es una probabilidad o factor de riesgo, denominado en el presente documento "índice de probabilidad", de un sujeto que tiene una determinada afección cardíaca o que no tiene la afección. Esto incluye determinar si el sujeto tiene placas inestables (paciente vulnerable) o placas estables (paciente no vulnerable)

30 Los datos generados a partir de los niveles de un analito lipídico seleccionado de la lista que consiste en:

(i) uno o más analitos lipídicos modificados enumerados en la Tabla 1;

(ii) dos o más analitos lipídicos no modificados enumerados en la Tabla 1 y

(iii) dos o más analitos lipídicos, en los que al menos uno es un analito lipídico modificado enumerado en la Tabla 1 y al menos uno es un analito lipídico no modificado enumerado en la Tabla 1;

35 son datos de entrada. La entrada de los datos que comprenden los analitos lipídicos se compara con un control o se introduce en el algoritmo que proporciona un valor de riesgo de la probabilidad de que el sujeto tenga, por ejemplo, la enfermedad cardíaca. También se puede monitorizar el régimen de tratamiento, así como el riesgo de una recaída.

40 En el contexto de la presente divulgación, "fluido" incluye cualquier fracción de sangre, por ejemplo, suero o plasma, que se pueda analizar de acuerdo con los métodos descritos en el presente documento. La expresión medición de los niveles en sangre de uno o varios biomarcadores lipídicos en particular pretende significar que es posible analizar cualquier fracción de sangre apropiada para determinar los niveles en sangre, y que los datos se pueden presentar como un valor presente en la fracción. Otros fluidos contemplados en el presente documento incluyen ascitos, exudado de tejido, orina, líquido linfático, mucosidad y fluido respiratorio.

45 Como se ha descrito anteriormente, los métodos de diagnóstico de la enfermedad cardíaca se realizan mediante la determinación de los niveles de determinados biomarcadores lipídicos identificados como los enumerados en la Tabla 1 y usando estos niveles como datos de la segunda base de conocimiento en un algoritmo generado con los datos de la primera base de conocimiento o los niveles de los mismos biomarcadores presentes en pacientes con una enfermedad conocida. También se proporcionan métodos de detección de la enfermedad cardíaca sintomática que comprenden determinar la presencia y/o la velocidad de determinados biomarcadores lipídicos identificados en la muestra de un sujeto. El término "velocidad" pretende significar el cambio en la concentración del biomarcador en la muestra de un paciente a lo largo del tiempo.

El término "muestra" como se usa en el presente documento significa cualquier muestra que contiene analitos

lipídicos que se deseen detectar, incluyendo, pero sin limitación, los fluidos biológicos (incluyendo sangre, plasma, suero, ascitos), extractos de tejidos, células recién cosechadas y lisados de células que se hayan incubado en cultivos celulares. En una realización particular, la muestra es tejido del corazón, uno o más entre placa, sangre, suero, plasma o ascitos.

- 5 Como se ha indicado anteriormente, el "sujeto" puede ser cualquier mamífero, en general, un ser humano, sospechoso de tener o que tiene una enfermedad cardiaca. El sujeto puede ser sintomático o asintomático.

La expresión "muestra de control" incluye cualquier muestra que se pueda usar para establecer una primera base de conocimiento de los datos de los sujetos con un estado patológico conocido.

- 10 El método de la invención objeto se puede usar en el diagnóstico y la estadificación de la enfermedad cardiaca. El método de la presente invención también se puede usar para monitorizar la progresión de una afección y para controlar si un determinado tratamiento es eficaz o no. En particular, el método se puede usar para confirmar la ausencia o la mejora de los síntomas de la afección, tal como después de una cirugía, endoprótesis vascular, medicación o cambio de comportamiento.

- 15 Se describe en el presente documento, se describe un método de monitorización de la progresión de la enfermedad cardiaca en un paciente, que comprende:

(a) proporcionar una muestra de un paciente;

(b) determinar el nivel de un analito lipídico seleccionado de la lista que consiste en:

(i) uno o más analitos lipídicos modificados enumerados en la Tabla 1;

(ii) dos o más analitos lipídicos no modificados enumerados en la Tabla 1 y

- 20 (iii) dos o más analitos lipídicos, en los que al menos uno es un analito lipídico modificado enumerado en la Tabla 1 y al menos uno es un analito lipídico no modificado enumerado en la Tabla 1;

en el que el nivel o la proporción del analito o de los analitos lipídicos con respecto a un control proporciona una correlación con la presencia, el estado, la clasificación o la progresión de la enfermedad cardiaca, sometiendo los niveles a un algoritmo para proporcionar un índice de probabilidad de que el paciente tenga enfermedad cardiaca; y

- 25 (c) repetir las etapas (a) y (b) en un punto temporal posterior y comparar el resultado de la etapa (b) con el resultado de la etapa (c), en el que una diferencia en el índice de probabilidad indica la progresión de la afección en el paciente.

- 30 En particular, un aumento del índice de probabilidad de una afección en el punto temporal posterior puede indicar que la afección está progresando y que el tratamiento (si es aplicable) no está siendo eficaz. Por el contrario, una reducción del índice de probabilidad en el punto temporal posterior puede indicar que la afección está retrocediendo y que el tratamiento (si es aplicable) es eficaz.

- 35 También se describe en el presente documento además un ensayo de detección basado en un algoritmo para seleccionar las muestras de los pacientes. En general, los datos de entrada se recogen basándose en los niveles de uno o más biomarcadores lipídicos y se someten a un algoritmo para evaluar la significación estadística de cualquier elevación o reducción en los niveles, cuya información se convierte entonces en los datos de salida. La presente divulgación abarca el soporte lógico y el soporte físico para la evaluación de los datos de entrada.

- 40 También se describe en el presente documento es un método de tratamiento de un paciente con enfermedad cardiaca, comprendiendo el método someter al paciente a un ensayo de diagnóstico para determinar un índice de probabilidad de que el paciente tenga la afección cardiaca, comprendiendo el ensayo la determinación de los niveles de un analito lipídico seleccionado de la lista que consiste en:

(i) uno o más analitos lipídicos modificados enumerados en la Tabla 1;

(ii) dos o más analitos lipídicos no modificados enumerados en la Tabla 1 y

(iii) dos o más analitos lipídicos, en los que al menos uno es un analito lipídico modificado enumerado en la Tabla 1 y al menos uno es un analito lipídico no modificado enumerado en la Tabla 1;

- 45 en el que el nivel o la proporción del analito o de los analitos lipídicos con respecto a un control proporciona una

correlación con la presencia, el estado, la clasificación o la progresión de la enfermedad cardiaca, y cuando haya un riesgo de que el paciente tenga la afección, someter al paciente a una intervención quirúrgica, medicación y/o cambio de comportamiento y luego monitorizar el índice de probabilidad a lo largo del tiempo.

5 La referencia a un "algoritmo" o "funciones algorítmicas" como se indica anteriormente incluye la realización de una función de análisis multivariado o univariado. Se puede implementar una gama de diferentes arquitecturas y plataformas además de las descritas anteriormente. Se apreciará que se puede usar cualquier forma de arquitectura adecuada para la implantación de la presente invención. Sin embargo, una técnica beneficiosa es el uso de arquitecturas distribuidas. En particular, se puede proporcionar un número de estaciones finales en las respectivas ubicaciones geográficas. Esto puede aumentar la eficiencia del sistema mediante la reducción de los requisitos y los  
10 costes de ancho de banda de los datos, así como para garantizar que si una estación base se congestiona o se produce un fallo, otras estaciones finales puedan tomarle el relevo. Esto también permite la compartición de carga o similar, para garantizar que el acceso al sistema esté disponible en todo momento.

En este caso, sería necesario garantizar que la estación base contenga la misma información y distintivo de manera que se puedan usar diferentes estaciones finales.

15 También se apreciará que, en un ejemplo, las estaciones finales pueden ser dispositivos manuales, tales como PDA, teléfonos móviles o similares, que puedan transferir los datos del sujeto a la estación base a través de una red de comunicaciones tal como Internet, y recibir los informes.

En los aspectos anteriores, el término "datos" se refiere a los niveles o las concentraciones de los biomarcadores. La "red de comunicaciones" incluye Internet. Cuando se usa un servidor, en general, es un servidor de cliente o más  
20 particularmente un protocolo de aplicación objeto simple (SOAP).

Se emite un informe con la probabilidad de enfermedad cardiaca del sujeto.

La presente invención se describe además mediante los siguientes ejemplos no limitantes. A continuación, se proporcionan los materiales y métodos usados en estos ejemplos.

## Materiales y métodos

### 25 Recogida de muestras

Las muestras de plasma de los pacientes con EAC usadas en el presente estudio se extrajeron como parte de un estudio previo realizado por *Cardiovascular Research* 75: 813-20, 2007. Se reclutó un total de 202 pacientes con presentación *de novo* de la EAC que fueron sometidos a angiografía coronaria (White *et al.*, *Supra*, 2007). Se excluyeron los pacientes que habían sido sometidos a revascularización coronaria previa. De los 202 pacientes  
30 originales, se disponía de muestras de plasma de 143 para su uso en el presente proyecto. Los pacientes fueron clasificados como estables ( $n = 61$ ) o inestables ( $n = 81$ ) por dos cardiólogos independientes basándose en sus síntomas, ECG de 12 derivaciones y mediciones de troponina I cardiaca de conformidad con los criterios de Braunwald (White *et al.*, *supra* 2007; Braunwald E. *Circulation* 50:410-4, 1989). Se recogieron muestras de sangre venosa en tubos de EDTA. Se preparó el plasma por centrifugación (1.000 xg, 15 minutos a 4 °C) y se almacenó a  
35 -80 °C hasta su uso. Se midieron los parámetros bioquímicos, lipídicos y hematológicos, así como las características clínicas. Estas incluían colesterol total, LDL, lipoproteína de alta densidad (HDL), presión arterial, proteína C reactiva (CRP), consumo de tabaco, medicamentos E índice de masa corporal (IMC).

Se obtuvieron muestras de plasma de una cohorte de 61 individuos sanos y se usaron como muestras de control. Los pacientes no estaban recibiendo medicación para la enfermedad coronaria vascular (ECV), la diabetes ni la hipertensión, y no tenían antecedentes de infarto de miocardio (IM). Además, los pacientes presentaban presión arterial < 131/86 mm Hg, colesterol total en ayunas < 5,6 mmol/l, triglicéridos en ayunas < 2,0 mmol/l y glucosa en plasma en ayunas < 6,1 mmol/l. Se preparó el plasma por centrifugación (1.500 xg, 10 minutos a 4 °C) en las 24 horas de la recogida. Las muestras de plasma no se habían descongelado antes de este estudio.

### Preparación de las muestras y extracción de lípidos

45 Se descongelaron las muestras de plasma (200 µl) y se trataron con el antioxidante butilhidroxitolueno (BHT) (1 µl de 100 mM en etanol) y se sometieron de inmediato a movimientos vorticiales. Se realizó la extracción de lípidos usando una modificación del método de Folch *et al.* *J Biol Chem* 226:497-509, 1957. Se transfirió una alícuota de plasma de 10 µl a un tubo eppendorf con 10 µl de mezcla de patrón interno 1 y 5 µl de mezcla de patrón interno 2 (Tabla 2). Se añadió  $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$  (2:1) (200 µl) seguido de un breve movimiento vorticial. Se colocaron las  
50 muestras en un mezclador giratorio durante diez minutos y luego se sometieron a ultrasonidos en un baño de agua a temperatura ambiente durante treinta minutos. Tras el tratamiento de ultrasonidos, se incubaron las muestras durante veinte minutos a temperatura ambiente, tras lo que se centrifugaron (16.000 xg, 10 minutos a temperatura

ambiente). Se transfirió el sobrenadante a una placa de 96 pocillos de 0,5 ml de polipropileno y se secó bajo una corriente de nitrógeno a 40 °C. Se volvieron a suspender las muestras en 50 µl de butanol saturado en agua seguido de diez minutos de tratamiento de ultrasonidos. A continuación, se añadieron 50 µl de formiato de amonio 10 mM en metanol. Se centrifugaron las muestras (3.350 xg, 5 minutos a temperatura ambiente) y se transfirió el sobrenadante a micro-insertos de 0,2 ml colocados en viales de vidrio de 32 x 11,6 mm con tapones de inserción de teflón. Una vez extraídas las muestras, se sometieron de inmediato a espectrometría de masas.

### Espectrometría de masas

El análisis de lípidos se realizó por cromatografía líquida-espectrometría de masas en tándem por ionización de electrospray (LC ESI-MS/MS) usando un sistema de cromatografía de líquidos HP 1200 combinado con un espectrómetro de masas PE Sciex API 4000 Q/TRAP con una fuente de ionización turbo (350 °C) y sistema de datos Analyst 1.5. Se usó una columna Zorbax C18, 1,8 µm, de 50 x 2,1 mm para la separación de LC. La fase móvil consistía en tetrahidrofurano:metanol:agua en las proporciones de 30:20:50 (Disolvente A) y 75:20:5 (Disolvente B), conteniendo ambos NH<sub>4</sub>COOH 10 mM. Se emplearon las siguientes condiciones de gradiente para todos los lípidos, excepto para DG y TG; A al 100 %/B al 0 %, reduciéndose a A al 0 %/B al 100 % durante ocho minutos, seguido de 2 minutos de A al 0 %/B al 100 %, volviendo a A al 100 %/B al 0 % durante 0,5 minutos y luego manteniendo durante 3,5 minutos con A al 100 %/B al 0 % antes de la siguiente inyección. DG y TG se separaron usando el mismo sistema con un flujo isocrático de A al 15 %/B al 85 % durante 6 minutos entre inyecciones.

La optimización de las tensiones de la energía de colisión (CE), el potencial de desagrupación (DP), el potencial de entrada (EP) y el potencial de la salida de células (CXP) se llevó a cabo usando la función de sintonización y optimización del programa informático del instrumento (Analyst 1.5).

### Nomenclatura

La nomenclatura (tanto los nombres sistemáticos como los nombres comunes) usada en el presente documento procede principalmente de las dos publicaciones recientes sobre este tema procedentes de Lipid Maps Consortium (véase Fahy *et al.*, *J Lipid Res.* 51(6): 1618, 2010 y Fahy *et al.*, *J Lipid Res.* 50: S9-14, 2009).

Además, se ha usado una serie de términos para definir las especies de lípidos de las que no se conoce la estructura completa, pero sobre las que se han proporcionado los datos característicos de fragmentación inducida por colisión con una estructura parcial de las especies de lípidos. Se trata de los siguientes:

**modPC xxx,x/yy,y** = fosfolípido modificado o no definido que contiene especies de lípidos con proporción de masa/carga del ión M + H indicada por xxx,x y tiempo de retención en las condiciones cromatográficas definidas de la presente divulgación definidas como yy,y minutos.

**modCer xxx,x/yy,y** = esfingolípido modificado o no definido que contiene especies de lípidos con proporción de masa/carga del ión M + H indicada por xxx,x y tiempo de retención en las condiciones cromatográficas definidas de la presente divulgación definidas como yy,y minutos

**modCE xxx,x/yy,y** = colesterol modificado o no definido que contiene especies de lípidos con proporción de masa/carga del ión M + H indicada por xxx,x y tiempo de retención en las condiciones cromatográficas definidas de la presente divulgación definidas como yy,y minutos

Las especies de PC modificadas, denominadas inicialmente modPC 552,4/3,90, modPC 580,4/4,84, modPC 508,3/3,30, modPC 510,3/4,00, modPC 564,4/4,70, modPC 566,4/5,10, modPC752,5/5,7, modPC692,4/5,8, modPC678,4/5,4, modPC622,4/4,0, modPC878,6/7,1, modPC881,6/6,1 y modPC818,6/6,6, se han vuelto a clasificar como LPC 20:0, LPC 22:0, LPAF 18:1, LPAF 18:0, LPAF 22:1, LPAF 22:0, PC34:5, APC 30:0, PC 28:0, PC 24:0, modPC877,6/7,1, modPC879,6/6,1 y APC 40:7, respectivamente. Se ha eliminado de la Tabla 1 un pequeño número de especies de modPC, en concreto, modPC 590,4/4,80, modPC 592,4/5,10, modPC 608,4/5,33, modPC 745,5/6,35, modPC 764,5/6,52 y modPC 769,5/6,25.

**Identificación de posibles biomarcadores:** las 1-O-acilceramidas, la fosfatidilcolina oxidada (OxPC) y los ésteres de colesterol oxidados (OxCE) se consideraron posibles biomarcadores de la presencia y la progresión de la EAC. Para identificar las especies de lípidos de cada una de estas clases, se realizaron exploraciones de iones precursores en un subconjunto de 30 individuos (10 controles sanos, 10 con EAC estable y 10 con EAC inestable) seleccionados al azar de la cohorte de la presente invención.

**Identificación de ceramidas modificadas:** se realizaron exploraciones de precursores para identificar las especies de 1-O-acilceramida en plasma. La fragmentación de las ceramidas por CID en Q2 escinde el enlace entre el carbono y el nitrógeno en la base esfingóide y, con la pérdida de agua, produce un ión descendiente con *m/z* 264,3 (Murphy *et al.* *Chem Rev.* 101: 479-526, 2001). Por lo tanto, una exploración de iones precursores de *m/z* 264

identificará todas las ceramidas modificadas incluyendo las 1-O-acilceramidas. Estas se conocen colectivamente como ceramidas modificadas (modCer). Se realizaron dos exploraciones de iones precursores de  $m/z$  264,3 para cubrir los intervalos de  $m/z$  de 530-760 para modCer de bajo peso molecular y  $m/z$  750-980 para modCer de alto peso molecular (Tabla 3).

5 **Identificación de fosfatidilcolinas modificadas:** las especies de OxPC pueden incluir OxPC no truncadas, que implican la adición de oxígeno a los dobles enlaces de los restos acilo poliinsaturados (Davis *et al J Biol Chem* 283:6428-37, 2008) u oxPC truncadas, en las que las cadenas de acilo oxidadas se escinden para producir especies de menor peso molecular. Una exploración de iones precursores de  $m/z$  184 identificará todas las especies de lípidos que contienen un grupo de cabeza de fosfocolina incluyendo las fosfatidilcolinas oxidadas. Sin embargo, también se pueden identificar otras especies de fosfocolina, y en la presente invención, dichas especies se denominan PC modificadas (modPC). Para cubrir los posibles intervalos de  $m/z$  que cubrirían todas las OxPC, se realizaron tres experimentos de exploración de iones precursores. Los intervalos de  $m/z$  para Q1 para estos tres experimentos fueron 490-670, 640-820 y 800-980. La fragmentación de los fosfolípidos por CID de especies de PC produce un ión descendiente de 184,1 que se usó como configuración  $m/z$  en Q3 (Davis *et al. supra* 2008, Cui y Thomas, *Journal of Chromatography B*; 877:2709-15, 2009) (Tabla 3).

10 **Identificación de ésteres de colesterol oxidados:** al igual que con las especies de fosfatidilcolina, los ésteres de colesterol que contienen ácidos grasos poliinsaturados son susceptibles a la oxidación. Una exploración de iones precursores de  $m/z$  369 identificará todas las especies de ésteres de colesterol, las que tienen ácidos grasos oxidados. Estos se conocen como ésteres de colesterol modificados (modCE). Los intervalos de masa para los dos experimentos de exploración de iones precursores destinados a identificar los modCE fueron  $m/z$  450-650 y  $m/z$  650-850 en Q1 con configuración  $m/z$  de 369,3 para el Q3 (Tabla 3).

15 **Caracterización de lípidos plasmáticos:** se establecieron experimentos de MRM para cada uno de los nuevos biomarcadores lipídicos identificados a partir de las exploraciones de iones precursores. A continuación, estos se combinaron con un conjunto más amplio de experimentos de MRM que se habían desarrollado mediante la identificación de las principales especies de cada clase de lípidos en extractos de plasma usando exploraciones de iones precursores y de pérdida neutra (Tabla 4 y actualización en la Tabla 15).

20 Con el uso de estos experimentos MRM, se realizó la caracterización de los lípidos en plasma en cada una de las 202 muestras de plasma de la cohorte, además de 14 muestras de plasma de control de calidad (QC). Se monitorizó cada par iónico durante entre 10 y 50 ms (usando el modo MRM programado) con una resolución de 0,7 UMA a la altura media de pico, y se calculó el área bajo el cromatograma resultante. Los datos del área de pico se analizaron usando Applied Biosystems Analyst 1.5. Se normalizaron los datos en bruto para cada clase con respecto al patrón interno y se convirtieron en pmol por ml de plasma.

## Análisis Estadístico

25 **Procesamiento de datos y análisis estadístico de los datos de exploración de iones precursores:** los datos resultantes de las exploraciones de iones precursores se analizaron usando Markerview (versión 1.2). Los datos se normalizaron con respecto al respectivo patrón interno de la clase de lípido sometido a investigación.

30 Se realizó la prueba t de Student para identificar qué analitos lipídicos eran significativamente diferentes entre los grupos de EAC estable e inestable, y entre los grupos de control y EAC (EAC estable e inestable combinadas). Luego se incorporaron los analitos con un valor de  $p < 0,1$  que no correspondía a especies de lípidos conocidas a los métodos de caracterización de plasma, denominándose dichas especies de lípidos modCer, modPC y modCE.

35 **Procesamiento de datos y análisis estadístico de datos MRM:** se usaron pruebas U de Mann-Whitney no paramétricas para determinar los analitos que eran significativamente diferentes entre el grupo de EAC estable frente al grupo de EAC inestable y el grupo de control frente al grupo de EAC. Se realizó el análisis de varianza (ANOVA) en modelos de regresión lineal para determinar la contribución relativa de los factores de riesgo tradicionales y los analitos lipídicos a los modelos de clasificación (SPSS versión 17.0, SPSS Inc).

40 Se aplicó un análisis multivariado para la creación de modelos de predicción. Este análisis siguió un enfoque de aprendizaje de máquinas estadístico y una metodología que comprendía múltiples iteraciones de validación cruzada para evaluar la potencia de las soluciones propuestas (National ICT Australia). En resumen, se aplicó un análisis de eliminación de características recursivas (RFE) con validación cruzada del triple repetida varias veces (100) para desarrollar modelos multivariados, usando el aprendizaje de máquinas de soporte vectorial. Esto se hizo para los modelos de diferente tamaño de la característica (por ejemplo, 2, 4, 8, 16, 32 y 64). El resultado de este ejercicio fue una lista ordenada de los lípidos de acuerdo con la frecuencia de su incorporación recurrente en los modelos generados. Esta metodología también permitió la eliminación de las variables altamente correlacionadas que no se añadían significativamente al modelo. Para cada conjunto de modelos con diferentes números de analitos, se realizó el análisis de las características operativas del receptor (ROC), calculando el área bajo la curva (AROC).

El análisis ROC se usa ampliamente en las pruebas de diagnóstico para determinar el rendimiento de un modelo dado (Fawcett T *Pattern Recogn Lett* 27:861-74, 2006).

### Ejemplo 1

#### **Características de los pacientes**

5 Los pacientes de las cohortes estable e inestable estaban muy igualados, a excepción del tabaquismo y hsCRP (Tabla 5). Por el contrario, la mayoría de los parámetros clínicos y bioquímicos difirió significativamente entre la cohorte de control y la cohorte de EAC (pacientes con EAC estable e inestable combinados) (Tabla 5).

10 Se examinó el perfil de medicación de los pacientes con EAC estable e inestable para los tratamientos hipolemiante, antihipertensivo, antiplaquetario, anticoagulante, antianginoso, antiarrítmico y antidiabético.  $\chi^2$  reveló que cuatro medicamentos fueron significativamente diferentes entre estas dos cohortes (Tabla 6). Los medicamentos que mostraron diferencias fueron las estatinas para los medicamentos hipolemiantes, los bloqueadores de la angiotensina II y el nitrato de glicerol intravenoso de los medicamentos antihipertensivos, y la infusión de heparina de los medicamentos anticoagulantes.

### Ejemplo 2

#### 15 **Identificación de biomarcadores**

Se usaron exploraciones de iones precursoras para identificar los biomarcadores modCer, modPC y modCE usando el programa informático Markerview (versión 1.2).

20 Este programa alinea y luego tabula  $m/z$  y el tiempo de retención de todos los picos (también denominados características) dentro de las exploraciones de iones precursoras. A continuación, normaliza los datos con el patrón interno relevante. Luego se aplica una prueba t de Student a las características para identificar cuáles son diferentes entre las cohortes de EAC estable e inestable y entre las cohortes de control y de EAC a una significación de  $p < 0,10$ . Después, se examinan los espectros de estos picos para eliminar las especies y los isótopos de lípidos conocidos.

25 A partir de este proceso, se seleccionó un total de 75 marcadores (14 modCer, 57 modPC y 4 modCE) de las tres clases de lípidos, mostrándose estos marcadores en la Tabla 7.

### Ejemplo 3

#### **Caracterización de lípidos en plasma de las cohortes de control, EAC estable y EAC inestable**

30 Se analizó cada una de las 202 muestras de plasma de la cohorte para un total de 331 especies de lípidos mediante los dos experimentos MRM programados (Tablas 7 y 8). A partir de las concentraciones de lípidos de las 14 muestras de control de calidad, se determinaron los coeficientes de variación (% de CV) en toda la serie de análisis. Los valores de % de CV fueron inferiores al 20 % para 271 de las 331 especies de lípidos. Los lípidos que tuvieron un % de CV superior al 20 % fueron principalmente especies de lípidos que se encontraban en baja abundancia (<200 pmol/ml), no incluyendo estas los analitos lipídicos de rango superior.

### Ejemplo 4

#### 35 **Análisis univariado**

40 Se usó una prueba de U de Mann-Whitney para distinguir qué lípidos mostraban diferencias significativas entre las cohortes (EAC estable frente a EAC inestable y control frente a EAC). Este identificó 73 lípidos que eran significativamente diferentes entre las cohortes de EAC estable e inestable ( $p < 0,05$ ) y 198 lípidos que mostraban significación estadística ( $p < 0,05$ ) entre las cohortes de control y EAC (Tabla 9). En la Tabla 10, se muestra un resumen del número total de lípidos por clase de lípido que muestran diferencias entre estas cohortes.

### ANOVA

Para identificar los lípidos que eran predictores independientes de la asignación de clase, se realizó un análisis de regresión lineal. Se creó una serie de modelos diferentes para analizar diferentes subconjuntos de la cohorte en cuanto a las covariables.

45 Los Modelos 1 a 3 se crearon con las cohortes de EAC estable y EAC inestable. El Modelo 1 solo usó los 13



factores de riesgo tradicionales (edad, sexo, tabaquismo, diabetes, hipertensión, antecedentes familiares de EAC, IMC, colesterol total, LDL, HDL, triglicéridos, glucosa y hsCRP, Tabla 5). El Modelo 2 se creó usando solo los lípidos (véase la Tabla 9 y 10) y el Modelo 3 incluía tanto los lípidos, como los factores de riesgo tradicionales. Los resultados del ANOVA y las covariables que eran predictores independientes y que demostraron significación ( $p < 0,05$ ) se muestran en la Tabla 11. Los valores de correlación parcial muestran la contribución relativa de las variables independientes en el modelo al eliminar los efectos lineales de las otras variables independientes de los modelos. A partir de los valores de  $R^2$  (medida del ajuste del modelo), se puede observar que el Modelo 3 ( $R^2 = 0,473$ ) muestra el mejor ajuste, lo que indica que la combinación de los biomarcadores lipídicos y los factores de riesgo tradicionales ofrece una mejor clasificación de las cohortes de EAC estable e inestable que los factores de riesgo tradicionales o los lípidos solos. Aunque CRP es la fuente de variación más importante entre estas dos cohortes, los lípidos PI 34:0, DHC 18:1, modCer 703,6/5,87, SM 22:1 y GM3 18:0 también demostraron ser predictores independientes.

Los Modelos 4, 5 y 6 representan modelos creados con las cohortes de control y de EAC usando los factores de riesgo tradicionales solos, los lípidos solos o una combinación de ambos, respectivamente. El ajuste de estos modelos (valores de  $R^2$  mostrados en la Tabla 12) fue en paralelo con el de los modelos de EAC estable frente a EAC inestable con los datos que muestran una mejora en el ajuste con el modelo predictivo cuando se combinaron los factores de riesgo tradicionales y los lípidos. Se identificaron veintiún lípidos como ser capaces de distinguir entre los pacientes de control y EAC independientemente de todos los demás factores (Tabla 12, Modelo 6).

## Ejemplo 5

### **Análisis multivariado**

El modelo de regresión lineal fue capaz de crear modelos que examinaron la influencia de los factores de riesgo tradicionales, los lípidos y una combinación de estos en la clasificación entre los pacientes con EAC estable e inestable, y los pacientes de control y EAC. Sin embargo, dada la complejidad del conjunto de datos y el gran número de variables, el modelado multivariado es más apropiado para crear un modelo predictivo basado en el perfil de lípidos en plasma (Bylesjo *et al. Journal of Chemometrics* 20:341-51, 2006).

Se aplicó el análisis de eliminación de las características recursivas (RFE) usando la validación cruzada triple (repetida 100 veces) para desarrollar modelos multivariados, usando el aprendizaje de máquinas de soporte vectorial. Esto se hizo para los modelos de diferente tamaño de la característica (por ejemplo, 1, 2, 4, 8, 16, 32 y 64) y para los modelos que incluían bien los lípidos solos o los lípidos con factores de riesgo tradicionales. El resultado de este ejercicio fue una lista ordenada de los lípidos de acuerdo con la frecuencia de su incorporación recurrente en los modelos generados para distinguir la EAC estable de la EAC inestable (Tabla 13) o el control de la EAC (Tabla 14). Esta metodología también permitió la eliminación de aquellas variables significativas pero altamente correlacionadas que no se sumaron significativamente al modelo.

Se usaron los valores de los predictores Y de estos modelos para realizar un análisis de las características operativas del receptor (ROC), que mide la sensibilidad y la especificidad del modelo y se puede usar como una medida de la capacidad del modelo para clasificar correctamente los casos (Stenlund *et al. Analytical Chemistry* 80:6898-906, 2008). Se representó el área bajo la curva (AUC) de estos análisis ROC frente al número de variables para identificar el número mínimo requerido para la diferenciación óptima (Figuras 1(A) y (B) y 2(A) y (B)). En los modelos creados para diferenciar entre EAC estable y EAC inestable, el aumento del número de lípidos en el modelo aumentó la AUC, que alcanzó un máximo a 8-16 analitos lipídicos (Figura 1, Panel A). Usando una combinación de factores de riesgo tradicionales y lípidos, se obtuvo la mejor diferenciación, alcanzándose un AUC máximo con 8 características. La Figura 2, panel B muestra que los modelos de solo lípidos resultaron tener una tasa de error menor que los modelos de solo factores de riesgo, pero que los modelos de factores de riesgo tradicionales y lípidos combinados resultaron tener las tasas de error más bajas.

Los modelos creados para distinguir el control de la EAC tuvieron mayor AUC y siguieron mostrando un ligero aumento hasta 256 lípidos, aunque bastaron 16 lípidos para producir un AUC de 0,94 (Figura 2 panel A). Al igual que los modelos de EAC estable frente a EAC inestable, la combinación de los factores de riesgo tradicionales y los lípidos produjo el AUC más alto, mostrando 16 características un AUC de 0,96. La combinación de factores de riesgo tradicionales y lípidos también dio lugar a las tasas de error más bajas en los modelos de control frente EAC (Figura 2, panel B).

Se compararon los dos modelos creados con los 8 y 16 lípidos (EAC estable frente a EAC inestable y control frente a EAC) con los modelos creados con los factores de riesgo tradicionales, y luego con los modelos creados con una combinación de los factores de riesgo tradicionales y los lípidos. Estos factores de riesgo tradicionales incluían la edad, el sexo, el tabaquismo, la diabetes, la hipertensión, los antecedentes familiares de EAC, el IMC, colesterol total, LDL, HDL, triglicéridos, glucosa y hsCRP. Aunque CRP no está clasificado como un factor de riesgo tradicional, se incluyó en estos modelos, porque CRP es un marcador de la inflamación y también se ha usado en otras clasificaciones de predicción de riesgo tales como la escala de riesgo de Reynolds (Ridker *et al. "Circulation"*

109: IV-6-19, 2004; Ridker *et al.* JAMA: *Journal of the American Medical Association* 297:611-9, 2007; Shearer *et al.* PLoS ONE 4: e5444, 2009).

Los modelos fueron validados mediante validación cruzada triple repetida 10 veces, y los resultados se combinaron en un análisis ROC. En los modelos de EAC estable frente a EAC inestable, los factores de riesgo tradicionales solos dieron un AUC de 0,723 en comparación con 0,748 por 8 lípidos, mientras que los 13 factores de riesgo tradicionales combinados con los 8 lípidos produjeron un AUC de 0,765 (Figura 3). En los modelos de control frente a EAC, los factores de riesgo tradicionales solos dieron un AUC de 0,927 en comparación con 0,963 para 16 lípidos, mientras que los 13 factores de riesgo tradicionales combinados con los 16 lípidos produjeron un AUC de 0,973 (Figura 4).

## 10 **Discusión**

En la actualidad, no existen métodos de detección que puedan identificar prospectivamente la placa inestable. Como se propone en el presente documento, los lípidos en plasma son biomarcadores adecuados para identificar la inestabilidad de la placa y la vulnerabilidad del paciente. Las especies de lípidos ModCer, modPC y modCE se identificaron como biomarcadores útiles capaces de distinguir entre la EAC estable e inestable. Estos marcadores, así como los lípidos previamente caracterizados permitieron la creación de un perfil de lípidos en plasma que reflejó los cambios en el metabolismo de los lípidos asociados con la progresión de la EAC. En combinación con los factores de riesgo tradicionales, los perfiles de lípidos en plasma mejoraron la capacidad de estratificar los pacientes con EAC en las cohortes estable e inestable, pudiendo servir como un método rentable y no invasivo de detección clínica para identificar a los pacientes no sintomáticos en situación de riesgo (Damas y Aukrust *Scand Cardiovasc J* 40:262-6, 2006; Naghavi *et al.* "Circulation" 108:1772-8, 2003).

*Identificación de nuevos biomarcadores para EAC:* aunque no se comprenden del todo los cambios exactos que se producen en el metabolismo de los lípidos durante la progresión de la EAC, cada vez existen más evidencias que sugieren que los productos de la peroxidación de los lípidos desempeñan un papel en la aterogénesis (Davis *et al. supra.* 2008; Oei *et al.* "Circulation" 111:570-5,2005). La exploración de iones precursores permitió la identificación de modPC y modCer basándose en su fragmentación característica. Las concentraciones en plasma de estos lípidos fueron significativamente diferentes entre las cohortes de EAC estable e inestable, así como las cohortes de control y EAC. Esto apoya la teoría de que ModPC y modCer participan en los cambios que se producen en el metabolismo de los lípidos con la progresión de la enfermedad. Aunque la exploración de iones precursores permitió la determinación del ión precursor *m/z* para estos lípidos, no pudo proporcionar información relativa a su estructura exacta. Mediante la identificación de las especies de interés (es decir, aquellas que muestran una diferencia significativa entre las cohortes), se proporciona un medio eficaz para dirigirse a lípidos específicos para su posterior caracterización mediante cualquier análisis de espectrometría de masas posterior u otros métodos estructurales tales como la espectroscopia de resonancia magnética nuclear. Esta información puede desentrañar todavía más el mecanismo que hay detrás de los cambios del metabolismo de los lípidos que conducen a la progresión y la inestabilidad de las placas.

