

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 686 542**

51 Int. Cl.:

**G01N 33/50** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **16.10.2013 PCT/EP2013/071648**

87 Fecha y número de publicación internacional: **24.04.2014 WO14060486**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **16.10.2013 E 13776836 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **04.07.2018 EP 2909626**

54 Título: **Medios y procedimientos para determinar una cantidad normalizada de aclaramiento de un biomarcador de enfermedad metabólica en una muestra**

30 Prioridad:

**18.10.2012 EP 12189027  
18.10.2012 US 201261715338 P**

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

**18.10.2018**

73 Titular/es:

**METANOMICS GMBH (50.0%)  
Tegeler Weg 33  
10589 Berlin, DE y  
RUPRECHT-KARLS-UNIVERSITÄT HEIDELBERG  
(50.0%)**

72 Inventor/es:

**FUHRMANN, JENS;  
FISCHER, JENNY;  
RESZKA, REGINA;  
KATUS, HUGO A.;  
FREY, NORBERT;  
SIGL, JOHANNA y  
WEIS, TANJA**

74 Agente/Representante:

**CARPINTERO LÓPEZ, Mario**

**ES 2 686 542 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**

Medios y procedimientos para determinar una cantidad normalizada de aclaramiento de un biomarcador de enfermedad metabólica en una muestra

5 La presente invención se refiere a un procedimiento para determinar una cantidad normalizada de aclaramiento de un biomarcador de enfermedad metabólica en una muestra que comprende las etapas de (a) determinar la cantidad del biomarcador de enfermedad en al menos un primer tipo de muestra de un sujeto del que se sospecha que padece la enfermedad, (b) determinar la cantidad de un biomarcador de la función renal que se correlaciona con la tasa de filtración glomerular (TFG) en dicho al menos un primer tipo de muestra y (c) determinar una cantidad normalizada de aclaramiento de un biomarcador de enfermedad metabólica normalizando la cantidad determinada para el biomarcador de enfermedad metabólica en la etapa (a) con respecto a la cantidad del biomarcador de la función renal determinada en la etapa (b). Asimismo, la invención se refiere también a un procedimiento para diagnosticar una enfermedad en un sujeto del que se sospecha que la padece y a un dispositivo para determinar una cantidad normalizada de aclaramiento de un biomarcador de enfermedad metabólica en una muestra.

15 Las moléculas pequeñas, como puedan ser diversos metabolitos, se excretan normalmente a través del riñón. En consecuencia, una función renal apropiada es decisiva para una homeostasis de metabolito apropiada. Si se daña la función renal y, en particular, la filtración glomerular, deja de poderse excretar los metabolitos en las cantidades normales y pueden acumularse en la sangre y otros fluidos corporales. En consecuencia, el nivel real de un metabolito determinado puede aumentar por una función renal inapropiada en lugar de por otras causas metabólicas.

20 En los últimos años, el perfil metabólico ha establecido una serie de marcadores de enfermedad metabólica prometedores para diversas enfermedades, tales como enfermedad cardiovascular, enfermedades metabólicas como diabetes o síndrome metabólico o trastornos neurodegenerativos. Es fundamental diagnosticar dicha enfermedad de forma eficiente y segura. Normalmente, una enfermedad causa un aumento o una disminución, es decir, una alteración de la cantidad de biomarcadores metabólicos en los fluidos corporales, como la sangre. Dicho aumento o disminución puede utilizarse como indicador de diagnóstico en cuanto a la presencia, ausencia o riesgo de desarrollar la enfermedad. Sin embargo, tal como se ha expuesto, una función renal inapropiada puede afectar también al nivel de biomarcadores en la sangre, incluyendo aquellos que son adecuados como biomarcadores metabólicos de enfermedad. Siendo así, es posible diagnosticar que un paciente padece una enfermedad como pueda ser una enfermedad cardiovascular, p.ej., por un aumento de un biomarcador, aunque dicho aumento de biomarcador esté causado por una alteración de la función renal en lugar de por enfermedad cardiovascular. En consecuencia, el paciente será clasificado falsamente positivo para la enfermedad. Por otra parte, en lugar de abordar terapéuticamente la alteración renal, se tratará al paciente en cuanto a una enfermedad cardiovascular no existente.

35 Se puede evaluar la función renal determinando la tasa de filtración glomerular (TFG). Para tal fin, convencionalmente se determina el aclaramiento de creatinina. Además de la creatinina la TFG puede determinarse también midiendo el aclaramiento de otros compuestos incluyendo los aplicados exógenamente una vez, como inulinas, o compuestos endógenos, como cistatina c (véase p.ej.. Grubb 1985. Acta Med Scand 218 (5): 499-503 o Simonsen 1985. Scand J Clin Invest 45(2): 97-101. Jernberg y col, (2004). Circulation 110:2342).

40 El facultativo suele tener en cuenta la función renal alterada para establecer un diagnóstico. Aunque Badgwell y col, ((2007), Gynecologic Oncology 106(3):490) han propuesto normalizar las concentraciones de marcadores de cáncer utilizando la TFG determinada midiendo la creatinina en suero y orina, no se ha utilizado el parámetro de la función renal medido en sangre o un derivado de la misma para ajustar o corregir directamente los niveles de biomarcador.

No obstante, sería muy deseable tener niveles comparables de biomarcadores entre todos los tipos de pacientes, incluyendo los que tienen una función renal alterada.

45 El problema técnico que subyace en la presente invención puede contemplarse como la provisión de medios y procedimientos para satisfacer las necesidades que se han mencionado, dicho problema técnico se resuelve mediante las realizaciones caracterizadas en las reivindicaciones y en el presente documento a continuación.

Por tanto, la presente invención se refiere a un procedimiento para determinar una cantidad normalizada de aclaramiento de un biomarcador de enfermedad metabólica en un tipo de muestra que comprende las etapas de:

- 50 (a) determinar la cantidad del biomarcador de enfermedad en al menos un primer tipo de muestra en un sujeto del que se sospecha que padece la enfermedad;
- (b) determinar la cantidad de un biomarcador de función renal que se correlaciona con la tasa de filtración glomerular (TFG) en el mismo tipo de muestra; y
- 55 (c) determinar una cantidad normalizada de aclaramiento para un biomarcador de enfermedad metabólica normalizando la cantidad determinada para el biomarcador de enfermedad metabólica de la etapa (a) con respecto a la cantidad del biomarcador de la función renal determinada en la etapa (b),

en el que dicho tipo de muestra es sangre o un derivado de la misma.

El procedimiento tal como se hace referencia a él de acuerdo con la presente invención incluye un procedimiento que consiste esencialmente en las etapas mencionadas o un procedimiento que incluye otras etapas más. Sin embargo debe entenderse que el procedimiento, en una realización preferente, es un procedimiento que se lleva a cabo *ex vivo*, es decir, no se practica en el cuerpo de un ser humano ni animal. Preferentemente, el procedimiento puede asistirse por automatización.

La expresión "cantidad normalizada de aclaramiento", tal como se utiliza en el presente documento, se refiere a una cantidad de un biomarcador de metabolito que se ajusta o se corrige con respecto a la función renal y, en particular, para el aclaramiento renal.

El término "muestra", tal como se desvela en el presente documento, abarca cualquier tipo de muestra biológica que comprende metabolitos y, preferentemente, también proteínas. En consecuencia, una muestra, tal como se desvela en el presente documento, puede ser una muestra que comprende un fluido biológico o un tejido o una célula. Preferentemente, los metabolitos presentes en dicha muestra están afectados por la función renal, es decir, su presencia ausencia y/o cantidad puede alterarse por una alteración en el aclaramiento renal. Normalmente, la función renal afecta inmediatamente a las muestras, como pueden ser la sangre o la orina, ya que un aclaramiento renal inapropiado, p.ej., impedirá la transmisión de un metabolito desde la sangre a la orina. Sin embargo, debe entenderse que es posible que una función renal inapropiada afecte secundariamente también a otras muestras como la saliva, licor y similares. De acuerdo con la presente invención, la muestra es sangre o un derivado de la misma, como plasma o suero o cualquier otra fracción de sangre u orina.

Un primer tipo de muestra, tal como se hace referencia en el presente documento, se refiere a una primera muestra o a diferentes primeras muestras del mismo sujeto, en el que dicho sujeto presenta las mismas patologías cuando se extrajeron dichas primeras muestras diferentes y en el que dichas muestras diferentes han sido tratadas de manera idéntica antes de la investigación según el procedimiento desvelado.

En consecuencia, ha de entenderse que un segundo o posterior tipo de muestra es o bien una segunda o posterior muestra o bien segundas o posteriores muestras diferentes de otro sujeto que es diferente del sujeto del que se deriva la muestra del primer tipo. Asimismo, un segundo tipo de muestra puede derivarse también del sujeto del que se deriva la muestra del primer tipo en el que dicho sujeto ha sido sometido a un tratamiento entre la obtención de la muestra del primer tipo y la muestra del segundo tipo o en el que ha transcurrido cierto período de tiempo entre la derivatización de la muestra del primer tipo y la muestra del segundo tipo.

Preferentemente, se tratan previamente las muestras mencionadas antes de su utilización para el procedimiento de la presente invención. Tal como se describe con más detalle a continuación, dicho pretratamiento puede incluir los tratamientos requeridos para liberar o separar los compuestos o eliminar el material excesivo o residual. Las técnicas adecuadas comprenden centrifugación, extracción, fraccionamiento, ultrafiltración, precipitación de proteína seguida de filtración y purificación y/o enriquecimiento de compuestos. Asimismo, se llevan a cabo otros pre-tratamientos para proporcionar los compuestos en una forma o una concentración adecuada para análisis de compuesto. Por ejemplo, si se emplea espectrometría de masas acoplada a cromatografía gaseosa en el procedimiento de la presente invención, será necesario derivatizar los compuestos antes de dicha cromatografía gaseosa. Los pre-tratamientos adecuados y necesarios dependen del medio utilizado para llevar a cabo el procedimiento de la invención y son perfectamente conocidos entre las personas especializadas en la técnica. Las muestras pre-tratadas, tal como se ha descrito, también están comprendidas dentro del término "muestra", tal como se emplean de acuerdo con la presente invención.

El término "sujeto", tal como se utiliza en el presente documento, se refiere a animales y, preferentemente, a mamíferos, más preferentemente, el sujeto es un primate, siendo sobre todo preferente un ser humano. Preferentemente, se sospecha que el sujeto padece una enfermedad tal como se especifica en el presente documento.

El término "biomarcador", tal como se utiliza en el presente documento, se refiere a una especie molecular que sirve como indicador de una enfermedad o efecto, tal como se hace referencia en la presente memoria descriptiva. Dicha especie molecular puede ser un metabolito en sí, que se encuentra en una muestra de un sujeto. Asimismo, el biomarcador puede ser también una especie molecular que se deriva de dicho metabolito. En tal caso, el metabolito real estará químicamente modificado en la muestra o durante el proceso de determinación y, como consecuencia de dicha modificación, la especie molecular determinada será una especie molecular químicamente diferente, es decir, el analito. Debe entenderse que en tal caso el analito representa el metabolito real y tiene el mismo potencial que un indicador para la afección médica correspondiente. Asimismo, un biomarcador de acuerdo con la presente invención no corresponde necesariamente a una especie molecular, sino que el biomarcador puede comprender estereoisómeros o enantiómeros de un compuesto. Además, un biomarcador puede representar también la suma de isómeros de una clase biológica de moléculas isómeras, dichos isómeros presentarán características analíticas idénticas en algunos casos y, por tanto, no se pueden distinguir mediante los diversos procedimientos analíticos incluyendo los aplicados en los Ejemplos adjuntos que se describen más adelante. Sin embargo, los isómeros compartirán al menos una suma idéntica de parámetros de fórmula y, por tanto, p.ej., en el caso de lípidos, una longitud de cadena idéntica y números idénticos de enlaces dobles en el ácido graso y/o las fracciones de base esfingo.

La expresión "biomarcador de función renal" se refiere a un biomarcador que es un indicador de una función renal apropiada y, en particular, un indicador para el aclaramiento renal apropiado. Preferentemente, se concibe que dicho biomarcador de función renal se excrete en condiciones fisiológicas y, por tanto, esté presente en una cantidad definida, p.ej., en la orina y/o la sangre. Si se altera la función renal hasta el punto de que se altere el aclaramiento renal para dicho biomarcador, cambiarán las cantidades presentes en la orina o en la sangre o en ambos, siendo indicativo dicho cambio de un aclaramiento renal y una función renal inapropiados. El aclaramiento renal se correlaciona con la tasa de filtración glomerular (TFG) que es la cantidad total de orina primaria que excretan los glomérulos del riñón en un período de tiempo determinado. La TFG es un parámetro esencial de una función renal apropiada. En los adultos humanos, la TFG es aproximadamente 170 litros al día. Los biomarcadores que se correlacionan con la TFG y que, por tanto, son adecuados como biomarcadores de la función renal en el sentido de la presente invención, abarcan moléculas de biomarcador endógenas, como creatinina o cistatina c, o moléculas de biomarcador aplicadas como inulinas.