## **Ejemplo 6**

### **Resultados actualizados**

#### **Características actualizadas de los pacientes**

Los pacientes de las cohortes estable e inestable no difirieron en los factores de riesgo convencionales, a excepción del tabaquismo y hsCRP (Tabla 1). Por el contrario, la mayoría de los parámetros clínicos y bioquímicos resultaron diferir significativamente entre la cohorte de control y la cohorte de EAC (pacientes con EAC estable e inestable combinados) (Tabla 1). Esta selección del grupo de control se hizo para optimizar la capacidad de identificar las especies de lípidos diferenciadoras. El uso de medicamentos fue similar entre los grupos estable e inestable, a excepción del uso de estatinas y anticoagulante (Tabla 2).

#### **45 Identificación de nuevos biomarcadores y caracterización de lípidos en plasma**

El análisis de los extractos de lípidos en plasma de 10 pacientes de control, 10 pacientes con EAC estable y 10 pacientes con EAC inestable mediante la exploración de los iones precursor identificó 38 especies de modPC, 13 especies de modCer y 4 especies de modCE que mostraron una diferencia significativa entre los grupos de control y EAC. Estos se combinaron con las otras especies de lípidos identificadas en el plasma para definir el perfil de lípidos en plasma (Tabla 1, Tabla 7 y Tabla 8).

Se analizaron muestras de plasma de 329 especies de lípidos mediante dos experimentos de MRM programados. Las muestras de plasma de control de calidad (QC; 14 repeticiones) se espaciaron uniformemente dentro de la cohorte. Los coeficientes de variación (CV) de las muestras de control de calidad fueron inferiores al 20 % para 271

de las 329 especies de lípidos. Los lípidos que tuvieron un CV superior al 20 % fueron principalmente especies de lípidos que se encontraban en baja abundancia (< 200 pmol/ml); ninguna de ellas se incluyó en los analitos lipídicos de rango superior usados en los modelos multivariados.

5 El análisis de regresión logística binaria, ajustando por edad y sexo, identificó 30 lípidos que resultaron ser significativamente diferentes ( $p < 0,01$ ) entre los grupos de EAC estable y EAC inestable, y 95 lípidos que eran diferentes ( $p < 0,01$ ) entre los grupos de control y EAC (estable e inestable combinados) (Tabla 16).

### **Análisis multivariado**

10 Se crearon modelos de regresión logística binaria (validación cruzada triple repetida 100 veces) para evaluar la contribución relativa de los lípidos y los factores de riesgo a la diferenciación entre la EAC estable y la EAC inestable, y el control y la EAC. Los modelos (EAC estable frente a EAC inestable) en los que se usaron solo lípidos, solo factores de riesgo tradicionales, o una combinación de ambos produjeron un estadístico C de 0,739 (IC de 0,734-0,745), 0,679 (IC de 0,673-0,685) y 0,804 (IC de 0,798-0,811), y % de precisión del 69,5, 64,5 y 73,3, respectivamente (Tabla 17A). La validación cruzada múltiple permitió clasificar los lípidos y los factores de riesgo tradicionales basándose en su incorporación recurrente a los modelos logísticos. Las listas ordenadas para los modelos de lípidos solos y factores de riesgo solos se muestran en las Tablas 18 y 19. La Tabla 20 muestra la lista ordenada de los modelos de lípidos y factores de riesgo tradicionales combinados. Los modelos de control frente a EAC usando solo lípidos, solo factores de riesgo tradicionales, o una combinación de ambos produjeron un estadístico C de 0,946 (IC de 0,944 a 0,948), 0,956 (IC de 0,954-0,958 y 0,982 (CI de 0,981-0,983), y % de exactitud de 87,4, 90,3 y 92,3 respectivamente (Tabla 17B). Las características ordenadas para los modelos de lípidos y factores de riesgo independientes se muestran en las tablas suplementarias 21 y 22. Las características ordenadas para el modelo de lípidos y factores de riesgo combinados se muestran en la Tabla 23.

25 También se aplicó el análisis de eliminación de características recursivas (RFE) usando la validación cruzada triple (repetida 100 veces) para desarrollar modelos multivariados, usando el aprendizaje de máquinas de soporte vectorial. Se desarrollaron modelos de diferente tamaño de la característica (por ejemplo, 1, 2, 4, 8, 16, ..., 329) que incluían bien lípidos solos, factores de riesgo solos o lípidos con factores de riesgo. En las Tablas 24 y 25, se muestra la lista ordenada de los lípidos/factores de riesgo de acuerdo con la frecuencia de su incorporación recurrente en los modelos generados. Se representó el estadístico C y el % de precisión de cada modelo frente al número de variables para evaluar el rendimiento de los diferentes modelos e identificar el número mínimo requerido para la diferenciación óptima (Figura 5). Los modelos en los que se usaron solo lípidos (Figura 5A, círculos) para diferenciar entre la EAC estable y la EAC inestable mostraron un máximo de estadístico C (0,739; IC de 0,734-0,745) con solo 16 lípidos en el modelo. Este fue significativamente mejor que el modelo creado solo con factores de riesgo (Figura 5A, cuadrados) (estadístico C de 0,679, IC de 0,673-0,685), mientras que el modelo que contenía una combinación de lípidos y factores de riesgo tuvo un mejor resultado (estadístico C de 0,804 (CI de 0,798-0,811)) con solo ocho características (Figura 6). Este modelo también tuvo la mayor exactitud, del 73,3 % en comparación con los factores de riesgo solos (Figura 5A, triángulos, y Figura 6) (64,5 %) o los lípidos solos (69,5 %) (Figura 5B).

40 La clasificación de la EAC con respecto al control usando solo lípidos dio un estadístico C de 0,939 (IC de 0,937-0,945) con 128 lípidos en el modelo, sin embargo, bastaron solo 16 lípidos para proporcionar un estadístico C de 0,919 (véase la Figura 5C) (CI de 0,917-0,921). Si bien los factores de riesgo tradicionales dieron resultados ligeramente mejores que los lípidos con un estadístico C de 0,965 (IC de 0,964-0,966), el modelo de lípidos y factores de riesgo combinados tuvo un mejor resultado con un estadístico C de 0,973 (IC de 0,972-0,974) con 16 características. Este modelo también tuvo la mayor exactitud, del 85,3 %, en comparación con los factores de riesgo (83,2 %) o los lípidos (80,2 %) (Figura 5D). El alto nivel de diferenciación del control con respecto a la EAC con todos los modelos refleja el estado de EAC del grupo de control seleccionado específicamente para resaltar las diferencias en el perfil lipídico entre estos grupos.

### **45 Discusión actualizada**

El presente estudio ha identificado diferencias en los lípidos en plasma entre la EAC estable y la EAC inestable. Los modelos multivariados que combinan los factores de riesgo tradicionales y los lípidos en plasma dieron una mejora significativa frente a los factores de riesgo tradicionales solos, de modo que se pudo clasificar correctamente más del 73 % de los pacientes bien con EAC estable o inestable. Estos resultados indican que la caracterización de lípidos en plasma tiene un potencial de diagnóstico y pronóstico significativo para la identificación de las personas que se encuentran en riesgo de padecer síndromes coronarios inestables.

55 El grupo de control sano se seleccionó para proporcionar la mayor diferencia fenotípica con los grupos de EAC, y optimizar de este modo la capacidad de identificar nuevos marcadores lipídicos asociados con la EAC. Los posteriores análisis de estos nuevos marcadores lipídicos y 276 especies de lípidos conocidas en los grupos de EAC estable e inestable identificaron 30 de estas especies de lípidos como posibles biomarcadores de la EAC inestable. La única diferencia más marcada entre la EAC estable e inestable fue la concentración de las especies de PI. El PI total fue un 13,8 % inferior en el grupo de EAC inestable que en el grupo de EAC estable, mostrando 9 de las 17

especies un nivel significativamente inferior ( $p < 0,01$ ) y mostrando otras cinco especies una tendencia negativa. Esto se suma a una disminución del 13,5 % en el grupo de EAC estable en relación con el grupo de control, lo que demuestra una relación entre las especies de PI y la gravedad de la enfermedad. La relevancia de estas observaciones puede residir en el hecho de que el PI, a través de la acción de PLA2, es la principal fuente de ácido araquidónico que se requiere para la biosíntesis de las prostaglandinas y otros eicosanoides que participan en la activación de monocitos y macrófagos, y que están asociados con la producción de metaloproteína de la matriz, un distintivo de la inestabilidad de la placa. PLA2 se ha detectado en las lesiones ateroscleróticas, tanto ubicado junto con los macrófagos como en la matriz extracelular, donde se cree que actúa sobre el LDL para liberar ácido araquidónico.

En contraste con el PI, la PS, que también mostró una disminución de la EAC estable con respecto al grupo de control (-36,1 %,  $p = 3,03E-04$ ) mostró un nivel más alto en la EAC inestable con respecto al grupo de EAC estable (23,9 %, no significativo). La PS se libera de las plaquetas activadas en vesículas de membrana y aumenta la activación de la protrombina en trombina durante la coagulación de la sangre y la trombogénesis. Sin embargo, la PS también es un sustrato para una serie de fosfolipasas, lo que puede explicar los niveles más bajos en el grupo de EAC estable con respecto al grupo de control.

Además de las diferencias entre la EAC estable y la EAC inestable, muchos lípidos mostraron una diferencia significativa entre los grupos de control y de EAC. Las especies de alquilfosfatidilcolina (APC) fueron casi uniformemente inferiores en la cohorte de EAC con 9 de 17 especies significativamente diferentes al nivel de  $p < 0,01$ , y mostrando todas, excepto una especie, una tendencia negativa. Esto puede relacionarse con el mayor estrés oxidativo del grupo de EAC y la acción de ROS en los ácidos grasos poliinsaturados de las especies de APC o directamente en los enlaces de éter de vinilo de los plasmalógenos, que también se incluyen en esta clase de lípidos. Como alternativa, la APC inferior puede ser el resultado de una mayor actividad PLA2 en estos pacientes. La principal fuente de actividad de PLA2 en circulación es la lipoproteína PLA2 (Lp-PLA2), también conocida como factor activador de plaquetas acetilhidrolasa, que se ha asociado con un mayor riesgo de enfermedad cardiovascular en numerosos estudios epidemiológicos.

Sin embargo, aunque cabría esperar que la acción de ROS y PLA2 en estos lípidos conduce a la generación de LPC, que ha sido previamente asociada positivamente con la inflamación y la aterosclerosis, como se ha descrito en el presente documento, hubo niveles inferiores de todas las especies de LPC, a excepción de LPC 20:4 y LPC 20:3, que fueron significativamente superiores en el grupo de EAC. Los niveles más bajos se pueden deber a un aumento del catabolismo de estas especies observadas en el presente documento, pero lo más probable es que se deba a su eliminación más eficaz de la circulación en los tejidos, ya sea en forma de lipoproteína de baja densidad modificada o directamente de la albúmina, lo que representa la forma principal de LPC en plasma.

Algunos de estos lípidos (APC 34:2, LPC 16:1, LPC14:0) mostraron una disminución adicional en la EAC inestable con respecto a la EAC estable, demostrando de nuevo una relación con la gravedad de la enfermedad. LPC 14:0 resultó tener niveles medios de 2.038, 1.619 y 1.192 pmol/ml en los grupos de control, de EAC estable y de EAC inestable, respectivamente (Figura 7). Sin embargo, otros lípidos se alteraron específicamente en el grupo de EAC inestable con respecto a los grupos de control y EAC estable combinados; SM 18:0 no mostró ninguna diferencia entre el control y EAC, pero fue significativamente mayor en el grupo de EAC inestable con respecto al grupo de EAC estable ( $p = 3,37E-3$ ) (Figura 7).

Las diferencias de este tipo pueden reflejar alteraciones específicas en el metabolismo de los lípidos asociadas con la enfermedad inestable.

Aunque todavía no se comprenden del todo los cambios exactos que se producen en el metabolismo de los lípidos durante la progresión de la EAC, cada vez existen más pruebas que sugieren que los productos de la peroxidación de los lípidos desempeñan un papel en la aterogénesis. La exploración de iones precursores permitió la identificación de formas modificadas de PC (modPC), que ya se habían publicado como especies oxidadas y truncadas (Davis *et al.*, *J. Biol. Chem.* 283: 6428-6437, 2008; Oei *et al.*, "Circulation". 111: 570-575, 2005). Estas también se redujeron en los grupos de EAC en relación con el grupo de control, y algunas especies mostraron una reducción adicional en EAC inestable en relación con EAC estable. Esto también puede ser un reflejo de una mayor actividad de PLA2 y de captación tisular, pues se ha publicado que las especies oxidadas de PC son sustratos preferidos por LpPLA2 (Davis *et al.*, 2008 (*supra*)) y ligandos de alta afinidad hacia los receptores eliminadores. También se identificaron especies de Cer modificadas (modCer) como posibles biomarcadores, pudiéndose relacionar con la formación de especies de acilceramida asociadas con la actividad de PLA2 lisosomal implicada en la renovación de LDL-ox.

A pesar del conocimiento incompleto acerca del metabolismo de los lípidos asociado con la EAC, en el presente documento, se describen biomarcadores lipídicos para el desarrollo de modelos multivariados con el fin de estratificar eficazmente los individuos basándose en el estado patológico. La estrategia de los inventores fue incorporar clases de lípidos que reflejaran las múltiples funciones y procesos biológicos que subyacen a la progresión de la EAC, y aplicar después la eliminación de las características recursivas con validación cruzada

múltiple para crear modelos óptimos de clasificación con el número mínimo de lípidos. Este proceso demostró que solo se requirieron 8-16 lípidos para lograr casi el máximo de diferenciación del estado patológico (Figura 5A y C). Estos lípidos (Tablas 24 y 25) mostraron una alta homología con los lípidos de rango superior identificados mediante la regresión logística (Tablas 20 y 23) como los incorporados más a menudo a los modelos multivariados, apoyando así el proceso de selección de RFE.

Se examinó la influencia de las estatinas sobre el perfil lipídico en plasma en la cohorte de EAC estable. 9 de 229 lípidos mostraron una correlación con el uso de estatinas (diferencia del 15 al 76 % en la concentración,  $p < 0,01$ ) con 19 más que tenían  $0,01 > p < 0,05$ . Sin embargo, solo tres de estos 28 se identificaron como diferenciadores de la EAC estable con respecto a la EAC inestable, y solo se identificaron seis especies de lípidos de las 95 que fueron estadísticamente diferentes entre los grupos de control y de EAC (Tabla 26). Dos de estas (PC 37:4 y PS 38:4) mostraron una tendencia opuesta con el uso de estatinas a la observada en el grupo de EAC, lo que sugiere que el uso de estatinas puede corregir parcialmente estos niveles de lípidos.

A pesar de las limitaciones de un estudio transversal para desarrollar modelos predictivos, muchos de los lípidos identificados como diferenciadores de la EAC inestable mostraron una asociación con la gravedad de la enfermedad, lo que sugiere que se alteran antes de la aparición de ACS. La aplicación de la eliminación de las características recursivas (RFE) usando el aprendizaje de máquinas de soporte vectorial permitió el desarrollo y la validación cruzada de los modelos multivariados para la clasificación de los pacientes con EAC como estables o inestables. La combinación de los ocho factores de riesgo tradicionales y los lípidos en plasma proporcionó la mejor diferenciación con un estadístico C de 0,804 (IC, 0,798-0,811), una mejora significativa frente a los factores de riesgo tradicionales solos, que produjeron un estadístico C de solo 0,679 (IC, 0,673-0,685) (Figura 6).

Los ejemplos demuestran el potencial de la caracterización de los lípidos en plasma para la identificación de la EAC estable e inestable.

**TABLA 2. Composición mixta y concentración del patrón interno<sup>a</sup>**

Nº	Especie lipídica	Patrón interno	Concentración (pmol/15 µl)
1	bis(monoacilglicero)fosfato (BMP)	BMP 14:0/14:0	100
2	ceramida (Cer)	Cer17:0	100
3	monohexosilceramida (MHC)	MHC 16:0 d3	50
4	dihexosilceramida (DHC)	DHC 16:0 d3	50
5	trihexosilceramida (THC)	THC 17:0	50
6	1-O-acilceramida (acCer)	acCer 17:018:1	100
7	esfingomielina (SM)	SM 12:0	200
8	fosfatidilglicerol (PG)	PG 17:0 17:0	100
9	fosfatidilcolina (PC)	PC 13:0 13:0	100
10	fosfatidilcolina (PC)	PC 21:0 21:0	100
11	fosfatidiletanolamina (EP)	EP 17:017:0	100
12	fosfatidilserina (PS)	PS 17:0 17:0	100
13	lisofosfatidilcolina (LPC)	LPC 13:0	100
14	diacilglicerol (DG)	DG 15:0 15:0	200
15	triacilglicerol (TG)	TG 17:0 17:0 17:0	100
16	colesterol (COH)	COH d7	1.000

17 éster de colesterol (CE) CE 18:0 d6 1.000

<sup>a</sup>preparado en CHCl<sub>3</sub>/MeOH (1:1), 15 µl usados en cada muestra de plasma

**TABLA 3. Configuraciones del espectrómetro de masas usadas para las exploraciones de iones precursores**

Especie	Intervalo <i>m/z</i> Q1	Config. <i>m/z</i> Q3	DP <sup>a</sup>	EP <sup>b</sup>	CE <sup>c</sup>	CXP <sup>d</sup>
ceramida modificada						
	530-760	264,3	70	10	35-50	12
	750-980	264,3	70	10	50-65	12
fosfatidilcolina modificada						
	490-670	184,1	100	10,	45	12
	640-820	184,1	100	10	45	12
	800-900	184,1	100	10	45	12
éster de colesterol modificado						
	450-650	369,3	55	10	20	12
	650-850	369,3	55	10	20	12

<sup>a</sup>DP, Potencial de desagrupación

<sup>b</sup>EP, Potencial de entrada

<sup>c</sup>CE, Energía de colisión

<sup>d</sup>CXP, Potencial de salida de la célula

**TABLA 4. Métodos de exploración usados para crear métodos de adquisición MRM para la caracterización de lípidos en plasma**

5

Clase de lípido	Nº de especie	Patrón interno	ión precursor	Tipo de MRM	DP	EP	CE	CXP
ceramida (Cer)	7	Cer 17:0	[M+H] <sup>+</sup>	PIS <sup>a</sup> , 264,3 <i>m/z</i>	50	10	35	12
monohexosilceramida (MHC)	7	MHC 16:0 d3	[M+H] <sup>+</sup>	PIS, 264,3 <i>m/z</i>	77	10	50	12

ES 2 665 621 T3

dihexosilceramida (DHC)	7	DHC 16:0 d3	[M+H] <sup>+</sup>	PIS, 264,3 <i>m/z</i>	100	10	65	12
trihexosilceramida (THC)	7	THC 17:0	[M+H] <sup>+</sup>	PIS, 264,3 <i>m/z</i>	130	10	73	12
gangliósido G <sub>M3</sub> (GM3)	6	THC 17:0	[M+H] <sup>+</sup>	PIS, 264,3 <i>m/z</i>	155	10	105	16
ceramida modificada (modCer)	14	acCer 17:0	[M+H] <sup>+</sup>	PIS, 264,3 <i>m/z</i>	70	10	50	16
esfingomielina (SM)	12	SM 12:0	[M+H] <sup>+</sup>	PIS, 184,1 <i>m/z</i>	65	10	35	12
fosfatidilglicerol (PG)	4	PG 17:017:0	[M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	NL <sup>b</sup> , 189 Da	60	10	25	12
bis(monoacilglicerol)fosfato (BMP)	1	BMP 14:0 14:0	[M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	PIS, 339,3 <i>m/z</i>	65	10	35	12
fosfatidilserina (PS)	7	PS 17:0 17:0	[M+H] <sup>+</sup>	NL, 185 Da	86	10	29	12
fosfatidiletanolamina (PE)	18	PE 17:0 17:0	[M+H] <sup>+</sup>	NL, 141 Da	80	10	31	12
fosfatidilinositol (PI)	17	PE 17:0 17:0	[M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	PIS, 184,1 <i>m/z</i>	51	10	43	14
lisofosfatidilcolina (LPC)	14	LPC 13:0	[M+H] <sup>+</sup>	PIS, 184,1	90	10	38	12

ES 2 665 621 T3

				<i>m/z</i>				
factor activador de lisoplaquetas (LPAF)	3	LPC 13:0	[M+H] <sup>+</sup>	PIS, 285,2	90	10	42	5
				<i>m/z</i>				
fosfatidilcolina (PC)	19	PC 21:0	[M+H] <sup>+</sup>	PIS, 184,1	100	10	45	11
		21:0 <sup>c</sup>		<i>m/z</i>				
fosfatidilcolina de cadena impar (oddPC)	15	PC 21:0	[M+H] <sup>+</sup>	PIS, 184,1	100	10	45	11
		21:0 <sup>c</sup>		<i>m/z</i>				
alquilfosfatidilcolina (APC)	16	PC 21:0	[M+H] <sup>+</sup>	PIS, 184,1	100	10	45	11
		21:0 <sup>c</sup>		<i>m/z</i>				
Colesterol libre (COH)	1	COH d7	[M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	PIS, 369,3	55	10	17	12
				<i>m/z</i>				
éster de colesterol (CE)	30	CE 18:0	[M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	PIS, 369,3	30	10	20	12
		d6		<i>m/z</i>				
éster de colesterol modificado (modCE)	4	CE 18:0	[M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	PIS, 369,3	55	10	20	12
		d6		<i>m/z</i>				
diacilglicerol (DG)	27	DG 15:0	[M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	NL, ácido graso	55	10	30	22
		15:0						
triacilglicerol (TG)	44	TG 17:0	[M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	NL, ácido graso	95	10	30	12
		17:0 17:0						

<sup>a</sup>NL, exploración de pérdida neutra

<sup>b</sup>PIS, exploración de iones precursores

<sup>c</sup>PC 13:0/13:0 se usó como patrón interno para la especie con *m/z* < 700



TABLA 5. Características clínicas y bioquímicas de los pacientes<sup>a</sup>

Característica	Control (n = 61)	EAC estable (n = 62)	EAC inestable (n = 81)	P (EAC estable frente a EAC inestable) <sup>b</sup>	P (Control frente a EAC) <sup>b</sup>
edad (años)	60 ± 6	66 ± 10	65 ± 11	0,35	<0,0001 <sup>c</sup>
sexo (% mujer)	34	18	25	0,229	0,077
tabaquismo (%)	3	15	30	0,030	0,001
diabetes (%)	0	32	32	0,976	<0,0001
hipertensión (%)	0	66	51	0,075	<0,0001
EAC, antecedentes familiares (%)	48	40	32	0,335	0,120
IMC, (kg/m <sup>2</sup> )	25,72 ± 2,25	28,00 ± 4,12	27,65 ± 3,85	0,62	0,003
colesterol total, (mmol/l)	4,77 ± 0,45	4,38 ± 1,08	4,11 ± 0,96	0,13	0,001
Colesterol LDL, (mmol/l)	2,93 ± 0,49	2,59 ± 0,93	2,35 ± 0,77	0,12	0,0001
Colesterol HDL, (mmol/l)	1,34 ± 0,43	1,09 ± 0,31	1,10 ± 0,29	0,81	<0,0001
triglicéridos, (mmol/l)	1,06 ± 0,58	1,63 ± 0,87	1,51 ± 0,97	0,47	0,0002
glucosa, (mmol/l)	5,02 ± 0,48	6,88 ± 3,47	6,48 ± 2,27	0,45	<0,0001
hsCRP, mg/l	2,04 ± 2,29	3,41 ± 3,95	10,32 ± 8,32	<0,0001	<0,0001

<sup>a</sup>Los datos son la media ± la desviación estándar.

<sup>b</sup>Los valores *p* para la edad, el sexo, el tabaquismo, la diabetes, los antecedentes familiares de EAC y el uso de estatina se calcularon usando el ji cuadrado. Los valores *p* para el resto de características se calcularon usando los ensayos U de Mann Whitney.

<sup>c</sup>Las variables con *p* < 0,05 están en negrita.

TABLA 6. Medicación de las cohortes de EAC estable e inestable

Medicación	Estable %	Inestable %	Valor ji cuadrado	Significancia
Clopidogrel <sup>a</sup>	18	27	1,625	0,202
Aspirina <sup>a</sup>	95	94	0,103	0,748
<b>estatina <sup>b</sup></b>	<b>54</b>	<b>88</b>	<b>19,991</b>	<b>0,000<sup>h</sup></b>
bloqueador β <sup>c</sup>	59	65	0,612	0,434
inhibidor de ACE <sup>c</sup>	43	56	2,328	0,127

Medicación	Estable %	Inestable %	Valor ji cuadrado	Significancia
bloqueador de la angiotensina-II <sup>c</sup>	23	6	1,076	0,300
nitrito oral/top <sup>c</sup>	31	27	0,269	0,604
<b>trinitrato de glicerilo intravenoso (GTN IV)<sup>c</sup></b>	<b>0</b>	<b>6</b>	<b>3,903</b>	<b>0,048</b>
bloqueador del canal del Ca <sup>c</sup>	26	19	1,212	0,271
<b>Infusión de heparina<sup>d</sup></b>	<b>0</b>	<b>21</b>	<b>14,544</b>	<b>0,000</b>
<b>Heparina de bajo peso molecular (LMWH)<sup>d</sup></b>	<b>0</b>	<b>11</b>	<b>7,236</b>	<b>0,007</b>
insulina <sup>g</sup>	7	5	0,172	0,679
warfarina <sup>d</sup>	2	0	1,337	0,248
amiodarona <sup>f</sup>	2	1	0,041	0,839
espironolactona <sup>c</sup>	3	0	2,694	0,101
abciximab <sup>a</sup>	0	1	0,758	0,384
tirofiban <sup>a</sup>	0	6	3,903	0,048
frusemida <sup>c</sup>	11	9	0,314	0,575
sulfonilurea <sup>g</sup>	15	14	0,040	0,842
metformina <sup>g</sup>	23	11	3,593	0,058

<sup>a</sup> antiplaquetario

<sup>b</sup> hipolemiante

<sup>c</sup> antihipertensivo

<sup>d</sup> anticoagulante

5 <sup>e</sup> antianginoso

<sup>f</sup> antiarrítmico

<sup>g</sup> antidiabético

<sup>h</sup> las variables con  $p < 0,05$  están en negrita

**TABLA 7. Analitos lipídicos medidos en el experimento de MRM 1**

#	Analito	Masa exacta	Q1 <sup>a</sup>	Q3 <sup>b</sup>	tR <sup>c</sup>	ID <sup>d</sup>	DP <sup>e</sup>	EP <sup>f</sup>	CE <sup>g</sup>	CXP <sup>h</sup>
1	Cer 16:0	537,512	538,5	264,3	7,10	Cer 16:0	50	10	35	12
<b>S1</b>	<b>Cer 17:0 (IS)</b>	<b>551,528</b>	<b>552,5</b>	<b>264,3</b>	<b>7,26</b>	<b>Cer 17:0 (IS)</b>	<b>50</b>	<b>10</b>	<b>35</b>	<b>12</b>
2	Cer 18:1	563,528	564,5	264,3	7,20	Cer 18:1	50	10	35	12

ES 2 665 621 T3

3	Cer 18:0	565,543	566,6	264,3	7,41	Cer 18:0	50	10	35	12
4	Cer 20:0	593,575	594,6	264,3	7,80	Cer 20:0	50	10	35	12
5	Cer 22:0	621,606	622,6	264,3	7,94	Cer 22:0	50	10	35	12
6	Cer 24:1	647,622	648,6	264,3	7,95	Cer 24:1	50	10	35	12
7	Cer 24:0	649,637	650,6	264,3	8,18	Cer 24:0	50	10	35	12
8	MHC 16:0	699,565	700,6	264,3	6,26	MHC 16:0	77	10	50	12
<b>S2</b>	<b>MHC 16:0d3 (IS)</b>	<b>702,582</b>	<b>703,60</b>	<b>264,3</b>	<b>6,26</b>	<b>MHC 16:0d3 (IS)</b>	<b>77</b>	<b>10</b>	<b>50</b>	<b>12</b>
9	MHC 18:1	725,581	726,6	264,3	6,40	MHC 18:1	77	10	50	12
10	MHC 18:0	727,596	728,6	264,3	6,61	MHC 18:0	77	10	50	12
11	MHC 20:0	755,628	756,6	264,3	6,93	MHC 20:0	77	10	50	12
12	MHC 22:0	783,659	784,7	264,3	7,21	MHC 22:0	77	10	50	12
13	MHC 24:1	809,674	810,7	264,3	7,22	MHC 24:1	77	10	50	12
14	MHC 24:0	811,690	812,7	264,3	7,47	MHC 24:0	77	10	50	12
15	DHC 16:0	861,618	862,6	264,3	5,91	DHC 16:0	100	10	65	12
<b>S3</b>	<b>DHC 16:0d3 (IS)</b>	<b>864,635</b>	<b>865,6</b>	<b>264,3</b>	<b>5,91</b>	<b>DHC 16:0d3 (IS)</b>	<b>100</b>	<b>10</b>	<b>65</b>	<b>12</b>
16	DHC 18:1	887,633	888,6	264,3	6,03	DHC 18:1	100	10	65	12
17	DHC 18:0	889,649	890,7	264,3	6,27	DHC 18:0	100	10	65	12
18	DHC 20:0	917,680	918,7	264,3	6,60	DHC 20:0	100	10	65	12
19	DHC 22:0	945,712	946,7	264,3	6,90	DHC 22:0	100	10	65	12
20	DHC 24:1	971,727	972,7	264,3	6,91	DHC 24:1	100	10	65	12
21	DHC 24:0	973,743	974,8	264,3	7,17	DHC 24:0	100	10	65	12
22	THC 16:0	1023,671	1024,7	264,3	5,69	THC 16:0	130	10	73	12
<b>S4</b>	<b>THC 17:0 (IS)</b>	<b>1037,686</b>	<b>1038,7</b>	<b>264,3</b>	<b>5,87</b>	<b>THC 17:0 (IS)</b>	<b>130</b>	<b>10</b>	<b>73</b>	<b>12</b>
23	THC 18:1	1049,686	1050,7	264,3	5,84	THC 18:1	130	10	73	12
24	THC 18:0	1051,702	1052,7	264,3	6,06	THC 18:0	130	10	73	12
25	THC 20:0	1079,733	1080,7	264,3	6,39	THC 20:0	130	10	73	12
26	THC 22:0	1107,764	1108,8	264,3	6,70	THC 22:0	130	10	73	12
27	THC 24:1	1133,780	1134,8	264,3	6,70	THC 24:1	130	10	73	12
28	THC 24:0	1135,796	1136,8	264,3	6,98	THC 24:0	130	10	73	12
29	GM316:0	1152,713	1153,7	264,3	4,82	GM3 16:0	155	10	105	16

ES 2 665 621 T3

30	GM3 18:0	1180,744	1181,8	264,3	5,15	GM3 18:0	155	10	105	16
31	GM3 20:0	1208,776	1209,8	264,3	5,49	GM3 20:0	155	10	105	16
32	GM3 22:0	1236,807	1237,8	264,3	5,77	GM3 22:0	155	10	105	16
33	GM3 24:1	1262,823	1263,8	264,3	5,78	GM3 24:1	155	10	105	16
34	GM3 24:0	1264,838	1265,8	264,3	6,04	GM3 24:0	155	10	105	16
35	modCer 576,5/7,68	575,500	576,5	264,3	7,68	modCer 576,5/7,68	70	10	50	16
36	modCer 614,6/5,72	613,600	614,6	264,3	5,72	modCer 614,6/5,72	70	10	50	16
37	modCer 632,6/9,22	631,600	632,6	264,3	9,22	modCer 632,6/9,22	70	10	50	16
38	modCer 651,6/7,56	650,600	651,6	264,3	7,56	modCer 651,6/7,56	70	10	50	16
39	modCer 703,6/5,87	702,620	703,61	264,3	5,87	modCer 703,6/5,87	70	10	50	16
40	modCer 731,6/6,22	730,600	731,6	264,3	6,22	modCer 731,6/6,22	70	10	50	16
41	modCer 766,6/7,17	765,600	766,6	264,3	7,17	modCer 766,6/7,17	70	10	50	16
42	modCer 769,6/8,01	768,600	769,6	264,3	8,01	modCer 769,6/8,01	70	10	50	16
43	modCer 798,7/7,29	797,700	798,7	264,3	7,29	modCer 798,7/7,29	70	10	50	16
<b>S5</b>	<b>Acil Cer 17:0 18:1 (IS)</b>	<b>815,800</b>	<b>816,8</b>	<b>264,3</b>	<b>8,90</b>	<b>Acil Cer 17:0 18:1 (IS)</b>	<b>70</b>	<b>10</b>	<b>50</b>	<b>16</b>
44	modCer 875,7/9,23	874,700	875,7	264,3	9,23	modCer 875,7/9,23	70	10	50	16
45	modCer 883,8/7,75	882,800	883,8	264,3	7,75	modCer 883,8/7,75	70	10	50	16
46	modCer 886,8/9,06	885,800	886,8	264,3	9,06	modCer 886,8/9,06	70	10	50	16
47	modCer	909,800	910,8	264,3	8,98	modCer	70	10	50	16

ES 2 665 621 T3

		910,8/8,98					910,8/8,98				
48	modCer	920,800	921,8	264,3	9,05	modCer	70	10	50	16	
		921,8/9,05				921,8/9,05					
<b>S6</b>	<b>SM 12:0 (IS)</b>	<b>646,505</b>	<b>647,5</b>	<b>184,1</b>	<b>4,70</b>	<b>SM 12:0 (IS)</b>	<b>65</b>	<b>10</b>	<b>35</b>	<b>12</b>	
<b>S6</b>	<b>SM 12:0 (IS)</b>	<b>646,505</b>	<b>648,5</b>	<b>185,1</b>	<b>4,70</b>	<b>SM 12:0 +1</b>	<b>65</b>	<b>10</b>	<b>35</b>	<b>12</b>	
						<b>(IS)</b>					
<b>S6</b>	<b>SM 12:0 (IS)</b>	<b>646,505</b>	<b>649,5</b>	<b>186,1</b>	<b>4,70</b>	<b>SM 12:0 +2</b>	<b>65</b>	<b>10</b>	<b>35</b>	<b>12</b>	
						<b>(IS)</b>					
49	SM 14:0	674,536	676,5	185,1	5,15	SM 14:0 +1	65	10	35	12	
50	SM 15:0	688,552	690,6	185,1	5,40	SM 15:0 +1	65	10	35	12	
51	SM 16:1	700,552	702,6	185,1	5,30	SM 16:1 +1	65	10	35	12	
52	SM 16:0	702,568	705,6	186,1	5,58	SM 16:0 +2	65	10	35	12	
53	SM 18:1	728,583	730,6	185,1	5,70	SM 18:1 +1	65	10	35	12	
54	SM 18:0	730,599	732,6	185,1	6,04	SM 18:0 +1	65	10	35	12	
55	SM 20:1	756,615	758,6	185,1	6,09	SM 20:1 +1	65	10	35	12	
56	SM 22:1	784,646	786,7	185,1	6,44	SM 22:1 +1	65	10	35	12	
57	SM 22:0	786,661	788,7	185,1	6,68	SM 22:0+1	65	10	35	12	
58	SM 24:2	810,661	812,7	185,1	6,46	SM 24:2 +1	65	10	35	12	
59	SM 24:1	812,677	813,7	184,1	6,60	SM 24:1	65	10	35	12	
60	SM 24:0	814,693	816,7	185,1	6,98	SM 24:0 +1	65	10	35	12	
61	PG 16:1 18:1	746,510	764,5	575,5	5,44	PG 16:1 18:1	60	10	25	12	
62	PG 16:0 18:1	748,525	766,6	577,5	5,68	PG 16:0 18:1	60	10	25	12	
<b>S7</b>	<b>PG 17:0 17:0</b>	<b>750,541</b>	<b>768,6</b>	<b>579,5</b>	<b>5,93</b>	<b>PG 17:0 17:0</b>	<b>60</b>	<b>10</b>	<b>25</b>	<b>12</b>	
						<b>(IS)</b>					
63	PG 18:1 18:1	774,541	792,6	603,5	5,76	PG 18:1 18:1	60	10	25	12	
64	PG 18:0 18:1	776,557	794,6	605,6	6,00	PG 18:0 18:1	60,	10	25	12	
<b>S8</b>	<b>BMP 14:0</b>	<b>666,447</b>	<b>684,5</b>	<b>285,2</b>	<b>5,01</b>	<b>BMP 14:0</b>	<b>65</b>	<b>10</b>	<b>35</b>	<b>5</b>	
						<b>14:0 (IS)</b>					
65	BMP 18:1 18:1	774,541	792,6	339,3	5,76	BMP 18:1 18:1	65	10	35	5	
<b>S9</b>	<b>PS 17:0/17:0</b>	<b>763,536</b>	<b>764,5</b>	<b>579,5</b>	<b>5,78</b>	<b>PS 17:0/17:0</b>	<b>86</b>	<b>10</b>	<b>29</b>	<b>16</b>	

ES 2 665 621 T3

66	PS 36:2	787,536	788,5	603,5	5,67	PS 36:2	86	10	29	16
67	PS 36:1	789,552	790,6	605,6	5,87	PS 36:1	86	10	29	16
68	PS 38:5	809,521	810,5	625,5	5,49	PS 38:5	86	10	29	16
69	PS 38:4	811,536	812,5	627,5	5,69	PS 38:4	86	10	29	16
70	PS 38:3	813,552	814,6	629,6	5,82	PS 38:3	86	10	29	16
71	PS 40:6	835,536	836,5	651,5	5,69	PS 40:6	86	10	29	16
72	PS 40:5	837,552	838,6	653,6	5,73	PS 40:5	86	10	29	16
73	PE 32:1	689,500	690,5	549,5	6,25	PE 32:1	80	10	31	7
74	PE 32:0	691,515	692,5	551,5	6,40	PE 32:0	80	10	31	7
75	PE 34:2	715,515	716,5	575,5	6,30	PE 34:2	80	10	31	7
76	PE 34:1	717,531	718,5	577,5	6,50	PE 34:1	80	10	31	7
<b>S10</b>	<b>PE 17.0/17.0</b>	<b>719,547</b>	<b>720,6</b>	<b>579,5</b>	<b>6,53</b>	<b>PE 17.0/17.0</b>	<b>80</b>	<b>10</b>	<b>31</b>	<b>7</b>
	<b>(IS)</b>					<b>(IS)</b>				
77	PE 36:5	737,500	738,5	597,5	6,15	PE 36:5	80	10	31	7
78	PE 36:4	739,515	740,5	599,5	6,33	PE 36:4	80	10	31	7
79	PE 36:3	741,531	742,5	601,5	6,39	PE 36:3	80	10	31	7
80	PE 36:2	743,547	744,6	603,5	6,57	PE 36:2	80	10	31	7
81	PE 36:1	745,562	746,6	605,6	6,83	PE 36:1	80	10	31	7
82	PE 36:0	747,578	748,6	607,6	7,00	PE 36:0	80	10	31	7
83	PE 38:6	763,515	764,5	623,5	6,31	PE 38:6	80	10	31	7
84	PE 38:5	765,531	766,5	625,5	6,40	PE 38:5	80	10	31	7
85	PE 38:4	767,547	768,6	627,5	6,66	PE 38:4	80	10	31	7
86	PE 38:3	769,562	770,6	629,6	6,84	PE 38:3	80	10	31	7
87	PE 38:2	771,578	772,6	631,6	6,86	PE 38:2	80	10	31	7
88	PE 38:1	773,593	774,6	633,6	7,07	PE 38:1	80	10	31	7
89	PE 40:7	789,531	790,5	649,5	6,38	PE 40:7	80	10	31	7
90	PE 40:6	791,547	792,6	651,5	6,63	PE 40:6	80	10	31	7
91	PI 32:1	808,510	826,5	549,5	5,09	PI 32:1	51	10	43	14
92	PI 32:0	810,526	828,6	551,6	5,34	PI 32:0	51	10	43	14
93	PI 34:1	836,541	854,6	577,6	5,44	PI 34:1	51	10	43	14

ES 2 665 621 T3

94	PI 34:0	838,557	856,6	579,6	5,69	PI 34:0	51	10	43	14
95	PI 36:4	858,526	876,6	599,6	5,26	PI 36:4	51	10	43	14
96	PI 36:3	860,541	878,6	601,6	5,32	PI 36:3	51	10	43	14
97	PI 36:2	862,557	880,6	603,6	5,58	PI 36:2	51	10	43	14
98	PI 36:1	864,573	882,6	605,6	5,77	PI 36:1	51	10	43	14
99	PI 36:0	866,588	884,6	607,6	5,99	PI 36:0	51	10	43	14
100	PI 38:6	882,526	900,6	623,6	5,26	PI 38:6	51	10	43	14
101	PI 38:5	884,541	902,6	625,6	5,34	PI 38:5	51	10	43	14
102	PI 38:4	886,557	904,6	627,6	5,61	PI 38:4	51	10	43	14
103	PI 38:3	888,573	906,6	629,6	5,71	PI 38:3	51	10	43	14
104	PI 38:2	890,588	908,6	631,6	5,86	PI 38:2	51	10	43	14
105	PI 40:6	910,557	928,6	651,6	5,60	PI 40:6	51	10	43	14
106	PI 40:5	912,573	930,6	653,6	5,67	PI 40:5	51	10	43	14
107	PI 40:4	914,588	932,6	655,6	5,84	PI 40:4	51	10	43	14
<b>S11</b>	<b>LPC 13:0 (IS)</b>	<b>453,286</b>	<b>454,3</b>	<b>184,1</b>	<b>1,22</b>	<b>LPC 13:0 (IS)</b>	<b>90</b>	<b>10</b>	<b>38</b>	<b>12</b>
108	LPC 14:0	467,301	468,3	184,1	1,20	LPC 14:0	90	10	38	12
109	LPC 15:0	481,317	482,3	184,1	1,70	LPC 15:0	90	10	38	12
110	LPC 16:1	493,317	494,3	184,1	1,50	LPC 16:1	90	10	38	12
111	LPC 16:0	495,332	496,3	184,1	2,30	LPC 16:0	90	10	38	12
112	LPC 18:2	519,332	520,3	184,1	1,90	LPC 18:2	90	10	38	12
113	LPC 18:1	521,348	522,4	184,1	2,80	LPC 18:1	90	10	38	12
114	LPC 18:0	523,364	524,4	184,1	3,60	LPC 18:0	90	10	38	12
115	LPC 20:5	541,317	542,3	184,1	1,51	LPC 20:5	90	10	38	12
116	LPC 20:4	543,332	544,3	184,1	2,00	LPC 20:4	90	10	38	12
117	LPC 20:3	545,348	546,4	184,1	2,51	LPC 20:3	90	10	38	12
118	LPC 20:2	547,364	548,4	184,1	3,60	LPC 20:2	90	10	38	12
119	LPC 20:1	549,379	550,4	184,1	3,80	LPC 20:1	90	10	38	12
120	LPC 20:0	551,395	552,41	184,1	4,30	LPC 20:0	90	10	38	12
121	LPC 22:6	567,332	568,3	184,1	2,10	LPC 22:6	90	10	38	12
122	LPAF 16:0	481,353	482,4	104,1	3,00	LPAF 16:0	90	10	42	5

ES 2 665 621 T3

123	LPAF 18:1	507,369	508,4	104,1	3,30	LPAF 18:1	90	10	42	5
124	LPAF 18:0	509,385	510,4	104,1	3,90	LPAF 18:0	90	10	42	5
<b>S12</b>	<b>PC 13:0/13:0</b>	<b>649,468</b>	<b>650,5</b>	<b>184,1</b>	<b>5,05</b>	<b>PC 13:13:0</b>	<b>100</b>	<b>10</b>	<b>45</b>	<b>11</b>
						<i>(IS)</i>				
<b>S12</b>	<b>PC 13:0/13:0</b>	<b>650,492</b>	<b>651,5</b>	<b>185,1</b>	<b>5,05</b>	<b>PC 13:13:0+1</b>	<b>100</b>	<b>10</b>	<b>45</b>	<b>11</b>
						<i>(IS)</i>				
125	PC 30:2	701,500	703,5	185,1	5,31	PC 30:2 +1	100	10	45	11
126	PC 32:2	729,531	731,5	185,1	5,80	PC 32:2+1	100	10	45	11
127	PC 32:1	732,547	733,6	184,1	5,96	PC 32:1 +1	100	10	45	11
128	PC 32:0	733,562	735,6	185,1	6,24	PC 32:0 +1	100	10	45	11
129	PC 34:3	755,547	757,6	185,1	5,88	PC 34:3 +1	100	10	45	11
130	PC 34:2	757,562	760,6	186,1	6,16	PC 34:2 +2	100	10	45	11
131	PC 34:1	759,578	761,6	185,1	6,28	PC 34:1 + 1	100	10	45	11
132	PC 34:0	761,593	763,6	185,1	6,37	PC 34:0 +1	100	10	45	11
133	PC 36:5	779,547	781,6	185,1	5,92	PC 36:5 +1	100	10	45	11
134	PC 36:4	781,562	784,6	186,1	6,17	PC 36:4+2	100	10	45	11
135	PC 36:3	783,578	785,6	185,1	6,25	PC 36:3 +1	100	10	45	11
136	PC 36:2	785,593	788,6	186,1	6,40	PC 36:2 +2	100	10	45	11
137	PC 38:6	805,562	807,6	185,1	6,16	PC 38:6 +1	100	10	45	11
138	PC 38:5	807,578	809,6	185,1	6,23	PC 38:5 +1	100	10	45	11
139	PC 38:4	809,593	812,6	186,1	6,50	PC 38:4 +2	100	10	45	11
140	PC 40:7	831,578	833,6	185,1	6,20	PC 40:7 +1	100	10	45	11
141	PC 40:6	833,593	835,6	185,1	6,50	PC 40:6 +1	100	10	45	11
142	PC 40:5	835,609	837,6	185,1	6,55	PC 40:5 +1	100	10	45	11
<b>S13</b>	<b>PC 21:0 21:0</b>	<b>873,719</b>	<b>874,7</b>	<b>184,1</b>	<b>7,80</b>	<b>PC 21:0 21:0</b>	<b>100</b>	<b>10</b>	<b>45</b>	<b>11</b>
						<i>(IS)</i>				
<b>S13</b>	<b>PC 21:0 21:0 (IS)</b>	<b>874,719</b>	<b>875,7</b>	<b>185,1</b>	<b>7,80</b>	<b>PC 21:0 21:0+1</b>	<b>100</b>	<b>10</b>	<b>45</b>	<b>11</b>
						<i>(IS)</i>				
<b>S13</b>	<b>PC 21:0 21:0</b>	<b>875,719</b>	<b>876,7</b>	<b>186,1</b>	<b>7,80</b>	<b>PC 21:0</b>	<b>100</b>	<b>10</b>	<b>45</b>	<b>11</b>
						<i>(IS)</i>				
						<b>21:0+2 (IS)</b>				
143	PC 44:12	877,562	879,6	185,1	7,22	PC 44:12 +1	100	10	45	11



## ES 2 665 621 T3

144	oddPC 31:1	717,531	718,5	184,1	5,94	PC 31:1	100	10	45	11
145	oddPC 31:0	719,547	720,60	184,1	6,20	PC 31:0	100	10	45	11
146	oddPC 33:0	743,547	744,60	184,1	6,07	PC 33:2	100	10	45	11
147	oddPC 33:1	745,562	746,60	184,1	6,29	PC 33:1	100	10	45	11
148	oddPC 33:2	747,578	748,6	184,1	6,50	PC 33:0	100	10	45	11
149	oddPC 35:4	767,547	768,60	184,1	6,09	PC 35:4	100	10	45	11
150	oddPC 35:3	769,562	770,60	184,1	6,19	PC 35:3	100	10	45	11
151	oddPC 35:2	771,578	772,6	184,1	6,41	PC 35:2	100	10	45	11
152	oddPC 35:1	773,593	774,60	184,1	6,63	PC 35:1	100	10	45	11
153	oddPC 35:0	775,609	776,6	184,1	6,83	PC 35:0	100	10	45	11
154	oddPC 37:6	791,547	792,60	184,1	6,07	PC 37:6	100	10	45	11
155	oddPC 37:5	793,562	794,60	184,1	6,22	PC 37:5	100	10	45	11
156	oddPC 37:4	795,578	796,60	184,1	6,41	PC 37:4	100	10	45	11
157	oddPC 37:3	797,593	798,60	184,1	6,60	PC 37:3	100	10	45	11
158	oddPC 37:2	799,609	800,6	184,1	6,71	PC 37:2	100	10	45	11
159	APC 32:1	717,567	718,6	184,1	6,28	APC 32:1	100	10	45	11
160	APC 32:0	719,583	720,61	184,1	6,53	APC 32:0	100	10	45	11
161	APC 34:2	743,583	744,61	184,1	6,40	APC 34:2	100	10	45	11
162	APC 34:1	745,599	746,61	184,1	6,59	APC 34:1	100	10	45	11
163	APC 34:0	747,614	748,6	184,1	6,88	APC 34:0	100	10	45	11
164	APC 36:5	765,567	766,6	184,1	6,30	APC 36:5	100	10	45	11
165	APC 36:4	767,583	768,61	184,1	6,41	APC 36:4	100	10	45	11
166	APC 36:3	769,599	770,61	184,1	6,59	APC 36:3	100	10	45	11
167	APC 36:2	771,614	772,6	184,1	6,69	APC 36:2	100	10	45	11
168	APC 36:1	773,630	774,61	184,1	6,95	APC 36:1	100	10	45	11
169	APC 36:0	775,645	776,7	184,1	7,20	APC 36:0	100	10	45	11
170	APC 38:6	791,583	792,61	184,1	6,39	APC 38:6	100	10	45	11
171	APC 38:5	793,599	794,60	184,1	6,52	APC 38:5	100	10	45	11
172	APC 38:4	795,614	796,61	184,1	6,75	APC 38:4	100	10	45	11
173	APC 38:3	797,630	798,61	184,1	6,86	APC 38:3	100	10	45	11

## ES 2 665 621 T3

174	APC 38:2	799,645	800,7	184,1	7,03	APC 38:2	100	10	45	11
175	modPC 506,3/3,50	505,300	506,3	184,1	3,50	modPC 506,3/3,50	100	10	45	11
176	modPC 508,3/3,30	507,310	508,3	184,1	3,30	modPC 508,3/3,30	100	10	45	11
177	modPC 510,3/4,00	509,300	510,3	184,1	4,00	modPC 510,3/4,00	100	10	45	11
178	modPC 512,3/1,70	511,300	512,3	184,1	1,70	modPC 512,3/1,70	100	10	45	11
179	modPC 536,3/3,50	535,300	536,3	184,1	3,50	modPC 536,3/3,50	100	10	45	11
180	modPC 538,3/4,10	537,300	538,3	184,1	4,10	modPC 538,3/4,10	100	10	45	11
181	modPC 552,4/3,90	551,400	552,40	184,1	3,90	modPC 552,4/3,90	100	10	45	11
182	modPC 564,4/4,70	563,400	564,4	184,1	4,70	modPC 564,4/4,70	100	10	45	11
183	modPC 566,4/5,10	565,400	566,4	184,1	5,10	modPC 566,4/5,10	100	10	45	11
184	modPC 580,4/4,84	579,400	580,4	184,1	4,84	modPC 580,4/4,84	100	10	45	11
185	modPC 590,4/4,80	589,400	590,4	184,1	4,80	modPC 590,4/4,80	100	10	45	11
186	modPC 592,4/5,10	591,400	592,4	184,1	5,10	modPC 592,4/5,10	100	10	45	11
187	modPC 594,4/3,26	593,400	594,4	184,1	3,26	modPC 594,4/3,26	100	10	45	11
188	modPC 608,4/5,33	607,410	608,41	184,1	5,33	modPC 608,4/5,33	100	10	45	11
189	modPC 608,4/3,84	607,400	608,40	184,1	3,84	modPC 608,4/3,84	100	10	45	11

## ES 2 665 621 T3

190	modPC 610,4/2,03	609,400	610,4	184,1	2,03	modPC 610,4/2,03	100	10	45	11
191	modPC 622,4/4,54	621,400	622,4	184,1	4,54	modPC 622,4/4,54	100	10	45	11
192	modPC 633,4/4,51	632,400	633,4	184,1	4,51	modPC 633,4/4,51	100	10	45	11
193	modPC 636,4/3,37	635,400	636,4	184,1	3,37	modPC 636,4/3,37	100	10	45	11
194	modPC 645,4/4,49	644,400	645,4	184,1	4,49	modPC 645,4/4,49	100	10	45	11
195	modPC 650,4/3,24	649,403	650,40	184,1	3,24	modPC 650,4/3,24	100	10	45	11
196	modPC 650,4/4,44	649,430	650,42	184,1	4,44	modPC 650,4/4,44	100	10	45	11
197	modPC 650,4/3,94	649,420	650,41	184,1	3,94	modPC 650,4/3,94	100	10	45	11
198	modPC 664,4/4,22	663,420	664,4	184,1	4,32	modPC 664,4/4,22	100	10	45	11
199	modPC 666,4/2,99	665,400	666,4	184,1	2,99	modPC 666,4/2,99	100	10	45	11
200	modPC 678,4/4,37	677,400	678,40	184,1	4,37	modPC 678,4/4,37	100	10	45	11
201	modPC 678,4/4,94	677,410	678,41	184,1	5,16	modPC 678,4/4,94	100	10	45	11
202	modPC 678,4/5,51	677,420	678,42	184,1	5,34	modPC 678,4/5,51	100	10	45	11
203	modPC 690,4/4,11	689,400	690,40	184,1	4,11	modPC 690,4/4,11	100	10	45	11
204	modPC 690,4/4,90	689,400	690,41	184,1	4,90	modPC 690,4/4,90	100	10	45	11
205	modPC 690,4/6,00	689,410	690,42	184,1	6,00	modPC 690,4/6,00	100	10	45	11
206	modPC 692,4/5,05	691,400	692,40	184,1	5,05	modPC 692,4/5,05	100	10	45	11
207	modPC 692,4/5,52	691,420	692,41	184,1	5,52	modPC 692,4/5,52	100	10	45	11
208	modPC 692,4/6,10	691,440	692,42	184,1	3,10	modPC 692,4/6,10	100	10	45	11
209	modPC 694,4/6,20	693,400	694,4	184,1	6,20	modPC 694,4/6,20	100	10	45	11

## ES 2 665 621 T3

210	modPC 703,5/4,09	702,500	703,5	184,1	4,09	modPC 703,5/4,09	100	10	45	11
211	modPC 704,5/3,81	703,500	704,5	184,1	3,81	modPC 704,5/3,81	100	10	45	11
212	modPC 706,5/3,79	705,500	706,5	184,1	3,79	modPC 706,5/3,79	100	10	45	11
213	modPC 720,5/4,52	719,510	720,5	184,1	4,52	modPC 720,5/4,52	100	10	45	11
214	modPC 736,5/5,38	735,500	736,5	184,1	5,38	modPC 736,5/5,38	100	10	45	11
215	modPC 743,5/5,91	742,500	743,5	184,1	5,91	modPC 743,5/5,91	100	10	45	11
216	modPC 745,5/6,35	744,500	745,5	184,1	6,35	modPC 745,5/6,35	100	10	45	11
217	modPC 752,5/5,58	751,500	752,5	184,1	5,58	modPC 752,5/5,58	100	10	45	11
218	modPC 764,5/6,52	763,500	764,5	184,1	6,52	modPC 764,5/6,52	100	10	45	11
219	modPC 769,5/6,25	768,500	769,5	184,1	6,25	modPC 769,5/6,25	100	10	45	11
220	modPC 772,5/5,37	771,500	772,5	184,1	5,37	modPC 772,5/5,37	100	10	45	11
221	modPC 773,6/6,47	772,500	773,5	184,1	6,47	modPC 773,6/6,47	100	10	45	11
222	modPC 788,6/5,19	787,500	788,5	184,1	5,19	modPC 788,6/5,19	100	10	45	11
223	modPC 801,6/6,70	800,600	801,6	184,1	6,70	modPC 801,6/6,70	100	10	45	11

## ES 2 665 621 T3

224	modPC	815,600	816,60	184,1	5,58	modPC	100	10	45	11
	816,6/5,58					816,6/5,58				
225	modPC	817,610	818,61	184,1	6,39	modPC	100	10	45	11
	818,6/6,10					818,6/6,10				
226	modPC	817,620	818,62	184,1	6,64	modPC	100	10	45	11
	818,6/6,48					818,6/6,48				
227	modPC	827,600	828,6	184,1	6,03	modPC	100	10	45	11
	828,6/6,03					828,6/6,03				
228	modPC	842,600	843,6	184,1	7,10	modPC	100	10	45	11
	843,6/7,10					843,6/7,10				
229	modPC	865,600	866,6	184,1	7,24	modPC	100	10	45	11
	866,6/7,24					866,6/7,24				
230	modPC	877,600	878,6	184,1	5,98	modPC	100	10	45	11
	878,6/5,98					878,6/5,98				
231	modPC	880,600	881,6	184,1	6,05	modPC	100	10	45	11
	881,6/6,05					881,6/6,05				
232	COH	386,355	404,4	369,3	6,81	COH	55	10	17	12
<b>S14</b>	<b>COH d7 (IS)</b>	<b>393,399</b>	<b>411,4</b>	<b>376,3</b>	<b>6,80</b>	<b>COH-d7</b>	<b>55</b>	<b>10</b>	<b>17</b>	<b>12</b>
233	CE 14:0	596,553	614,6	369,3	9,35	C14:0	30	10	20	12
234	CE 15:0	610,569	628,6	369,3	9,27	C15:0	30	10	20	12
235	CE 16:2	620,553	638,6	369,3	9,21	C16:2	30	10	20	12
236	CE 16:1	622,569	640,6	369,3	9,33	C16:1	30	10	20	12
237	CE 16:0	624,585	642,6	369,3	9,36	C16:0	30	10	20	12
238	CE 17:1	636,585	654,6	369,3	9,48	C17:1	30	10	20	12
239	CE 17:0	638,600	656,6	369,3	9,39	C17:0	30	10	20	12
240	CE 18:3	647,577	665,6	370,3	9,22	C18:3 +1	30	10	20	12
241	CE 18:2	650,601	668,6	371,3	9,33	C18:2 +2	30	10	20	12
242	CE 18:1	651,608	669,6	370,3	9,46	C18:1 +1	30	10	20	12
243	CE 18:0	652,616	670,6	369,3	9,60	C18:0	30	10	20	12

ES 2 665 621 T3

<b>S15</b>	<b>CE 18:0 d6</b>	<b>658,653</b>	<b>676,7</b>	<b>375,3</b>	<b>9,85</b>	<b>C18:0 d6 (IS)</b>	<b>30</b>	<b>10</b>	<b>20</b>	<b>12</b>
	<b>(IS)</b>									
<b>S15</b>	<b>CE 18:0 d6</b>	<b>659,661</b>	<b>677,7</b>	<b>376,3</b>	<b>9,85</b>	<b>C18:0 d6 +1</b>	<b>30</b>	<b>10</b>	<b>20</b>	<b>12</b>
	<b>(IS)</b>					<b>(IS)</b>				
<b>S15</b>	<b>CE 18:0 d6</b>	<b>660,669</b>	<b>678,7</b>	<b>377,3</b>	<b>9,85</b>	<b>C18:0 d6 +2</b>	<b>30</b>	<b>10</b>	<b>20</b>	<b>12</b>
	<b>(IS)</b>					<b>(IS)</b>				
244	CE 20:5	672,585	690,6	371,3	9,13	C20:5 +2	30	10	20	12
245	CE 20:4	674,601	692,6	371,3	9,24	C20:4 +2	30	10	20	12
246	CE 20:3	674,600	692,6	369,3	9,34	C20:3	30	10	20	12
247	CE 20:2	676,616	694,6	369,3	9,31	C20:2	30	10	20	12
248	CE 20:1	678,631	696,7	369,3	9,42	C20:1	30	10	20	12
249	CE 22:6	682,663	700,7	371,3	9,18	C22:6 +2	30	10	20	12
250	CE 22:5	696,585	714,6	369,3	9,25	C22:5	30	10	20	12
251	CE 22:4	698,600	716,6	369,3	9,39	C22:4	30	10	20	12
252	CE 22:3	700,616	718,6	369,3	9,32	C22:3	30	10	20	12
253	CE 22:2	702,631	720,7	369,3	9,42	C22:2	30	10	20	12
254	CE 22:1	704,647	722,7	369,3	9,54	C22:1	30	10	20	12
255	CE 22:0	706,663	724,7	369,3	9,68	C22:0	30	10	20	12
256	CE 24:6	708,678	726,7	369,3	9,12	C24:6	30	10	20	12
257	CE 24:5	724,616	742,6	369,3	9,22	C24:5	30	10	20	12
258	CE 24:4	726,631	744,7	369,3	9,33	C24:4	30	10	20	12
259	CE 24:3	728,647	746,7	369,3	9,43	C24:3	30	10	20	12
260	CE 24:2	730,663	748,7	369,3	9,53	C24:2	30	10	20	12
261	CE 24:1	732,678	750,7	369,3	9,64	C24:1	30	10	20	12
262	CE 24:0	734,694	752,7	369,3	9,78	C24:0	30	10	20	12
263	modCE	557,510	558,5	369,3	7,74	modCE	55	10	20	12
	558,5/7,74					558,5/7,74				
264	modCE	587,500	588,5	369,3	7,94	modCE	55	10	20	12
	588,5/7,94					588,5/7,94				
265	modCE	681,700	682,7	369,3	8,76	modCE	55	10	20	12

ES 2 665 621 T3

	682,7/8,76					682,7/8,76				
266	modCE	789,800	790,8	369,3	6,57	modCE	55	10	20	12
	790,8/6,57					790,8/6,57				

<sup>a</sup> Q1, configuración *m/z* para el cuadrúpolo 1

<sup>b</sup> Q2, configuración *m/z* para el cuadrúpolo 2

<sup>c</sup>tR, tiempo de retención

<sup>d</sup> ID, identidad del analito, (+1) y (+2) designan la especie de isótopo

5 <sup>e</sup>DP, potencial de desagrupación

<sup>f</sup>EP, potencial de entrada

<sup>g</sup>CE, energía de colisión

<sup>h</sup>CXP, potencial de salida de la célula

**TABLA 8. Analitos lipídicos medidos en el experimento MRM 2**

#	Analito	Masa exacta	Q1 <sup>a</sup>	Q3 <sup>b</sup>	tR <sup>c</sup>	ID <sup>d</sup>	DP <sup>e</sup>	EP <sup>f</sup>	CE <sup>g</sup>	CXP <sup>h</sup>
267	DG 14:0 14:0	512,444	530,5	285,2	1,90	DG 14:0 14:0	55	10	30	22
268	DG 14:1 16:0	538,465	556,5	313,3	1,90	DG 14:1 16:0	55	10	30	22
269	DG 14:0 16:0	540,475	558,5	313,3	2,00	DG 14:0 16:0	55	10	30	22
S16	DG 15:0 15:0 (IS)	540,475	558,5	299,3	2,10	DG 15:0 15:0 (IS)	55	10	30	22
270	DG 14:0 18:2	564,475	582,5	285,2	1,90	DG 14:0 18:2	55	10	30	22
271	DG 14:0 18:1	566,491	584,5	285,2	2,00	DG 14:0 18:1	55	10	30	22
272	DG 16:0 16:0	568,507	586,5	313,3	2,10	DG 16:0 16:0	55	10	30	22
273	DG 16:0 18:2	592,507	610,5	313,3	2,10	DG 16:0 18:2	55	10	30	22
274	DG 16:1 18:1	592,507	610,5	339,3	2,00	DG 16:1 18:1	55	10	30	22
275	DG 16:0 18:1	594,522	612,6	339,3	2,10	DG 16:0 18:1	55	10	30	22
276	DG 18:0 16:1	594,522	612,6	311,3	2,10	DG 18:0 16:1	55	10	30	22
277	DG 16:0 18:0	596,538	614,6	341,3	2,20	DG 16:0 18:0	55	10	30	22
278	DG 16:0 20:4	616,507	634,5	313,3	2,00	DG 16:0 20:4	55	10	30	22
279	DG 18:1 18:3	616,507	634,5	339,3	2,00	DG 18:1 18:3	55	10	30	22
280	DG 18:2 18:2	616,507	634,5	337,3	2,00	DG 18:2 18:2	55	10	30	22

ES 2 665 621 T3

281	DG 16:0 20:3	618,522	636,6	313,3	2,10	DG 16:0 20:3	55	10	30	22
282	DG 18:1 18:2	618,522	636,6	339,3	2,00	DG 18:1 18:2	55	10	30	22
283	DG 18:0 18:2	620,538	638,6	341,3	2,10	DG 18:0 18:2	55	10	30	22
284	DG 18:1 18:1	620,538	638,6	339,3	2,10	DG 18:1 18:1	55	10	30	22
285	DG 18:0 18:1	622,554	640,6	339,3	2,20	DG 18:0 18:1	55	10	30	22
286	DG 16:0 20:0	624,569	642,6	313,3	2,30	DG 16:0 20:0	55	10	30	22
287	DG 18:0 18:0	624,569	642,6	341,3	2,40	DG 18:0 18:0	55	10	30	22
288	DG 16:0 22:6	640,507	658,5	313,3	2,00	DG 16:0 22:6	55	10	30	22
289	DG 16:0 22:5	642,522	660,6	313,3	2,00	DG 16:0 22:5	55	10	30	22
290	DG 18:1 20:4	642,522	660,6	339,3	2,00	DG 18:1 20:4	55	10	30	22
291	DG 18:0 20:4	644,538	662,6	341,3	2,10	DG 18:0 20:4	55	10	30	22
292	DG 18:1 20:3	644,538	662,6	339,3	2,10	DG 18:1 20:3	55	10	30	22
293	DG 18:1 20:0	650,585	668,6	369,3	2,20	DG 18:1 20:0	55	10	30	22
294	TG 14:0 16:1 18:2	800,736	818,8	521,5	3,26	TG 14:0 16:1 18:2	95	10	30	12
295	TG 16:1 16:1 16:1	800,736	818,8	547,5	3,18	TG 16:1 16:1 16:1	95	10	30	12
296	TG 14:0 16:0 18:2	802,736	820,8	547,5	3,47	TG 14:0 16:0 18:2	95	10	30	12
297	TG 14:0 16:1 18:1	802,736	820,8	521,5	3,46	TG 14:0 16:1 18:1	95	10	30	12
298	TG 14:1 16:0 18:1	802,736	820,8	577,6	3,46	TG 14:1 16:0 18:1	95	10	30	12
299	TG 14:1 16:1 18:0	802,736	820,8	549,5	3,46	TG 14:1 16:1 18:0	95	10	30	12
300	TG 18:1 14:0 16:0	804,736	822,8	523,5	3,77	TG 18:1 14:0 16:0	95	10	30	12
301	TG 16:0 16:0 16:0	806,736	824,8	551,5	4,17	TG 16:0 16:0 16:0	95	10	30	12



## ES 2 665 621 T3

302	TG 15:0 18:1 16:0	818,752	836,8	577,5	3,79	TG 15:0 18:1 16:0	95	10	30	12
303	TG 17:0 16:0 16:1	818,752	836,8	563,5	3,92	TG 17:0 16:0 16:1	95	10	30	12
304	TG 17:0 18:1 14:0	818,752	836,8	537,5	3,96	TG 17:0 18:1 14:0	95	10	30	12
305	TG 14:0 18:2 18:2	826,747	844,8	599,5	3,23	TG 14:0 18:2 18:2	95	10	30	12
306	TG 14:1 18:0 18:2	828,767	846,8	603,6	3,46	TG 14:1 18:0 18:2	95	10	30	12
307	TG 14:1 18:1 18:1	828,767	846,8	547,5	3,43	TG 14:1 18:1 18:1	95	10	30	12
308	TG 16:1 16:1 18:1	828,767	847,8	576,6	3,43	TG 16:1 16:1	95	10	30	12
309	TG 16:0 16:0 18:2	830,767	848,8	551,5	3,82	18:1 +1 TG 16:0 16:0 18:2	95	10	30	12
310	TG 16:1 16:1 18:0	830,767	848,8	547,5	3,78	TG 16:1 16:1 18:0	95	10	30	12
311	TG 16:0 16:1 18:1	830,767	849,8	550,5	3,75	TG 16:0 16:1 18:1 +1	95	10	30	12
312	TG 14:0 18:0 18:1	832,767	850,8	605,6	4,06	TG 14:0 18:0 18:1	95	10	30	12
313	TG 16:0 16:0 18:1	832,767	851,8	552,5	4,12	TG 16:0 16:0 18:1	95	10	30	12
314	TG 16:0 16:0 18:0	834,767	852,8	551,5	4,12	TG 16:0 16:0 18:0	95	10	30	12
315	TG 15:0 18:1 18:1	844,783	862,8	603,6	3,90	TG 15:0 18:1 18:1	95	10	30	12
316	TG 17:0 18:1 16:1	844,783	862,8	563,5	3,89	TG 17:0 18:1 16:1	95	10	30	12
317	TG 17:0 18:2 16:0	844,783	862,8	589,6	3,92	TG 17:0 18:2 16:0	95	10	30	12
318	TG 17:0 18:1 16:0	846,783	864,8	565,5	4,33	TG 17:0 18:1 16:0	95	10	30	12
319	TG 17:0 16:0 18:0	848,783	866,8	593,6	4,28	TG 17:0 16:0 18:0	95	10	30	12
<b>S17</b>	<b>TG 17:0 17:0</b>	<b>848,783</b>	<b>866,8</b>	<b>579,5</b>	<b>4,77</b>	<b>TG 17:0 17:0</b>	<b>95</b>	<b>10</b>	<b>30</b>	<b>12</b>