Preferentemente, dicho biomarcador de función renal se selecciona del grupo que consiste en cistatina C y creatinina. Cistatina C es una proteína básica no glicosilada que tiene un punto isoelectrico a un pH de aproximadamente 9,3. Su estructura tridimensional se caracteriza por una hélice alfa corta y una hélice alfa larga que atraviesa una lámina beta de cinco hebras anti-paralelas grandes. La cistatina C forma dos enlaces disulfuro. Aproximadamente un 50 % de las moléculas de cistatina C en un sujeto llevan una prolina hidroxilada. La cistatina C forma dímeros a través de subdominios en los que en el estado dimerizado cada mitad se compone de la hélice alfa larga y una hebra beta de un socio y cuatro hebras beta del otro socio (véase Janowski 2001. Nat Struct Biol 8(4): 316-320). La creatinina es un metabolito perfectamente conocido que se deriva de las conversiones metabólicas de fosfato de creatina en el músculo. Más preferentemente, dicho biomarcador de función renal es cistatina C.

La expresión "biomarcador de enfermedad metabólica" tal como se utiliza en el presente documento, se refiere a un biomarcador que es un indicador de la presencia de la enfermedad o una predisposición a la enfermedad. Por tanto, se entenderá que la presencia, ausencia o cantidad de un biomarcador de enfermedad metabólica, tal como se utiliza en el presente documento, se altera si un sujeto padece la enfermedad o tiene una predisposición a padecerla. Una enfermedad en el sentido de la presente invención puede ser cualquier anomalía o trastorno de la salud. Preferentemente, dicho biomarcador de enfermedad metabólica es un biomarcador para enfermedades o trastornos cardiovasculares, diabetes o síndrome metabólico o enfermedades neurodegenerativas. Preferentemente, dicha enfermedad es una enfermedad tal como se enumera en una cualquiera de las Tablas 1 a 6 y 8 a 21. Más preferentemente, dicho biomarcador de enfermedad es un biomarcador seleccionado de las Tablas 1 a 6 y 8 a 21. Asimismo, debe entenderse que se pueden determinar más de un biomarcador y hasta todos los biomarcadores enumerados en una cualquiera de las tablas mencionadas como biomarcador de metabolito de enfermedad en el procedimiento de la presente invención.

La expresión "determinar la cantidad", tal como se utiliza en el presente documento, se refiere a determinar al menos un rasgo característico de un biomarcador que se va a determinar mediante el procedimiento de la presente invención en la muestra. Los rasgos característicos de acuerdo con la presente invención son rasgos que caracterizan las propiedades físicas y/o químicas, incluyendo propiedades bioquímicas, de un biomarcador. Dichas propiedades incluyen, p.ej., peso molecular, viscosidad, densidad, carga eléctrica, espín, actividad óptica, color, fluorescencia, quimioluminiscencia, composición elemental, estructura química, capacidad para reaccionar con otros compuestos, capacidad para provocar una respuesta en un sistema de lectura biológica (p.ej., inducción de un gen informador) y similares. Los valores para dichas propiedades pueden servir como rasgos característicos y pueden determinarse a través de técnicas perfectamente conocidas en la técnica. Asimismo, el rasgo característico puede ser cualquier rasgo que se derive de los valores de las propiedades físicas y/o químicas de un biomarcador mediante operaciones convencionales, p.ej., cálculos matemáticos como multiplicación, división o cálculo logarítmico. Es sobre todo preferente que al menos uno de los rasgos característicos permita determinar y/o identificar químicamente dicho al menos un biomarcador, así como su cantidad. Por consiguiente, el valor característico, preferentemente, comprende también información en relación con la abundancia del biomarcador del que se deriva el valor característico. Por ejemplo, el valor característico de un biomarcador puede ser un pico en el espectro de masa. Dicho pico contiene información característica del biomarcador, es decir la información m/z, así como un valor de intensidad que se relaciona con la abundancia de dicho biomarcador (es decir, su cantidad) en la muestra.

Tal como se ha explicado, cada biomarcador comprendido en una muestra puede determinarse preferentemente de acuerdo con la presente invención cuantitativamente o semi-cuantitativamente. Para la determinación cuantitativa, se determinará o bien la cantidad absoluta o precisa del biomarcador o bien la cantidad relativa del biomarcador sobre la base del valor determinado para el(los) rasgo(s) característicos a los que se ha hecho referencia. La cantidad relativa puede determinarse en caso de que no se pueda o no se determine la cantidad precisa de un biomarcador. En tal caso, puede determinarse si aumenta o disminuye o no la cantidad en la que esté presente el biomarcador con respecto a una segunda muestra que comprende dicho biomarcador en una segunda cantidad. En una realización preferente, dicha segunda muestra que comprende dicho biomarcador será una referencia calculada, tal como se especifica a lo largo del presente documento. Por tanto, el análisis cualitativo de un biomarcador incluye lo que se denomina a veces un análisis semi-cuantitativo de un biomarcador.

Asimismo, determinar, tal como se utiliza en el procedimiento de la presente invención incluye preferentemente el

uso de una etapa de separación de compuesto antes de la etapa de análisis a la que ha hecho referencia. Preferentemente, dicha etapa de separación de compuesto produce una separación resuelta en el tiempo de los metabolitos comprendidos en la muestra. Entre las técnicas adecuadas para la separación que se utilizan preferentemente de acuerdo con la presente invención, por tanto, se incluyen todas las técnicas de separación cromatográfica, como cromatografía líquida (CL), cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC), cromatografía gaseosa (CG), cromatografía de capa fina, cromatografía de afinidad o exclusión de tamaño. Estas técnicas se conocen perfectamente en la especialidad y las personas especializadas en la materia pueden aplicarlas fácilmente sin más. Es sobre todo preferente que las técnicas de cromatografía concebidas por el procedimiento de la presente invención sean CL y/o CG. Los dispositivos adecuados para dicha determinación de biomarcadores son muy conocidos en la técnica. Preferentemente, se utiliza espectrometría de masas, en particular, cromatografía gaseosa espectrometría de masas (EMCG), cromatografía líquida espectrometría de masas (EMCL), infusión directa espectrometría de masas o transformación de Fourier resonancia de ciclotrón de iones espectrometría de masas (FT-ICR-EM), electroforesis capilar acoplada a espectrometría de masas (EC-EM), espectrometría de masas acoplada a cromatografía líquida de alto rendimiento (EM-HPLC), espectrometría de masas de cuadrúpulo, cualquier espectrometría de masas acoplada secuencialmente, como EM-EM o EM-EM-EM, espectrometría de masas de plasma acoplada inductivamente (ICP-EM), pirólisis con espectrometría de masas (Py-EM), espectrometría de masas de movilidad iónica o espectrometría de masas de tiempo de vuelo (TOF). Es sobre todo preferente utilizar EMCL y/o EMCG tal como se describe con más detalle a continuación. Dichas técnicas se desvelan p.ej., en Nissen 1995. Journal of Chromatography A, 703: 37-57, patentes estadounidenses US 4.540.884 o US 5.397.894, como alternativa o además de las técnicas de espectrometría de masas, se pueden emplear las siguientes técnicas para determinar el compuesto: resonancia magnética nuclear (RMN), imagen por resonancia magnética (IRM), espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier (FT-IR), espectroscopia ultravioleta (UV), índice de refracción (IR), detección fluorescente, detección radioquímica, detección electroquímica, dispersión de luz (LS), espectroscopia Raman dispersiva o detección de ionización de llama (FID). Las personas especializadas en la materia conocen perfectamente estas técnicas y pueden aplicarlas sin más. Preferentemente, se asistirá el procedimiento de la presente invención con automatización. Por ejemplo, puede automatizarse el procesado o pre-tratamiento de una muestra con robótica. El procesamiento de datos y la comparación, preferentemente, son asistidas con programas informáticos y bases de datos. La automatización, tal como se ha descrito en el presente documento permite el uso del procedimiento de la presente invención en enfoques de alta producción. Asimismo, es posible determinar al menos un biomarcador mediante un ensayo químico o biológico específico, dicho ensayo comprenderá medios que permitan detectar específicamente al menos un biomarcador en una muestra. Preferentemente, dichos medios tienen capacidad para reconocer específicamente la estructura química del biomarcador o tienen capacidad para identificar específicamente el biomarcador sobre la base de su capacidad para reaccionar con otros compuestos o su capacidad para provocar una respuesta en un sistema de lectura biológica (p.ej., inducción de un gen informador). Los medios capaces de reconocer específicamente la estructura química de un biomarcador son preferentemente anticuerpos u otras proteínas que interactúan específicamente con estructuras químicas, como receptores o enzimas. Por ejemplo, es posible obtener anticuerpos específicos utilizando el biomarcador como antígeno a través de procedimientos conocidos en la técnica. Los anticuerpos, tal como se hace referencia a ellos en el presente documento, incluyen tanto anticuerpos policlonales como monoclonales, así como fragmentos de los mismos, como fragmentos Fv, Fab y F(ab)<sub>2</sub> que son capaces de unirse al antígeno o hapteno. La presente invención incluye también anticuerpos híbridos humanizados, en los que se combinan las secuencias de aminoácidos de un anticuerpo donador no humano que presenta una especificidad de antígeno deseado con secuencias de un anticuerpo aceptor humano. Asimismo, quedan abarcados anticuerpos monocatenarios. Las secuencias donadoras incluirán normalmente al menos los restos de aminoácido de unión a antígeno del donador, pero pueden comprender otros restos de aminoácido estructural y/o funcionalmente pertinentes del anticuerpo donador también, dichos híbridos pueden prepararse a través de varios procedimientos conocidos en la técnica. Las proteínas adecuadas con capacidad para reconocer específicamente los biomarcadores incluyen preferentemente enzimas que participan en la conversión metabólica de dicho biomarcador. Dichas enzimas pueden utilizar el biomarcador como sustrato o pueden convertir un sustrato en el biomarcador. Asimismo, dichos anticuerpos pueden utilizarse como base para generar oligopéptidos que reconocen específicamente el biomarcador. Dichos oligopéptidos comprenderán por ejemplo los dominios o bolsillos de unión de enzima para dicho biomarcador. Dichos ensayos basados en anticuerpo y/o enzima adecuados pueden ser RIA (radioinmunoensayo), ELISA (ensayo inmunoabsorbente ligado a enzima), ensayo inmunoenzimático sandwich, inmuno ensayos sandwich eletroquimioluminiscentes (ECLIA), fluoroinmunoensayo de lantánidas potenciado por disociación (DEL-FIA) o inmuno ensayos en fase sólida. Asimismo, el biomarcador puede determinarse también sobre la base de su capacidad para reaccionar con otros compuestos, es decir, por reacción química específica. Además, puede determinarse el biomarcador en una muestra por su capacidad para provocar una respuesta en un sistema de lectura biológico. La respuesta biológica se detectará como una lectura que indica la presencia y/o la cantidad del biomarcador comprendido en la muestra. La respuesta biológica puede ser p.ej., la inducción del gen de expresión o una respuesta fenotípica de una célula o un organismo. En una realización preferente, la determinación del al menos un biomarcador es un proceso cuantitativo, p.ej., que permite también determinar la cantidad del al menos un biomarcador en la muestra.