ES 2 665 621 T3

	<i>17:0 (IS)</i>					<i>17:0 (IS)</i>				
<i>S17</i>	<i>TG 17:0 17:0 17:0 (IS)</i>	<i>848,783</i>	<i>867,8</i>	<i>580,5</i>	<i>4,77</i>	<i>TG 17:0 17:0 17:0 (IS)</i>	<i>95</i>	<i>10</i>	<i>30</i>	<i>12</i>
320	TG 16:0 18:2 18:2	854,798	872,8	599,6	3,58	TG 16:0 18:2 18:2	95	10	30	12
321	TG 16:1 18:1 18:2	854,798	872,8	573,6	3,45	TG 16:1 18:1 18:2	95	10	30	12
322	TG 16:1 18:1 18:1	856,798	874,8	603,6	3,70	TG 16:1 18:1 18:1	95	10	30	12
323	TG 16:0 18:1  18:2	856,798	875,8	578,6	3,80	TG 16:0 18:1  18:2 +1	95	10	30	12
324	TG 16:0 18:1 18:1	858,798	877,8	604,6	4,06	TG 16:0 18:1 18:1 +1	95	10	30	12
325	TG 16:0 18:0 18:1	860,798	878,8	577,5	4,05	TG 16:0 18:0 18:1	95	10	30	12
326	TG 17:0 18:1 18:1	872,814	890,8	603,6	4,03	TG 17:0 18:1 18:1	95	10	30	12
327	TG 18:2 18:2 18:2	878,830	896,9	599,6	3,29	TG 18:2 18:2 18:2	95	10	30	12
328	TG 18:1 18:2 18:2	880,830	898,9	599,6	3,49	TG 18:1 18:2 18:2	95	10	30	12
329	TG 18:0 18:2  18:2	882,803	900,8	599,5	3,56	TG 18:0 18:2  18:2	95	10	30	12
330	TG 18:1 18:1 18:2	882,830	900,9	603,9	3,73	TG 18:1 18:1 18:2	95	10	30	12
331	TG 18:1 18:1 18:1	884,830	903,9	604,6	4,02	TG 18:1 18:1 18:1 +1	95	10	30	12
332	TG 18:0 18:1 18:1	886,830	904,9	603,6	4,02	TG 18:0 18:1 18:1	95	10	30	12
333	TG 18:0 18:0 18:1	888,830	906,9	607,6	4,37	TG 18:0 18:0 18:1	95	10	30	12
334	TG 18:0 18:0 18:0	890,830	908,9	607,6	4,90	TG 18:0 18:0 18:0	95	10	30	12
335	TG 18:2 18:2 20:4	902,861	920,9	599,6	3,29	TG 18:2 18:2 20:4	95	10	30	12
336	TG 18:1 18:1  20:4	906,861	924,9	603,6	3,60	TG 18:1 18:1  20:4	95	10	30	12

337 TG 18:1 18:1 930,892 948,9 603,7 3,42 TG 18:1 18:1 95 10 30 12  
22:6 22:6

<sup>a</sup> Q1, configuración *m/z* para el cuadrúpolo 1

<sup>b</sup> Q2, configuración *m/z* para el cuadrúpolo 2

<sup>c</sup>tR, tiempo de retención

<sup>d</sup> ID, identidad del analito, (+1) y (+2) designan la especie de isótopo

5 <sup>e</sup>DP, potencial de desagrupación

<sup>f</sup>EP, potencial de entrada

<sup>g</sup>CE, energía de colisión

<sup>h</sup>CXP, potencial de salida de la célula

**TABLA 9. Niveles de analitos lipídicos<sup>a</sup> en cohortes estables e inestables**

#	Analito	estable (mediana)	inestable (mediana)	estable/ inestable	U de Mann- Whitney	Sig. Asinto. (2 colas)
1	Cer 16:0	388	400	1,03	2370	5,66E-01
2	Cer 18:1	203	212	1,04	1921	1,62E-02
3	Cer 18:0	170	196	1,15	1857	7,72E-03
4	Cer 20:0	139	148	1,07	2305	4,01E-01
5	Cer 22:0	794	761	0,96	2454	8,16E-01
6	Cer 24:1	1233	1207	0,98	2409	6,78E-01
7	Cer 24:0	2647	2332	0,88	2364,5	5,51E-01
8	MHC 16:0	1756	1734	0,99	2372	5,71E-01
9	MHC 18:1	53	61	1,15	2275,5	3,37E-01
10	MHC 18:0	351	366	1,04	2403,5	6,61E-01
11	MHC 20:0	505	440	0,87	2143	1,34E-01
12	MHC 22:0	3490	3239	0,93	2400,5	6,53E-01
13	MHC 24:1	4547	4066	0,89	2386	6,11E-01
14	MHC 24:0	5646	4785	0,85	2248,5	2,85E-01
15	DHC 16:0	8510	8786	1,03	2096,5	9,13E-02
16	DHC 18:1	61	76	1,24	1844	6,59E-03
17	DHC 18:0	141	145	1,03	2358	5,33E-01
18	DHC 20:0	104	113	1,09	2380	5,94E-01

## ES 2 665 621 T3

19	DHC 22:0	593	640	1,08	2274	3,34E-01
20	DHC 24:1	2169	2268	1,05	2247	2,82E-01
21	DHC 24:0	585	637	1,09	2466	8,55E-01
22	THC 16:0	1516	1472	0,97	2300	3,90E-01
23	THC 18:1	166	162	0,98	2487	9,22E-01
24	THC 18:0	172	159	0,93	2.202,5	2,09E-01
25	THC 20:0	67	64	0,96	2.400,5	6,53E-01
26	THC 22:0	247	270	1,09	2.337	4,78E-01
27	THC 24:1	617	614	0,99	2.452,5	8,12E-01
28	THC 24:0	310	322	1,04	2.284,5	3,56E-01
29	GM3 16:0	1.443	1509	1,05	2.439,5	7,71E-01
30	GM3 18:0	500	453	0,90	2.022	4,64E-02
31	GM3 20:0	333	325	0,98	2.324	4,46E-01
32	GM3 22:0	713	725	1,02	2.472	8,74E-01
33	GM3 24:1	1.103	1.037	0,94	2.291,5	3,71E-01
34	GM3 24:0	641	638	1,00	2.467	8,58E-01
35	modCer 576,5/7,68	21	22	1,06	2.275	3,36E-01
36	modCer 614,6/5,72	20	22	1,09	2.052	6,15E-02
37	modCer 632,6/9,22	4	4	1,04	2.503	9,74E-01
38	modCer 651,6/7,56	288	262	0,91	2.330	4,61E-01
39	modCer 703,6/5,87	651	626	0,96	2.451,5	8,08E-01
40	modCer 731,6/6,22	45	56	1,24	1.533	6,78E-05
41	modCer 766,6/7,17	24	22	0,90	2.275	3,36E-01

## ES 2 665 621 T3

42	modCer 769,6/8,01	158	142	0,90	2.334	4,71E-01
43	modCer 796,7/7,29	142	134	0,94	2.312	4,18E-01
44	modCer 875,7/9,23	354	395	1,12	1.993	3,49E-02
45	modCer 883,8/7,75	77	83	1,07	2.420	7,11E-01
46	modCer 886,8/9,06	48	49	1,03	2.156	1,48E-01
47	modCer 910,8/8,98	36	40	1,10	2.027	4,87E-02
48	modCer 921,8/9,05	84	82	0,98	2.450,5	8,05E-01
<hr/>						
49	SM 14:0	12.650	12.696	1,00	2.464	8,48E-01
50	SM 15:0	7.961	8.841	1,11	2.205,5	2,13E-01
51	SM 16:1	18.788	20.000	1,06	2.231	2,54E-01
52	SM 16:0	108.207	114.439	1,06	2.214,5	2,27E-01
53	SM 18:1	14.013	16.230	1,16	1.761	2,25E-03
54	SM 18:0	26.090	30.897	1,18	1.543	8,04E-05
55	SM 20:1	8.941	9.374	1,05	2.490	9,32E-01
56	SM 22:1	15.073	15.742	1,04	2.171	1,66E-01
57	SM 22:0	26.334	27.440	1,04	2.129	1,20E-01
58	SM 24:2	52.283	52.810	1,01	2.333	4,68E-01
59	SM 24:1	67.438	66.486	0,99	2.432,5	7,49E-01
60	SM 24:0	17.117	17.197	1,00	2.386	6,11E-01
61	PG 16:1 18:1	6	5	0,90	2.401,5	6,56E-01
62	PG 16:0 18:1	68	63	0,93	2.250	2,88E-01
63	PG 18:1 18:1	111	100	0,90	2.110,5	1,03E-01
64	PG 18:0 18:1	66	63	0,96	2.236	2,63E-01

## ES 2 665 621 T3

65	BMP 18:1 18:1	31	34	1,11	2.266	3,18E-01
66	PS 36:2	138	147	1,06	2.330	4,61E-01
67	PS 36:1	876	926	1,06	2.419	7,08E-01
68	PS 38:5	50	51	1,03	2.345	4,99E-01
69	PS 38:4	844	981	1,16	2.295	3,79E-01
70	PS 38:3	182	191	1,05	2.426	7,29E-01
71	PS 40:6	101	96	0,96	2.286	3,59E-01
72	PS 40:5	89	95	1,07	2.385	6,08E-01
73	EP 32:1	119	111	0,93	2.272	3,30E-01
74	EP 32:0	52	55	1,05	2.208,5	2,18E-01
75	EP 34:2	1.505	1.746	1,16	2.362	5,44E-01
76	EP 34:1	1.092	1.305	1,20	2.162	1,55E-01
77	EP 36:5	221	186	0,84	2.014,5	4,31E-02
78	EP 36:4	2.409	2.253	0,94	2.418	7,05E-01
79	EP 36:3	974	1.034	1,06	2.290	3,68E-01
80	EP 36:2	3.848	3.741	0,97	2.290	3,68E-01
81	EP 36:1	842	826	0,98	2.374	5,77E-01
82	EP 36:0	22	21	0,95	2.485	9,16E-01
83	EP 38:6	2.582	2.994	1,16	2.240	2,70E-01
84	EP 38:5	1.890	1.834	0,97	2.481	9,03E-01
85	EP 38:4	4.774	5.155	1,08	2.304	3,99E-01
86	EP 38:3	540	521	0,96	2.392	6,28E-01
87	EP 38:2	90	98	1,10	2.333	4,68E-01
88	EP 38:1	49	54	1,09	2.357,5	5,32E-01
89	EP 40:7	227	225	0,99	2.451	8,07E-01
90	EP 40:6	1.359	1.515	1,11	2.296	3,81E-01
91	PI 32:1	238	196	0,82	1.987,5	3,30E-02
92	PI 32:0	88	71	0,81	2.052	6,15E-02
93	PI 34:1	1.815	1.361	0,75	1.840	6,27E-03
94	PI 34:0	36	29	0,80	1.832	5,68E-03

## ES 2 665 621 T3

95	PI 36:4	1.355	1.234	0,91	1.831,5	5,64E-03
96	PI 36:3	1.196	915	0,77	1.612	2,50E-04
97	PI 36:2	5.407	5.396	1,00	2.499	9,61E-01
98	PI 36:1	1.572	1.165	0,74	1.588	1,70E-04
99	PI 36:0	6	6	0,95	2.164	1,58E-01
100	PI 38:6	231	203	0,88	2.008	4,05E-02
101	PI 38:5	878	760	0,87	1.802	3,88E-03
102	PI 38:4	11.667	10.321	0,88	2.124	1,15E-01
103	PI 38:3	2.445	2.078	0,85	1.990	3,38E-02
104	PI 38:2	169	126	0,75	1.718	1,24E-03
105	PI 40:6	544	503	0,92	2.151	1,43E-01
106	PI 40:5	572	508	0,89	2.205	2,13E-01
107	PI 40:4	153	136	0,89	1.916	1,54E-02
108	LPC 14:0	1.606	1.082	0,67	1.428	1,03E-05
109	LPC 15:0	1.028	911	0,89	2.227,5	2,48E-01
110	LPC 16:1	3.754	3.022	0,81	1.581	1,52E-04
111	LPC 16:0	63.869	62.301	0,98	2.319	4,34E-01
112	LPC 18:2	26.381	20.565	0,78	1.758	2,16E-03
113	LPC 18:1	23.188	18.279	0,79	1.611,5	2,48E-04
114	LPC 18:0	20.232	19.420	0,96	2.314	4,22E-01
115	LPC 20:5	1.599	1.333	0,83	1.895	1,21E-02
116	LPC 20:4	7.636	7.843	1,03	2.414,5	6,94E-01
117	LPC 20:3	3.237	2.916	0,90	1.959,5	2,47E-02
118	LPC 20:2	325	280	0,86	1.866	8,60E-03
119	LPC 20:1	227	230	1,01	2.407	6,72E-01
120	LPC 20:0	97	83	0,86	2.016	4,38E-02
121	LPC 22:6	2.689	2.520	0,94	2.507	9,87E-01
122	LPAF 16:0	453	421	0,93	2.196	1,99E-01
123	LPAF 18:1	325	336	1,03	2.491	9,35E-01
124	LPAF 18:0	113	111	0,98	2.436,5	7,62E-61

## ES 2 665 621 T3

125	PC 30:2	5.779	6.472	1,12	2.160	1,53E-01
126	PC 32:2	10.897	10.519	0,97	2.252	2,91E-01
127	PC 32:1	173.997	160.377	0,92	2.244,5	2,78E-01
128	PC 32:0	12.453	12.478	1,00	2.399,5	6,50E-01
129	PC 34:3	24.565	19.297	0,79	1.673	6,41E-04
130	PC 34:2	257.882	250.685	0,97	2.329	4,58E-01
131	PC 34:1	156.440	154.331	0,99	2.322	4,41E-01
132	PC 34:0	4.083	3.782	0,93	2.094	8,94E-02
133	PC 36:5	42.661	34.479	0,81	2.013,5	4,27E-02
134	PC 36:4	115.623	118.023	1,02	2.429,5	7,40E-01
135	PC 36:3	119.722	113.636	0,95	2.080,5	7,95E-02
136	PC 36:2	202.275	182.018	0,90	1.986	3,25E-02
137	PC 38:6	53.779	55.364	1,03	2.351	5,15E-01
138	PC 38:5	57.321	56.032	0,98	2.483,5	9,11E-01
139	PC 38:4	99.515	93.722	0,94	2.502	9,71E-01
140	PC 40:7	4.389	4.527	1,03	2.485	9,16E-01
141	PC 40:6	26.276	28.390	1,08	2.225	2,44E-01
142	PC 40:5	16.485	17.300	1,05	2.420	7,11E-01
143	PC 44:12	1.865	1.862	1,00	2.453	8,13E-01
144	oddPC 31:1	2.474	2.671	1,08	2.193	1,95E-01
145	oddPC 31:0	1.354	1.132	0,84	1.970	2,75E-02
146	oddPC 33:0	1.958	1.895	0,97	2.359,5	5,37E-01
147	oddPC 33:1	5.456	5.000	0,92	2.044	5,71E-02
148	oddPC 33:2	4.922	4.848	0,99	2.495	9,48E-01
149	oddPC 35:4	2.077	2.232	1,07	2.460,5	8,37E-01
150	oddPC 35:3	2.365	2.098	0,89	1.886,5	<b>1,10E-02</b>
151	oddPC 35:2	10.642	10.938	1,03	2.478	8,93E-01
152	oddPC 35:1	9.601	9.814	1,02	2.382	5,99E-01
153	oddPC 35:0	428	383	0,89	2.022	<b>4,64E-02</b>
154	oddPC 37:6	1.040	1.050	1,01	2.399,5	6,50E-01



## ES 2 665 621 T3

155	oddPC 37:5	1.925	1.549	0,80	2.143	1,34E-01
156	oddPC 37:4	7.032	7.012	1,00	2.250,5	2,89E-01
157	oddPC 37:3	5.051	4.875	0,97	2.382	5,99E-01
158	oddPC 37:2	7.640	8.107	1,06	2.402,5	6,59E-01
159	APC 32:1	487	478	0,98	2.353	5,20E-01
160	APC 32:0	2.060	2.130	1,03	2.374	5,77E-01
161	APC 34:2	3.121	2.567	0,82	1.789	<b>3,27E-03</b>
162	APC 34:1	4.539	4.636	1,02	2.478,5	8,95E-01
163	APC 34:0	617	682	1,11	2.357,5	5,32E-01
164	APC 36:5	7.280	7.273	1,00	2.244	2,77E-01
165	APC 36:4	10.625	10.287	0,97	2.154	1,46E-01
166	APC 36:3	4.020	3.839	0,96	2.129	1,20E-01
167	APC 36:2	2.421	2.460	1,02	2.271	3,28E-01
168	APC 36:1	1.134	1.168	1,03	2.496,5	9,53E-01
169	APC 36:0	108	112	1,04	2.426,5	7,31E-01
170	APC 38:6	4.055	3.832	0,94	2.106	9,90E-02
171	APC 38:5	9.768	9.868	1,01	2.439,5	7,71E-01
172	APC 38:4	9.135	8.994	0,98	2.472	8,74E-01
173	APC 38:3	1.473	1.425	0,97	2.226	2,46E-01
174	APC 38:2	563	570	1,01	2.510,5	9,98E-01
175	modPC 506,3/3,50	10	10	0,96	2.274,5	3,35E-01
176	modPC 508,3/3,30	76	75	0,98	2.454,5	8,18E-01
177	modPC 510,3/4,00	29	29	1,02	2.480	9,00E-01
178	modPC 512,3/1,70	103	102	0,99	2.467,5	8,59E-01
179	modPC 536,3/3,50	53	46	0,88	2.015	4,33E-02

## ES 2 665 621 T3

180	modPC	48	40	0,84	1.984	3,18E-02
	538,3/4,10					
181	modPC	61	51	0,83	2.036	5,30E-02
	552,4/3,90					
182	modPC	6	6	0,94	2.199,5	2,04E-01
	564,4/4,70					
183	modPC	7	6	0,95	2.196	1,99E-01
	566,4/5,10					
184	modPC	13	11	0,80	1.833	5,75E-03
	580,4/4,84					
185	modPC 590,4/4,80	3	3	1,05	2.428	7,35E-01
186	modPC 592,4/5,10	17	14	0,86	2.010	4,13E-02
187	modPC	132	168	1,27	2.377	5,85E-01
	594,4/3,26					
188	modPC 608,4/5,33	36	30	0,84	1.758,5	2,17E-03
189	modPC	19	26	1,40	2.377	5,85E-01
	608,4/3,84					
190	modPC 610,4/2,03	43	48	1,12	2.343,5	4,95E-01
191	modPC 622,4/4,54	3	3	0,94	2.506	9,84E-01
192	modPC 633,4/4,51	12	12	1,00	2.485,5	9,17E-01
193	modPC 636,4/3,37	174	168	0,96	2.438,5	7,68E-01
194	modPC	21	21	1,00	2.382	5,99E-01
	645,4/4,49					
195	modPC 650,4/3,24	701	761	1,09	2.502	9,71E-01
196	modPC 650,4/4,44	28	30	1,10	2.435	7,57E-01
197	modPC 650,4/3,94	22	29	1,30	2.321,5	4,40E-01
198	modPC 664,4/4,22	76	75	0,99	2.471	8,71E-01
199	modPC	156	165	1,06	2.498	9,58E-01
	666,4/2,99					

## ES 2 665 621 T3

200	modPC 678,4/4,37	215	251	1,17	2.428	7,35E-01
201	modPC 678,4/4,94	68	68	0,99	2.477	8,90E-01
202	modPC 678,4/5,51	238	124	0,52	1.437	1,21E-05
203	modPC 690,4/4,11	66	56	0,85	2.296	3,81E-01
204	modPC 690,4/4,90	1.734	1.915	1,10	2.192	1,94E-01
205	modPC 690,4/6,00	104	93	0,90	2.134	1,25E-01
206	modPC 692,4/5,05	13	14	1,07	2.037,5	5,38E-02
207	modPC 692,4/5,52	98	65	0,66	1.508,5	4,43E-05
208	modPC 692,4/6,10	115	105	0,92	2.063	6,80E-02
209	modPC 694,4/6,20	11	10	0,89	2.045	5,77E-02
210	modPC 703,5/4,09	51	65	1,28	2.321	4,39E-01
211	modPC 704,5/3,81	12	11	0,97	2.440,5	7,74E-01
212	modPC 706,5/3,79	4	5	1,19	2.430	7,41E-01
213	modPC 720,5/4,52	18	11	0,61	2.480	9,00E-01
214	modPC 736,5/5,38	28	22	0,80	1.874	9,46E-03
215	modPC 743,5/5,91	672	805	1,20	1.969	2,73E-02
216	modPC 745,5/6,35	1.242	1.038	0,84	1.853	7,35E-03
217	modPC 752,5/5,58	260	122	0,47	1.373,5	3,59E-06
218	modPC 764,5/6,52	447	424	0,95	2.255	2,97E-01
219	modPC 769,5/6,25	4.772	4.611	0,97	2160	1,53E-01
220	modPC 772,5/5,37	75	75	0,99	2.473	8,77E-01
221	modPC 773,6/6,47	5.940	6.158	1,04	2.275	3,36E-01

## ES 2 665 621 T3

222	modPC 788,6/5,19	101	106	1,05	2.286	3,59E-01
223	modPC 801,6/6,70	13.486	13.988	1,04	2.235	2,61E-01
224	modPC 816,6/5,58	32	29	0,93	2.488	9,25E-01
225	modPC 818,6/6,10	142	136	0,96	2.143	1,34E-01
226	modPC 818,6/6,48	1.301	1.244	0,96	2.466	8,55E-01
227	modPC 828,6/6,03	46	85	1,84	2.484	9,12E-01
228	modPC 843,6/7,10	410	405	0,99	2.487,5	9,24E-01
229	modPC 866,6/7,24	77	71	0:92	2.266,5	3,19E-01
230	modPC 878,6/5,98	28	26	0,92	2.218	2,33E-01
231	modPC 881,6/6,05	15	12	0,82	2.049	5,98E-02
232	COH	490.638	486.413	0,99	2.268,5	3,23E-01
233	CE 14:0	11.554	8.074	0,70	1.729,5	1,46E-03
234	CE 15:0	9.042	7.827	0,87	2.248	2,84E-01
235	CE 16:2	9.336	7.547	0,81	1.929	1,77E-02
236	CE 16:1	136.571	114.150	0,84	2.036	5,30E-02
237	CE 16:0	183.893	185.978	1,01	2.490	9,32E-01
238	CE 17:1	26.988	23.067	0,85	2.029	4,96E-02
239	CE 17:0	10.576	10.203	0,96	2.390	6,22E-01
240	CE 18:3	799.367	682.914	0,85	1.934,5	1,89E-02
241	CE 18:2	4.990.566	5.209.877	1,04	2.488	9,25E-01
242	CE 18:1	1.046.679	1.083.523	1,04	2.364	5,49E-01
243	CE 18:0	24.069	23.270	0,97	2.419	7,08E-01
244	CE 20:5	1.804.461	1.693.410	0,94	2.299	3,88E-01
245	CE 20:4	4.606.083	4.687.500	1,02	2.371	5,68E-01

## ES 2 665 621 T3

246	CE 20:3	313.482	332.744	1,06	2.400	6,51E-01
247	CE 20:2	6.701	6.193	0,92	2.329	4,58E-01
248	CE 20:1	865	873	1,01	2.469	8,64E-01
249	CE 22:6	1.125.037	1.241.975	1,10	2.254	2,95E-01
250	CE 22:5	79.354	87.933	1,11	2.278	3,43E-01
251	CE 22:4	7.099	7.820	1,10	2.396	6,39E-01
252	CE 22:3	365	352	0,96	2.358	5,33E-01
253	CE 22:2	137	146	1,07	2.279	3,45E-01
254	CE 22:1	540	578	1,07	2.437	7,63E-01
255	CE 22:0	323	308	0,95	2.321	4,39E-01
256	CE 24:6	1566	1664	1,06	2.489	9,29E-01
257	CE 24:5	919	882	0,96	2.426,5	7,31E-01
258	CE 24:4	288	293	1,02	2.437	7,63E-01
259	CE 24:3	29	31	1,09	2.500	9,64E-01
260	CE 24:2	246	229	0,93	2.352	5,17E-01
261	CE 24:1	1.132	981	0,87	2.291	3,70E-01
262	CE 24:0	431	363	0,84	2.236	2,63E-01
263	modCE	17.347	21.339	1,23	2.354	5,22E-01
	558,5/7,74					
264	modCE	3.552	3.368	0,95	2.461	8,39E-01
	588,5/7,94					
265	modCE	7.518	6.876	0,91	2.119	1,10E-01
	682,7/8,76					
266	modCE	8.677	8.481	0,98	2.403	6,60E-01
	790,8/6,57					
267	DG 14:0 14:0	16	10	0,62	1.776	2,75E-03
268	DG 14:1 16:0	64	42	0,66	1.861	8,10E-03
269	DG 14:0 16:0	334	249	0,75	1.954	2,33E-02
270	DG 14:0 18:2	249	196	0,79	2.017	4,42E-02
271	DG 14:0 18:1	778	497	0,64	1.888	1,12E-02

## ES 2 665 621 T3

272	DG 16:0 16:0	1.171	1.063	0,91	2.416	6,99E-01
273	DG 16:0 18:2	2.520	2.949	1,17	2.300	3,90E-01
274	DG 16:1 18:1	2.974	2.296	0,77	2.118	1,09E-01
275	DG 16:0 18:1	6.236	6.222	1,00	2.503	9,74E-01
276	DG 18:0 16:1	215	133	0,62	2.036	5,30E-02
277	DG 16:0 18:0	898	729	0,81	2.123	1,14E-01
278	DG 16:0 20:4	524	536	1,02	2.400,5	6,53E-01
279	DG 18:1 18:3	1180	1.179	1,00	2.258	3,03E-01
280	DG 18:2 18:2	878	1.055	1,20	2.108	1,01E-01
281	DG 16:0 20:3	311	216	0,70	2.003	3,85E-02
282	DG 18:1 18:2	7.235	8.569	1,18	2.276	3,38E-01
283	DG 18:0 18:2	636	614	0,97	2.461	8,39E-01
284	DG 18:1 18:1	8.232	9.135	1,11	2.492	9,38E-01
285	DG 18:0 18:1	1.099	984	0,90	2.274	3,34E-01
286	DG 16:0 20:0	70	50	0,71	1.766	2,41E-03
287	DG 18:0 18:0	281	269	0,96	2.399	6,48E-01
288	DG 16:0 22:6	274	242	0,88	2.357	5,30E-01
289	DG 16:0 22:5	166	166	1,00	2.477	8,90E-01
290	DG 18:1 20:4	1.801	1.800	1,00	2.462	8,42E-01
291	DG 18:0 20:4	196	187	0,96	2.468	8,61E-01
292	DG 18:1 20:3	881	749	0,85	2.086	8,34E-02
293	DG 18:1 20:0	136	84	0,62	1.592	1,81E-04
294	TG 14:0 16:1 18:2	1.960	1.117	0,57	1.711	1,12E-03
295	TG 16:1 16:1 16:1	1.015	545	0,54	1.709	1,09E-03
296	TG 14:0 16:0 18:2	4.686	2.933	0,63	1.828,5	5,43E-03
297	TG 14:0 16:1 18:1	6.521	3.704	0,57	1.709	1,09E-03

# ES 2 665 621 T3

298	TG 14:1 16:0 18:1	7.417	6.243	0,84	2.265	3,16E-01
299	TG 14:1 16:1 18:0	6.201	3.692	0,60	1.798	3,68E-03
300	TG 18:1 14:0 16:0	9.040	5.803	0,64	1.752	1,99E-03
301	TG 16:0 16:0 16:0	2.820	2.009	0,71	2.060	6,62E-02
302	TG 15:0 18:1 16:0	6.769	6.293	0,93	2.380	5,94E-01
303	TG 17:0 16:0 16:1	2.598	1.751	0,67	2.079	7,84E-02
304	TG 17:0 18:1 14:0	2.370	1.840	0,78	2.087	8,41E-02
305	TG 14:0 18:2 18:2	668	486	0,73	2.011	4,17E-02
306	TG 14:1 18:0 18:2	649	471	0,73	1.845	6,67E-03
307	TG 14:1 18:1 18:1	3.661	2.683	0,73	1.931	1,81E-02
308	TG 16:1 16:1 18:1	4.479	3.547	0,79	2.019	4,51E-02
309	TG 16:0 16:0 18:2	9.040	9.235	1,02	2.504	9,77E-01
310	TG 16:1 16:1 18:0	381	251	0,66	1.797	3,63E-03
311	TG 16:0 16:1 18:1	37.315	26.921	0,72	2.004	3,89E-02
312	TG 14:0 18:0 18:1	524	344	0,66	1.768	2,47E-03

ES 2 665 621 T3

313	TG 16:0 16:0 18:1	33.096	30.064	0,91	2.301	3,92E-01
314	TG 16:0 16:0 18:0	3.805	2.691	0,71	2.122	1,13E-01
315	TG 15:0 18:1 18:1	1.399	1.428	1,02	2.395	6,37E-01
316	TG 17:0 18:1 16:1	6.309	5.383	0,85	2.241	2,71E-01
317	TG 17:0 18:2 16:0	3.076	2.308	0,75	2.212	2,23E-01
318	TG 17:0 18:1 16:0	3.476	2.551	0,73	2.220	2,36E-01
319	TG 17:0 16:0 18:0	317	218	0,69	2.140	1,31E-01
320	TG 16:0 18:2 18:2	11.136	11.393	1,02	2.344	4,96E-01
321	TG 16:1 18:1 18:2	9.590	8.250	0,86	2.314	4,22E-01
322	TG 16:1 18:1 18:1	10.230	9.729	0,95	2.136	1,27E-01
323	TG 16:0 18:1 18:2	43.541	47.844	1,10	2.192	1,94E-01
324	TG 16,0 18:1 18:1	97.258	104.695	1,08	2.494,5	9,46E-01
325	TG 16:0 18:0 18:1	3.702	4.087	1,10	2.504	9,77E-01
326	TG 17:0 18:1 18:1	2.351	2.207	0,94	2.303	3,97E-01
327	TG 18:2 18:2	2.752	3.083	1,12	2.504	9,77E-01

---

18:2



ES 2 665 621 T3

328	TG 18:1 18:2 18:2	4.822	5.347	1,11	2.496	9,51E-01
329	TG 18:0 18:2 18:2	966	1.085	1,12	2.481,5	9,04E-01
330	TG 18:1 18:1 18:2	6.735	7.857	1,17	2.191	1,92E-01
331	TG 18:1 18:1 18:1	44.053	45.755	1,04	2.509	9,93E-01
332	TG 18:0 18:1 18:1	8.120	7.955	0,98	2.337,5	4,80E-01
333	TG 18:0 18:0 18:1	1.715	1.686	0,98	2.275	3,36E-01
334	TG 18:0 18:0 18:0	257	166	0,64	1.972	2,81E-02
335	TG 18:2 18:2 20:4	1.288	1.269	0,99	2.441	7,76E-01
336	TG 18:1 18:1 20:4	6.211	6.972	1,12	2.255,5	2,98E-01
337	TG 18:1 18:1 22:6	637	661	1,04	2.333,5	4,70E-01

<sup>a</sup> los niveles se expresan como pmol/ml de plasma

**TABLA 9a. Niveles de analitos lipídicos<sup>a</sup> en control (normal) y EAC (enfermedad cardiaca)**

#	control (mediana)	EAC (mediana)	EAC/control	U de Mann-Whitney	Sig. Asinto. (2 colas)
1	385	395	1,03	3847	1,83E-01
2	202	208	1,03	3.635,5	6,00E-02
3	129	180	1,39	2.167	1,31E-08
4	121	144	1,20	3.120	1,30E-03
5	845	776	0,92	3.649	6,49E-02
6	1.152	1.211	1,05	3.551	3,58E-02

## ES 2 665 621 T3

7	3.139	2.539	0,81	2.848	8,83E-05
8	2.115	1.734	0,82	2.702	1,72E-05
9	66	59	0,90	3.840	1,77E-01
10	408	362	0,89	3.492,5	2,44E-02
11	632	453	0,72	2.539	2,35E-06
12	5.053	3.352	0,66	1.935,5	3,29E-10
13	5.179	4.346	0,84	2.923	1,94E-04
14	7.718	5.057	0,66	2.055	2,30E-09
15	9.745	8.562	0,88	3.155,5	1,78E-03
16	79	72	0,91	3.520,5	2,94E-02
17	154	142	0,92	3.803,5	1,48E-01
18	114	107	0,93	3.949	2,85E-01
19	755	625	0,83	2.842	8,28E-05
20	2.716	2.214	0,82	2.811	5,91E-05
21	754	608	0,81	2.627	7,02E-06
22	1.730	1.479	0,85	2.994	3,96E-04
23	168	163	0,97	3.808	1,52E-01
24	185	164	0,89	3.403,5	1,31E-02
25	72	66	0,90	3.635,5	6,00E-02
26	309	262	0,85	3.147	1,65E-03
27	741	614	0,83	3.287,5	5,40E-03
28	418	321	0,77	2.237	3,72E-08
29	1.648	1.485	0,90	3.353	8,99E-03
30	603	477	0,79	2.322	1,27E-07
31	346	330	0,95	3.705	8,90E-02
32	857	719	0,84	3.240,5	3,69E-03
33	1.145	1.059	0,92	3.900,5	2,32E-01
34	806	638	0,79	2.664	1,10E-05
35	18	22	1,18	3.321	7,03E-03
36	25	21	0,83	2.686,5	1,43E-05

## ES 2 665 621 T3

37	4	4	0,88	3.146,5	1,65E-03
38	347	273	0,79	2.795,5	4,98E-05
39	623	641	1,03	4.148,5	5,81E-01
40	45	51	1,11	3.493	2,45E-02
41	32	23	0,70	1.880	1,29E-10
42	185	150	0,81	2.818	6,38E-05
43	194	136	0,70	2.181,5	1,63E-08
44	344	367	1,07	4.114	5,21E-01
45	79	79	1,01	3.777,5	1,30E-01
46	43	48	1,11	3.177	2,15E-03
47	37	38	1,03	3.909	2,41E-01
48	68	83	1,22	4.163	6,07E-01
49	15.313	12.696	0,83	2.580,5	3,96E-06
50	10.000	8.246	0,82	2.690,5	1,50E-05
51	22.484	19.403	0,86	2.962	2,89E-04
52	127.011	112.450	0,89	2.408	4,18E-07
53	15.061	15.330	1,02	4.025	3,83E-01
54	27.213	28.333	1,04	3.846	1,82E-01
55	9.541	9.096	0,95	3.648	6,46E-02
56	17.806	15.509	0,87	2.692,5	1,54E-05
57	33.168	27.073	0,82	2.348,5	1,84E-07
58	51.907	52.810	1,02	4.240	7,53E-01
59	72.611	67.172	0,93	2.801	5,29E-05
60	22.588	17.197	0,76	2.084	3,64E-09
61	7	6	0,79	3.503	2,62E-02
62	66	65	1,00	4.138,5	5,63E-01
63	117	106	0,90	3.821	1,61E-01
64	67	64	0,96	4.166,5	6,13E-01
65	30	33	1,12	4.195	6,66E-01
66	216	145	0,67	3.004	4,37E-04