Tal como se ha descrito, dicha determinación del al menos un biomarcador comprende preferentemente espectrometría de masas (EM). La espectrometría de masas, tal como se utiliza en el presente documento, abarca todas las técnicas que permiten determinar el peso molecular (es decir, la masa) o la variable de masa que

corresponde a un compuesto, es decir, un biomarcador, que se va a determinar de acuerdo con la presente invención. Preferentemente, la espectrometría de masa, tal como se utiliza en el presente documento, se refiere a EMCG, EMCL, espectrografía de masa de infusión directa, FT-ICR-EM, EC-EM, HPLC-EM, espectrometría de masa de cuadrúpolo, cualquier espectrometría acoplada secuencialmente, como EM-EM o EM-EM-EM, ICP-EM, Py-EM, TOF o cualquier enfoque combinado en el que se utilice las técnicas mencionadas. Las personas especializadas en la técnica sabrán perfectamente cómo aplicar estas técnicas. Por otra parte, los dispositivos adecuados están disponibles en el mercado. Más preferentemente, la espectrometría de masa, tal como se utiliza en el presente documento, se refiere a EMCL y/o EMCG, es decir, a espectrometría de masas que se liga operativamente a otra etapa de separación cromatográfica anterior. Más preferentemente, la espectrometría de masas, tal como se utiliza en el presente documento, abarca EM de cuadrúpolo. Es sobre todo preferente que dicha EM cuadrupolar se lleve a cabo del siguiente modo: a) selección del cociente masa/carga ( $m/z$ ) de un ion creado por ionización en un primer cuadrúpolo analítico del espectrómetro de masas, b) fragmentación del ion seleccionado en la etapa a) por aplicación de una tensión de aceleración en un cuadrúpolo subsiguiente adicional que se carga con un gas de colisión y actúa como cámara de colisión; c) selección de un cociente masa/carga de un ion creado a través del proceso de fragmentación de la etapa b) en un cuadrúpolo subsiguiente adicional, mediante lo cual se llevan a cabo las etapas a) a c) del procedimiento al menos una vez y análisis del cociente masa/carga de todos los iones presentes en la mezcla de sustancias como resultado del proceso de ionización, mediante lo cual se carga el cuadrúpolo con el gas de colisión pero no se aplica tensión de aceleración durante el análisis. Los detalles sobre la espectrometría de masas preferente sobre todo que se utilice de acuerdo con la presente invención se pueden encontrar en la patente internacional WO 03/073464.

Más preferentemente, dicha espectrometría de masas es cromatografía líquida (CL) EM y/o cromatografía gaseosa (CG) EM. La cromatografía líquida, tal como se utiliza en el presente documento, se refiere a todas las técnicas que permiten la separación de compuestos (es decir, metabolitos) en fase líquida o supercrítica. La cromatografía líquida se caracteriza por que los compuestos pasan en una fase móvil a través de la fase estacionaria. Cuando los compuestos pasan a través de la fase estacionaria a diferentes velocidades se terminan separando ya que cada compuesto individual tiene un tiempo de retención específico (es decir, el tiempo que necesita el compuesto para pasar a través del sistema). La cromatografía líquida, tal como se utiliza en el presente documento, incluye HPLC. Los dispositivos para cromatografía líquida están disponibles en el mercado, p.ej., de Agilent Technologies. EE.UU. La cromatografía gaseosa, tal como se aplica de acuerdo con la presente invención, en principio, funciona de manera comparable a la cromatografía líquida. Sin embargo, en lugar de tener los compuestos (es decir metabolitos) en una fase móvil líquida que se hace pasar a través de la fase estacionaria, los compuestos estarán presentes en un volumen gaseoso. Los compuestos pasan por la columna que puede contener materiales de soporte sólidos como fase estacionaria o sus paredes pueden servir como fase estacionaria o estar revestidas con la fase estacionaria. También en este caso, cada compuesto tiene un tiempo específico necesario para pasar a través de la columna. Asimismo, en el caso de la cromatografía gaseosa, preferentemente, se concibe que los compuestos estén derivatizados antes de la cromatografía gaseosa. Las técnicas de derivatización adecuadas son perfectamente conocidas en la técnica. Preferentemente, la derivatización de acuerdo con la presente invención se refiere a la metoximación y trimetilsililación de compuestos polares, preferentemente, y la transmetilación, metoximación y trimetilsililación de compuestos no polares (es decir lipófilos), preferentemente.

La determinación del biomarcador de enfermedad metabólica y el biomarcador de función renal puede llevarse a cabo preferentemente en la misma parte alícuota de un tipo de muestra o en diferentes partes alícuotas de un tipo de muestra o en partes alícuotas de muestras diferentes del mismo tipo. Por ejemplo, puede determinarse el biomarcador de enfermedad en una parte alícuota de una primera muestra de un primer tipo y determinarse el biomarcador de función renal en una parte alícuota de una segunda muestra del primer tipo. Alternativamente, puede determinarse el biomarcador de enfermedad en una primera parte alícuota de una primera muestra y determinarse el biomarcador de función renal en una segunda parte alícuota de dicha primera muestra, como una alternativa más aún, puede determinarse dicho biomarcador de enfermedad y el biomarcador de función renal simultáneamente o sucesivamente en la misma parte alícuota de una primera muestra.

Puede determinarse una cantidad normalizada de aclaramiento para el biomarcador de enfermedad metabólica a través de cualquier operación matemática que establezca una relación entre la cantidad determinada del biomarcador de enfermedad metabólica y la cantidad de biomarcador de función renal de tal manera que se establezca una relación entre la cantidad de biomarcador de enfermedad y la función renal. Dicha relación puede establecerse ajustando o corrigiendo la cantidad del propio biomarcador de enfermedad metabólica o ajustando o corrigiendo un parámetro que se vaya a comparar a dicha cantidad del biomarcador de enfermedad metabólica, como pueda ser una cantidad de referencia o un valor umbral. Preferentemente, la normalización mencionada en este contexto, es decir, en la etapa (c) del procedimiento de la invención abarca calcular una relación entre la cantidad determinada para el biomarcador de enfermedad en la etapa (a) y la cantidad del biomarcador de función renal determinada en la etapa (b). Debe entenderse que es posible realizar cualquier forma de corrección de los efectos de aclaramiento de acuerdo con la presente invención para reflejar una cantidad normalizada de aclaramiento de un biomarcador de metabolito de enfermedad. Por ejemplo, pueden efectuarse relaciones, valores límite o ajustes lineales y no lineales. Asimismo, también queda abarcado preferentemente un análisis de corrección de varianza (ANOVA) de la cantidad. Al utilizar ANOVA de parámetros como la cantidad del biomarcador de enfermedad metabólica en un grupo de sujetos enfermos y sanos y la cantidad del biomarcador de función renal

como cistatina C, puede calcularse un factor de corrección que refleje la diferencia entre el ajuste previsto y el ajuste del análisis real que subyace en el ANOVA. Dicho factor de corrección puede aplicarse posteriormente para normalizar la cantidad del biomarcador de enfermedad metabólica. Preferentemente, se utiliza la corrección ANOVA para reflejar las cantidades normalizadas de aclaramiento para al menos un biomarcador de enfermedad metabólica en comparación con diferentes ajustes de estudio, como diferentes cohortes de sujetos para su comparación entre sí con respecto a la cantidad de al menos un biomarcador de enfermedad metabólica. Además, la normalización de aclaramiento de acuerdo con la invención puede conseguirse preferentemente ajustando o corrigiendo una cantidad de referencia o valor umbral.

En una realización preferente del procedimiento de la presente invención, se llevan a cabo las etapas (a) y (b) para un segundo tipo de muestra que es diferente del primer tipo de muestra y en el que dicha etapa de normalización (c) abarca calcular (i) una relación de la cantidad determinada para el biomarcador de enfermedad metabólica en las muestras de primer tipo y de segundo tipo, (ii) calcular una relación del biomarcador de función renal determinado en las muestras del primer tipo y el segundo tipo y (iii) calcular una relación de las relaciones calculadas en (i) y (ii). Asimismo, preferentemente, dicha normalización puede abarcar (i) determinar la relación entre el biomarcador de metabolito y el biomarcador renal en una primera muestra y (ii) la relación del biomarcador de metabolito y el biomarcador renal en la segunda muestra.

Ventajosamente, se ha observado de acuerdo con la presente invención que una función renal alterada, incluyendo un aclaramiento renal inapropiado, afecta a los niveles de biomarcadores metabólicos del metabolito en sangre, en particular, los niveles de metabolitos en la sangre, incluyendo los que sirven como biomarcadores, aumentan por lo general debido a una eliminación inapropiada a través de la excreción renal. Como consecuencia, es posible diagnosticar que los pacientes que padecen una función renal alterada padecen una enfermedad sobre la base de dicho aumento del nivel de biomarcadores de metabolito. Sin embargo, en dichos pacientes, el cambio el nivel de biomarcador no es causado por una enfermedad sino más bien por una función renal inapropiada. Gracias a la presente invención, puede determinarse una cantidad normalizada de aclaramiento para un biomarcador de metabolito de enfermedad teniendo en cuenta un biomarcador de función renal como parámetro de normalización para la cantidad determinada de uno o varios biomarcadores de enfermedad. Asimismo, gracias a dicha normalización, es posible comparar cantidades de biomarcadores de enfermedad entre individuos de forma más segura ya que las diferencias de aclaramiento entre un individuo y otro se pueden reducir eficientemente. Por tanto, puede establecerse con mayor seguridad la cantidad umbral, como los límites superiores de las cantidades fisiológicas de un biomarcador. Más específicamente, se ha observado en los estudios que subyacen en la presente invención que una pluralidad de metabolitos de plasma se correlacionan con los niveles de cistatina C y, por tanto, con la función renal. Asimismo, la calidad de los datos para metabolitos de plasma podría mejorarse significativamente tras la normalización a los niveles de cistatina C.

Las definiciones y explicaciones de los términos antes expuestas se aplican haciendo los cambios necesarios para las siguientes realizaciones de la presente invención a no ser que se especifique de otra forma en el presente documento a continuación.

La presente invención se refiere también a un procedimiento para diagnosticar una enfermedad en un sujeto del que se sospecha que la padece que comprende:

- (a) determinar una cantidad normalizada de aclaramiento de al menos un biomarcador de enfermedad metabólica en una muestra de dicho sujeto de acuerdo con el procedimiento de la invención antes especificada;
- y
- (b) comparar dicha cantidad normalizada de aclaramiento con una referencia, mediante lo cual se diagnostica la enfermedad.

El término "diagnosticar" tal como se utiliza en el presente documento se refiere a valorar si el sujeto sufre o no una enfermedad, tal como se especifica en el presente documento. Tal como entenderán las personas especializadas en el material, dicha evaluación, aunque es preferente, normalmente puede no ser correcta para el 100 % de los sujetos investigados. El término, sin embargo, exige que una porción estadísticamente significativa de los sujetos pueda evaluarse correctamente y, por tanto, diagnosticarse. Las personas especializadas en la materia podrán determinar si una porción es estadísticamente significativa o no sin más aplicando diversas herramientas de evaluación estadística conocidas, p.ej., determinación de los intervalos de confianza, determinación del valor p, prueba de Student, prueba de Mann-Whitney, etc. Los detalles pueden encontrarse en Dowdy and Wearden. *Statistics for Research*. John Wiley y Sons. Nueva York 1983. Los intervalos de confianza preferentes son al menos 50 %. Al menos 60 %. Al menos 70 %. Al menos 80 %. Al menos 90 % o al menos 95 %. Los valores p son preferentemente 0,2, 0,1 o 0,05.

El término incluye el diagnóstico individual de una enfermedad o sus síntomas, así como un seguimiento continuo de un paciente. El seguimiento, es decir, el diagnóstico de la presencia o ausencia de la enfermedad o los síntomas que la acompañan en diferentes momentos temporales, incluye el seguimiento de los pacientes que se sabe que padecen dicha enfermedad, así como el seguimiento de sujetos que se sabe que están en riesgo de desarrollar la enfermedad. Asimismo, el seguimiento puede servir para determinar si el tratamiento del paciente ha tenido éxito o si al menos es posible mejorar los síntomas con el tiempo mediante cierta terapia.

El término "enfermedad", tal como se utiliza en el presente documento se refiere a cualquier anomalía de la salud o trastorno en un sujeto. Preferentemente, dicha enfermedad es una enfermedad o trastorno cardiovascular y, más preferentemente, insuficiencia cardíaca congestiva, diabetes o síndrome metabólico y, más preferentemente, diabetes tipo II o enfermedades neurodegenerativas y, más preferentemente, esclerosis múltiple. Más preferentemente, dicha enfermedad es una enfermedad, tal como se enumera en una cualquiera de las tablas 1 a 6 y 8 a 21.

El término "referencia" se refiere a los valores de rasgos característicos de cada uno de los biomarcadores que se pueden correlacionar con una afección médica, es decir, la presencia o ausencia de la enfermedad a la que se hace referencia en el presente documento. Preferentemente, una referencia es un valor umbral (p.ej., una cantidad o relación de cantidades) de un biomarcador, según lo cual los valores observados en una muestra que se investigue que sean más altos que el valor umbral o esencialmente idénticos a él son indicativos de la presencia de una afección médica, mientras que los que son más bajos son indicativos de la ausencia de la afección médica. Debe entenderse que, también preferentemente, una referencia puede ser un valor umbral de un biomarcador según lo cual los valores observados en una muestra que se investigue que sean más bajos o idénticos al umbral son indicativos de la presencia de una afección médica mientras que los que son más altos son indicativos de la ausencia de la afección médica.