## ES 2 665 621 T3

67	1.176	886	0,75	3.453	1,86E-02
68	95	51	0,53	2.596	4,80E-06
69	1.290	909	0,70	2.862	1,03E-04
70	263	185	0,71	3.027,5	5,49E-04
71	150	98	0,66	2.168	1,33E-08
72	148	90	0,61	2.352	1,93E-07
73	104	113	1,09	3.660	6,92E-02
74	60	53	0,89	3.643	6,27E-02
75	1.727	1.608	0,93	3.949	2,85E-01
76	1.055	1.181	1,12	3.865	1,98E-01
77	226	201	0,89	3.537	3,27E-02
78	2.115	2.297	1,09	4.105	5,06E-01
79	1.214	1.023	0,84	3.379	1,09E-02
80	4.647	3.822	0,82	3.527	3,06E-02
<hr/>					
81	978	826	0,85	3.662	7,00E-02
82	23	21	0,94	3.433	1,62E-02
83	2.630	2.691	1,02	4.199	6,74E-01
84	1.869	1.864	1,00	4.287	8,47E-01
85	4.566	4.988	1,09	4.022	3,79E-01
86	468	529	1,13	3.938,5	2,73E-01
87	104	94	0,90	4.032	3,93E-01
88	58	50	0,87	3.843,5	1,80E-01
89	238	226	0,95	4.153	5,89E-01
90	1.289	1.405	1,09	4.100	4,98E-01
91	206	210	1,02	4.023	3,81E-01
92	120	73	0,61	2.332	1,46E-07
93	2.026	1.591	0,78	2.824	6,81E-05
94	53	33	0,62	1.975	6,32E-10
95	1.776	1.290	0,73	2.931	2,11E-04
96	1.446	941	0,65	2.024	1,40E-09

## ES 2 665 621 T3

97	6.918	5.398	0,78	2.199	2,12E-08
98	1.925	1.370	0,71	2.174	1,46E-08
99	8	6	0,69	2.625	6,85E-06
100	310	219	0,71	2.511,5	1,65E-06
101	1.055	808	0,77	2.359	2,13E-07
102	12.132	10.752	0,89	3.273	4,81 E-03
103	2.831	2.187	0,77	3.219	3,08E-03
104	180	143	0,80	3.041	6,25E-04
105	665	523	0,79	2.942	2,36E-04
106	628	545	0,87	3.241	3,70E-03
107	168	142	0,85	3.669	7,28E-02
108	1.969	1.313	0,67	2.097	4,46E-09
109	1.276	971	0,76	2.615	6,06E-06
110	3.938	3.413	0,87	3.190	2,41E-03
111	74.468	63.237	0,85	2.594	4,68E-06
112	32.914	24.015	0,73	2.268	5,85E-08
113	24.820	20.963	0,84	2.897	1,48E-04
114	26.571	20.000	0,75	2.457	8,07E-07
115	1.894	1.427	0,75	3.398	1,26E-02
116	7.632	7.778	1,02	3.952	2,89E-01
117	3.236	3.061	0,95	4.026	3,85E-01
118	385	301	0,78	3.258	4,26E-03
119	293	228	0,78	2.730,5	2,39E-05
120	150	86	0,57	1.208	3,11E-16
121	2.456	2.533	1,03	3.792	1,40E-01
122	551	436	0,79	2.683	1,37E-05
123	404	327	0,81	3.199	2,60E-03
124	145	112	0,77	2.768	3,66E-05
125	6.822	6.130	0,90	3.343	8,33E-03
126	12.050	10.636	0,88	2.938	2,26E-04

## ES 2 665 621 T3

127	15.6579	163.194	1,04	3.946	2,82E-01
128	14.091	12.478	0,89	3.309	6,40E-03
129	27.705	21.007	0,76	2.613	5,91E-06
130	280.676	252.174	0,90	2.814	6,10E-05
131	148.026	155.147	1,05	4.046,5	4,14E-01
132	4.705	3.851	0,82	2.271	6,12E-08
133	46.569	36.846	0,79	3.304	6,15E-03
134	107.556	115.909	1,08	3.711,5	9,22E-02
135	117.647	116.393	0,99	3.785	1,35E-01
136	230.220	190.000	0,83	2.352	1,93E-07
137	61.373	55.038	0,90	3.369	1,01E-02
138	61.353	56.179	0,92	3.603,5	4,96E-02
139	88.083	95.378	1,08	3.848,5	1,84E-01
140	5.171	4.496	0,87	3.500,5	2,57E-02
141	25.528	27.091	1,06	4.231	7,35E-01
142	16.434	17.222	1,05	4.194,5	6,65E-01
143	2.224	1.862	0,84	3.342,5	8,30E-03
144	2.872	2.630	0,92	3.720	9,66E-02
145	1.524	1.188	0,78	3.169,5	2,02E-03
146	2.116	1.919	0,91	3.608	5,09E-02
147	5.147	5.180	1,01	4.355	9,87E-01
148	5.753	4.850	0,84	2.946	2,46E-04
149	2.298	2.141	0,93	3.736,5	1,05E-01
150	2.637	2.179	0,83	3.095	1,03E-03
151	12.749	10.895	0,85	3.205	2,74E-03
152	9.750	9.643	0,99	4.279,5	8,32E-01
153	481	398	0,83	2.988	3,74E-04
154	1343	1.049	0,78	2.965	2,97E-04
155	1.924	1.732	0,90	3.272	4,77E-03
156	6.800	7.013	1,03	4.330	9,35E-01

## ES 2 665 621 T3

157	4.760	4.902	1,03	4.000,5	3,50E-01
158	8.960	7.970	0,89	2.910,5	1,71E-04
159	575	482	0,84	2.843	8,37E-05
160	2.302	2.097	0,91	3.457	1,91E-02
161	4.266	2.754	0,65	1.526	2,05E-13
162	5.162	4.618	0,89	3.350,5	8,82E-03
163	742	646	0,87	3.111	1,20E-03
164	8.600	7.273	0,85	2.663,5	1,09E-05
165	12.154	10.517	0,87	2.777	4,05E-05
166	4.892	3.935	0,80	2.276	6,57E-08
167	3.434	2.456	0,72	2.220	2,90E-08
168	1.429	1.148	0,80	3.115,5	1,25E-03
169	135	109	0,81	3.005,5	4,44E-04
170	5.355	3.902	0,73	2.199	2,12E-08
171	11.176	9.833	0,88	2.831	7,35E-05
172	10.267	9.030	0,88	3.392	1,20E-02
173	1.681	1.460	0,87	3.242	3,73E-03
174	812	570	0,70	2.573,5	3,63E-06
175	15	10	0,69	2.480	1,09E-06
176	96	76	0,79	2.842	8,28E-05
177	40	29	0,73	2.563	3,18E-06
178	127	103	0,81	2.918	1,84E-04
179	64	48	0,75	2.855	9,52E-05
180	73	44	0,60	1.758	1,54E-11
181	98	54	0,56	1.143	7,59E-17
182	8	6	0,67	2.141	8,81E-09
183	9	7	0,72	1.954	4,47E-10
184	24	11	0,49	844	8,09E-20
185	4	3	0,66	2.376	2,70E-07
186	20	16	0,77	2.607	5,49E-06

## ES 2 665 621 T3

187	166	168	1,01	4.185,5	6,48E-01
188	53	33	0,62	1.157	1,03E-16
189	22	24	1,07	4.355	9,87E-01
190	45	47	1,05	4.077,5	4,62E-01
191	5	3	0,68	3.658	6,84E-02
192	15	12	0,78	2.313,5	1,12E-07
193	253	171	0,68	3.966	3,06E-01
194	29	21	0,71	2.666	1,12E-05
195	973	747	0,77	3.551	3,58E-02
196	37	30	0,82	3.754	1,16E-01
197	34	27	0,80	3.802	1,47E-01
198	96	75	0,78	4.054	4,26E-01
199	189	162	0,86	4.041	4,06E-01
200	320	246	0,77	3.387,5	1,16E-02
201	82	68	0,83	2.928	2,04E-04
202	340	150	0,44	2.000	9,51E-10
203	66	61	0,93	3.645	6,34E-02
204	2.277	1.866	0,82	2.575	3,69E-06
205	143	98	0,69	2.268	5,85E-08
206	18	14	0,80	2.580	3,93E-06
207	131	78	0,59	2.100	4,67E-09
208	157	109	0,69	2.020	1,31E-09
209	13	10	0,76	2.322	1,27E-07
210	79	59	0,75	3.766	1,23E-01
211	17	11	0,65	3.823	1,63E-01
212	4	4	1,11	4.157	5,96E-01
213	29	15	0,50	3.610	5,16E-02
214	34	24	0,71	2.142	8,95E-09
215	840	764	0,91	3.724	9,86E-02
216	1.658	1.128	0,68	1.599,5	8,37E-13



## ES 2 665 621 T3

217	312	165	0,53	2.197,5	2,07E-08
218	427	436	1,02	4.261	7,95E-01
219	5.503	4.684	0,85	2.760	3,34E-05
220	76	75	0,98	4.157,5	5,97E-01
221	6.973	6.082	0,87	3.001,5	4,27E-04
222	101	103	1,01	4.305,5	8,85E-01
223	16.763	13.719	0,82	2.697,5	1,63E-05
224	34	31	0,89	3.802	1,47E-01
225	196	139	0,71	2.644,5	8,67E-06
226	1.680	1.301	0,77	3.080,5	9,05E-04
227	58	70	1,20	3.788	1,37E-01
228	514	405	0,79	2.743	2,76E-05
229	110	74	0,67	1.706,5	6,08E-12
230	45	28	0,61	2.362	2,22E-07
231,	21	12	0,58	2.002	9,82E-10
232	606.232	486.683	0,80	2.616	6,13E-06
233	9.908	9.498	0,96	4.063,5	4,40E-01
234	9.154	8.247	0,90	3.866	1,99E-01
235	9.287	8.247	0,89	3.721	9,71E-02
236	107.973	121.688	1,13	3.653,5	6,66E-02
237	193.265	185.566	0,96	3.809	1,52E-01
238	21.999	258.11	1,17	3.900	2,32E-01
239	11.940	10.329	0,87	3.543	3,40E-02
240	826.948	739.499	0,89	3.571	4,06E-02
241	5.662.848	5.062.762	0,89	4.049	4,18E-01
242	1.114.956	1.054.500	0,95	4.135	5,57E-01
243	28.381	23.908	0,84	2.800	5,23E-05
244	1.972.637	1.731.501	0,88	3.773	1,27E-01
245	4.259.259	4.687.500	1,10	3.791	1,39E-01
246	262.959	328.193	1,25	2.990	3,81E-04

## ES 2 665 621 T3

247	6.736	6.448	0,96	4.044	4,11E-01
248	1.247	873	0,70	2.464	8,86E-07
249	1.316.413	1.201.639	0,91	4.083	4,71E-01
250	78.516	81.625	1,04	3.954,5	2,92E-01
251	6.344	7.497	1,18	3.454	1,87E-02
252	372	362	0,97	4.128	5,45E-01
253	197	142	0,72	2.502	1,46E-06
254	666	570	0,86	3.240	3,67E-03
255	455	317	0,70	2.594	4,68E-06
256	1.616	1.595	0,99	4.169	6,18E-01
257	1.124	902	0,80	3.496	2,50E-02
258	324	292	0,90	3.772	1,27E-01
259	64	30	0,48	3.553	3,62E-02
260	286	231	0,81	3.186	2,33E-03
261	1.318	1.077	0,82	3.308	6,35E-03
262	517	386	0,75	2.942	2,36E-04
263	18.709	19.891	1,06	4.223	7,20E-01
264	5.392	3.376	0,63	3.790	1,39E-01
265	7.857	7.002	0,89	3.735	1,05E-01
266	8.557	8.601	1,01	4.228	7,29E-01
267	16	13	0,79	3.544	3,42E-02
268	61	53	0,88	4.055,5	4,28E-01
269	259	289	1,12	4.361,5	1,00E+00
270	258	211	0,82	3.731	1,02E-01
271	534	590	1,10	4.135	5,57E-01
272	735	1.129	1,54	3.133	1,46E-03
273	2.380	2.913	1,22	3.601	4,88E-02
274	1.785	2.610	1,46	3.191	2,43E-03
275	4.167	6.222	1,49	3.067	7,98E-04
276	140	156	1,12	3.641	6,20E-02

## ES 2 665 621 T3

277	665	825	1,24	3.936	2,70E-01
278	397	530	1,34	3.221	3,13E-03
279	1.044	1.179	1,13	-4.037	4,01E-01
280	959	980	1,02	4.195	6,66E-01
281	178	240	1,35	3.045	6,49E-04
282	6.258	7.786	1,24	3.563	3,86E-02
283	509	625	1,23	3.738	1,06E-01
284	6.148	8.768	1,43	2.991	3,85E-04
285	786	1.035	1,32	3.511	2,76E-02
286	79	53	0,67	3.169	2,01E-03
287	282	275	0,98	3.835	1,73E-01
288	247	262	1,06	4.316,5	9,07E-01
289	136	166	1,23	3.539	3,31E-02
290	1.359	1.800	1,32	3.053	7,00E-04
291	189	189	1,00	4.141	5,68E-01
292	529	812	1,54	2.709,5	1,87E-05
293	134	98	0,73	2.937	2,24E-04
294	1.993	1.407	0,71	3.168,5	2,00E-03
295	1.027	707	0,69	3.154	1,76E-03
296	4.329	3.333	0,77	3.249	3,95E-03
297	6.584	4.673	0,71	3.153	1,74E-03
298	5.439	6.702	1,23	4.135,5	5,58E-01
299	5.238	4.194	0,80	3.811,5	1,54E-01
300	8.485	6.784	0,80	3.314,5	6,68E-03
301	2.780	2.333	0,84	3.833	1,71E-01
302	5.385	6.398	1,19	4.214	7,02E-01
303	1.823	2.017	1,11	4.032,5	3,94E-01
304	1.973	1.986	1,01	3.907,5	2,40E-01
305	952	581	0,61	2.724	2,22E-05
306	714	526	0,74	3.294	5,69E-03

## ES 2 665 621 T3

307	3.257	3.062	0,94	3.507	2,69E-02
308	3.629	3.879	1,07	4.324	9,23E-01
309	7.924	9.235	1,17	4.209,5	6,94E-01
310	398	288	0,72	3.247	3,89E-03
311	28.012	29.731	1,06	4.279,5	8,32E-01
312	494	406	0,82	3.385	1,14E-02
313	23.735	31.195	1,31	4.127,5	5,44E-01
314	3.559	3.197	0,90	3.986	3,31 E-01
315	1.312	1.415	1,08	4.133	5,54E-01
316	4.941	5.824	1,18	3.942	2,77E-01
317	2.207	2.558	1,16	3.924,5	2,58E-01
318	2.392	2.780	1,16	4.177	6,33E-01
319	218	234	1,07	4.297,5	8,68E-01
320	10.838	11.250	1,04	4.003,5	3,54E-01
321	8.416	8.594	1,02	4.143,5	5,72E-01
322	8.477	9.857	1,16	3.717	9,50E-02
323	38.613	45.076	1,17	4.068	4,47E-01
324	82.550	104.525	1,27	3.475	2,16E-02
325	3.150	4.077	1,29	3.541	3,35E-02
326	1.949	2.246	1,15	3.743	1,09E-01
327	3.239	2.856	0,88	3.746	1,11E-01
328	5.850	5.042	0,86	3.715	9,40E-02
329	1.139	1.039	0,91	3.620	5,48E-02
330	7.221	7.221	1,00	4.183	6,44E-01
331	3.7654	45.293	1,20	3.674	7,49E-02
332	7.800	8.015	1,03	4.086	4,75E-01
333	1.676	1.686	1,01	4.274	8,21E-01
334	232	197	0,85	3.804	1,49E-01
335	1.600	1.269	0,79	3.347	8,59E-03
336	6.531	6.756	1,03	4.283	8,39E-01

# ES 2 665 621 T3

337	689	648	0,94	3.984	3,28E-01
-----	-----	-----	------	-------	----------

---

<sup>a</sup> Los niveles se expresan como pmol/ml de plasma

---

**TABLA 10. Resumen inicial<sup>a</sup> del análisis univariado de los lípidos en plasma de las cohortes de control, EAC estable y EAC inestable**

Grupo de lípidos	Nº de especies	Estable frente a	Estable frente	control frente a	control frente
		inestables	a inestables	EAC	a CAD
		p < 0,05	p < 0,01	p < 0,05	p < 0,01
ceramida (CER)	7	2	1	4	3
monohexosilceramida (MHC)	7	0	0	6	5
dihexosilceramida (DHC)	7	1	1	5	4
trihexosilceramida (THC)	7	0	0	5	4
gangliósido G <sub>M3</sub> (GM3)	6	1	0	4	4
Ceramidas modificadas (modCer)	14	3	1	9	8
esfingomielina (SM)	12	2	2	8	8
fosfatidilglicerol (PG)	4	0	0	1	0
bis(monoacilglicero)fosfato (BMP)	1	0	0	0	0
fosfatidilserina (PS)	7	0	0	7	6
fosfatidiletanolamina (EP)	18	1	0	4	0
fosfatidilinositol (PI)	17	11	7	15	15
lisofosfatidilcolina (LPC)	14	8	5	11	10
factor activador de lisoplaquetas (LPAF)	3	0	0	3	3
fosfatidilcolina (PC)	19	3	1	12	9
Fosfatidilcolina de cadena impar (oddPC)	15	3	0	8	8
alquilfosfatidilcolina (APC)	16	1	1	16	14
Fosfatidilcolina modificada (modPC)	57	11	7	37	35
colesterol libre (COH)	1	0	0	1	1
ésteres de colesterol (CE)	30	4	1	14	9
ésteres de colesterol modificados (modCE)	4	0	0	0	0
diacilglicerol (DG)	27	8	4	15	10
triacilglicerol (TG)	44	14	9	13	9
<b>Total de especies lipídicas</b>	<b>337</b>	<b>73</b>	<b>40</b>	<b>198</b>	<b>165</b>

<sup>a</sup> La tabla muestra el número de lípidos de cada clase con valores p por debajo del nivel indicado.

**TABLA 11. Análisis de varianza<sup>a</sup> de la cohorte estable frente a inestable**

**Modelo 1 (factores de riesgo tradicionales)  $R^2 = 0,304$**

ANOVA						Covariables		
	Suma de cuadrados	df	Cuadrado medio	F	Sig.	Variable	Correlación parcial	Sig.
Regresión	8,095	2	4,048	22,705	,000 <sup>b</sup>	CRP	,532	,000

**Modelo 1 (factores de riesgo tradicionales)  $R^2 = 0,304$**

ANOVA						Covariables		
	Suma de cuadrados	df	Cuadrado medio	F	Sig.	Variable	Correlación parcial	Sig.
Residual	18,540	104	,178			Tabaquismo	,236	,015
Total	26,636	106						

**Modelo 2 (lípidos)  $R^2 = 0,353$**

ANOVA						Covariables		
	Suma de cuadrados	df	Cuadrado medio	F	Sig.	Variable	Correlación parcial	Sig.
Regresión	12,388	4	3,097	18,803	,000	ModPC 752,6/5,58	-,196	,021
Residual	22,730	138	,165			GM3 18:0	-,391	,000
Total	35,119	142				DG 18:1 20:0	-,206	,015
						SM 18:0	,449	,000

**Modelo 3 (lípidos + factores de riesgo tradicionales)  $R^2 = 0,473$**

ANOVA						Covariables		
	Suma de cuadrados	df	Cuadrado medio	F	Sig.	Variable	Correlación parcial	Sig.
Regresión	12,604	6	2,101	14,972	,000	CRP	,516	,000

Residual	14,031	100	,140	PI 34:0	-,280	,004
Total	26,636	106		DHC 18:1	,250	,011
				modCer	,247	,012
				703,6/5,87	,327	,001
				SM 22:1	-,225	,023
				GM3 18:0		

<sup>a</sup> Se realizó el análisis de regresión lineal para ANOVA

**TABLA 12. Análisis de varianza<sup>a</sup> de la cohorte de control frente a la de EAC <sup>a</sup>Se realizó la regresión lineal por ANOVA**

**Modelo 4 (factores de riesgo tradicionales)  $R^2 = 0,577$**

ANOVA						Covariables		
	Suma de cuadrados	df	Cuadrado medio	F	Sig.	Variable	Correlación parcial	Sig.
Regresión	22,181	7	3,169	30,980	,000	hipertensión	,492	,000
Residual	16,263	159	,102			CRP	,382	,000
Total	38,443	166				Tabaquismo	,313	,000
						Sexo (0 = M)	-,302	,000
						trigs	,260	,001
						gluc	,163	,039
						edad	,162	,040

**Modelo 5 (lípidos)  $R^2 = 0,809$**

ANOVA						Covariables		
	Suma de cuadrados	df	Cuadrado medio	F	Sig.	Variable	Correlación parcial	Sig.
Regresión	35,114	25	1,405	32,700	,000	modPC		
Residual	7,646	178	,043			580,4/4,84	-,280	,000
Total	42,760	203				PS 40:6	-,439	,000
						modPC	-,505	,000
						752,6/5,58	-,333	,000



ES 2 665 621 T3

APC 32:1	,326	,000
oddPC 37:3	,313	,000
GM3 24:1	-,234	,001
oddPC 33:0	,218	,003
APC 36:0	-,310	,000
CE 24:3	,382	,000
SM 20:1	-,320	,000
SM 18:0	-,311	,000
LPC 20:0	-,351	,000
modCE		
682,7/8,76		

**Modelo 5 (lípidos)  $R^2 = 0,809$**

ANOVA					Covariables		
Suma de cuadrados	df	Cuadrado medio	F	Sig.	Variable	Correlación parcial	Sig.
					COH		
					Cer 20:0		
					LPC 16:1	-,240	,001
					TG 16:1	,218	,001
					16:1	,336	,003
					16:1		,000
					modPC	-,285	,000
					564,4/4,70	-,245	,001
					modPC	-,212	,004
					720,6/4,52	,162	,028
					modPC	-,217	,003
					608,4/5,33	,158	,032
					EP 38:3		
					EP 38:1		

**Modelo 6 (lípidos + factores de riesgo tradicionales)  $R^2 = 0,904$**

ANOVA					Covariables			
	Suma de cuadrados	df	Cuadrado medio	F	Sig.	Variable	Correlación parcial	Sig.
						modPC		
Regresión	34,443	26	1,325	46,359	,000	580,4/4,84	-,713	,000
Residual	4,001	140	,029			hipertensión	,638	,000
Total	38,443	166				PS 40:6	-,387	,000
						GM3 22:0	,462	,000
						PC 37:3	,616	,000
						PC 33:0	-,219	,009
						modPC	,409	,000
						788,6/5,19	-,372	,000
						C24:3	,481	,000
						C24:4	,323	,000
						modPC	-,303	,000
						666,4/2,99	-,238	,005
						PG 16:1 18:1	,253	,002
						diabetes	-,282	,001
						gluc	,234	,005
						modPC	-,452	,000
						678,4/4,37	,429	,000
						tabaquismo	-,401	,000
						modCer	-,376	,000
						731,6/6,22	,428	,000
						SM 18:1	-,449	,000
						sexo	-,365	,000
						APC 36:5	-,367	,000
						modPC	,211	,012
						769,6/6,25	-,326	,000
						APC 36:3	-,239	,004

oddPC 35:4	,213	,011
PG 18:1 18:1		
TG 18:1 18:1		
18:2		
modPC		
881,7/6,05		
CE 17:0		
PI 38:5		

**TABLA 13. Lista ordenada de analitos basada en la eliminación de características recursivas de EAC estable frente a EAC inestable**

Estable frente a inestable				
Solo lípidos			Lípidos y factores de riesgo tradicionales	
#	Analito	Sig. Asint. (2 colas)	Analito	Sig. Asint. (2 colas)
1	modPC 752,5/5,58	3,59E-06	CRP	
2	modCer 731,6/6,22	6,78E-05	modPC 752,5/5,58	3,59E-06
3	DHC 18:1	6,59E-03	modCer 731,6/6,22	6,78E-05
4	APC 34:2	3,27E-03	DHC 18:1	6,59E-03
5	SM 18:0	8,04E-05	SM 18:0	8,04E-05
6	GM3 18:0	<b>4,64E-02</b>	APC 34:2	3,27E-03
7	LPC 16:1	<b>1,52E-04</b>	GM3 18:0	4,64E-02
8	DG 18:1 20:0	<b>1,81E-04</b>	DG 18:1 20:0	1,81E-04
9	Cer 18:1	<b>1,62E-02</b>	PI 36:1	1,70E-04
10	PI 36:1	1,70E-04	Cer 18:1	1,62E-02
11	PC 34:3	<b>6,41E-04</b>	LPC 16:1	1,52E-04
12	LPC 14:0	1,03E-05	PC 34:3	6,41E-04
13	PI 36:3	<b>2,50E-04</b>	PI 36:3	2,50E-04
14	modPC 745,5/6,35	7,35E-03	APC 36:0	7,31E-01
15	APC 36:0	7,31E-01	LPC 14:0	1,03E-05
16	PI 38:2	1,24E-03	modPC 745,5/6,35	7,35E-03

## ES 2 665 621 T3

17	SM 18:1	<b>2,25E-03</b>	PI 38:2	1,24E-03
18	Cer 18:0	7,72E-03	SM 18:1	2,25E-03
19	PG 18:1 18:1	1,03E-01	modPC 622,4/4,54	9,84E-01
20	modCer 910,8/8,98	<b>4,87E-02</b>	modCer 703,6/5,87	8,08E-01
21	modPC 622,4/4,54	9,84E-01	<b>LDL</b>	
22	modPC 736,5/5,38	9,46E-03	PG 18:1 18:1	1,03E-01
23	modPC 608,4/5,33	2,17E-03	modPC 736,5/5,38	9,46E-03
24	modCer 703,6/5,87	8,08E-01	modPC 608,4/5,33	2,17E-03
25	DHC 22:0	3,34E-01	modPC 743,5/5,91	2,73E-02
26	LPC 18:1	2,48E-04	THC 18:0	2,09E-01
27	THC 18:0	2,09E-01	PI 34:0	5,68E-03
28	modPC 743,5/5,91	2,73E-02	DHC 22:0	3,34E-01
29	modPC 694,4/6,20	5,77E-02	DG 16:0 20:0	2,41E-03
30	modPC 692,4/5,05	5,38E-02	<b>total_cholesterol</b>	
31	TG 16:1 16:1 16:1	1,09E-03	TG 16:1 16:1 16:1	1,09E-03
32	PI 34:0	<b>5,68E-03</b>	<b>tabaquismo_cont</b>	
33	DG 16:0 20:0	<b>2,41 E-03</b>	SM 22:0	1,20E-01
34	SM 22:0	1,20E-01	<b>Anteced_ de_EAC</b>	
35	modPC 690,4/6,00	1,25E-01	modPC 692,4/5,52	<b>4,43E-05</b>
36	LPC 18:2	2,16E-03	Cer 18:0	<b>7,72E-03</b>
37	modPC 678,4/5,51	<b>1,21E-05</b>	LPC 18:1	<b>2,48E-04</b>
38	modPC 692,4/5,52	<b>4,43E-05</b>	modPC 694,4/6,20	5,77E-02
39	modPC 878,6/5,98	2,33E-01	TG 14:0 16:1 18:1	<b>1,09E-03</b>
40	TG 14:0 16:1 18:1	<b>1,09E-03</b>	<b>edad</b>	
41	EP 32:0	2,18E-01	modPC 690,4/6,00	1,25E-01
42	PI 38:3	<b>3,38E-02</b>	EP 36:0	9,16E-01
43	TG 14:1 18:0 18:2	<b>6,67E-03</b>	modPC 692,4/5,05	5,38E-02
44	modPC 580,4/4,84	<b>5,75E-03</b>	EP 32:0	2,18E-01
45	PC 40:6	2,44E-01	SM 22:1	1,66E-01
46	modCer 886,8/9,06	1,48E-01	modPC 678,4/5,51	<b>1,21E-05</b>

## ES 2 665 621 T3

47	modPC 818,6/6,10	1,34E-01	hipertensión	
48	THC 18:1	9,22E-01	LPC 18:2	<b>2,16E-03</b>
49	DHC 16:0	9,13E-02	<b>sexo</b>	
50	PC 32:0	6,50E-01	modCer 910,8/8,98	<b>4,87E-02</b>
51	EP 36:0	9,16E-01	DHC 16:0	9,13E-02
52	TG 14:0 16:1 18:2	<b>1,12E-03</b>	TG 14:0 16:1 18:2	<b>1,12E-03</b>
53	CE 14:0	<b>1,46E-03</b>	CE 14:0	<b>1,46E-03</b>
54	modPC 769,5/6,25	1,53E-01	PI 40:4	<b>1,54E-02</b>
55	MHC 20:0	1,34E-01	TG 14:1 18:0 18:2	<b>6,67E-03</b>
56	APC 36:4	1,46E-01	APC 36:5	2,77E-01
57	PG 16:0 18:1	2,88E-01	modPC 878,6/5,98	2,33E-01
58	modCer 875,7/9,23	<b>3,49E-02</b>	modPC 769,5/6,25	1,53E-01
59	APC 36:5	2,77E-01	modCer 798,7/7,29	4,18E-01
60	PI 36:4	<b>5,64E-03</b>	PC 40:6	2,44E-01
61	DG 18:1 20:3	8,34E-02	APC 36:4	1,46E-01
62	modCer 614,6/5,72	6,15E-02	PI 38:3	<b>3,38E-02</b>
63	TG 16:1 18:1 18:1	1,27E-01	modCer 875,7/9,23	<b>3,49E-02</b>
64	modPC 816,6/5,58	9,25E-01	PG 16:0 18:1	2,88E-01
65	PI 40:4	<b>1,54E-02</b>	modPC 580,4/4,84	<b>5,75E-03</b>
66	modPC 704,5/3,81	7,74E-01	TG 16:1 18:1 18:1	1,27E-01
67	modPC 692,4/6,10	6,80E-02	PI 40:6	1,43E-01
68	PI 40:6	1,43E-01	THC 18:1	9,22E-01
69	modPC 881,6/6,05	5,98E-02	modPC 818,6/6,10	1,34E-01
70	PS 36:2	4,61E-01	modPC 594,4/3,26	5,85E-01
71	modPC 566,4/5,10	1,99E-01	modCer 886,8/9,06	1,48E-01
72	SM 22:1	1,66E-01	PC 32:0	6,50E-01
73	modCer 798,7/7,29	4,18E-01	PI 36:4	5,64E-03
74	PS 38:5	4,99E-01	PI 32:0	6,15E-02
75	DHC 24:1	2,82E-01	modPC 881,6/6,05	5,98E-02
76	CE 15:0	2,84E-01	TG 17:0 18:1 18:1	3,97E-01

## ES 2 665 621 T3

77	PC 30:2	1,53E-01	DG 18:1 20:3	8,34E-02
78	modPC 818,6/6,48	8,55E-01	EP 34:1	1,55E-01
79	LPC 20:5	<b>1,21E-02</b>	MHC 20:0	1,34E-01
80	EP 34:1	1,55E-01	modPC 704,5/3,81	7,74E-01
81	EP 38:2	4,68E-01	modPC 816,6/5,58	9,25E-01
82	oddPC 35:0	<b>4,64E-02</b>	CE 17:1	<b>4,96E-02</b>
83	oddPC 37:5	1,34E-01	EP 38:2	4,68E-01
84	oddPC 37:4	2,89E-01	LPC 20:3	<b>2,47E-02</b>
85	TG 14:1 18:1 18:1	<b>1,81E-02</b>	TG 14:1 18:1 18:1	<b>1,81E-02</b>
86	THC 24:0	3,56E-01	oddPC 37:4	2,89E-01
87	GM3 20:0	4,46E-01	<b>HDL</b>	
88	PS 40:6	3,59E-01	oddPC 35:0	<b>4,64E-02</b>
89	CE 22:2	3,45E-01	modPC 818,6/6,48	8,55E-01
90	TG 14:0 18:2 18:2	<b>4,17E-02</b>	CE 15:0	2,84E-01
91	PI 32:0	6,15E-02	modPC 692,4/6,10	6,80E-02
92	DG 16:0 22:6	5,30E-01	TG 16:0 16:1 18:1	<b>3,89E-02</b>
93	TG 16:1 16:1 18:0	<b>3,63E-03</b>	oddPC 37:5	1,34E-01
94	EP 34:2	5,44E-01	PG 18:0 18:1	2,63E-01
95	DG 16:0 18:2	3,90E-01	modCer 614,6/5,72	6,15E-02
96	PI 38:5	<b>3,88E-03</b>	TG 14:0 18:2 18:2	<b>4,17E-02</b>
97	TG 17:0 18:1 18:1	3,97E-01	TG 16:1 16:1 18:0	<b>3,63E-03</b>
98	CE 16:2	<b>1,77E-02</b>	PS 38:4	3,79E-01
99	LPC 20:3	<b>2,47E-02</b>	oddPC 33:1	5,71E-02
100	CE 22:5	3,43E-01	THC 24:0	3,56E-01
101	EP 36:5	<b>4,31E-02</b>	PC 36:5	<b>4,27E-02</b>
102	modPC 594,4/3,26	5,85E-01	DG 16:0 18:2	3,90E-01
103	modPC 706,5/3,79	7,41E-01	PI 38:6	<b>4,05E-02</b>
104	CE 17:1	<b>4,96E-02</b>	PS 36:2	4,61E-01
105	PI 38:6	<b>4,05E-02</b>	EP 34:2	5,44E-01
106	PC 36:2	3,25E-02	modPC 608,4/3,84	5,85E-01