De acuerdo con el procedimiento de la presente invención mencionado, una referencia es preferentemente una referencia obtenida de una muestra de un paciente o grupo de pacientes que se sabe que padecen una enfermedad tal como se ha hecho referencia en el presente documento. En tal caso, un valor para el al menos un biomarcador observado en la muestra de ensayo que es esencialmente idéntico es indicativo de la presencia de la enfermedad.

Asimismo, la referencia, también preferentemente, puede ser un paciente o grupo de pacientes que se sabe que no padecen una enfermedad, tal como se hace referencia en el presente documento, preferentemente, un paciente aparentemente sano o grupo de pacientes sanos. En tal caso, un valor del al menos un biomarcador observado en una muestra de ensayo alterado con respecto a la referencia es indicativo de la presencia de la enfermedad. Lo mismo se aplica, haciendo los cambios necesarios, para una referencia calculada, siendo sobre todo preferente el promedio o mediana del valor relativo o el valor del grado de cambio del al menos un biomarcador en una población de individuos (que comprende el paciente investigado). Los valores relativos o grados de cambio del al menos un biomarcador de dichos individuos de la población puede determinarse tal como se ha especificado a lo largo del presente documento. En la especialidad se sabe perfectamente cómo calcular un valor de referencia adecuado, preferentemente, el promedio o mediana. La población de sujetos a los que se ha hecho referencia comprenderá una pluralidad de sujetos, preferentemente al menos 5, 10, 50, 100, 1,000 o 10,000 sujetos. Debe entenderse que el sujeto que se va a diagnosticar, según el procedimiento de la presente invención, y los sujetos de dicha pluralidad de sujetos son de la misma especie.

El valor del al menos un biomarcador de la muestra de ensayo y los valores de referencia son esencialmente idénticos si los valores de los rasgos característicos y, en el caso de la determinación cuantitativa, los valores de intensidad son esencialmente idénticos. Esencialmente idénticos significa que la diferencia entre los dos valores, preferentemente, no es significativa y se caracterizará por que los valores para la intensidad entran dentro de al menos el intervalo comprendido entre el 1° y 99° percentil. El 5° y el 95 percentil. El 10° y 90° percentil. El 20° y el 80° percentil. El 30° y el 70° percentil. El 40° y el 60 percentil del valor de referencia, preferentemente el 50°, 60°, 70°, 80°, 90° o 95° percentil del valor de referencia. Los análisis estadísticos para determinar si las cantidades son esencialmente idénticas o no se conocen perfectamente en la especialidad y se describen también a lo largo del presente documento.

Una diferencia observada entre dos valores, por otra parte, será estadísticamente significativa. Una diferencia del valor relativo o absoluto es preferentemente significativa fuera del intervalo de 45° a 55° percentil, 40° y 60° percentil, 30° a 70° percentil, 20° a 80° percentil, 10° a 90° percentil, 5° a 95 percentil, 1° a 99° percentil del valor de referencia. Los cambios relativos preferentes de las medianas o grados de cambios se describen en las tablas adjuntas, así como en los ejemplos. En las Tablas expuestas a continuación, un cambio relativo preferente para el biomarcador se indica como "arriba" para un aumento y "abajo" para un descenso en la columna "dirección del cambio". Los valores de los grados de cambio preferentes se indican en la columna "cambio en el incremento de veces estimado". Las referencias preferentes para los cambios relativos o grados de cambio mencionados también se indican en las Tablas a continuación. Debe entenderse que estos cambios se observan preferentemente en comparación con las referencias indicadas en las correspondientes Tablas más adelante.

Preferentemente, se almacenará la referencia, es decir, valores de al menos un rasgo característico de al menos un biomarcador o relaciones de los mismos, en un medio de almacenamiento de datos adecuado como base de datos y, siendo así, también es útil para evaluaciones futuras.

El término "comparar" se refiere a determinar si el valor de un biomarcador determinado es esencialmente idéntico o no a una referencia o difiere de él. Preferentemente, se considera que un valor para un biomarcador difiere de una referencia si la diferencia observada es estadísticamente significativa y se puede determinar a través de las técnicas estadísticas a las que se ha hecho referencia a lo largo de la presente descripción. Si la diferencia no es estadísticamente significativa, el valor de biomarcador y la referencia son esencialmente idénticos. Sobre la base de

la comparación a la que se ha hecho referencia, se puede evaluar que un sujeto padece una enfermedad o no.

Para los biomarcadores específicos a los que se hace referencia en la presente memoria descriptiva, los valores preferentes de los cambios en las cantidades o relaciones relativas (es decir los cambios expresados como relaciones de las medianas) se indican en las Tablas más adelante.

5 Preferentemente, se asiste la comparación por automatización. Por ejemplo, un programa informático apropiado que comprende algoritmos para la comparación de dos grupos de datos diferentes (p.ej., pueden utilizarse grupos de datos que comprenden los valores del (los) rasgo(s) característico(s) Dichos programas informáticos y algoritmos son muy conocidos en la especialidad. Independientemente de esto, también puede llevarse a cabo una comparación manualmente.

10 Asimismo, la presente invención se refiere al uso de un biomarcador de función renal tal como se define a lo largo del presente documento en una muestra de un paciente que comprende un biomarcador de enfermedad metabólica para normalizar dicho biomarcador de enfermedad metabólica, en el que dicha muestra es sangre o un derivado de la misma.

15 Además, la presente divulgación se refiere al uso de un biomarcador de la función renal, tal como se define a lo largo del presente documento para la fabricación de una composición farmacéutica de diagnóstico para normalizar en una muestra de un paciente que comprende un biomarcador de enfermedad metabólica dicho biomarcador de enfermedad metabólica.

La invención se refiere además a un dispositivo para determinar una cantidad normalizada de aclaramiento de un biomarcador de enfermedad metabólica en una muestra que comprende:

20 a) una unidad de análisis que comprende un agente de detección que detecta específicamente la cantidad de al menos un biomarcador de enfermedad metabólica en al menos un primer tipo de muestra y un agente de detección que detecta específicamente la cantidad del biomarcador de función renal en dicho al menos primer tipo de muestra, y

25 b) una unidad de evaluación que comprende un procesador de datos que tiene incorporado tangiblemente un código de programa informático que lleva a cabo un algoritmo que normaliza la cantidad del biomarcador de enfermedad metabólica con respecto a la cantidad del biomarcador de función renal,

en el que dicha normalización abarca calcular una relación de la cantidad determinada del biomarcador de enfermedad metabólica y la cantidad del biomarcador de función renal.

30 Un dispositivo, tal como se utiliza en el presente documento, comprenderá al menos una de las unidades mencionadas. Las unidades del dispositivo están operativamente unidas entre sí. La forma en que se unan los medios de manera operativa dependerá del tipo de unidades incluidas en el dispositivo. Por ejemplo. Cuando el detector permite una determinación cualitativa o cuantitativa automática del biomarcador, pueden procesarse los datos obtenidos con dicha unidad de análisis que funciona automáticamente p.ej., con un programa informático para facilitar la evaluación en la unidad de evaluación. Preferentemente, las unidades están comprendidas en un único dispositivo en este caso, dicho dispositivo puede incluir en consecuencia una unidad de análisis para el biomarcador y para el biomarcador de función renal y un ordenador o dispositivo de procesamiento de datos como unidad de evaluación para procesar los datos resultantes para valorar y establecer la información de salida. Los dispositivos preferentes son aquellos que se pueden aplicar sin que el profesional clínico tenga que tener un conocimiento en particular, p.ej., dispositivos electrónicos que requieren simplemente cargar la muestra. La información de salida del dispositivo es preferentemente un valor numérico de la cantidad normalizada de aclaramiento del biomarcador de enfermedad metabólica.

35 En una realización preferente del dispositivo de la invención, dicha unidad de evaluación comprende una base de datos en la que se han almacenado referencias que permiten diagnosticar una enfermedad sobre la base de la cantidad normalizada de aclaramiento del biomarcador de enfermedad metabólica. En este caso, la información de salida del dispositivo permite extraer conclusiones sobre la presencia o ausencia de una enfermedad y, por tanto, es un adyuvante del diagnóstico. Más preferentemente, la información de salida es un diagnóstico preliminar o un adyuvante para el diagnóstico sobre la base del valor numérico que se ha mencionado, es decir, un clasificador que indica si el sujeto padece o no una enfermedad. Dicho diagnóstico preliminar puede necesitar la evaluación de más información que la proporcionada en el dispositivo de la invención incluyendo un sistema de base de datos de conocimiento experto.

40 Una referencia preferente para su uso como referencia almacenada de acuerdo con el dispositivo de la presente invención es una cantidad para el al menos un biomarcador que se analice valores derivados del mismo que se deriva de un sujeto o grupos de sujetos que se sabe que padecen la enfermedad. Más preferentemente, la referencia almacenada de acuerdo con el dispositivo de la presente invención es una cantidad normalizada de aclaramiento para al menos un biomarcador que se va a analizar. En tal caso. El algoritmo incorporado tangiblemente, preferentemente, compara la cantidad determinada para el al menos un biomarcador normalizado de aclaramiento con la referencia normalizada de aclaramiento, en el que la cantidad o valor idéntico o esencialmente idéntico será indicativo de la presencia de la enfermedad en el sujeto.

Alternativamente, otra referencia preferente para su uso como referencia almacenada de acuerdo con el dispositivo de la presente invención es una cantidad de al menos un biomarcador que se va a analizar o valores derivados del mismo que se derivan de un sujeto o grupo de sujetos que se sabe que no padecen la enfermedad. En tal caso, el algoritmo tangiblemente incorporado, preferentemente, compara la cantidad determinada de al menos un biomarcador con la referencia en el que una cantidad o valor que difiere de la referencia será indicativo de la presencia de la enfermedad en un paciente. Las diferencias preferentes son las indicadas como cambios relativos o grados de cambios de biomarcadores individuales en las Tablas, a continuación.

Las unidades del dispositivo, también preferentemente, pueden implementarse en un sistema que comprende varios dispositivos que están unidos operativamente entre sí. Dependiendo de las unidades que se utilicen para el sistema de la presente invención, dichos medios pueden unirse funcionalmente conectando cada medio con el otro por mecanismos que permitan el transporte de datos entre dichos medios, p.ej., cables de fibra de vidrio y otros cables para un transporte de datos de alta productividad. No obstante, se concibe también en la presente invención la transferencia de datos inalámbrica entre los medios, p.ej., por LAN (LAN inalámbrico, W-LAN). Un sistema preferente comprende medios para determinar biomarcadores. Los medios para determinar biomarcadores, tal como se emplean en el presente documento, abarcan medios para separar biomarcadores, como dispositivos de cromatografía, y medios para determinar metabolitos, como dispositivos de espectrometría de masas. Anteriormente, se han descrito con detalle los dispositivos adecuados. Entre los medios preferentes para separación de compuestos para su utilización en el sistema de la presente invención se incluyen dispositivos de cromatografía, más preferentemente, dispositivos para cromatografía líquida. HPLC y/o cromatografía gaseosa. Los dispositivos preferentes para determinar compuestos comprenden dispositivos de espectrometría de masas, más preferentemente, EMCG, EMCL, espectrometría de masa por infusión directa, FT-ICREM, EC-EM, HPLC-EM, espectrometría de masas de cuadrúpulo, espectrometría de masas acoplada secuencialmente (incluyendo EM-EM o EM-EM-EM). ICP-EM. Py-EM o TOF. Los medios de separación y determinación se acoplan entre sí preferentemente. Es sobre todo preferente utilizar EMCL y/o EMCG en el sistema de la presente invención, tal como se describe en detalle a lo largo de la memoria descriptiva. Además, quedarán comprendidos medios para comparar y/o analizar los resultados obtenidos de los medios para la determinación de biomarcadores. Los medios para comparar y/o analizar los resultados pueden comprender al menos una base de datos y un programa informático implementado para comparar los resultados. A continuación, se describen con detalle las realizaciones preferentes de los sistemas y dispositivos mencionados.

Tal como se expone a lo largo del presente documento, la normalización llevada a cabo a través de la unidad de evaluación abarca un algoritmo para calcular una relación de la cantidad determinada para el biomarcador de enfermedad metabólica en la etapa (a) y la cantidad del biomarcador de función renal determinada en la etapa (b). Dicho algoritmo puede implementarse mediante un código de programa informático incorporado tangiblemente en el procesador de datos comprendido en la unidad de evaluación.

La invención quedará ilustrada a continuación con los siguientes Ejemplos no pretendiéndose que restrinjan o limiten el ámbito de la invención.

### **Ejemplos**

#### **Ejemplo 1: Biomarcadores de metabolito asociados a enfermedad**

En las siguientes tablas 1 a 6, 8 y 9 a 21 se enumeran biomarcadores de metabolito relacionados con enfermedad. Los biomarcadores se pueden determinar y analizar tal como se describe en una cualquiera de las patentes internacionales WO2011/092285 A2, WO2012/085890, WO2007/110357 o WO2007/110358. Se ha aplicado la nomenclatura de lípidos del análisis de lípidos complejos tal como se describe en la patente internacional WO2011/092285.

Marcadores cardíacos de acuerdo con WO2011/092285:

Los biomarcadores no definidos de forma precisa por su nombre en ninguna de las tablas 1 a 6 se caracterizan mejor en la tabla 7.

ES 2 686 542 T3

Tabla 1a: Metabolitos con una diferencia significativa (valor p < 0,05) entre pacientes con insuficiencia cardíaca congestiva (ICC) y controles sanos

Nombre-metabolito	Relación de mediana	Regulación	Valor p
Lisofosfatidilcolina (C18:2)	0,656	abajo	0,000002
Manosa	1,949	arriba	0,000000
Hipoxantina	2,136	arriba	0,000006
Fitoesfingosina	0,779	abajo	0,000010
Ácido lignocérico (C24:0)	0,654	abajo	0,000029
Glutamato	2,027	arriba	0,000037
2-hidroxiacetato	1,724	arriba	0,000132
Lisofosfatidilcolina (C18:0)	0,820	abajo	0,000213
Ácido behénico (C22:0)	0,744	abajo	0,000224
Ácido tricosanoico (C23:0)	0,708	abajo	0,000237
Fosfatidilcolina (C18:0, C18:2)	1,028	arriba	0,000248
Ácido linoleico (C18:cis[9,12]2)	0,733	abajo	0,000270
Pseudouridina	1,299	arriba	0,000321
Fosfato, fracción lípido	0,817	abajo	0,000333
Lisofosfatidilcolina (C18:1)	0,874	abajo	0,000432
Lisofosfatidilcolina (C17:0)	0,770	abajo	0,000612
Eritro-esfingosina (*1)	0,823	abajo	0,000620
Glicerol fosfato, fracción lípido	0,768	abajo	0,000628
5-O-metilesfingosina (*1)	0,802	abajo	0,000766
Galactosa, fracción lípido	0,775	abajo	0,000846
Colesterol	0,855	abajo	0,000921
Alfa-cetoglutarato	1,235	arriba	0,000944
Histidina	0,790	abajo	0,000945
Ácido eicosanoico (C20:0)	0,835	abajo	0,001148
3-O-metilesfingosina (*1)	0,769	abajo	0,001248
Eritro-C16-esfingosina	0,827	abajo	0,001492
Ácido úrico	1,429	arriba	0,001696
Colesterol No 02	0,821	abajo	0,004244
Urea	1,243	arriba	0,005073
Adrenalina (Epinefrina)	1,926	arriba	0,006118
Aspartato	1,120	arriba	0,006265
Normetanefrina	1,262	arriba	0,006469
Pentadecanol	0,583	abajo	0,006875

ES 2 686 542 T3

(continuación)

Nombre-metabolito	Relación de mediana	Regulación	Valor p
Mio-inositol, fracción lípido	0,775	abajo	0,007379
Dehidroepiandrosterona sulfato	0,594	abajo	0,007754
Fosfatidilcolina (C16:1, C18:2)	0,883	abajo	0,008776
Esfingomielina (d18:1, C24:0)	0,943	abajo	0,011533
Treonina	0,855	abajo	0,012287
Mio-inositol-2-fosfato, fracción lípido (mio-inositolfosfolípidos)	0,635	abajo	0,012637
Ácido mirístico (C14:0)	0,572	abajo	0,015030
Ácido homovanílico (HVA)	1,292	arriba	0,015937
Arginina	0,844	abajo	0,016192
Glutamina	0,850	abajo	0,016336
Ácido elaídico (C18:trans[9]1)	1,267	arriba	0,017410
4-hidroxi-3-metoxifenilglicol (HMPG)	1,128	arriba	0,019069
Cistina	1,105	arriba	0,020208
Ácido 4-hidroxi-3-metoximandélico	1,179	arriba	0,020480
Zeaxantina	0,699	abajo	0,021888
Glucosa	1,215	arriba	0,023219
Ácido esteárico (C18:0)	0,918	abajo	0,023703
Cortisol	1,345	arriba	0,025615
3-metoxitirosina	1,209	arriba	0,026958
Ácido 5-hidroxi-3-indolacético (5-HIAA)	1,255	arriba	0,027467
Lisofosfatidilcolina (C20:4)	0,944	abajo	0,029167
Creatinina	1,208	arriba	0,031253
Ácido heptadecanoico (C17:0)	0,828	abajo	0,032349
Prolina	0,818	abajo	0,033617
Eritrol	1,224	arriba	0,035087
Ácido nervónico (C24:cis[15]1)	0,879	abajo	0,035240
Coenzima Q10	1,060	arriba	0,036613
Coenzima Q9	0,774	abajo	0,040228
Fosfatidilcolina (C18:0, C18:1)	0,966	abajo	0,044253
Criptoxantina	0,464	abajo	0,047617
1,5-Anhidrosorbitol	0,808	abajo	0,047807
SM_esfingomielina (d17:1, C24:0)	0,7142	abajo	2,8E-13
SM_esfingomielina (d17:1, C22:0)	0,7423	abajo	9,8E-12

ES 2 686 542 T3

(continuación)

Nombre-metabolito	Relación de mediana	Regulación	Valor p
SM_esfingomielina (d17:1, C23:0)	0,6392	abajo	1,4E-11
CE_colesteriléster C15:0	0,6745	abajo	8,8E-11
Colesteriléster C18:2	0,7013	abajo	2,1E-10
SM_esfingomielina (d16:1, C23:0)	0,7103	abajo	2,7E-10
Isocitrato	1,2983	arriba	4,6E-10
1-hidroxi-2-amino-(cis,trans)-3,5-octadecadieno esfingolípidos)	(de 0,738	abajo	1,2E-09
Noradrenalina (Norepinefrina)	1,5067	arriba	4,9E-09
SM_esfingomielina (d16:1, C22:0)	0,7499	abajo	8,7E-09
SM_esfingomielina (d16:1, C24:0)	0,6773	abajo	1,1E-08
Maltosa	1,8136	arriba	1,9E-08
SM_esfingomielina (d18:2, C23:0)	0,8134	abajo	2,7E-08
SM_esfingomielina (d17:1, C20:0)	0,7884	abajo	3E-08
SM_esfingomielina (d17:1, C16:0)	0,8169	abajo	1,6E-07
SM_esfingomielina (d18:1, C14:0)	0,8274	abajo	2,5E-07
CE_colesteriléster C14:0	0,7641	abajo	5,2E-07
Esfingomielina (d18:1, C23:0)	0,8793	abajo	6,2E-07
CER_ceramida (d17:1, C24:0)	0,7452	abajo	1,7E-06
SM_esfingomielina (d18:2, C24:0)	0,834	abajo	2,3E-06
Uridina	0,7617	abajo	3,4E-06
CER_ceramida (d18:2, C14:0)	0,7732	abajo	6,9E-06
CER_ceramida (d17:1, C23:0)	0,7443	abajo	9E-06
SM_esfingomielina (d16:1, C20:0)	0,8091	abajo	1E-05
SM_esfingomielina (d17:1, C24:1)	0,8482	abajo	2,2E-05
SM_esfingomielina (d17:1, C18:0)	0,8393	abajo	3E-05
CE_colesteriléster C22:6	0,7561	abajo	3,3E-05
SM_esfingomielina (d16:1,C22:1)	0,8034	abajo	3,6E-05
Mio-inositol	1,16	arriba	4,6E-05
CER_ceramida (d16:1, C24:0)	0,762	abajo	6,7E-05
Beta-Caroteno	0,7066	abajo	8,1E-05
SM_esfingomielina (d16:1, C24:1)	0,8446	abajo	0,00011
Ornitina	1,1516	arriba	0,00012
SM_esfingomielina (d18:2, C22:0)	0,8501	abajo	0,00013
Colesta-2,4,6-trieno	0,8494	abajo	0,00016

ES 2 686 542 T3

(continuación)

Nombre-metabolito	Relación de mediana	Regulación	Valor p
TAG (C16:0,C18:2)	1,3317	arriba	0,00017
CE_colesteriléster C16:2	0,7746	abajo	0,00017
CE_colesteriléster C20:5	0,7085	abajo	0,00018
Sorbitol	1,5523	arriba	0,00019
SM_esfingomielina (d18:2, C23:1)	0,8561	abajo	0,00021
Ácido isopalmítico (C16:0)	0,7684	abajo	0,00022
Sarcosina	1,1039	arriba	0,00024
Fosfatidilcolina (C18:2,C20:4)	0,9367	abajo	0,00025
CER_ceramida (d18:1, C14:0)	0,8316	abajo	0,00026
SM_esfingomielina (d16:1, C18:1)	0,8335	abajo	0,00031
Esfingosina-1-fosfato (d17:1)	0,8268	abajo	0,00032
TAG (C16:0, C18:1, C18:2)	1,4134	arriba	0,00034
SM_esfingomielina (d16:1, C21:0)	0,8077	abajo	0,00038
CER_ceramida (d16:1, C23:0)	0,7763	abajo	0,00038
Ácido docosahexaenoico (C22:cis[4,7,10,13,16,19]6)	0,7778	abajo	0,00044
TAG (C18:1, C18:2)	1,3426	arriba	0,00053
Tirosina	1,1292	arriba	0,00057
Testosterona	0,7956	abajo	0,00059
Treo-esfingosina (*1)	0,8766	abajo	0,00078
Fenilalanina	1,0929	arriba	0,00081
CE_colesteriléster C14:1	0,68	abajo	0,00082
Colesta-2,4-dieno	0,8533	abajo	0,00096
SM_esfingomielina (d16:1, C16:0)	0,8766	abajo	0,00114
Malato	1,1907	arriba	0,00116
SM_esfingomielina (d18:1, C22:0)	0,8379	abajo	0,00119
CE_colesteriléster C16:3	0,7918	abajo	0,00122
5-oxoprolina	1,0814	arriba	0,00123
CE_colesteriléster C22:5	0,8603	abajo	0,00125
SM_esfingomielina (d18:1, C23:1)	0,8878	abajo	0,00132
Ácido docosapentaenoico (C22:cis[7,10,13,16,19]5)	0,8085	abajo	0,00165
CER_ceramida (d17:1, C16:0)	0,8577	abajo	0,00176
Taurina	1,1928	arriba	0,00178
Fosfatidilcolina (C16:0,C20:5)	0,9159	abajo	0,00195

ES 2 686 542 T3

(continuación)

Nombre-metabolito	Relación de mediana	Regulación	Valor p
SM_esfingomielina (d18:2, C14:0)	0,871	abajo	0,00207
Colesteriléster C18:1	0,8256	abajo	0,00219
CER_ceramida (d17:1, C22:0)	0,8324	abajo	0,00247
CE_colesteriléster C18:3	0,7933	abajo	0,00311
CER_ceramida (d18:1, C18:0)	1,1562	arriba	0,00456
SM_esfingomielina (d18:2, C21:0)	0,8893	abajo	0,00466G
CE_colesteriléster C18:4	0,7197	abajo	0,00569
SM_esfingomielina (d16:1, C18:0)	0,8762	abajo	0,0057
Glicerol-3-fosfato, fracción polar	1,159	arriba	0,00613
Colesteriléster C16:0	0,8225	abajo	0,00685
Ácido eicosapentaenoico (C20:cis[5,8,11,14,17]5)	0,7853	abajo	0,00809
CE_colesteriléster C12:0	0,7224	abajo	0,00887
Trans-4-hidroxiprolina	1,2178	arriba	0,0089
SM_esfingomielina (d18:1, C21:0)	0,9157	abajo	0,00945
CER_ceramida (d18:2, C23:0)	0,869	abajo	0,00948
TAG (C16:0,C16:1)	1,2811	arriba	0,01131
Glicerol, fracción lípido	1,2809	arriba	0,01216
CER_ceramida (d16:1, C16:0)	0,8776	abajo	0,0122
Cisteína	1,0714	arriba	0,01409
Fosfatidilcolina (C16:0, C20:4)	0,991	abajo	0,01571
Ácido 8-hidroxeicosatetraenoico (C20:trans[5]cis[9,11,14]4) (8-HETE)	1,2207	arriba	0,01617
Ácido hipúrico	0,7043	abajo	0,01627
Esfingosina (d18:1)	1,264	arriba	0,01632
SM_esfingomielina (d18:2, C18:1)	0,9068	abajo	0,01633
Hexadecanol	1,1092	arriba	0,01765
Ácido14-metilhexadecanoico	0,8393	abajo	0,01844
CER_ceramida (d16:1, C22:0)	0,8608	abajo	0,02052
CER_ceramida (d18:2, C24:0)	0,8903	abajo	0,02079
SM_esfingomielina (d18:2, C24:2)	0,9157	abajo	0,02116
Creatina	1,1628	arriba	0,02211
Ácido eicosanoico (C20:cis[11]1)	1,1674	arriba	0,02337
Ácido 14,15-dihidroxeicosatrienoico (C20:cis[5,8,11]3)	1,1603	arriba	0,0238
Esfinganina (d18:0)	1,2016	arriba	0,02412