## ES 2 665 621 T3

107	modPC 828,6/6,03	9,12E-01	CE 16:2	<b>1,77E-02</b>
108	PG 18:0 18:1	2,63E-01	DHC 24:1	2,82E-01
109	DHC 20:0	5,94E-01	PC 36:2	<b>3,25E-02</b>
110	CE 24:5	7,31E-01	PC 40:5	7,11E-01
111	modCer 632,6/9,22	9,74E-01	TG 14:0 18:0 18:1	<b>2,47E-03</b>
112	oddPC 35:3	<b>1,10E-02</b>	modPC 592,4/5,10	<b>4,13E-02</b>
113	LPC 20:0	<b>4,38E-02</b>	PG 16:1 18:1	6,56E-01
114	CE 22:3	5,33E-01	EP 36:5	<b>4,31E-02</b>
115	modPC 510,3/4,00	9,00E-01	PS 38:5	4,99E-01
116	DG 18:1 20:4	<b>8,42E-01</b>	LPC 20:1	6,72E-01
117	APC 36:2	3,28E-01	modPC 828,6/6,03	9,12E-01
118	PC 36:4	7,40E-01	PI 38:5	<b>3,88E-03</b>
119	TG 17:0 18:1 14:0	8,41E-02	<i>gluc</i>	
120	CE 22:6	2,95E-01	PI 36:0	1,58E-01
121	modPC 538,3/4,10	<b>318E-02</b>	DG 16:0 22:6	5,30E-01
122	APC 34:0	5,32E-01	modPC 650,4/3,94	4,40E-01
123	modCer 766,6/7,17	3,36E-01	CE 22:5	3,43E-01
124	modPC 801,6/6,70	2,61E-01	TG 18:0 18:0 18:0	<b>2,81E-02</b>
125	PC 40:5	7,11E-01	COH	3,23E-01
126	modPC 843,6/7,10	9,24E-01	PC 38:6	5,15E-01
127	modCE 682,7/8,76	1,10E-01	<i>IMC</i>	
128	PC 38:6	5,15E-01	APC 36:3	1,20E-01
129	PC 32:1	2,78E-01	oddPC 35:3	<b>1,10E-02</b>
130	TG 16:1 18:1 18:2	4,22E-01	oddPC 31:0	<b>2,75E-02</b>
131	PG 16:1 18:1	6,56E-01	APC 32:1	5,20E-01
132	modCer 921,8/9,05	8,05E-01	<i>diabetes</i>	
133	BMP 18:1 18:1	3,18E-01	modPC 590,4/4,80	7,35E-01
134	modPC 608,4/3,84	5,85E-01	TG 17:0 18:1 14:0	8,41E-02
135	PC 38:4	9,71E-01	CE 20:1	8,64E-01
136	THC 20:0	6,53E-01	THC 22:0	4,78E-701

## ES 2 665 621 T3

137	PC 34:2	4,58E-01	TG 17:0 18:1 16:1	2,71E-01
138	modPC 650,4/3,94	4,40E-01	CE 20:2	4,58E-01
139	TG 18:0 18:0 18:0	<b>2,81E-02</b>	EP 40:7	8,07E-01
140	modPC 703,5/4,09	4,39E-01	MHC 18:1	3,37E-01
141	PI 34:1	6,27E-03	PC 30:2	1,53E-01
142	PS 38:4	3,79E-01	CE 24:2	5,17E-01
143	modPC 720,5/4,52	9,00E-01	modPC 843,6/7,10	9,24E-01
144	modPC 773,6/6,47	3,36E-01	modPC 566,4/5,10	1,99E-01
145	EP 38:1	5,32E-01	modPC 678,4/4,37	7,35E-01
146	DG 16:0 16:0	6,99E-01	APC 36:2	3,28E-01
147	DHC 24:0	8,55E-01	GM3 16:0	7,71E-01
148	TG 17:0 16:0 18:0	1,31E-01	GM3 20:0	4,46E-01
149	modPC 552,4/3,90	5,30E-02	CE 24:3	9,64E-01
150	THC 22:0	4,78E-01	DG 18:2 18:2	1,01E-01
151	oddPC 31:0	<b>2,75E-02</b>	THC 20:0	6,53E-01
152	GM3 24:1	3,71E-01	CE 24:4	7,63E-01
153	DG 18:0 18:0	6,48E-01	modPC 720,5/4,52	9,00E-01
154	CE 20:1	8,64E-01	modPC 706,5/3,79	7,41 E-01
155	modPC 678,4/4,37	7,35E-01	modPC 773,6/6,47	3,36E-01
156	EP 36:3	3,68E-01	GM3 24:1	3,71E-01
157	DHC 18:0	5,33E-01	PC 36:4	7,40E-01
158	TG 16:0 16:1 18:1	<b>3,89E-02</b>	MHC 16:0	5,71E-01
159	oddPC 33:1	5,71E-02	APC 34:1	8,95E-01
160	modPC 590,4/4,80	1,35E-01	modPC 510,3/4,00	9,00E-01
161	modPC 592,4/5,10	<b>4,13E-02</b>	modPC 650,4/3,24	9,71E-01
162	modPC 610,4/2,03	4,95E-01	<b>trigs</b>	
163	APC 36:3	1,20E-01	CE 24:5	7,31E-01
164	TG 14:0 18:0 18:1	2,47E-03	APC 38:3	2,46E-01
165	MHC 16:0	5,71E-01	modPC 552,4/3,90	5,30E-02
166	APC 34:1	8,95E-01	TG 18:1 18:1 20:4	2,98E-01



## ES 2 665 621 T3

167	DG 14:0 16:0	<b>2,33E-02</b>	TG 14:1 16:1 18:0	<b>3,68E-03</b>
168	DG 18:1 18:2	3,38E-01	EP 38:6	2,70E-01
169	DG 14:0 18:2	<b>4,42E-02</b>	TG 18:1 18:1 18:2	1,92E-01
170	APC 36:1	9,53E-01	modPC 610,4/2,03	4,95E-01
171	DG 18:0 18:1	3,34E-01	modPC 538,3/4,10	<b>3,18E-02</b>
172	DG 16:0 22:5	8,90E-01	TG 18:1 14:0 16:0	<b>1,99E-03</b>
173	TG 16:1 16:1 18:1	<b>4,51E-02</b>	PC 38:4	9,71E-01
174	DG 16:1 18:1	1,09E-01	PS 38:3	7,29E-01
175	DG 18:0 18:2	8,39E-01	CE 24:6	9,29E-01
176	DG 14:0 18:1	<b>1,12E-02</b>	TG 16:0 18:1 18:1	9,46E-01
177	DG 16:0 18:1	9,74E-01	modCE 588,5/7,94	8,39E-01
178	modPC 666,4/2,99	9,58E-01	DG 16:0 20:4	6,53E-01
179	DG 16:0 20:3	<b>3,85E-02</b>	PS 36:1	7,08E-01
180	DG 16:0 20:4	6,53E-01	CE 22:4	6,39E-01
181	DG 18:1 18:3	3,03E-01	modCE 790,8/6,57	6,60E-01
182	CE 20:4	5,68E-01	CE 22:0	4,39E-01
183	CE 18:3	<b>1,89E-02</b>	DG 16:0 18:0	1,14E-01
184	TG 17:0 18:1 16:1	2,71E-01	CE 22:1	7,63E-01
185	Cer 22:0	8,16E-01	APC 32:0	5,77E-01
186	CE 20:5	3,88E-01	PS 40:5	6,08E-01
187	CE 18:0	7,08E-01	CE 22:2	3,45E-01
188	CE 18:2	9,25E-01	DG 14:1 16:0	<b>8,10E-03</b>
189	COH	3,23E-01	APC 36:1	9,53E-01
190	TG 18:1 18:1 22:6	4,70E-01	CE 24:0	2,63E-01
191	TG 17:0 18:2 16:0	2,23E-01	PS 40:6	3,59E-01
192	CE 16:0	9,32E-01	DG 18:1 18:3	3,03E-01
193	CE 16:1	5,30E-02	CE 18:2	9,25E-01
194	CE 24:4	7,63E-01	TG 17:0 16:0 16:1	7,84E-02
195	modCE 790,8/6,57	6,60E-01	modPC 690,4/4,90	1,94E-01
196	CE 24:1	3,70E-01	CE 22:3	5,33E-01

## ES 2 665 621 T3

197	CE 24:2	5,17E-01	modCE 558,5/7,74	5,22E-01
198	CE 24:3	9,64E-01	DG 14:0 16:0	<b>2,33E-02</b>
199	modCE 588,5/7,94	8,39E-01	DG 14:0 18:2	<b>4,42E-02</b>
200	Cer 16:0	5,66E-01	DG 16:0 16:0	6,99E-01
201	LPAF 16:0	1,99E-01	TG 17:0 18:1 16:0	2,36E-01
202	CE 22:4	6,39E-01	TG 16:0 16:0 18:1	3,92E-01
203	CE 20:2	4,58E-01	TG 18:1 18:1 18:1	9,93E-01
204	modCer 651,6/7,56	4,61E-01	TG 18:1 18:1 22:6	4,70E-01
205	CE 24:6	9,29E-01	modPC 690,4/4,11	3,81 E-01
206	CE 22:0	4,39E-01	Cer 20:0	4,01E-01
207	TG 18:0 18:0 18:1	3,36E-01	TG 14:1 16:0 18:1	3,16E-01
208	TG 16:0 16:0 18:1	3,92E-01	CE 16:1	5,30E-02
209	Cer 24:1	6,78E-01	EP 36:3	3,68E-01
210	TG 16:0 16:0 18:2	9,77E-01	TG 14:0 16:0 18:2	<b>5,43E-03</b>
211	TG 18:0 18:1 18:1	4,80E-01	oddPC 37:6	6,50E-01
212	TG 15:0 18:1 18:1	6,37E-01	TG 16:0 16:0 18:2	9,77E-01
213	TG 16:0 16:0 18:0	1,13E-01	TG 16:0 16:0 18:0	1,13E-01
214	TG 14:1 16:1 18:0	<b>3,68E-03</b>	TG 18:0 18:2 18:2	9,04E-01
215	TG 14:1 16:0 18:1	3,16E-01	TG 18:1 18:2 18:2	9,51E-01
216	DG 18:0 20:4	8,61E-01	DG 18:0 20:4	8,61E-01
217	TG 17:0 16:0 16:1	7,84E-02	TG 18:0 18:0 18:1	3,36E-01
218	TG 15:0 18:1 16:0	5,94E-01	TG 16:0 16:0 16:0	6,62E-02
219	TG 16:0 16:0 16:0	6,62E-02	TG 18:0 18:1 18:1	4,80E-01
220	modCE 558,5/7,74	5,22E-01	DG 16:1 18:1	1,09E-01
221	CE 17:0	6,22E-01	oddPC 31:1	1,95E-01
222	TG 18:1 18:1 18:1	9,93E-01	DG 18:1 18:1	9,38E-01
223	TG 18:1 18:1 18:2	1,92E-01	LPC 20:2	<b>8,60E-03</b>
224	TG 18:2 18:2 20:4	7,76E-01	CE 20:3	6,51E-01
225	oddPC 37:3	5,99E-01	DG 14:0 18:1	<b>1,12E-02</b>
226	CE 22:1	7,63E-01	DG 16:0 20:3	<b>3,85E-02</b>

## ES 2 665 621 T3

227	TG 16:0 18:1 18:2	1,94E-01	TG 16:0 18:0 18:1	9,77E-01
228	EP 38:5	9,03E-01	TG 15:0 18:1 18:1	6,37E-01
229	PI 32:1	<b>3,30E-02</b>	DG 18:1 18:2	3,38E-01
230	TG 18:0 18:2 18:2	9,04E-01	APC 38:5	7,71E-01
231	TG 18:2 18:2 18:2	9,77E-01	CE 18:1	5,49E-01
232	TG 16:0 18:0 18:1	9,77E-01	CE 17:0	6,22E-01
233	oddPC 31:1	1,95E-01	CE 18:3	<b>1,89E-02</b>
234	PC 44:12	8,13E-01	DG 18:1 20:4	8,42E-01
235	SM 20:1	9,32E-01	CE 18:0	7,08E-01
236	CE 24:0	2,63E-01	CE 20:5	3,88E-01
237	oddPC 33:2	9,48E-01	DG 16:0 22:5	8,90E-01
238	modPC 536,3/3,50	<b>4,33E-02</b>	GM3 22:0	8,74E-01
239	PC 38:5	9,11E-01	DG 14:0 14:0	<b>2,75E-03</b>
240	PC 34:1	4,41E-01	PC 34:1	4,41E-01
241	TG 16:0 18:1 18:1	9,46E-01	CE 22:6	2,95E-01
242	PC 32:2	2,91E-01	PC 32:1	2,78E-01
243	PC 36:3	7,95E-02	CE 16:0	9,32E-01
244	Cer 24:0	5,51E-01	PC 36:3	7,95E-02
245	PC 34:0	8,94E-02	DG 18:0 18:0	6,48E-01
246	modPC 690,4/4,90	1,94E-01	PC 32:2	2,91E-01
247	APC 32:0	5,77E-01	oddPC 35:4	8,37E-01
248	APC 32:1	5,20E-01	modCer 651,6/7,56	4,61 E-01
249	modPC 772,5/5,37	8,77E-01	modCer 632,6/9,22	9,74E-01
250	DG 14:1 16:0	<b>8,10E-03</b>	modCer 883,8/7,75	7,11E-01
251	LPAF 18:0	7,62E-01	modCer 769,6/8,01	4,71E-01
252	oddPC 37:2	6,59E-01	modCer 766,6/7,17	3,36E-01
253	oddPC 35:2	8,93E-01	modPC 666,4/2,99	9,58E-01
254	CE 20:3	6,51E-01	oddPC 37:2	6,59E-01
255	oddPC 33:0	5,37E-01	oddPC 37:3	5,99E-01
256	PS 38:3	7,29E-01	LPAF 18:0	7,62E-01

## ES 2 665 621 T3

257	oddPC 37:6	6,50E-01	modPC 564,4/4,70	2,04E-01
258	oddPC 35:1	5,99E-01	APC 34:0	5,32E-01
259	LPC 18:0	4,22E-01	modCE 682,7/8,76	1,10E-01
260	SM 15:0	2,13E-01	CE 24:1	3,70E-01
261	SM 16:1	2,54E-01	oddPC 33:2	9,48E-01
262	modCer 769,6/8,01	4,71E-01	DG 18:0 18:1	3,34E-01
263	THC 16:0	3,90E-01	SM 15:0	2,13E-01
264	TG 18:1 14:0 16:0	<b>1,99E-03</b>	APC 38:4	8,74E-01
265	MHC 24:0	2,85E-01	oddPC 35:2	8,93E-01
266	PC 36:5	<b>4,27E-02</b>	LPC 20:5	<b>1,21E-02</b>
267	Cer 20:0	4,01E-01	DHC 20:0	5,94E-01
268	TG 18:1 18:1 20:4	2,98E-01	MHC24:1	6,11E-01
269	GM3 16:0	7,71E-01	MHC 18:0	6,61E-01
270	MHC 22:0	6,53E-01	Cer 24:0	5,51E-01
271	MHC 18:0	6,61E-01	DHC 18:0	5,33E-01
272	modCer 576,5/7,68	3,36E-01	Cer 24:1	6,78E-01
273	SM 24:0	6,11E-01	MHC 24:0	2,85E-01
274	SM 24:2	4,68E-01	Cer 22:0	8,16E-01
275	SM 16:0	2,27E-01	TG 18:2 18:2 18:2	9,77E-01
276	oddPC 35:4	8,37E-01	TG 16:1 16:1 18:1	<b>4,51E-02</b>
277	modPC 633,4/4,51	9,17E-01	PC 34:2	4,58E-01
278	modCer 883,8/7,75	7,11E-01	TG 17:0 16:0 18:0	1,31E-01
279	GM3 22:0	8,74E-01	MHC 22:0	6,53E-01
280	THC 24:1	8,12E-01	modPC 506,3/3,50	3,35E-01
281	MHC 18:1	3,37E-01	modCer 576,5/7,68	3,36E-01
282	SM 14:0	8,48E-01	SM 16:0	2,27E-01
283	GM3 24:0	8,58E-01	SM 16:1	2,54E-01
284	TG 14:0 16:0 18:2	<b>5,43E-03</b>	SM 14:0	8,48E-01
285	DG 14:0 14:0	<b>2,75E-03</b>	SM 24:0	6,11E-01
286	modPC 508,3/3,30	8,18E-01	SM 24:1	7,49E-01

## ES 2 665 621 T3

287	EP 36:2	3,68E-01	SM 20:1	9,32E-01
288	APC 38:3	2,46E-01	GM3 24:0	8,58E-01
289	PE38:4	3,99E-01	DG 18:0 18:2	8,39E-01
290	EP 38:6	2,70E-01	THC 16:0	3,90E-01
291	EP 36:1	5,77E-01	DHC 24:0	8,55E-01
292	DG 18:0 16:1	5,30E-02	PC 34:0	8,94E-02
293	PC 40:7	9,16E-01	THC 24:1	8,12E-01
294	modPC 788,6/5,19	3,59E-01	modPC 536,3/3,50	<b>4,33E-02</b>
295	modPC 764,5/6,52	2,97E-01	PC 38:5	9,11E-01
296	SM 24:1	7,49E-01	BMP 18:1 18:1	3,18E-01
297	modPC 866,6/7,24	3,19E-01	APC 38:2	9,98E-01
298	LPC 20:2	8,60E-03	modPC 866,6/7,24	3,19E-01
299	PI 38:4	1,15E-01	EP 36:4	7,05E-01
300	PI 36:0	1,58E-01	LPC 20:4	6,94E-01
301	PI 36:2	9,61E-01	EP 32:1	3,30E-01
302	PS 40:5	6,08E-01	PC 44:12	8,13E-01
303	PS 36:1	7,08E-01	TG 16:0 18:2 18:2	4,96E-01
304	PI 40:5	2,13E-01	PC 40:7	9,16E-01
305	MHC 24:1	6,11E-01	SM 24:2	4,68E-01
306	EP 40:7	8,07E-01	TG 17:0 18:2 16:0	2,23E-01
307	DG 18:1 18:1	9,38E-01	modPC 788,6/5,19	3,59E-01
308	EP 38:3	6,28E-01	modPC 772,5/5,37	8,77E-01
309	DG 16:0 18:0	1,14E-01	PI 40:5	2,13E-01
310	TG 16:0 18:2 18:2	4,96E-01	PI 34:1	6,27E-03
311	EP 40:6	3,81E-01	EP 40:6	3,81 E-01
312	LPAF 18:1	9,35E-01	EP 38:1	5,32E-01
313	LPC 22:6	9,87E-01	Cer 16:0	5,66E-01
314	LPC 20:1	6,72E-01	PI 38:4	1,15E-01
315	modPC 512,3/1,70	8,59E-01	PI 36:2	9,61E-01
316	EP 36:4	7,05E-01	TG 16:1 18:1 18:2	4,22E-01

## ES 2 665 621 T3

317	modPC 506,3/3,50	3,35E-01	LPC 18:0	4,22E-01
318	LPC 20:4	6,94E-01	EP 36:1	5,77E-01
319	APC 38:4	8,74E-01	EP 36:2	3,68E-01
320	APC 38:5	7,71E-01	EP 38:3	6,28E-01
321	APC 38:6	9,90E-02	PE38:4	3,99E-01
322	LPC 15:0	2,48E-01	EP 38:5	9,03E-01
323	APC 38:2	9,98E-01	modPC 508,3/3,30	8,18E-01
324	EP 32:1	3,30E-01	LPC 20:0	<b>4,38E-02</b>
325	modPC 678,4/4,94	8,90E-01	CE 20:4	5,68E-01
326	LPC 16:0	4,34E-01	DG 18:0 16:1	5,30E-02
327	DG 18:2 18:2	1,01E-01	modPC 801,6/6,70	2,61 E-01
328	TG 17:0 18:1 16:0	2,36E-01	LPAF 18:1	9,35E-01
329	modPC 564,4/4,70	2,04E-01	LPAF 16:0	1,99E-01
330	modPC 690,4/4,11	3,81E-01	oddPC 33:0	5,37E-01
331	modPC 664,4/4,22	8,71E-01	PI 32:1	3,30E-02
332	modPC 636,4/3,37	7,68E-01	TG 16:0 18:1 18:2	1,94E-01
333	CE 18:1	5,49E-01	APC 38:6	9,90E-02
334	TG 18:1 18:2 18:2	9,51E-01	LPC 15:0	2,48E-01
335	modPC 650,4/4,44	7,57E-01	modPC 764,5/6,52	2,97E-01
336	modPC 650,4/3,24	9,71E-01	LPC 16:0	4,34E-01
337	modPC 645,4/4,49	5,99E-01	modPC 703,5/4,09	4,39E-01
338			modPC 678,4/4,94	8,90E-01
339			modPC 664,4/4,22	8,71 E-01
340			modPC 650,4/4,44	7,57E-01
341			modCer 921,8/9,05	8,05E-01
342			TG 18:2 18:2 20:4	7,76E-01
343			DG 16:0 18:1	9,74E-01
344			oddPC 35:1	5,99E-01
345		TG 15:0 18:1 16:0		5,94E-01
346		LPC 22:6		9,87E-01

347	modPC 512,3/1,70	8,59E-01
348	modPC 645,4/4,49	5,99E-01
349	modPC 636,4/3,37	7,68E-01
350	modPC 633,4/4,51	9,17E-01

**TABLA 14. Lista ordenada de analitos basada en la eliminación de las características recursivas de los grupos de control y de EAC**

<b>Control frente a EAC</b>				
<b>Solo lípidos</b>			<b>Lípidos y factores de riesgo tradicionales</b>	
<b>#</b>	<b>Analito</b>	<b>Sig. Asint. (2 colas)</b>	<b>Analito</b>	<b>Sig. Asint. (2 colas)</b>
1	modPC 580,4/4,84	8,09E-20	modPC 580,4/4,84	8,09E-20
2	modPC 608,4/5,33	1,03E-16	<b>hipertensión</b>	
3	modPC 552,4/3,90	7,59E-17	modPC 608,4/5,33	1,03E-16
4	PS 40:6	1,33E-08	PS 40:6	1,33E-08
5	LPC 20:0	3,11E-16	modPC 552,4/3,90	7,59E-17
6	PS 40:5	1,93E-07	LPC 20:0	3,11E-16
7	PI 34:0	6,32E-10	PS 40:5	1,93E-07
8	Cer 20:0	1,30E-03	PI 34:0	6,32E-10
9	modPC 745,5/6,35	8,37E-13	Cer 20:0	1,30E-03
10	APC 34:2	2,05E-13	modPC 745,5/6,35	8,37E-13
11	modPC 678,4/5,51	9,51E-10	modPC 678,4/5,51	9,51E-10
12	Cer 18:0	1,31E-08	Cer 18:0	1,31E-08
13	PI 36:0	6,85E-06	APC 34:2	2,05E-13
14	modPC 752,5/5,58	2,07E-08	<b>tabaquismo_cont</b>	
15	modPC 878,6/5,98	2,22E-07	modPC 752,5/5,58	2,07E-08
16	LPC 20:3	3,85E-01	modPC 881,6/6,05	9,82E-10
17	modPC 692,4/5,52	4,67E-09	PI 36:0	6,85E-06
18	modPC 690,4/6,00	5,85E-08	LPC 20:3	3,85E-01
19	APC 38:6	2,12E-08	modPC 878,6/5,98	2,22E-07
20	oddPC 37:3	3,50E-01	modPC 692,4/5,52	4,67E-09
21	LPC 20:4	2,89E-01	<b>HDL</b>	

## ES 2 665 621 T3

22	CE 20:3	3,81E-04	modPC 690,4/6,00	5,85E-08
23	modPC 692,4/6,10	1,31E-09	APC 38:6	2,12E-08
24	modPC 881,6/6,05	9,82E-10	modPC 866,6/7,24	6,08E-12
25	modPC 736,5/5,38	8,95E-09	<i>trigs</i>	
26	modCer 766,6/7,17	1,29E-10	LPC 20:4	2,89E-01
27	modCer 576,5/7,68	7,03E-03	<b>edad</b>	
28	modPC 866,6/7,24	6,08E-12	<b>gluc</b>	
29	modPC 633,4/4,51	1,12E-07	modPC 736,5/5,38	8,95E-09
30	modPC 694,4/6,20	1,27E-07	modPC 692,4/6,10	1,31E-09
31	modPC 566,4/5,10	4,47E-10	modCer 576,5/7,68	7,03E-03
32	CE 20:1	8,86E-07	modCer 766,6/7,17	1,29E-10
33	LPC 22:6	1,40E-01	CE 22:4	1,87E-02
34	EP 32:0	6,27E-02	DG 18:1 20:0	2,24E-04
35	DG 18:1 20:0	2,24E-04	oddPC 37:3	3,50E-01
36	PS 38:5	4,80E-06	PI 32:0	1,46E-07
37	PI 32:0	1,46E-07	modPC 694,4/6,20	1,27E-07
38	CE 22:4	1,87E-02	CE 20:3	3,81E-04
39	modPC 720,5/4,52	5,16E-02	PS 38:5	4,80E-06
40	CE 22:2	1,46E-06	modPC 720,5/4,52	5,16E-02
41	APC 36:3	6,57E-08	CE 24:3	3,62E-02
42	CE 24:3	3,62E-02	EP 32:0	6,27E-02
43	modPC 706,5/3,79	5,96E-01	<b>Anteced_ de_ EAC</b>	
44	Cer 18:1	6,00E-02	APC 36:3	6,57E-08
45	PI 36:1	1,46E-08	DG 16:0 20:0	2,01E-03
46	DG 18:1 20:4	7,00E-04	modPC 566,4/5,10	4,47E-10
47	Cer 16:0	1,83E-01	CE 20:1	8,86E-07
48	modPC 692,4/5,05	3,93E-06	LPC 14:0	4,46E-09
49	PC 38:4	1,84E-01	modPC 633,4/4,51	1,12E-07
50	CE 22:0	4,68E-06	modPC 706,5/3,79	5,96E-01
51	CE 17:1	2,32E-01	LPC 22:6	1,40E-01



ES 2 665 621 T3

52	EP 36:0	1,62E-02	modPC 692,4/5,05	3,93E-06
53	THC 24:0	3,72E-08	modCer 798,7/7,29	1,63E-08
54	GM3 24:1	2,32E-01	TG 14:0 18:2 18:2	2,22E-05
55	DG 16:0 20:0	2,01E-03	CE 22:2	1,48E-06
56	SM 22:0	1,84E-07	PI 36:1	1,46E-08
57	modCer 614,6/5,72	1,43E-05	<b>CRP</b>	
58	GM3 18:0	1,27E-07	PC 38:4	1,84E-01
59	PC 34:2	6,10E-05	Cer 18:1	6,00E-02
60	modPC 678,4/4,94	2,04E-04	PG 16:1 18:1	2,62E-02
61	modPC 538,3/4,10	1,54E-11	THC 24:0	3,72E-08
62	APC 36:2	2,90E-08	CE 22:0	4,68E-06
63	SM 24:0	3,64E-09	PC 34:2	6,10E-05
64	modCer 798,7/7,29	1,63E-08	<b>sexo</b>	
65	modPC 704,5/3,81	1,63E-01	APC 32:1	8,37E-05
66	PG 16:1 18:1	2,62E-02	PI 40:6	2,36E-04
67	APC 32:1	8,37E-05	modPC 678,4/4,94	2,04E-04
68	TG 14:0 18:2 18:2	2,22E-05	SM 14:0	3,96E-06
69	DG 18:1 18:3	4,01E-01	SM 24:2	7,53E-01
70	SM 14:0	3,96E-06	EP 36:0	1,62E-02
71	LPC 14:0	4,46E-09	modPC 538,3/4,10	1,54E-11
72	PI 40:6	2,36E-04	modPC 818,6/6,48	8,67E-06
73	PI 36:2	2,12E-08	CE 17:1	2,32E-01
74	SM 24:2	7,53E-01	<b>total_cholesterol</b>	
75	PI 38:6	1,65E-06	<b>IMC</b>	
76	APC 38:2	3,63E-06	modPC 512,3/1,70	1,84E-04
77	Cer 24:0	8,83E-05	SM 24:0	3,64E-09
78	MHC 22:0	3,29E-10	DG 18:1 20:4	7,00E-04
79	TG 16:0 16:0 16:0	1,71 E-01	GM3 18:0	1,27E-07
80	modPC 828,6/6,03	1,37E-01	TG 14:0 16:0 18:2	3,95E-03
81	modPC 818,6/6,48	8,67E-06	<b>LDL</b>	

## ES 2 665 621 T3

82	COH	6,13E-06	oddPC 37:6	2,97E-04
83	PS 38:4	1,03E-04	modPC 816,6/5,58	1,47E-01
84	modPC 816,6/5,58	1,47E-01	oddPC 37:4	9,35E-01
85	modPC 590,4/4,80	2,70E-07	PI 36:2	2,12E-08
86	DG 18:1 18:2	3,86E-02	COH	6,13E-06
87	modPC 512,3/1,70	1,84E-04	modPC 818,6/6,48	9,05E-04
88	modCer 632,6/9,22	1,65E-03	modPC 590,4/4,80	2,70E-07
89	APC 36:5	1,09E-05	SM 22:0	1,84E-07
90	DG 16:0 20:4	3,13E-03	GM3 20:0	8,90E-02
91	Cer 24:1	3,58E-02	PI 38:6	1,65E-06
92	TG 17:0 18:1 14:0	2,40E-01	PC 34:0	6,12E-08
93	LPC 18:2	5,85E-08	APC 38:2	3,63E-06
94	oddPC 37:4	9,35E-01	modCer 614,6/5,72	1,43E-05
95	LPC 20:2	4,26E-03	EP 36:2	3,06E-02
96	PC 34:0	6,12E-08	APC 36:2	2,90E-08
97	modPC 769,5/6,25	3,34E-05	LPC 18:2	5,85E-08
98	EP 36:3	1,09E-02	modPC 828,6/6,03	1,37E-01
99	TG 14:0 16:0 18:2	3,95E-03	TG 18:1 14:0 16:0	6,68E-03
100	PG 18:1 18:1	1,61E-01	modCer 632,6/9,22	1,65E-03
101	SM 16:0	4,18E-07	PS 38:4	1,03E-04
102	modPC 690,4/4,90	3,69E-06	APC 36:5	1,09E-05
103	TG 14:0 18:0 18:1	1,14E-02	PC 36:2	1,93E-07
104	DG 14:0 14:0	3,42E-02	GM3 22:0	3,69E-03
105	DHC 24:1	5,91E-05	CE 18:1	5,57E-01
106	TG 16:016:0 18:0	3,31E-01	MHC 16:0	1,72E-05
107	TG 16:1 16:1 18:0	3,89E-03	CE 18:3	4,06E-02
108	GM3 20:0	8,90E-02	PI 40:5	3,70E-03
109	DHC 18:0	1,48E-01	TG 18:1 18:1 18:2	6,44E-01
110	DG 16:0 18:0	2,70E-01	CE 20:2	4,11E-01
111	DG 16:0 22:6	9,07E-01	PI 38:4	4,81 E-03

## ES 2 665 621 T3

112	TG 18:1 18:1 20:4	8,39E-01	SM 16:1	2,89E-04
113	PI 40:4	7,28E-02	CE 18:0	5,23E-05
114	PI 40:5	3,70E-03	CE 20:5	1,27E-01
115	APC 36:0	4,44E-04	EP 40:6	4,98E-01
116	TG 14:0 16:1 18:2	2,00E-03	PI 38:2	6,25E-04
117	SM 16:1	2,89E-04	PI 36:4	2,11E-04
118	PC 36:5	6,15E-03	PS 38:3	5,49E-04
119	GM3 16:0	8,99E-03	CE 15:0	1,99E-01
120	PI 38:4	4,81E-03	CE 14:0	4,40E-01
121	MHC 18:1	1,77E-01	EP 36:1	7,00E-02
<hr/>				
122	DG 14:0 18:1	5,57E-01	TG 16:0 16:1 18:1	8,32E-01
123	EP 40:7	5,89E-01	PI 38:3	3,08E-03
124	PI 34:1	6,81E-05	PS 36:2	4,37E-04
125	DG 14:0 16:0	1,00E+00	TG 16:1 16:1 18:1	9,23E-01
126	PI 36:4	2,11E-04	CE 17:0	3,40E-02
127	DHC 16:0	1,78E-03	CE 16:2	9,71E-02
128	PI 32:1	3,81E-01	PS 36:1	1,86E-02
129	EP 40:6	4,98E-01	CE 16:1	6,66E-02
130	PS 36:1	1,86E-02	TG 14:1 16:1 18:0	1,54E-01
131	modPC 650,4/4,44	1,16E-01	EP 38:1	1,80E-01
132	DG 16:0 18:1	7,98E-04	modCE 558,5/7,74	7,20E-01
133	DG 16:0 18:2	4,88E-02	CE 16:0	1,52E-01
134	TG 16:0 18:1 18:1	2,16E-02	PI 40:4	7,28E-02
135	DG 18:0 18:2	1,06E-01	CE 24:0	2,36E-04
136	DG 14:0 18:2	1,02E-01	EP 38:3	2,73E-01
137	DG 18:1 18:1	3,85E-04	modCE 682,7/8,76	1,05E-01
138	CE 16:0	1,52E-01	TG 18:2 18:2 20:4	8,59E-03
139	TG 16:1 18:1 18:2	5,72E-01	modCE 790,8/6,57	7,29E-01
140	CE 14:0	4,40E-01	PE38:4	3,79E-01
141	CE 16:2	9,71E-02	EP 38:5	8,47E-01

## ES 2 665 621 T3

142	CE 18:2	4,18E-01	modCE 588,5/7,94	1,39E-01
143	TG 16:0 18:0 18:1	3,35E-02	THC 16:0	3,96E-04
144	CE 17:0	3,40E-02	CE 22:1	3,67E-03
145	CE 18:3	4,06E-02	CE 24:6	6,18E-01
146	TG 18:1 18:1 18:1	7,49E-02	PI 38:5	2,13E-07
147	DG 16:0 22:5	3,31E-02	CE 22:5	2,92E-01
148	TG 18:0 18:2 18:2	5,48E-02	CE 22:3	5,45E-01
149	TG 18:1 18:1 18:2	6,44E-01	DG 16:0 18:1	7,98E-04
150	PI 38:3	3,08E-03	PI 34:1	6,81E-05
151	THC 20:0	6,00E-02	TG 16:0 18:1 18:2	4,47E-01
152	TG 18:0 18:0 18:0	1,49E-01	CE 24:4	1,27E-01
153	TG 16:0 18:2 18:2	3,54E-01	PI 36:3	1,40E-09
154	CE 18:0	5,23E-05	TG 17:0 16:0 16:1	3,94E-01
155	CE 24:1	6,35E-03	THC 18:0	1,31E-02
156	modPC 703,5/4,09	1,23E-01	TG 17:0 18:1 16:1	2,77E-01
157	PI 36:3	1,40E-09	TG 17:0 18:2 16:0	2,58E-01
158	CE 24:2	2,33E-03	DG 18:1 20:3	1,87E-05
159	TG 17:0 18:1 16:1	2,77E-01	TG 15:0 18:1 18:1	5,54E-01
160	modCE 790,8/6,57	7,29E-01	TG 16:0 16:0 18:0	3,31E-01
161	modCE 558,5/7,74	7,20E-01	TG 14:0 16:1 18:2	2,00E-03
162	modCE 588,5/7,94	1,39E-01	TG 16:1 16:1 16:1	1,76E-03
163	CE 22:6	4,71E-01	DG 16:0 22:6	9,07E-01
164	CE 22:3	5,45E-01	PC 32:0	6,40E-03
165	CE 20:4	1,39E-01	modPC 690,4/4,11	6,34E-02
166	CE 20:2	4,11E-01	TG 17:0 18:1 16:0	6,33E-01
167	CE 24:6	6,18E-01	Cer 24:0	8,83E-05
168	CE 24:5	2,50E-02	DG 16:0 22:5	3,31E-02
169	CE 22:5	2,92E-01	TG 14:1 18:0 18:2	5,69E-03
170	TG 18:1 14:0 16:0	6,68E-03	TG 15:0 18:1 16:0	7,02E-01
171	DG 16:0 20:3	6,49E-04	TG 16:0 16:0 16:0	1,71E-01