ES 2 686 542 T3

(continuación)

Nombre-metabolito	Relación de mediana	Regulación	Valor p
CER_ceramida (d18:1, C23:0)	0,8973	abajo	0,02646
CER_ceramida (d17:1, C20:0)	0,876	abajo	0,02705
CER_ceramida (d18:1, C24:0)	0,8982	abajo	0,02746
Fumarato	1,051	arriba	0,03023
SM_esfingomielina (d18:2, C20:0)	0,9289	abajo	0,03273
Ácido linoleico conjugado (C18:trans[9,11]2)	0,8624	abajo	0,03361
Ácido 13-hidroxiocetadecadienoico(13-HODE) (C18:cis[9]trans[11]2)	1,1549	arriba	0,03371
Campesterol	0,8211	abajo	0,03589
3,4-dihidroxifenilalanina (DOPA)	1,0983	arriba	0,03675
TAG (C18:2, C18:2)	1,2038	arriba	0,03696
fosfatidilcolina No 02	0,9467	abajo	0,03922
Glucosa-1-fosfato	1,089	arriba	0,03978
CER_ceramida (d17:1, C24:1)	0,8986	abajo	0,04172
Lactaldehído	1,0876	arriba	0,04225
Metionina	1,0698	arriba	0,04311
Lisofosfatidiletanolamina (C22:5)	0,9229	abajo	0,04472
Estilo-inositol	1,1685	arriba	0,04903
CER_ceramida (d16:1, C21:0)	0,8656	abajo	0,04997
(*1): sin esfingolípidos y derivado de ellos			

Tabla 1b: Metabolitos de la Tabla 1a que presentaron además una diferencia significativa (valor p < 0,1) entre pacientes con cardiomiopatía isquémica (ICMP) y controles sanos

Nombre_metabolito	relación de mediana	regulación	valor p
Colesteriléster C18:2	0,6066	abajo	3,17E-17
SM_esfingomielina (d18:1, C14:0)	0,7751	abajo	3,88E-11
SM_esfingomielina (d18:2, C23:0)	0,7837	abajo	3,14E-10
SM_esfingomielina (d17:1, C23:0)	0,661	abajo	1,21E-09
Ácido tricosanoico (C23:0)	0,7527	abajo	2,78E-09
CE_colesteriléster C15:0	0,6948	abajo	5,44E-09
SM_esfingomielina (d17:1, C24:0)	0,7656	abajo	1,24E-08
1-hidroxi-2-amino-(cis,trans)-3,5-octadecadieno esfingolípidos)	0,7463	abajo	1,33E-08
Sorbitol	1,9715	arriba	3,76E-08
SM_esfingomielina (d17:1, C16:0)	0,8059	abajo	6,53E-08

ES 2 686 542 T3

(continuación)

Nombre-metabolito	Relación de mediana	Regulación	Valor p
SM_esfingomielina (d16:1, C23:0)	0,7416	abajo	7,29E-08
Beta-caroteno	0,6178	abajo	1,71E-07
Glutamato	1,4858	arriba	2,7E-07
CE_colesteriléster C14:0	0,7622	abajo	2,73E-07
SM_esfingomielina (d18:2,C23:1)	0,8017	abajo	4,36E-07
colesteriléster C18:1	0,7308	abajo	4,92E-07
SM_esfingomielina (d18:2, C24:0)	0,82	abajo	6,35E-07
SM_esfingomielina (d17:1, C22:0)	0,8018	abajo	6,9E-07
SM_esfingomielina (d18:2,C24:2)	0,82	abajo	7,56E-07
Ácido lignocérico (C24:0)	0,7793	abajo	8,82E-07
TAG (C16:0,C18:2)	1,4494	arriba	9,3E-07
Treo-esfingosina (*1)	0,8271	abajo	1,11E-06
SM_esfingomielina (d16:1, C24:0)	0,7192	abajo	2,4E-06
Esfingomielina (d18:1, C23:0)	0,8821	abajo	2,52E-06
Fosfatidilcolina (C16:0,C20:4)	0,9828	abajo	2,97E-06
Lisofosfatidilcolina (C17:0)	0,8091	abajo	3,34E-06
Colesterol, total	0,8639	abajo	3,68E-06
SP_esfingosina-1-fosfato (d17:1)	0,7871	abajo	4,86E-06
TAG (C16:0,C18:1,C18:2)	1,5361	arriba	7,11E-06
Glucosa	1,1273	arriba	8,77E-06
SM_esfingomielina (d17:1,C24:1)	0,8464	abajo	1,25E-05
TAG (C18:1 ,C18:2)	1,439	arriba	1,53E-05
Isocitrato	1,2014	arriba	1,7E-05
Fosfatidilcolina (C18:0,C18:2)	1,0183	arriba	2,19E-05
Zeaxantina	0,7372	abajo	2,46E-05
CER_ceramida (d18:1, C18:0)	1,2527	arriba	2,54E-05
Cisteína	1,1313	arriba	2,62E-05
SM_esfingomielina (d18:1 ,C23:1)	0,8504	abajo	2,65E-05
Ácido behénico (C22:0)	0,839	abajo	2,7E-05
Maltosa	1,5712	arriba	2,99E-05
Ácido úrico	1,1916	arriba	2,99E-05
Eritro-C16-esfingosina	0,7823	abajo	3,62E-05
SM_esfingomielina (d18:2, C14:0)	0,8257	abajo	4,08E-05

ES 2 686 542 T3

(continuación)

Nombre-metabolito	Relación de mediana	Regulación	Valor p
Colesta-2,4-dieno	0,8257	abajo	5,49E-05
Glucosa-1-fosfato	1,1806	arriba	5,61E-05
5-O-metilesfingosina (*1)	0,827	abajo	6,28E-05
Glicerol, fracción lípido	1,4758	arriba	7E-05
Pseudouridina	1,1483	arriba	7,79E-05
TAG (C16:0,C16:1)	1,4548	arriba	0,000109
SM_esfingomielina (d18:2, C22:0)	0,8469	abajo	0,00015
Colesta-2,4,6-trieno	0,8518	abajo	0,000167
SM_esfingomielina (d16:1, C22:0)	0,8256	abajo	0,00017
SM_esfingomielina (d16:1, C24:1)	0,845	abajo	0,000187
Eritro-esfingosina (*1)	0,8619	abajo	0,000211
Cisteína	1,2256	arriba	0,00026
Ácido linoleico (C18:cis[9,12]2)	0,8234	abajo	0,000276
3-O-metilesfingosina (*1)	0,839	abajo	0,000315
Taurina	1,2195	arriba	0,000362
CER_ceramida (d18:1, C14:0)	0,8309	abajo	0,000397
Dehidroepiandrosterona sulfato	0,6197	abajo	0,000427
Lisofosfatidilcolina(C18:2)	0,8578	abajo	0,000485
Ácido 14,15-dihidroieicosatrienoico(C20:cis[5,8,11]3)	1,2659	arriba	0,000573
CER_ceramida (d17:1, C23:0)	0,7911	abajo	0,000631
TAG (C18:2,C18:2)	1,3485	arriba	0,000677
SM_esfingomielina (d16:1, C16:0)	0,8677	abajo	0,000709
Eritrol	1,1759	arriba	0,000711
CE_colesteriléster C12:0	0,6467	abajo	0,000734
SM_esfingomielina (d16:1, C22:1)	0,8327	abajo	0,000787
Fitoesfingosina, total	0,8621	abajo	0,000895
Alfa-cetoglutarato	1,1818	arriba	0,000916
Ácido 8-hidroieicosatetraenoico (C20:trans [5]cis[9,11,14]4) (8-HETE)	1,3254	arriba	0,001168
CER_ceramida (d17:1, C24:0)	0,8152	abajo	0,001205
Colesteriléster C16:0	0,788	abajo	0,00143
CE_colesteriléster C14:1	0,7029	abajo	0,001854
SM_esfingomielina (d18:1, C22:0)	0,8429	abajo	0,002434
SM_esfingomielina (d18:2, C21:0)	0,8781	abajo	0,002466

ES 2 686 542 T3

(continuación)

Nombre-metabolito	Relación de mediana	Regulación	Valor p
Ácido eicosanoico (C20:cis[11]1)	1,2263	arriba	0,002476
Sarcosina	1,0878	arriba	0,002491
Adrenalina (Epinefrina)	1,4435	arriba	0,002549
Galactosa, fracción lípido	0,8964	abajo	0,002702
SM_esfingomielina (d17:1, C20:0)	0,8783	abajo	0,002949
Isoleucina	1,1085	arriba	0,00385
Ácido isopalmítico (C16:0)	0,8172	abajo	0,003877
CER_ceramida (d18:2, C14:0)	0,8446	abajo	0,004044
CE_colesteriléster C16:2	0,8272	abajo	0,004416
Normetanefrina	1,2896	arriba	0,004728
Trans-4-hidroxiprolina	1,2407	arriba	0,005701
Ácido 4-hidroxi-3-metoximandélico	1,6034	arriba	0,005745
Manosa	1,1511	arriba	0,006205
CE_colesteriléster C22:5	0,8782	abajo	0,006918
5-Oxoprolina	1,0658	arriba	0,007306
Mio-inositol	1,1023	arriba	0,009187
CE_colesteriléster C22:6	0,8366	abajo	0,009822
SM_esfingomielina (d16:1, C21:0)	0,8596	abajo	0,010056
CER_ceramida (d16:1, C23:0)	0,8277	abajo	0,010099
Lisofosfatidilcolina (C18:0)	0,9017	abajo	0,011903
Ornitina	1,0943	arriba	0,012027
Noradrenalina (Norepinefrina)	1,194	arriba	0,01265
SM_esfingomielina (d16:1,C18:1)	0,8798	abajo	0,013795
3-metoxitirosina	1,1696	arriba	0,016194
Colestenol No 02	0,9013	abajo	0,016563
CE_colesteriléster C18:3	0,8332	abajo	0,01764
CER_ceramida (d16:1, C24:0)	0,8487	abajo	0,019382
Esfingomielina (d18:1, C24:0)	0,9423	abajo	0,020541
Testosterona	0,8537	abajo	0,020931
Ácido 5-hidroxi-3-indoleacético(5-HIAA)	1,1514	arriba	0,021745
CER_ceramida (d18:2, C23:0)	0,8822	abajo	0,025435
SM_esfingomielina (d18:1, C21:0)	0,925	abajo	0,026263
Ácido nervónico (C24:cis[15]1)	0,9114	abajo	0,026336

(continuación)

Nombre-metabolito	Relación de mediana	Regulación	Valor p
Fenilalanina	1,0625	arriba	0,0265
Fosfatidilcolina (C16:1,C18:2)	0,9229	abajo	0,030568
SM_esfingomielina (d18:2,C18:1)	0,9133	abajo	0,0313
CER_ceramida (d17:1, C16:0)	0,8986	abajo	0,035021
Criptoxantina	0,8091	abajo	0,036128
Fumarato	1,0483	arriba	0,036755
Tirosina	1,0777	arriba	0,038994
CE_colesteriléster C20:5	0,8236	abajo	0,039914
CE_colesteriléster C18:4	0,7902	abajo	0,043667
Malato	1,1101	arriba	0,046935
SM_esfingomielina (d16:1, C20:0)	0,9095	abajo	0,053287
CER_ceramida (d17:1, C22:0)	0,8882	abajo	0,057993
Glicerol-3-fosfato. Fracción polar	1,1093	arriba	0,061765
Uridina	0,8946	abajo	0,062565
SM_esfingomielina (d17:1, C18:0)	0,9258	abajo	0,072709
Ácido hipúrico	0,7791	abajo	0,081397
CER_ceramida (d18:1, C23:0)	0,9177	abajo	0,089112
Fosfato, fracción lípido	0,9505	abajo	0,097734
(*1): sin esfingolípidos y derivado de ellos			