## ES 2 665 621 T3

172	TG 14:1 16:0 18:1	5,58E-01	TG 16:0 16:0 18:2	6,94E-01
173	TG 14:1 16:1 18:0	1,54E-01	CE 24:1	6,35E-03
174	TG 16:1 16:1 16:1	1,76E-03	TG 17:0 18:1 14:0	2,40E-01
175	PI 38:2	6,25E-04	TG 18:1 18:1 22:6	3,28E-01
176	LPAF 16:0	1,37E-05	TG 16:1 16:1 18:0	3,89E-03
177	TG 14:1 18:0 18:2	5,69E-03	TG 14:1 16:0 18:1	5,58E-01
178	TG 15:0 18:1 16:0	7,02E-01	TG 14:0 16:1 18:1	1,74E-03
179	TG 17:0 16:0 16:1	3,94E-01	TG 16:0 16:0 18:1	5,44E-01
180	DG 18:0 18:0	1,73E-01	TG 18:1 18:1 20:4	8,39E-01
181	modPC 843,6/7,10	2,76E-05	EP 40:7	5,89E-01
182	modCer 883,8/7,75	1,30E-01	TG 14:0 18:0 18:1	1,14E-02
183	DG 18:0 18:1	2,76E-02	modPC 743,5/5,91	9,86E-02
184	modPC 818,6/6,48	9,05E-04	DG 16:0 18:2	4,88E-02
185	DG 18:2 18:2	6,66E-01	DG 16:0 16:0	1,46E-03
186	TG 18:0 18:1 18:1	4,75E-01	CE 18:2	4,18E-01
187	DG 18:0 20:4	5,68E-01	DG 16:1 18:1	2,43E-03
188	TG 14:1 18:1 18:1	2,69E-02	modCer 875,7/9,23	5,21E-01
189	TG 16:1 18:1 18:1	9,50E-02	PC 30:2	8,33E-03
190	PC 30:2	8,33E-03	DG 14:0 16:0	1,00E+00
191	TG 17:0 16:0 18:0	8,68E-01	TG 18:0 18:0 18:0	1,49E-01
192	TG 18:2 18:2 20:4	8,59E-03	DG 14:1 16:0	4,28E-01
193	TG 17:0 18:1 18:1	1,09E-01	PG 18:1 18:1	1,61 E-01
194	TG 18:2 18:2 18:2	1,11E-01	TG 18:0 18:1 18:1	4,75E-01
195	DG 16:1 18:1	2,43E-03	TG 18:0 18:0 18:1	8,21E-01
196	CE 18:1	5,57E-01	TG 16:0 18:2 18:2	3,54E-01
197	TG 18:0 18:0 18:1	8,21E-01	TG 16:1 18:1 18:1	9,50E-02
198	TG 16:0 16:0 18:1	5,44E-01	TG 16:0 18:1 18:1	2,16E-02
199	TG 16:0 16:0 18:2	6,94E-01	DG 18:1 18:2	3,86E-02
200	TG 16:0 16:1 18:1	8,32E-01	TG 16:1 18:1 18:2	5,72E-01
201	TG 17:0 18:2 16:0	2,58E-01	APC 38:4	1,20E-02

## ES 2 665 621 T3

202	TG 17:0 18:1 16:0	6,33E-01	DG 18:1 18:1	3,85E-04
203	TG 15:0 18:1 18:1	5,54E-01	DG 16:0 20:3	6,49E-04
204	modCE 682,7/8,76	1,05E-01	TG 17:0 18:1 18:1	1,09E-01
205	PC 34:1	4,14E-01	DG 16:0 18:0	2,70E-01
206	DG 18:0 16:1	6,20E-02	DG 18:0 16:1	6,20E-02
207	PC 32:0	6,40E-03	DG 18:2 18:2	6,66E-01
208	oddPC 37:5	4,77E-03	TG 16:0 18:0 18:1	3,35E-02
209	TG 16:0 18:1 18:2	4,47E-01	TG 14:1 18:1 18:1	2,69E-02
210	PC 38:5	4,96E-02	modPC 594,4/3,26	6,48E-01
211	PG 18:0 18:1	6,13E-01	modCer 886,8/9,06	2,15E-03
212	PC 36:2	1,93E-07	PC 32:2	2,26E-04
213	modCer 886,8/9,06	2,15E-03	PC 32:1	2,82E-01
214	modCer 910,8/8,98	2,41 E-01	APC 32:0	1,91E-02
215	modCer 875,7/9,23	5,21E-01	DG 14:0 18:1	5,57E-01
216	EP 36:4	5,06E-01	modCer 921,8/9,05	6,07E-01
217	PC 32:2	2,26E-04	oddPC 31:0	2,02E-03
218	PC 32:1	2,82E-01	oddPC 37:2	1,71E-04
219	modCer 921,8/9,05	6,07E-01	PC 34:3	5,91E-06
220	PC 38:6	1,01E-02	SM 22:1	1,54E-05
221	PC 40:7	2,57E-02	DHC 18:1	2,94E-02
222	oddPC 35:1	8,32E-01	modCer 651,6/7,56	4,98E-05
223	EP 38:5	8,47E-01	modPC 608,4/3,84	9,87E-01
224	oddPC 35:3	1,03E-03	SM24:1	5,29E-05
225	oddPC 35:2	2,74E-03	TG 18:0 18:2 18:2	5,48E-02
226	CE 24:0	2,36E-04	modCer 883,8/7,75	1,30E-01
227	EP 36:2	3,06E-02	modCer 703,6/5,87	5,81 E-01
228	PC 34:3	5,91E-06	modCer 769,6/8,01	6,38E-05
229	DG 14:1 16:0	4,28E-01	oddPC 35:4	1,05E-01
230	PC 44:12	8,30E-03	oddPC 35:3	1,03E-03
231	oddPC 31:1	9,66E-02	oddPC 33:2	2,46E-04

## ES 2 665 621 T3

232	DHC 22:0	8,28E-05	oddPC 33:1	9,87E-01
233	PC 40:5	6,65E-01	oddPC 35:0	3,74E-04
234	oddPC 33:1	9,87E-01	oddPC 35:1	8,32E-01
235	oddPC 33:0	5,09E-02	oddPC 35:2	2,74E-03
236	EP 38:2	3,93E-01	EP 38:6	6,74E-01
237	modPC 772,5/5,37	5,97E-01	PC 36:5	6,15E-03
238	modCer 703,6/5,87	5,81 E-01	modPC 801,6/6,70	1,63E-05
239	THC 16:0	3,96E-04	PC 38:5	4,96E-02
240	DHC 20:0	2,85E-01	PC 36:4	9,22E-02
241	PC 40:6	7,35E-01	TG 17:0 16:0 18:0	8,68E-01
242	TG 18:1 18:1 22:6	3,28E-01	PC 44:12	8,30E-03
243	THC 22:0	1,65E-03	APC 38:3	3,73E-03
244	THC 18:1	1,52E-01	PC 40:6	7,35E-01
245	THC 18:0	1,31E-02	PC 40:5	6,65E-01
246	SM 24:1	5,29E-05	MHC 18:1	1,77E-01
247	MHC 18:0	2,44E-02	MHC 24:0	2,30E-09
248	EP 38:1	1,80E-01	DHC 16:0	1,78E-03
249	MHC 16:0	1,72E-05	MHC 20:0	2,35E-06
250	DHC 18:1	2,94E-02	MHC 24:1	1,94E-04
251	PS 38:3	5,49E-04	DHC 20:0	2,85E-01
252	MHC 20:0	2,35E-06	GM3 16:0	8,99E-03
253	MHC 24:0	2,30E-09	CE 20:4	1,39E-01
254	THC 24:1	5,40E-03	DHC 18:0	1,48E-01
255	DG 16:0 16:0	1,46E-03	DG 16:0 20:4	3,13E-03
256	LPC 16:1	2,41E-03	PC 40:7	2,57E-02
257	CE 22:1	3,67E-03	CE 24:2	2,33E-03
258	PI 38:5	2,13E-07	<b>diabetes</b>	
259	SM 18:0	1,82E-01	DG 14:0 18:2	1,02E-01
260	modCer 769,6/8,01	6,38E-05	LPC 18:1	1,48E-04
261	DHC 24:0	7,02E-06	APC 36:1	1,25E-03

## ES 2 665 621 T3

262	modCer 731,6/6,22	2,45E-02	Cer 16:0	1,83E-01
263	GM3 24:0	1,10E-05	Cer 22:0	6,49E-02
264	SM 15:0	1,50E-05	GM3 24:0	1,10E-05
265	GM3 22:0	3,69E-03	TG 18:1 18:1 18:1	7,49E-02
266	BMP 18:1 18:1	6,66E-01	TG 18:1 18:2 18:2	9,40E-02
267	APC 34:1	8,82E-03	GM3 24:1	2,32E-01
268	SM 22:1	1,54E-05	modPC 650,4/3,94	1,47E-01
269	modPC 510,3/4,00	3,18E-06	SM 20:1	6,46E-02
270	SM 18:1	3,83E-01	SM 16:0	4,18E-07
271	APC 32:0	1,91E-02	SM 18:1	3,83E-01
272	modPC 773,6/6,47	4,27E-04	DHC 22:0	8,28E-05
273	modPC 788,6/5,19	8,85E-01	modPC 506,3/3,50	1,09E-06
274	modPC 764,5/6,52	7,95E-01	THC 18:1	1,52E-01
275	oddPC 33:2	2,46E-04	LPC 15:0	6,06E-06
276	DG 18:1 20:3	1,87E-05	DHC 24:0	7,02E-06
277	TG 14:016:1 18:1	1,74E-03	THC 24:1	5,40E-03
278	APC 38:3	3,73E-03	PC 34:1	4,14E-01
279	modPC 650,4/3,94	1,47E-01	THC 20:0	6,00E-02
280	modPC 666,4/2,99	4,06E-01	THC 22:0	1,65E-03
281	modPC 536,3/3,50	9,52E-05	modPC 690,4/4,90	3,69E-06
282	modPC 650,4/3,24	3,58E-02	DG 18:1 18:3	4,01E-01
283	modPC 664,4/4,22	4,26E-01	modPC 536,3/3,50	9,52E-05
284	CE 20:5	1,27E-01	CE 22:6	4,71E-01
285	PC 36:4	9,22E-02	modPC.703,5/4,09	1,23E-01
286	oddPC 35:4	1,05E-01	modPC 764,5/6,52	7,95E-01
287	modPC 690,4/4,11	6,34E-02	PG 16:0 18:1	5,63E-01
288	LPC 18:0	8,07E-07	PI 32:1	3,81 E-01
289	EP 36:1	7,00E-02	DHC 24:1	5,91E-05
290	EP 38:6	6,74E-01	modPC 610,4/2,03	4,62E-01
291	TG 18:1 18:2 18:2	9,40E-02	modPC 645,4/4,49	1,12E-05



## ES 2 665 621 T3

292	oddPC 37:2	1,71E-04	SM 18:0	1,82E-01
293	EP 38:3	2,73E-01	EP 36:5	3,27E-02
294	oddPC 31:0	2,02E-03	modPC 636,4/3,37	3,06E-01
295	oddPC 37:6	2,97E-04	EP 34:2	2,85E-01
296	PE38:4	3,79E-01	modPC 664,4/4,22	4,26E-01
297	PG 16:0 18:1	5,63E-01	modPC 650,4/4,44	1,16E-01
298	PC 36:3	1,35E-01	TG 18:2 18:2 18:2	1,11E-01
299	oddPC 35:0	3,74E-04	EP 32:1	6,92E-02
300	modPC 608,4/3,84	9,87E-01	modPC 769,5/6,25	3,34E-05
301	EP 34:2	2,85E-01	modPC 666,4/2,99	4,06E-01
302	EP 36:5	3,27E-02	PG 18:0 18:1	6,13E-01
303	EP 32:1	6,92E-02	modPC 622,4/4,54	6,84E-02
304	TG 16:1 16:1 18:1	9,23E-01	EP 36:4	5,06E-01
305	LPC 16:0	4,68E-06	modPC 678,4/4,37	1,16E-02
306	LPC 18:1	1,48E-04	EP 34:1	1,98E-01
307	LPC 15:0	6,06E-06	modPC 772,5/5,37	5,97E-01
308	modCer 651,6/7,56	4,98E-05	PC 38:6	1,01E-02
309	modPC 743,5/5,91	9,86E-02	EP 38:2	3,93E-01
310	LPC 20:1	2,39E-05	modPC 773,6/6,47	4,27E-04
311	LPC 20:5	1,26E-02	modPC 788,6/5,19	8,85E-01
312	CE 15:0	1,99E-01	modPC 704,5/3,81	1,63E-01
313	modPC 678,4/4,37	1,16E-02	BMP 18:1 18:1	6,66E-01
314	CE 24:4	1,27E-01	SM 15:0	1,50E-05
315	SM 20:1	6,46E-02	modCer 731,6/6,22	2,45E-02
316	APC 34:0	1,20E-03	APC 36:0	4,44E-04
317	APC 38:4	1,20E-02	oddPC 31:1	9,66E-02
318	modPC 801,6/6,70	1,63E-05	oddPC 33:0	5,09E-02
319	APC 36:1	1,25E-03	APC 38:5	7,35E-05
320	APC 38:5	7,35E-05	DG 18:0 18:1	2,76E-02
321	MHC 24:1	1,94E-04	LPC 16:0	4,68E-06

## ES 2 665 621 T3

322	modPC 594,4/3,26	6,48E-01	LPAF 18:0	3,66E-05
323	modPC 508,3/3,30	8,28E-05	DG 14:0 14:0	3,42E-02
324	Cer 22:0	6,49E-02	LPC 16:1	2,41E-03
325	modPC 592,4/5,10	5,49E-06	oddPC 37:5	4,77E-03
326	modPC 636,4/3,37	3,06E-01	modCer 910,8/8,98	2,41 E-01
327	modPC 645,4/4,49	1,12E-05	APC 34:1	8,82E-03
328	modPC 610,4/2,03	4,62E-01	modPC 843,6/7,10	2,76E-05
329	CE 16:1	6,66E-02	DG 18:0 18:0	1,73E-01
330	LPAF 18:0	3,66E-05	APC 36:4	4,05E-05
331	modPC 506,3/3,50	1,09E-06	Cer 24:1	3,58E-02
332	PS 36:2	4,37E-04	APC 34:0	1,20E-03
333	LPAF 18:1	2,60E-03	MHC 18:0	2,44E-02
334	modPC 564,4/4,70	8,81E-09	DG 18:0 18:2	1,06E-01
335	modPC 622,4/4,54	6,84E-02	MHC 22:0	3,29E-10
336	EP 34:1	1,98E-01	modPC 508,3/3,30	8,28E-05
337	APC 36:4	4,05E-05	modPC 510,3/4,00	3,18E-06
338			EP 36:3	1,09E-02
339			CE 24:5	2,50E-02
340			modPC 564,4/4,70	8,81E-09
341			modPC 592,4/5,10	5,49E-06
342			DG 18:0 20:4	5,68E-01
343			modPC 650,4/3,24	3,58E-02
344			LPC 20:2	4,26E-03
345			LPC 18:0	8,07E-07
346			LPC 20:5	1,26E-02
347			LPAF 16:0	1,37E-05
348			LPAF 18:1	2,60E-03
349			LPC 20:1	2,39E-05
350			PC 36:3	1,35E-01

Tabla 15. Condiciones finales para la exploración de iones precursoros y métodos de adquisición MRM para la identificación y cuantificación de lípidos

Clase de lípido	Nº de especies	Patrón interno	(pmol/15 µl)	ión precursor	Tipo de MRM	DP	EP	CE	CXP
ceramida (Cer)	7	Cer17:0	100	[M+H] <sup>+</sup>	PIS <sup>a</sup> , 264,3 m/z	50	10	35	12
monohexosilceramida (MHC)	7	MHC 16:0 d <sub>3</sub>	50	[M+H] <sup>+</sup>	PIS, 264,3 m/z	77	10	50	12
dihexosilceramida (DHC)	7	DHC:16:0 d <sub>3</sub>	50	[M+H] <sup>+</sup>	PIS, 264,3 m/z	100,	10	65	12
trihexosilceramida (THC)	7	THC 17:0	50	[M+H] <sup>+</sup>	PIS, 264,3 m/z	130	10	73	12
gangliósido G <sub>M3</sub> (GM3)	6	THC 17:0	50	[M+H] <sup>+</sup>	PIS, 264,3 m/z	155	10	105	16
ceramida modificada (modCer)	13	acCer 17:018:1	100	[M+H] <sup>+</sup>	PIS, 264,3 m/z	70	10	50	16
esfingomielina (SM)	12	SM 12:0	200	[M+H] <sup>+</sup>	PIS, 184,1 m/z	65	10	35	12
fosfatidilglicerol (PG)	4	PG 17:017:0	100	[M <sup>+</sup> NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	NL <sup>b</sup> , 189 Da	60	10	25	12
bis(monoacilglicerol)fosfato (BMP)	1	BMP 14:0/14:0	100	[M <sup>+</sup> NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	PIS, 339,3 m/z	65	10	35	12
fosfatidiserina (PS)	7	PS 17:017:0	100	[M+H] <sup>+</sup>	NL, 185 Da	86	10	29	12
fosfatidiletanolamina (EP)	18	EP 17:0 17:0	100	[M+H] <sup>+</sup>	NL, 141 Da	80	10	31	12
fosfatidilinositol (PI)	17	EP 17:0 17:0	100	[M <sup>+</sup> NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	PIS, 184,1 m/z	51	10	43	14
lisofosfatidicolina (LPC)	16	LPC 13:0	100	[M+H] <sup>+</sup>	PIS, 184,1 m/z	90	10	38	12
factor activador de lisoplaquetas (LPAF)	7	LPC 13:0	100	[M+H] <sup>+</sup>	PIS, 285,2 m/z	90	10	42	5
fosfatidicolina (PC)	22	PC 13:0 13:0	100	[M+H] <sup>+</sup>	PIS, 184,1 m/z	100	10	45	11
fosfatidicolina de cadena impar (oddPC)	16	PC 13:0 13:0	100	[M+H] <sup>+</sup>	PIS, 184,1 m/z	100	10	45	11
alquilfosfatidicolina (APC)	18	PC 13:0 13:0	100	[M+H] <sup>+</sup>	PIS, 184,1 m/z	100	10	45	11
Fosfatidicolina modificada (modPC)	38	PC 13:0 13:0	100	[M+H] <sup>+</sup>	PIS, 184,1 m/z	100	10	45	11
colesterol libre (COH)	1	COH d <sub>7</sub>	1000	[M <sup>+</sup> NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	PIS, 369,3 m/z	55	10	17	12
éster de colesterol (CE)	30	CE 18:0 d <sub>6</sub>	1000	[M <sup>+</sup> NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	PIS, 369,3 m/z	30	10	20	12
éster de colesterol modificado (modCE)	4	CE 18:0 d <sub>6</sub>	1000	[M <sup>+</sup> NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	PIS, 369,3 m/z	55	10	20	12
diacilglicerol (DG)	27	DAG 15:015:0	200	[M <sup>+</sup> NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	NL, ácido graso	55	10	30	22
triacilglicerol (TG)	44	TAG 17:0 17:0 17:0	100	[M <sup>+</sup> NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	NL, ácido graso	95	10	30	12

<sup>a</sup>NL, exploración de pérdida neutra; <sup>b</sup>PIS, exploración de iones precursoros; <sup>c</sup>PC 13:0 13:0 se usó como patrón interno para las especies con m/z < 700; <sup>d</sup>DP, potencial de desagrupación; <sup>e</sup>EP, potencial de entrada; <sup>f</sup>CE, energía de colisión; <sup>g</sup>CXP, potencial de salida.

**Tabla 16. Resumen final del análisis univariado de lípidos en plasma de los grupos de control, EAC estable y EAC inestable**

Clase de lípido	Nº de especies		% de diferencia <sup>b</sup>		
	total	control frente a EAC	estable frente a	control frente a	estable frente a
		p < 0,01 <sup>a</sup>	inestable p < 0,01 <sup>a</sup>	EAC	inestable
ceramida (CER)	7	2		-6,3	0,6
monohexosilceramida (MHC)	7	4		-24,9	-4,6
dihexosilceramida (DHC)	7	2	1	-12,8	8,1
trihexosilcermida (THC)	7	2		-13,6	2,0
gangliósido G <sub>M3</sub> (GM3)	6	1		-9,3	-3,2
ceramidas modificadas (modCer)	13	5	1	-9,4	2,1
esfingomielina (SM)	12	4	1	-9,3	2,9
fosfatidilglicerol (PG)	4			-7,0	-11,7
bis(monoacilglicero)fosfato (BMP)	1			2,6	6,4
fosfatidilserina (PS)	7	6		-27,4	23,9
fosfatidiletanolamina (EP)	18			-2,3	5,5
fosfatidilinositol (PI)	17	7	9	-20,4	-13,8
lisofosfatidilcolina (LPC)	16	10	8	-14,5	-10,7
factor activador de lisoplaquetas (LPAF)	7	2		-12,1	1,5
fosfatidilcolina (PC)	22	9	3	-7,2	-3,5
Fosfatidilcolina de cadena impar (oddPC)	16	7		-8,5	-2,5
alquilfosfatidilcolina (APC)	17	9	2	-16,0	-4,9
fosfatidilcolina modificada (modPC)	39	15		-12,4	2,7
colesterol libre (COH)	1			-16,7	-3,9
ésteres de colesterol (CE)	30	4	1	-0,6	-2,0
ésteres de colesterol modificados (modCE)	A 4			6,6	0,4
diacilglicerol (DG)	27	5	2	29,1	-2,8

triacilglicerol (TG)	44	1	2	2,1	-7,3
Total de especies lipídicas	329	95	30		

<sup>a</sup>La tabla muestra el número de lípidos de cada clase con  $p < 0,01$

<sup>b</sup>% de la diferencia entre los valores medios para cada clase de lípido, la negrita significa  $p < 0,01$  (prueba de U de Mann Whitney)

**Tabla 17**

**A. Modelos de regresión logística de EAC estable frente a EAC inestable**

Modelo	características <sup>1</sup>	Estadístico C <sup>2</sup>	% de exactitud <sup>2</sup>
Lípidos	4,4	72,9 (72,1-73,6)	67,0 (66,3-67,6)
Factores de riesgo	1,4	65,4 (65,0-65,8)	68,5 (68,1-68,8)
Lípidos y factores de riesgo	4,8	78,8 (78,1-79,4)	71,0 (70,3-71,6)

<sup>1</sup>número medio de características del modelo.

<sup>2</sup>valor media e intervalos de confianza del 95 %.

**B. Modelos de regresión logística del control frente a EAC**

Modelo	características <sup>1</sup>	Estadístico C <sup>2</sup>	% de exactitud <sup>2</sup>
Lípidos	5,7	94,6 (94,4-94,8)	87,3 (87,1-87,6)
Factores de riesgo	4,2	95,6 (95,4-95,8)	90,4 (90,1-90,7)
Lípidos y factores de riesgo	5,5	98,2 (98,1-98,3)	92,4 (92,1-92,6)

<sup>1</sup>número medio de características del modelo.

<sup>2</sup>valor media e intervalos de confianza del 95 %.

5

**Tabla 18. Lípidos ordenados en el modelo logístico de EAC estable frente a EAC inestable<sup>1</sup>**

Características	% de aparición <sup>2</sup>	Proporción de probabilidades <sup>3</sup>	IC del 95 %
modCer 731,6	61,0	1,77	1,75-1,79
GM3 18:0	59,7	0,64	0,63-0,65
PC34:5	59,3	0,61	0,60-0,61
DHC 18:1	36,7	1,52	1,51-1,54

ES 2 665 621 T3

APC 34:2	28,7	0,66	0,65-0,66
SM 18:0	18,0	1,70	1,65-1,74
Cer 18:1	15,7	1,47	1,45-1,49
PI 36:1	14,0	0,63	0,61-0,64
APC 36:0	13,7	1,42	1,40-1,43
DG 18:1 20:0	13,3	0,65	0,63-0,66
LPC 14:0	11,0	0,65	0,63-0,66
LPC 16:1	10,0	0,62	0,60-0,63
PC 24:0	7,3	1,46	1,41-1,50
Cer 18:0	5,7	1,47	1,42-1,53
PI 36:3	5,3	0,64	0,61-0,66
PI 38:2	4,7	0,64	0,61-0,67

<sup>1</sup> solo lípidos.

<sup>2</sup> indica la frecuencia de aparición en el modelo.

<sup>3</sup> indica el riesgo asociado con un cambio de 1 desviación estándar.

**Tabla 19. Factores de riesgo ordenados en los modelos logísticos de EAC estable frente a EAC inestable<sup>1</sup>**

Características	% de aparición <sup>2</sup>	Proporción de probabilidades <sup>3</sup>	IC del 95 %
hsCRP	100,0	1,71	1,69-1,72
diabetes	16,3	0,70	0,69-0,71
tabaquismo	13,0	1,43	1,41-1,45
HDL	6,3	0,68	0,66-0,70
SBP	4,7	0,72	0,72-0,73
IMC	1,0	0,66	0,54-0,84
colesterol	0,7	0,72	0,70-0,74
edad	0,3	0,71	
Antecedentes de EAC	0,3	0,72	
sexo	0,3	1,36	
TRIG	0,3	1,48	

<sup>1</sup> solo factores de riesgo.

---

<sup>2</sup> indica la frecuencia de aparición en el modelo.

<sup>3</sup> indica el riesgo asociado con un cambio de 1 desviación estándar.

---

**Tabla 20. Características ordenadas en el modelo logístico de EAC estable frente a EAC inestable<sup>1</sup>**

<b>Características</b>	<b>% de aparición<sup>2</sup></b>	<b>Proporción de probabilidades<sup>3</sup></b>	<b>IC del 95 %</b>
hsCRP	99,0	1,79	1,77-1,81
PC 34:5	72,0	0,59	0,59-0,60
DHC 18:1	49,7	1,53	1,52-1,55
Cer 18:1	42,7	1,51	1,49-1,52
modCer 731,6	37,7	1,70	1,67-1,72
GM3 18:0	31,7	0,63	0,62-0,64
LPC 16:1	20,7	0,60	0,59-0,62
DG 18:1/20:0	17,0	0,64	0,63-0,65
LPC 14:0	11,0	0,62	0,60-0,64
LPC 18:1	10,3	0,65	0,63-0,66
tabaquismo	10,3	1,46	1,44-1,48
modPC.622,4/4,0	6,3	1,47	1,44-1,51
LPC 18:2	5,7	0,65	0,64-0,66
APC 34:2	5,7	0,67	0,66-0,68
LPC 24:0	4,7	0,66	0,64-0,67
PI 36:1	4,0	0,63	0,61-0,66

<sup>1</sup> lípidos y factores de riesgo combinados.

<sup>2</sup> indica la frecuencia de aparición en el modelo.

5 <sup>3</sup> indica el riesgo asociado con un cambio de 1 desviación estándar.

**Tabla 21. Lípidos ordenados en el modelo logístico de control frente a EAC<sup>1</sup>**

<b>Características</b>	<b>% de aparición<sup>2</sup></b>	<b>Proporción de probabilidades<sup>3</sup></b>	<b>IC del 95 %</b>
LPC 22:0	100,0	0,40	0,40-0,40
PS 40:6	96,7	0,56	0,56-0,56
PI 34:0	42,0	0,61	0,60-0,61
Cer 20:0	39,3	1,61	1,59-1,63
Cer 18:0	39,0	1,72	1,70-1,74



APC 34:2	28,0	0,58	0,57-0,59
PC 34:5	22,7	0,59	0,58-0,60
LPC 20:3	16,7	1,50	1,48-1,51
PC 28:0	15,3	0,63	0,61-0,64
modPC 692,4/5,8	15,3	0,62	0,60-0,63
APC 30:0	14,7	0,63	0,61-0,64
modPC 736,5/5,7	14,3	0,61	0,59-0,62
LPC 20:4	14,0	1,51	1,49-1,53
APC 38:6	13,3	0,62	0,60-0,63
modPC 720,5,4,5	11,3	0,69	0,68-0,70
PI 36:0	11,0	0,64	0,63-0,66

<sup>1</sup> solo lípidos.

<sup>2</sup> indica la frecuencia de aparición dentro del modelo.

<sup>3</sup> indica el riesgo asociado con un cambio de 1 desviación estándar.

5 **Tabla 22. Factores de riesgo ordenados en el modelo logístico de Control frente a EAC<sup>1</sup>**

Características	% de aparición <sup>2</sup>	Proporción de probabilidades <sup>3</sup>	IC del 95 %
hsCRP	100,0	3,02	3,01-3,04
edad	99,0	1,82	1,81-1,84
TRIG	91,0	1,71	1,70-1,72
SBP	82,0	0,65	0,65-0,66
HDL	22,0	1,58	1,56-1,60
sexo	17,0	0,70	0,69-0,70
Antecedentes de EAC	8,7	1,44	1,42-1,45
IMC	1,0	0,67	0,65-0,68
colesterol	0,0		

<sup>1</sup> solo factores de riesgo.

<sup>2</sup> indica la frecuencia de aparición dentro del modelo.

<sup>3</sup> indica el riesgo asociado con un cambio de 1 desviación estándar.

**Tabla 23. Características ordenadas en el modelo logístico de control frente a EAC<sup>1</sup>**

Características	% de aparición <sup>2</sup>	Proporción de probabilidades <sup>3</sup>	IC del 95 %
hsCRP	100,0	2,35	2,33-2,36
LPC 22:0	99,7	0,47	0,47-0,47
edad	97,0	1,76	1,74-1,77
PS 40:6	94,7	0,60	0,59-0,60
PC 34:5	37,7	0,63	0,62-0,63
SBP	18,7	0,65	0,65-0,66
modPC 879,6/6,1	13,0	0,63	0,62-0,64
APC 30:0	10,7	0,63	0,62-0,64
APC 38:6	10,7	0,62	0,61-0,64
Cer 18:0	10,3	1,61	1,59-1,63
modPC 877,6/6,0	8,7	0,66	0,65-0,68
modPC 736,5/5,7	8,3	0,61	0,60-0,62
HDL	7,3	1,57	1,54-1,60
LPC 20:3	7,3	1,52	1,49-1,54
PC 28:0	7,0	0,63	0,62-0,64
Cer 20:0	4,0	1,52	1,47-1,58

<sup>1</sup> lípidos y factores de riesgo combinados.

<sup>2</sup> indica la frecuencia de aparición dentro del modelo.

<sup>3</sup> indica el riesgo asociado con un cambio de 1 desviación estándar.

**Tabla 24. Características ordenadas en los modelos de eliminación de características recursivas de EAC estable frente a EAC inestable<sup>1</sup>**

5

Característica	% de cambio <sup>2</sup>	% de aparición <sup>3</sup>				
		Nº de características del modelo				
		1	2	4	8	16
hsCRP	243	38	82	97	100	100
PC 34:5	-11	40	61	76	87	95
modCer 731,6	20	3	13	53	83	96
DHC 18:1	24	1	4	26	67	86
GM3 18:0	-11	0	2	19	62	88

## ES 2 665 621 T3

LPC 16:1	-23	6	11	31	49	60
Cer 18:1	4	0	3	18	47	67
APC 34:2	-19	0	0	4	41	72
DG 18:1 20:0	-40	3	7	23	37	53
SM 18:0	16	1	2	9	26	56
tabaquismo	101	0	0	3	16	49
APC 36:0	13	0	0	0	6	35
PC 24:0	16	0	0	0	3	29
PI 36:1	-24	1	1	3	11	24
PC 34:3	-20	1	1	1	6	23
LPC 14:0	-26	4	5	6	10	19

---

<sup>1</sup> lípidos y factores de riesgo combinados.

<sup>2</sup> % de la diferencia del valor de EAC inestable medio con respecto al valor de EAC estable medio.

<sup>3</sup> indica la frecuencia de aparición en los modelos de cada tamaño según lo indicado.

---

**Tabla 25. Características ordenadas en los modelos de eliminación de características recursivas del control frente a EAC**

Característica	% de diferencia <sup>2</sup>	% Aparición <sup>3</sup>				
		Nº de características del modelo				
		1	2	4	8	16
LPC 22:0	-48	55	100	100	100	100
hsCRP	260	45	99	100	100	100
PS 40:6	-54	0	1	80	99	100
edad	19	0	0	28	91	100
LPC 24:0	-37	0	0	34	73	91
PS 40:5	-49	0	0	2	62	96
LPC 20:0	-42	0	0	5	18	66
PI 34:0	-43	0	0	3	14	53
Cer 20:0	17	0	0	0	17	42
HDL	-18	0	0	0	15	40
Presión sanguínea sistólica	11	0	0	0	9	38
modPC 877,6/6,0	8	0	0	4	18	33
PC 34:5	19	0	0	9	21	30
LPC 20:3	19	0	0	0	8	34
APC 38:6	-23	0	0	3	14	28
CE 22:4	-15	0	0	0	4	30

<sup>1</sup> lípidos y factores de riesgo combinados.

<sup>2</sup> % de la diferencia del valor de EAC inestable medio con respecto al valor de EAC estable medio.

<sup>3</sup> indica la frecuencia de aparición en los modelos de cada tamaño según lo indicado.