Tabla 1c: Metabolitos de la Tabla 1a que presentaron además una diferencia significativa (valor p < 0,1) entre pacientes con cardiomiopatía hipertrófica (HCM) y controles sanos)

Nombre_metabolito	relación de mediana	regulación	valor p
Maltosa	2,1427	arriba	5,39E-11
Colesteriléster C18:2	0,7523	abajo	1,99E-06
Colesteriléster C18:1	0,7715	abajo	5,23E-05
Taurina	1,2525	arriba	9,72E-05
TAG (C16:0, C18:2)	1,2934	arriba	0,00091
Ácido úrico	1,1564	arriba	0,000939
TAG (C18:1, C18:2)	1,3302	arriba	0,00099
Glicerol, fracción lípido	1,3816	arriba	0,001367
TAG (C16:0, C18:1, C18:2)	1,3509	arriba	0,002192
CE_colesteriléster C15:0	0,8215	abajo	0,002242
SP_esfingosina-1-fosfato (d17:1)	0,8497	abajo	0,002442

ES 2 686 542 T3

(continuación)

Nombre-metabolito	Relación de mediana	Regulación	Valor p
SP_esfinganina (d18:0)	1,2867	arriba	0,002474
SP_esfingosina (d18:1)	1,3486	arriba	0,002704
Sarcosina	1,0901	arriba	0,003105
Beta-Caroteno	0,7568	abajo	0,003481
Cisteína	1,0924	arriba	0,003905
Ácido tricosanoico (C23:0)	0,8682	abajo	0,004041
TAG (C16:0, C16:1)	1,3303	arriba	0,004263
Ácido eicosanoico (C20:cis[11]1)	1,2145	arriba	0,005339
Isoleucina	1,1098	arriba	0,005399
Esfingomielina (d18:1, C23:0)	0,926	abajo	0,005483
SM_esfingomielina (d18:2, C23:0)	0,897	abajo	0,006161
Noradrenalina (Norepinefrina)	1,2232	arriba	0,006926
Lisofosfatidilcolina (C17:0)	0,8834	abajo	0,008806
Testosterona	0,8292	abajo	0,009379
TAG (C18:2, C18:2)	1,2656	arriba	0,009482
Isocitrato	1,1189	arriba	0,011414
SM_esfingomielina (d17:1, C24:0)	0,885	abajo	0,011423
SM_esfingomielina (d17:1, C23:0)	0,8387	abajo	0,011783
Zeaxantina	0,8283	abajo	0,012366
SM_esfingomielina (d16:1, C23:0)	0,869	abajo	0,014315
Criptoxantina	0,7778	abajo	0,018169
Eritrol	1,121	arriba	0,023299
CER_ceramida (d17:1, C23:0)	0,8563	abajo	0,030171
Colesteriléster C16:0	0,8446	abajo	0,030834
SM_esfingomielina (d17:1, C22:0)	0,9062	abajo	0,032352
SM_esfingomielina (d18:1, C21:0)	0,9242	abajo	0,032429
SM_esfingomielina (d16:1, C21:0)	0,8795	abajo	0,034803
Glucosa	1,0597	arriba	0,035437
Glutamato	1,1813	arriba	0,036213
Fumarato	1,0499	arriba	0,03758
SM_esfingomielina (d17:1, C20:0)	0,9101	abajo	0,039401
CE_colesteriléster C14:0	0,8974	abajo	0,044159
Cistina	1,1237	arriba	0,044881

(continuación)

Nombre-metabolito	Relación de mediana	Regulación	Valor p
Ácido 8-hidroxi-eicosatetraenoico(C20:trans[5]cis[9,11,14]4) (8-HETE)	1,1957	arriba	0,047092
1-hidroxi-2-amino-(cis,trans)-3,5-octadecadieno (de esfingolípidos)	0,9003	abajo	0,047207
Uridina	0,8827	abajo	0,047309
Sorbitol	1,2852	arriba	0,048213
SM_esfingomielina (d18:1, C14:0)	0,9258	abajo	0,049457
Ácido elaídico (C18:trans[9]1)	1,6069	arriba	0,05134
SM_esfingomielina (d18:2, C21:0)	0,9165	abajo	0,052457
Aspartato	1,0842	arriba	0,056222
Coenzima Q10	1,1425	arriba	0,068217
CER_ceramida (d18:1, C18:0)	1,1056	arriba	0,070545
SM_esfingomielina (d17:1, C16:0)	0,9289	abajo	0,07279
SM_esfingomielina (d18:2, C23:1)	0,9224	abajo	0,073683
Lactaldehído	1,0822	arriba	0,078804
Pseudouridina	1,0653	arriba	0,082343
Ácido hipúrico	0,7733	abajo	0,083253
SM_esfingomielina (d18:1, C23:1)	0,9341	abajo	0,088944
CER_ceramida (d17:1, C24:0)	0,8949	abajo	0,091594
Glucosa-1-fosfato	1,0739	arriba	0,091687
SM_esfingomielina (d18:2, C24:0)	0,933	abajo	0,092261

Tabla 2: Metabolito con una diferencia significativa (valor  $p < 0,05$ ) en cambio inducido por ejercicio entre ICC y control

Metabolito	Relación de mediana	Regulación	Valor p
Glutamato	0,724	abajo	0,000274
Hipoxantina	0,448	abajo	0,000276
Adrenalina (Epinefrina)	0,439	abajo	0,001258
Lactato	0,612	abajo	0,005556
Ácido indol-3-láctico	1,198	arriba	0,007027
Ácido treónico	1,160	arriba	0,018026
Colestenol No 02	0,906	abajo	0,022576
Alfa-tocotrienol	1,206	arriba	0,028952
Coenzima Q9	1,166	arriba	0,029375
Histidina	1,083	arriba	0,039156

(continuación)

Nombre-metabolito	Relación de mediana	Regulación	Valor p
Fosfatidilcolina (C18:0, C20:4)	1,008	arriba	0,039198
Lisofosfatidilcolina (C18:1)	1,027	arriba	0,040233

Tabla 3: Metabolitos con una diferencia significativa (valor  $p < 0,05$ ) entre pacientes con ICC y controles sanos en el máximo de ejercicio (t1) pero no en reposo (t0)

Punto temporal	t0	t0	t0	t1	t1	t1
Metabolito	Relación de mediana	Regulación	Valor p	Relación de mediana	Regulación	Valor p
Lactato	1,149	arriba	0,161549	0,705	abajo	0,015456
Citrato	1,118	arriba	0,256634	1,132	arriba	0,040482

Tabla 4a: Metabolitos con una diferencia significativa (valor  $p < 0,05$ ) entre pacientes con ICC (cardiomiopatía dilatada) con puntuación NYHA 1 y controles sanos

Metabolito	Relación de mediana	Regulación	Valor p
Manosa	2,168	arriba	0,000025
Lisofosfatidilcolina (C18:2)	0,699	abajo	0,000748
Adrenalina (Epinefrina)	2,411	arriba	0,004448
Hipoxantina	1,779	arriba	0,004996
Fosfatidilcolina (C18:0, C18:2)	1,022	arriba	0,012486
Glucosa	1,271	arriba	0,014916
Fosfato (inorgánico y de fosfatos orgánicos)	0,793	abajo	0,015030
Cortisol	1,340	arriba	0,017261
Fosfatidilcolina (C18:0, C22:6)	1,239	arriba	0,017614
2-hidroxitirato	1,810	arriba	0,019583
Corticosterona	1,293	arriba	0,019642
Androstendiona	1,785	arriba	0,035365
Glutamato	1,333	arriba	0,039299
Pentadecanol	0,581	abajo	0,044212
Maltosa	1,7858	arriba	8,3846E-06
CE_colesteriléster C15:0	0,7215	abajo	1,073E-05
Colesteriléster C18:2	0,7456	abajo	1,7406E-05
SM_esfingomielina (d17:1, C24:0)	0,7957	abajo	2,6209E-05
Noradrenalina (Norepinefrina)	1,4153	arriba	5,5355E-05
Mio-inositol	1,1987	arriba	6,44E-05
SM_esfingomielina (d17:1, C23:0)	0,731	abajo	8,1995E-05
SM_esfingomielina (d17:1, C22:0)	0,8196	abajo	0,00013927

ES 2 686 542 T3

(continuación)

Nombre-metabolito	Relación de mediana	Regulación	Valor p
Sorbitol	1,7458	arriba	0,00014037
Normetanefrina	1,5039	arriba	0,0001699
Isocitrato	1,2084	arriba	0,00019135
SM_esfingomielina (d18:1, C23:0)	0,8716	abajo	0,00026783
Ornitina	1,1704	arriba	0,00037428
Eritrol	1,2249	arriba	0,00040476
Sarcosina	1,1251	arriba	0,00042563
Cistina	1,2636	arriba	0,00044298
Testosterona	0,7586	abajo	0,00086625
CE_colesteriléster C14:0	0,8093	abajo	0,0008742
Uridina	0,7862	abajo	0,00092815
SM_esfingomielina (d18:1, C14:0)	0,8622	abajo	0,00104019
Ácido lignocérico (C24:0)	0,8223	abajo	0,00134372
Ácido tricosanoico (C23:0)	0,8376	abajo	0,00139431
1-hidroxi-2-amino-(cis,trans)-3,5-octadecadieno (de esfingolípidos)	0,8262	abajo	0,00145507
SM_esfingomielina (d16:1, C24:0)	0,7694	abajo	0,00146283
Urea	1,2149	arriba	0,00151119
Beta-Caroteno	0,7083	abajo	0,00164813
Tirosina	1,1473	arriba	0,001792
Ácido behénico (C22:0)	0,8547	abajo	0,00192144
Alfa-cetoglutarato	1,218	arriba	0,00195906
SM_esfingomielina (d16:1, C23:0)	0,8262	abajo	0,00281307
Taurina	1,2111	arriba	0,00288466
SM_esfingomielina (d18:1, C24:0)	0,8827	abajo	0,0032925
3-metoxitirosina	1,259	arriba	0,00371589
Lisofosfatidilcolina (C17:0)	0,8552	abajo	0,00392246
SM_esfingomielina (d18:2, C23:0)	0,8797	abajo	0,00428746
CER_ceramida (d18:2, C14:0)	0,8188	abajo	0,00445012
SM_esfingomielina (d17:1, C16:0)	0,8763	abajo	0,00489531
Colesta-2,4,6-trieno	0,8657	abajo	0,00545382
SM_esfingomielina (d18:2, C24:0)	0,8781	abajo	0,00576839
Fenilalanina	1,0947	arriba	0,00620035
Cisteína	1,1	arriba	0,00624402

ES 2 686 542 T3

(continuación)

Nombre-metabolito	Relación de mediana	Regulación	Valor p
SM_esfingomielina (d16:1, C22:0)	0,8502	abajo	0,00665211
Ácido úrico	1,1441	arriba	0,00696304
CER_ceramida (d17:1, C24:0)	0,8237	abajo	0,00931215
Glucosa-1-fosfato	1,1388	arriba	0,00940813
CE_colesteriléster C22:5	0,8609	abajo	0,0095955
CE_colesteriléster C16:2	0,8095	abajo	0,00966362
Dehidroepiandrosterona sulfato	0,6524	abajo	0,00995067
Glicerol-3-fosfato, fracción polar	1,1886	arriba	0,00997307
Isoleucina	1,1158	arriba	0,0102759
SM_esfingomielina (d17:1, C20:0)	0,8765	abajo	0,01056663
CER_ceramida (d18:1, C14:0)	0,852	abajo	0,01059946
Colesterol, total	0,9069	abajo	0,01060847
SM_esfingomielina (d18:1, C22:0)	0,8438	abajo	0,01179659
Ácido linoleico (C18:cis[9,12]2)	0,8487	abajo	0,01208761
Treo-esfingosina (*1)	0,8906	abajo	0,01352672
SM_esfingomielina (d17:1,C24:1)	0,9005	abajo	0,01479843
CE_colesteriléster C16:3	0,8114	abajo	0,01621643
CE_colesteriléster C14:1	0,7197	abajo	0,01779781
Colesteriléster C18:1	0,837	abajo	0,01841802
Escilo-Inositol	1,2605	arriba	0,02009089
CE_colesteriléster C22:6	0,8245	abajo	0,02009893
Pseudouridina	1,0972	arriba	0,02576962
CER_ceramida (d17:1, C23:0)	0,8359	abajo	0,02705684
Eritro-C16-esfingosina	0,8592	abajo	0,02915249
Ácido eicosenoico (C20:cis[11]1)	1,1968	arriba	0,02965701
SP_esfinganina (d18:0)	1,2368	arriba	0,03058449
Ácido isopalmitico (C16:0)	0,8326	abajo	0,03139525
Colesta-2,4-dieno	0,8837	abajo	0,03222468
Lisofosfatidilcolina (C18:0)	0,8999	abajo	0,03342501
Fosfatidilcolina (C16:1, C18:2)	0,9093	abajo	0,03389605
Colesteriléster C16:0	0,8258	abajo	0,03509819
TAG (C16:0,C18:2)	1,2113	arriba	0,03532712
SM_esfingomielina (d18:2, C22:0)	0,8964	abajo	0,03540009