**Tabla 26. Especie de lípido afectada por el uso de estatinas**

Especie de lípido	% de diferencia con el uso de estatina	Valor p <sup>1</sup>	% de diferencia del control frente a EAC <sup>2</sup>	% de diferencia de EAC estable frente a EAC inestable <sup>2</sup>
Cer 18:1	-4,6	4,13E-02	2,9	4,2

## ES 2 665 621 T3

DHC 18:1	-14,7	3,59E-02	-11,3	24,1
GM3 16:0	-14,2	3,15E-03	-7,2	1,1
PC 36:5	18,1	4,42E-02	-19,2	-10,1
PC 36:4	20,7	1,33E-02	6,6	0,5
PC 38:6	9,6	1,90E-02	-11,2	2,6
PC 38:5	15,1	9,18E-03	-8,9	-2,0
PC 38:4	21,4	1,04E-02	4,3	-0,9
PC 40:6	15,4	2,89E-02	-6,1	5,4
PC 40:5	16,8	9,99E-03	-5,3	-1,8
PC 37:5	23,0	4,27E-02	-16,6	-11,9
APC 32:0	-11,7	3,22E-02	-7,2	1,0
APC 34:1	-14,5	3,71E-02	-10,0	-2,5
APC 36:2	-18,6	3,59E-02	-27,1	-8,1
LPC 20:5	35,0	3,22E-02	-14,7	-18,1
PI 36:2	-27,1	1,86E-03	-27,9	-10,5
PI 38:4	17,3	4,42E-02	-13,0	-9,8
PS 38:4	51,5	4,27E-02	-30,6	23,7
DG 16:0	46,0	4,74E-02	-45,2	-36,0
20:0				
DG 18:1	76,2	8,08E-03	64,8	-25,7
20:3				
DG 18:1	54,1	3,99E-02	-41,6	-39,9
20:0				
C22:3	-18,8	2,94E-02	-1,6	0,3
C22:2	-39,1	4,99E-03	-27,6	4,2
C22:1	-22,4	1,63E-02	-20,0	-0,6
C24:5	-34,7	4,61E-04	-7,3	20,0
C24:4	-27,5	5,96E-03	-3,4	2,3
C24:2	-29,6	6,51E-03	-14,7	-3,0
C24:1	-19,9	3,34E-02	-14,5	1,5

<sup>1</sup> valor p calculado mediante la prueba de U de Mann Whitney.

<sup>2</sup> los números en negrita indican diferencias significativas ( $p < 0,01$ , de la regresión logística ajustada para la edad y el sexo).

**Tabla 27. Medicación de las cohortes de EAC estable e inestable**

Medicamento	% de estable	% de inestable	Ji cuadrado	p
clopidogrel <sup>1</sup>	18	27	1,625	0,202
aspirina <sup>1</sup>	95	94	0,103	0,748
estatina <sup>2</sup>	54	88	19,991	0,000
bloqueador $\beta$ <sup>3</sup>	59	65	0,612	0,434
Inhibidor de la ACE <sup>3</sup>	43	56	2,328	0,127
bloqueador de la angiotensina-II <sup>3</sup>	23	6	1,076	0,300
nitrato oral/sublingual <sup>3</sup>	31	27	0,269	0,604
bloqueador del canal del Ca <sup>3</sup>	26	19	1,212	0,271
Infusión de heparina <sup>4</sup>	0	21	14,544	0,000
Heparina de bajo peso molecular <sup>4</sup>	0	11	7,236	0,007
tirofiban <sup>1</sup>	0	6	3,903	0,048
frusemida <sup>3</sup>	11	9	0,314	0,575
sulfonilurea <sup>5</sup>	15	14	0,040	0,842
metformina <sup>5</sup>	23	11	3,593	0,058

<sup>1</sup>antiplaquetario, <sup>2</sup> hipolemiante, <sup>3</sup> antihipertensivo, <sup>4</sup> anticoagulante, <sup>5</sup> antidiabético.

5 **Bibliografía**

(AIHW) AloHaW. Health system expenditure on disease and injury in Australia, 2000-01, Health and Welfare Expenditure Series No. 19, 2004; HWE 26

Braunwald, "Circulation" 80:410-4, 1989

Bylesjo *et al. Journal of Chemometrics* 20:341-51, 2006

10 Cui y Thomas, *Journal of Chromatography B*; 877:2709-15, 2009

Damas y Aukrust *Scand Cardiovasc J* 40:262-6, 2006

Davis *et al., J. Biol. Chem.* 283:6428-6437, 2008

Fahy *et al., J Lipid Res.* 50:S9-14, 2009

Fahy *et al., J Lipid Res.* 51(6):1618, 2010

15 Fawcett T *Pattern Recogn Lett* 27:861-74, 2006

Folch *et al. J Biol Chem* 226:497-509, 1957

"Heart Disease and Stroke Statistics"-actualización de 2006, Dallas TX: American Heart Association, 2006 disponible en [http://www.americanheart.org/downloadable/heart/1198257493273HS\\_Stats% 202008.pdf](http://www.americanheart.org/downloadable/heart/1198257493273HS_Stats%202008.pdf)

Murphy *et al.* *Chem Rev* 101:479-526, 2001

Naghavi *et al.* "Circulation" 108:1772-8, 2003

- 5 "National Health Survey: Summary of Results", Australia, 2004-05, N° de cat. 4364,0, ABS, Canberra, Vol: Australian Bureau of Statistics, 2006

Oei *et al.*, "Circulation". 111:570-575, 2005

Ridker *et al.* "Circulation" 109: IV-6-19, 2004

Ridker *et al.* *JAMA: Journal of the American Medical Association* 297:611-9, 2007

- 10 Shearer *et al.* *PLoS ONE* 4:e5444, 2009

Stenlund *et al.* *Analytical Chemistry* 80:6898-906, 2008

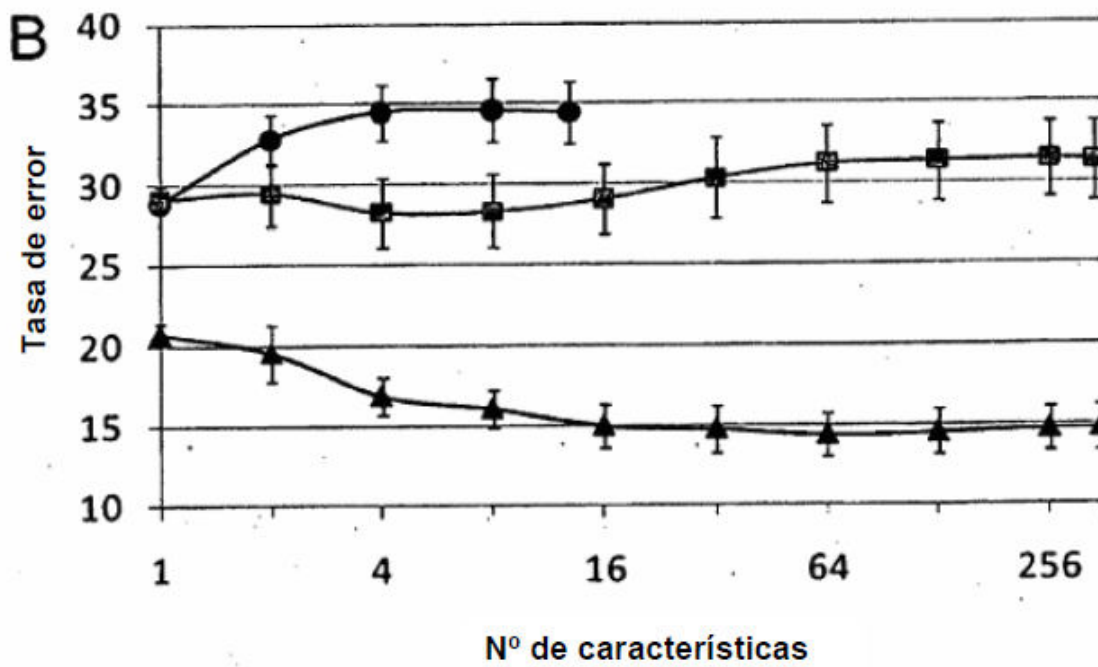
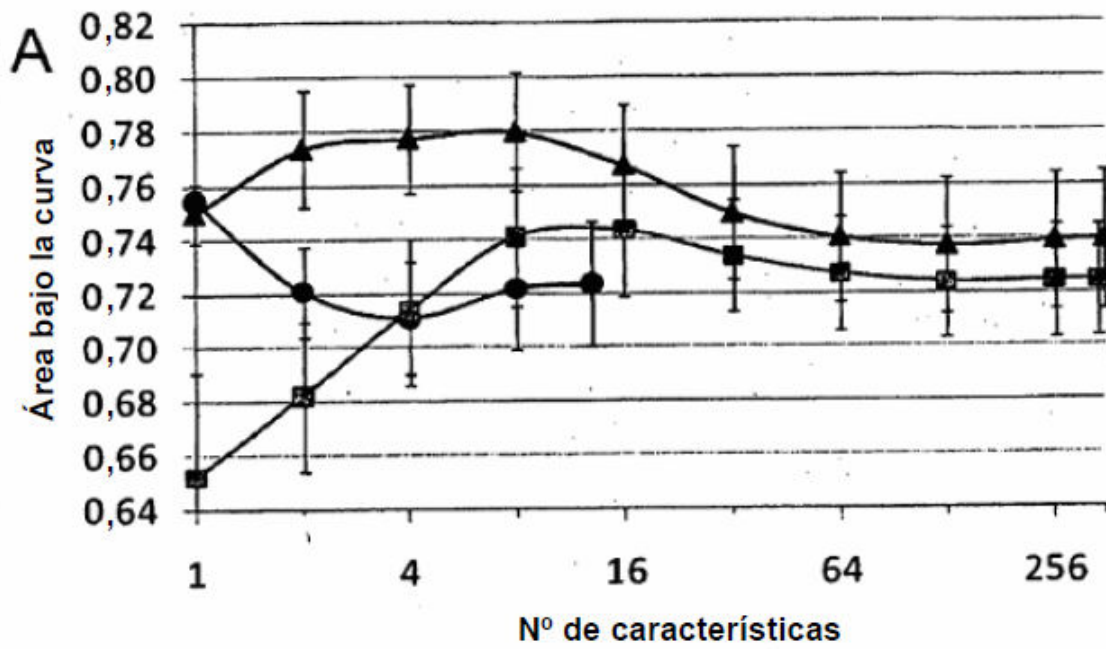
White *et al.* *Cardiovascular Research* 75:813-20, 2007.

**REIVINDICACIONES**

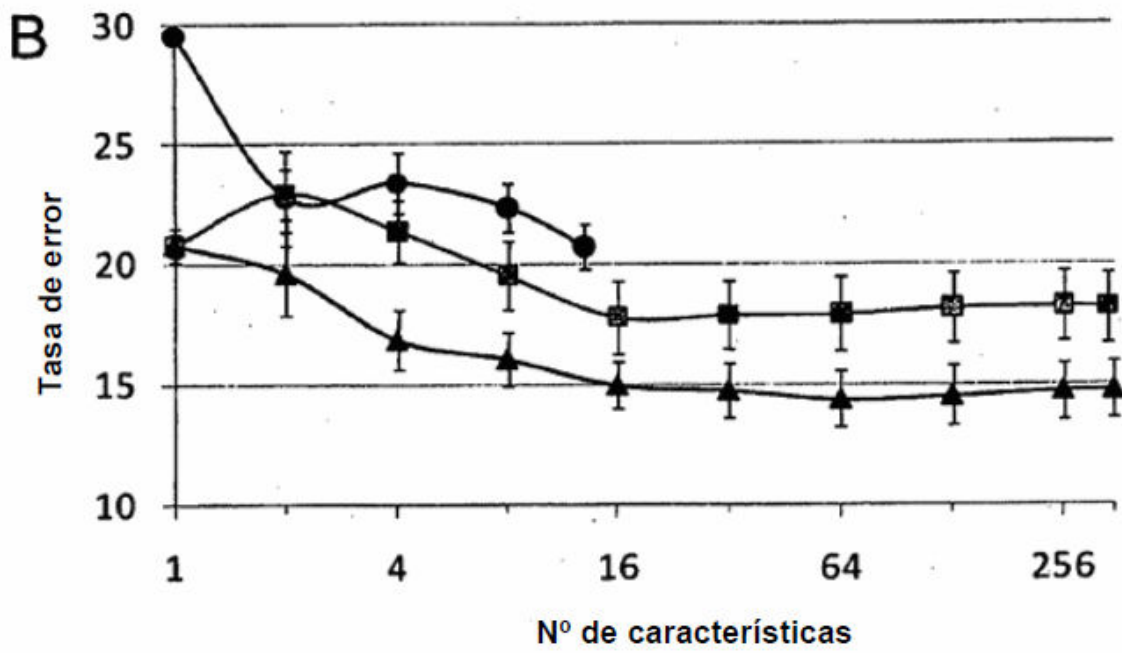
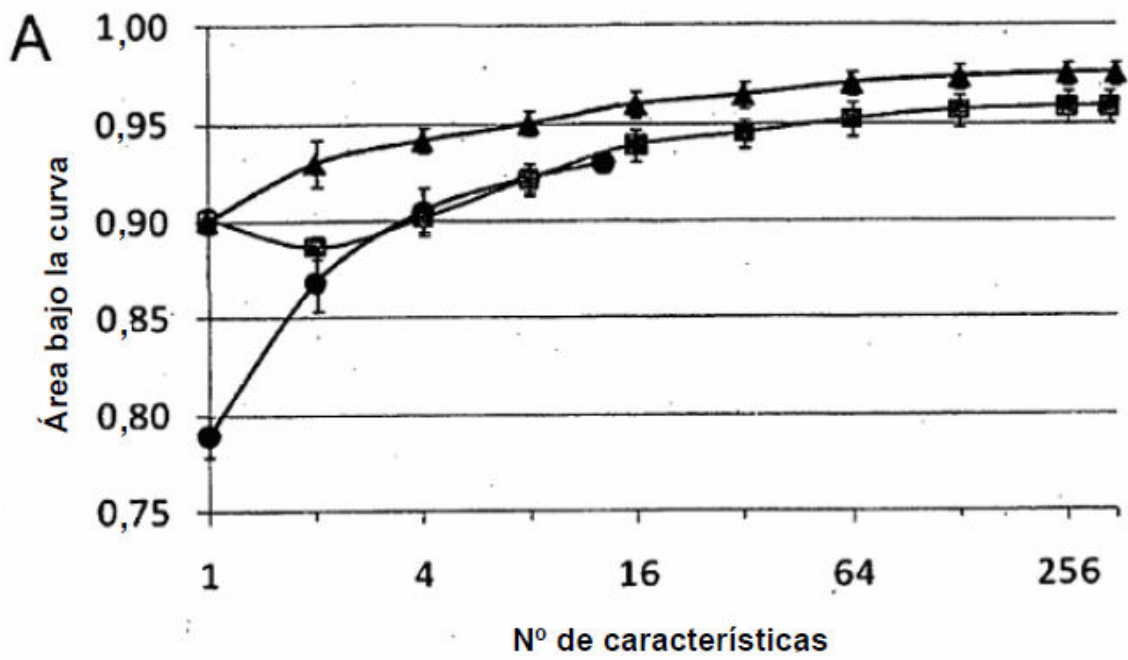
1. Un ensayo de estratificación de un sujeto con respecto a enfermedad cardíaca, comprendiendo el ensayo la determinación en una muestra de dicho sujeto de los niveles de al menos dos o más analitos lipídicos no modificados seleccionados de la lista que consiste en:
  - 5 los analitos lipídicos alquilfosfatidilcolina (APC), bis(monoacilglicerol)fosfato (BMP), ceramida (Cer), diacilglicerol (DG), dihexosilceramida (DHC), gangliósido GM3 (GM3), factor de activación de lisoplaquetas (LPAF), monohexosilceramida (MHC), fosfatidilcolina de cadena impar (oddPC), fosfatidiletanolamina (PE), fosfatidilglicerol (PG), fosfatidilinositol (PI), fosfatidilserina (PS), triacilglicerol (TG) y trihexosilceramida (THC) enumerados en la Tabla 1;
  - 10 fosfatidilcolina (PC) 30:2, PC 34:0, PC 40:7, PC 40:5, PC 44:12;
  - esfingomielina (SM) 15:0, SM 16:1, SM 18:1, SM 18:0, SM 20:1, SM 22:1, SM 24:2, SM 24:1;
  - lisofosfatidilcolina (LPC) 14:0, LPC 15:0, LPC 16:1, LPC 18:1, LPC 20:5, LPC 20:3, LPC 20:2, LPC 20:1, LPC 20:0;
  - éster de colesterol (CE) 14:0, CE 15:0, CE 16:2, CE 16:0, CE 17:1, CE 20:1, CE 17:0, CE 18:0, CE 20:3, CE 20:2, CE 22:5, CE 22:4, CE 22:3, CE 22:2, CE 22:1, CE 22:0, CE 24:6, CE 24:5, CE 24:4, CE 24:3, CE 24:2, CE 24:1, y
  - 15 CE 24:0;

en el que el nivel de un analito lipídico individual es diferente entre sujetos normales y con enfermedad cardíaca y en el que el nivel de los analitos lipídicos en el sujeto con respecto a un control proporciona una indicación de la presencia o ausencia de enfermedad cardíaca.
2. El ensayo de la reivindicación 1, que comprende comparar el nivel de los al menos dos analitos lipídicos en el sujeto con los respectivos niveles de los mismos analitos lipídicos en al menos un sujeto de control seleccionado entre un sujeto normal y un sujeto con enfermedad cardíaca, en el que una similitud en los niveles respectivos de al menos dos analitos lipídicos entre el sujeto y el sujeto con enfermedad cardíaca identifica al sujeto como que tiene enfermedad cardíaca, y en el que existe una similitud en los niveles respectivos de al menos dos analitos lipídicos entre el sujeto y el sujeto normal identifica al sujeto como un sujeto normal con respecto a la enfermedad cardíaca.
- 25 3. El ensayo de la reivindicación 1 o 2, que comprende determinar o determinar y comparar los niveles de 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 o 16 analitos lipídicos.
4. El ensayo de la reivindicación 1 o 2, en el que el analito lipídico no modificado es dos o más de una ceramida (Cer), alquilfosfatidilcolina (APC), y un triacilglicerol (TG).
5. El ensayo de la reivindicación 1 o 2, en el que el analito lipídico es dos o más de Cer 16:0, Cer 18:1, Cer 18:0, Cer 20:0, Cer 22:0, Cer 24:1, Cer 24:0, APC 32:1, APC 32:0, APC 34:2, APC 34:1, APC 34:0, APC 36:5, APC 36:4, APC 36:3, APC 36:2, APC 36:1, APC 36:0, APC 38:6, APC 38:5, APC 38:4, APC 38:3, APC 38:2, APC 30:0, TG 14:0 16:1 18:2, TG 16:1 16:1 16:1, TG 14:0 16:0 18:2, TG 14:0 16:1 18:1, TG 14:1 16:0 18:1, TG 14:1 16:1 18:0, TG 18:1 14:0 16:0, TG 16:0 16:0 16:0, TG 15:0 18:1 16:0, TG 17:0 16:0 16:1, TG 17:0 18:1 14:0, TG 14:0 18:2 18:2, TG 14:1 18:0 18:2, TG 14:1 18:1 18:1, TG 16:1 16:1 18:1, TG 16:0 16:0 18:2, TG 16:1 16:1 18:0, TG 16:0 16:1 18:1, TG 14:0 18:0 18:1, TG 16:0 16:0 18:1, TG 16:0 16:0 18:0, TG 15:0 18:1 18:1, TG 17:0 18:1 16:1, TG 17:0 18:2 16:0, TG 17:0 18:1 16:0, TG 17:0 16:0 18:0, TG 16:0 18:2 18:2, TG 16:1 18:1 18:2, TG 16:1 18:1 18:1, TG 16:0 18:1 18:2, TG 16:0 18:1 18:1 18:1, TG 16:0 18:0 18:1, TG 17:0 18:1 18:1, TG 18:2 18:2 18:2, TG 18:1 18:2 18:2, TG 18:0 18:2 18:2, TG 18:1 18:1 18:2, TG 18:1 18:1 18:1, TG 18:0 18:1 18:1, TG 18:0 18:0 18:1, TG 18:0 18:0 18:0, TG 18:2 18:2 20:4, TG 18:1 18:1 20:4, y TG 18:1 18:1 22:6.
- 30 6. El ensayo de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en el que los niveles de analitos lipídicos ensayados se usan en combinación con uno o más factores de riesgo tradicionales seleccionados entre la edad, el sexo, el tabaquismo, la diabetes, la hipertensión, los antecedentes familiares de EAC, el IMC, el colesterol total, LDL, HDL, triglicéridos, glucosa y hsCRP para identificar al sujeto como normal o que tiene una enfermedad cardíaca.
- 40





Figuras 1(A) y (B)



Figuras 2(A) y (B)

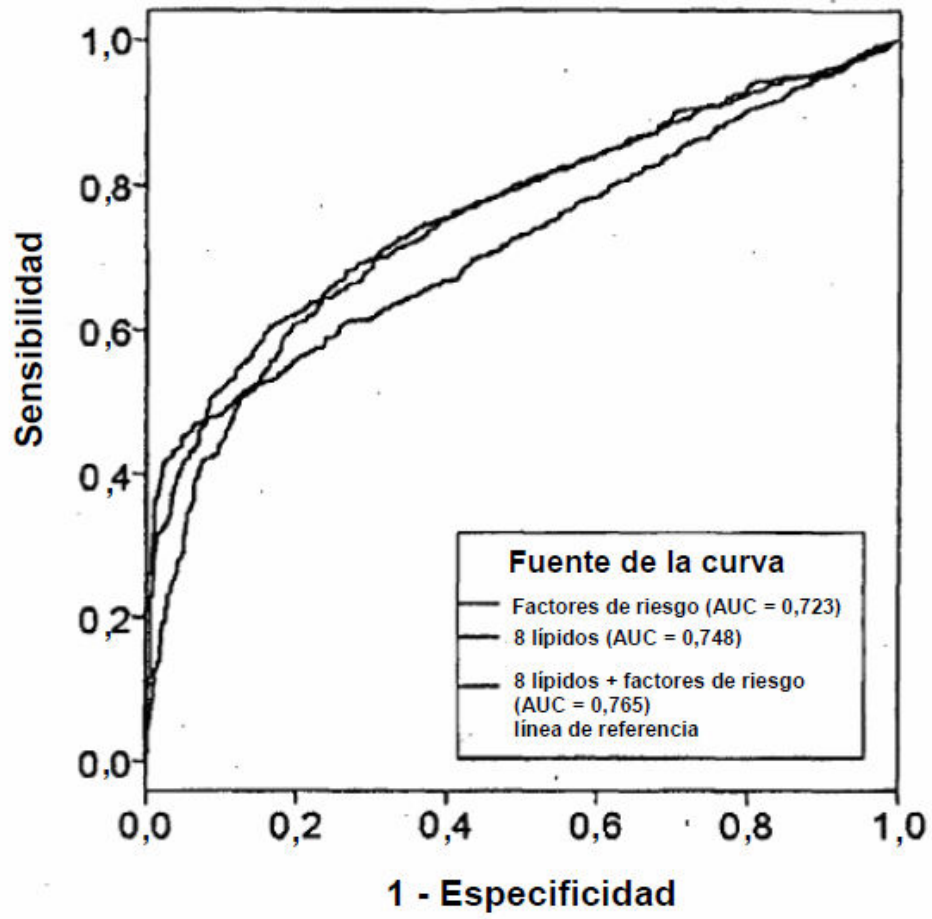


Figura 3

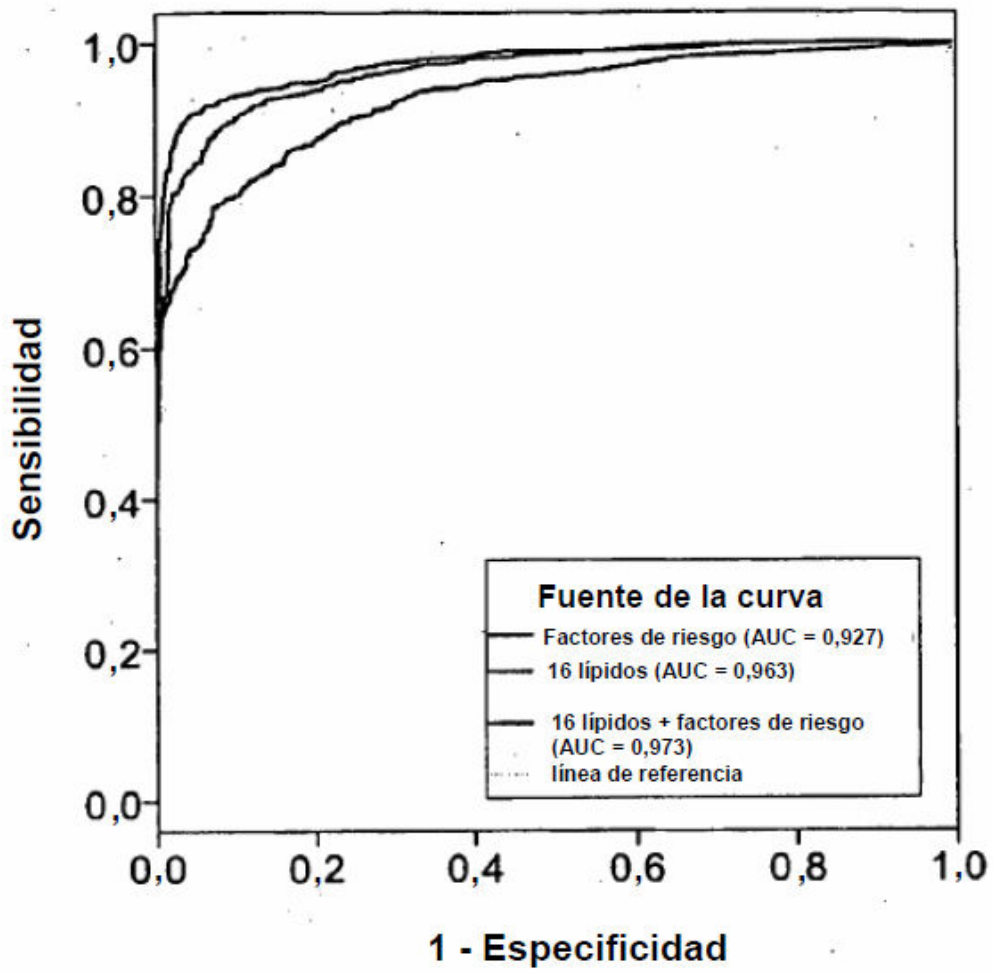


Figura 4

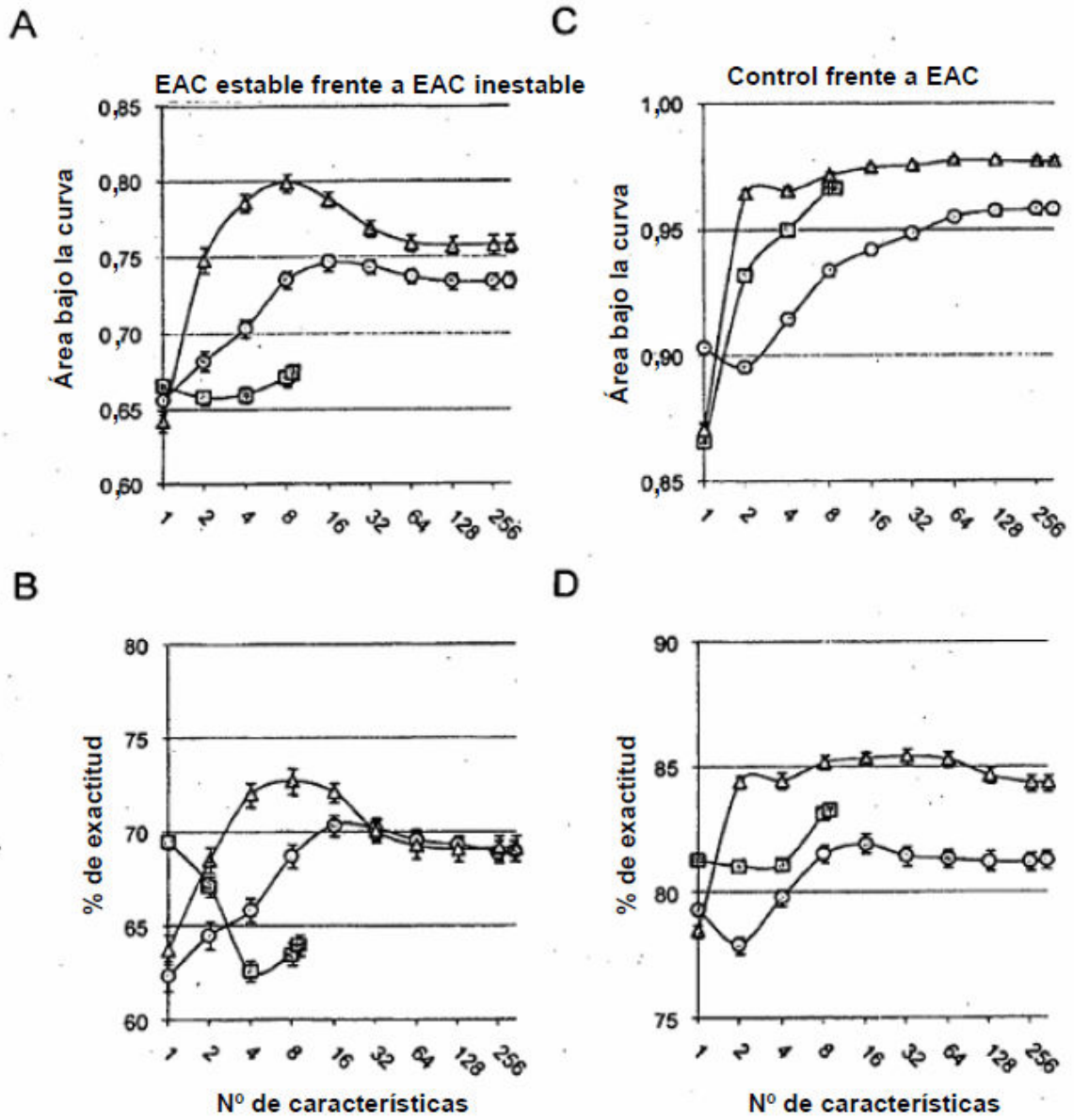


Figura 5

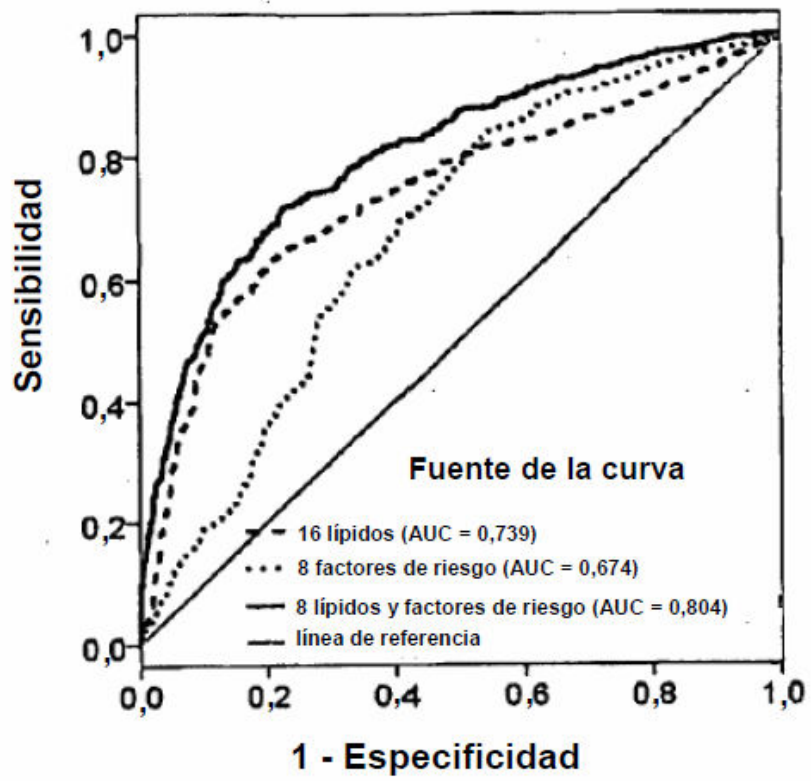


Figura 6

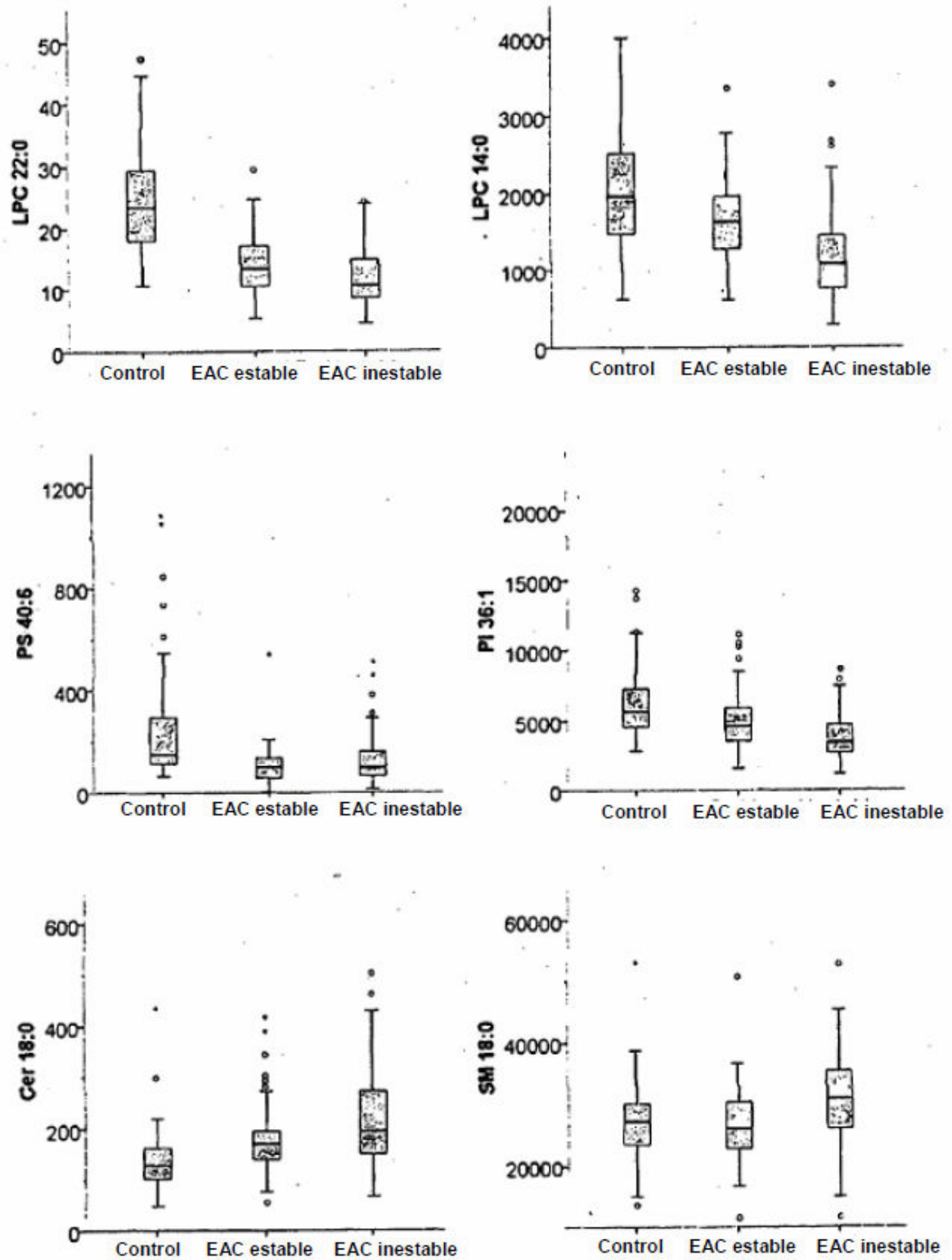


Figura 7