ES 2 686 542 T3

(continuación)

Nombre-metabolito	Relación de mediana	Regulación	Valor p
CER_ceramida (d17:1, C16:0)	0,8814	abajo	0,03839909
Glicerol, fracción lípido	1,2796	arriba	0,03879761
CE_colesteriléster C18:3	0,8253	abajo	0,04166858
5-Oxoprolina	1,0601	arriba	0,04385594
CE_colesteriléster C22:4	0,8749	abajo	0,04444786
Serina, fracción lípido	1,2253	arriba	0,046845
5-O-metilesfingosina (*1)	0,8943	abajo	0,04788647
TAG (C16:0, C18:1, C18:2)	1,2557	arriba	0,04838256
SP_esfingosina (d18:1)	1,2602	arriba	0,04924965
(*1): sin esfingolípidos y derivado de ellos			

Tabla 4b: Metabolitos de la Tabla 4a que presentaron además una diferencia significativa (valor p < 0,1) entre pacientes con cardiomiopatía isquémica (ICMP) con puntuación NYHA 1 y controles sanos

Nombre_metabolito	Relación de mediana	Regulación	Valor p
Colesteriléster C18:2	0,6118	abajo	1,7191E-12
SM_esfingomielina (d18:1, C14:0)	0,7778	abajo	3,7018E-08
Sorbitol	2,0982	arriba	4,3743E-07
SM_esfingomielina (d18:2, C23:0)	0,8125	abajo	4,0589E-06
SM_esfingomielina (d17:1, C23:0)	0,7067	abajo	1,1938E-05
CE_colesteriléster C15:0	0,7269	abajo	1,472E-05
SM_esfingomielina (d18:1, C23:0)	0,8512	abajo	1,8295E-05
TAG (C16:0,C18:2)	1,453	arriba	1,8737E-05
Colesteriléster C18:1	0,7343	abajo	1,939E-05
Ácido tricosanoico (C23:0)	0,7919	abajo	2,5541E-05
1-hidroxi-2-amino-(cis,trans)-3,5-octadecadieno (de esfingolípidos)	0,7813	abajo	3,8025E-05
Colesterol, total	0,8603	abajo	3,8932E-05
TAG (C16:0,C18:1,C18:2)	1,572	arriba	4,2286E-05
SM_esfingomielina (d17:1, C16:0)	0,8268	abajo	5,0421E-05
CE_colesteriléster C14:0	0,785	abajo	6,3189E-05
Beta-Caroteno	0,6577	abajo	0,00012609
Treo-esfingosina (*1)	0,8433	abajo	0,00014084
Colesta-2,4-dieno	0,8112	abajo	0,00014837
Lisofosfatidilcolina (C17:0)	0,8168	abajo	0,00018589

ES 2 686 542 T3

(continuación)

Nombre-metabolito	Relación de mediana	Regulación	Valor p
Glucosa	1,1224	arriba	0,00021581
Glutamato	1,3974	arriba	0,00024219
SM_esfingomielina (d17:1, C24:0)	0,8216	abajo	0,00026196
Ácido lignocérico (C24:0)	0,8114	abajo	0,00031083
SM_esfingomielina (d16:1, C23:0)	0,7977	abajo	0,00038589
Fosfatidilcolina (C18:0,C18:2)	1,0177	arriba	0,00040589
SM_esfingomielina (d18:2, C24:0)	0,8492	abajo	0,00049962
5-O-metilesfingosina (*1)	0,8249	abajo	0,0006501
SM_esfingomielina (d17:1, C22:0)	0,8428	abajo	0,00094804
Cistina	1,2438	arriba	0,00096287
Taurina	1,2299	arriba	0,00120903
Glucosa-1-fosfato	1,1646	arriba	0,00135235
SM_esfingomielina (d17:1, C24:1)	0,8718	abajo	0,00137508
Glicerol, fracción lípido	1,4351	arriba	0,00147588
Ácido behénico (C22:0)	0,8594	abajo	0,00159109
SM_esfingomielina (d16:1, C24:0)	0,7739	abajo	0,00173184
Isocitrato	1,1685	arriba	0,00194376
Cisteína	1,1133	arriba	0,0019666
3-metoxitirosina	1,2542	arriba	0,00284987
CER_ceramida (d18:1, C14:0)	0,8291	abajo	0,00290481
Eritro-C16-esfingosina	0,8147	abajo	0,00311066
Ácido linoleico (C18:cis[9,12]2)	0,8385	abajo	0,00451392
Maltosa	1,4331	arriba	0,00496723
Adrenalina (Epinefrina)	1,5012	arriba	0,00542671
SM_esfingomielina (d18:2, C22:0)	0,8703	abajo	0,00727388
Lisofosfatidilcolina (C18:2)	0,8695	abajo	0,00744797
Normetanefrina	1,3345	arriba	0,00759363
SM_esfingomielina (d18:1, C24:0)	0,8937	abajo	0,0076034
Colesteriléster C16:0	0,7884	abajo	0,00805685
Ácido eicosanoico (C20:cis[11]1)	1,2302	arriba	0,00826261
Colesta-2,4,6-trieno	0,8784	abajo	0,00837711
CE_colesteriléster C22:5	0,8605	abajo	0,00891577
Dehidroepiandrosterona sulfato	0,6661	abajo	0,00966052

ES 2 686 542 T3

(continuación)

Nombre-metabolito	Relación de mediana	Regulación	Valor p
Pseudouridina	1,1119	arriba	0,01037548
CE_colesteriléster C22:4	0,8457	abajo	0,01129319
CE_colesteriléster C14:1	0,7165	abajo	0,01133041
Lisofosfatidilcolina (C18:0)	0,8831	abajo	0,01177707
Ácido úrico	1,1327	arriba	0,01187686
SM_esfingomielina (d18:1, C22:0)	0,8458	abajo	0,01247557
Testosterona	0,8204	abajo	0,01585512
CER_ceramida (d17:1, C23:0)	0,8278	abajo	0,02004195
SM_esfingomielina (d16:1, C22:0)	0,875	abajo	0,0242648
Noradrenalina (Norepinefrina)	1,2117	arriba	0,02471946
CE_colesteriléster C16:2	0,8476	abajo	0,03239574
5-Oxoprolina	1,0599	arriba	0,03394216
Alfa-cetoglutarato	1,1326	arriba	0,03826297
CER_ceramida (d17:1, C24:0)	0,8583	abajo	0,04035007
Ácido Isopalmítico (C16:0)	0,8489	abajo	0,04227044
CE_colesteriléster C18:3	0,8356	abajo	0,04430951
CE_colesteriléster C22:6	0,8484	abajo	0,04599329
SM_esfingomielina (d17:1, C20:0)	0,9092	abajo	0,06237979
Isoleucina	1,0817	arriba	0,06356105
Tirosina	1,083	arriba	0,06681343
Ornitina	1,0775	arriba	0,07275574
Fosfatidilcolina (C16:1, C18:2)	0,9234	abajo	0,0730987
Manosa	1,1099	arriba	0,07913279
Mio-inositol	1,08	arriba	0,08438868
(*1): sin esfingolípidos y derivados de ellos			

Tabla 4c: Metabolitos de Tabla 4a que presentaron además una diferencia significativa (valor p < 0,1) entre pacientes HCMP con puntuaciones NYHA 1 y controles sanos

Nombre_metabolito	Relación de mediana	Regulación	Valor p
Maltosa	2,3774	arriba	9,1877E-11
Colesteriléster C18:2	0,7422	abajo	1,5121E-05
Taurina	1,3057	arriba	4,2799E-05
Colesteriléster C18:1	0,7566	abajo	0,00017957
Isoleucina	1,1583	arriba	0,00067494

ES 2 686 542 T3

(continuación)

TAG (C16:0,C18:2)	1,3413	arriba	0,00106071
Sarcosina	1,1148	arriba	0,00123586
SP_esfinganina (d18:0)	1,3661	arriba	0,00126025
SP_esfingosina (d18:1)	1,4493	arriba	0,00135359
TAG (C16:0,C18:1,C18:2)	1,4301	arriba	0,00163138
CE_colesteriléster C15:0	0,814	abajo	0,00544571
SM_esfingomielina (d18:1, C23:0)	0,9016	abajo	0,00613976
Ácido tricosanoico (C23:0)	0,8591	abajo	0,00645307
SM_esfingomielina (d18:2, C23:0)	0,8856	abajo	0,00715908
Glicerol, fracción lípido	1,3643	arriba	0,00800466
Ácido eicosanoico (C20:cis[11]1)	1,2284	arriba	0,01113831
SM_esfingomielina (d17:1, C23:0)	0,8234	abajo	0,01457624
Ácido úrico	1,1278	arriba	0,01663987
Beta-caroteno	0,7703	abajo	0,01772396
Serina, fracción lípido	1,2593	arriba	0,02396587
Testosterona	0,8387	abajo	0,03444244
CE_colesteriléster C22:5	0,8857	abajo	0,03705511
Noradrenalina (Norepinefrina)	1,1939	arriba	0,03929456
CE_colesteriléster C22:4	0,8728	abajo	0,04240014
1-hidroxi-2-amino-(cis,trans)-3,5-octadecadieno (de esfingolípidos)	0,8851	abajo	0,04256896
Uridina	0,8639	abajo	0,04452619
Glutamato	1,199	arriba	0,04801547
Lisofosfatidilcolina (C17:0)	0,8984	abajo	0,04926739
SM_esfingomielina (d16:1, C23:0)	0,8842	abajo	0,05494844
Colesteriléster C16:0	0,8449	abajo	0,06302395
SM_esfingomielina (d18:1, C14:0)	0,9196	abajo	0,06434119
SM_esfingomielina (d17:1, C22:0)	0,9084	abajo	0,0655624
SM_esfingomielina (d18:2, C24:0)	0,9168	abajo	0,06627783
Eritrol	1,112	arriba	0,06717477
Isocitrato	1,097	arriba	0,06783798
SM_esfingomielina (d17:1, C20:0)	0,9104	abajo	0,06992485
SM_esfingomielina (d17:1, C24:0)	0,9103	abajo	0,08265925
CER_ceramida (d18:2, C14:0)	0,8865	abajo	0,08795584

## ES 2 686 542 T3

Tabla 5: Metabolitos con una diferencia significativa (valor  $p < 0,05$ ) en cambio inducido por ejercicio entre ICC con puntuación NYHA 1 y control

Metabolito	Relación de mediana	Regulación	Valor p
Glutamato	0,720	abajo	0,025093
Hipoxantina	0,407	abajo	0,034843
Fosfatidilcolina (C18:0. C20:4)	1,011	arriba	0,048864

Tabla 6: Metabolitos con una diferencia significativa (valor  $p < 0,05$ ) entre pacientes con ICC con una puntuación NYHA 1 en el máximo de ejercicio (t1) pero no en reposo (t0)

Punto temporal	t0	t0	t0	t1	t1	t1	
Parámetro	Relación de mediana	de	Regulación	Valor p	Relación de mediana	Regulación	Valor p
Fosfatidilcolina (C18:0. C20:4)	1,035900639		arriba	0,33999 4	1,0542745 85	arriba	0,049492

Tabla 7: Propiedades químicas/físicas de analitos seleccionados. Estos biomarcadores se caracterizan en el presente documento por sus propiedades físicas y químicas

Metabolito	Modelo de fragmentación (EMCG) y descripción
Glicerol fosfato, fracción lípido	glicerol fosfato, fracción lípido representa el parámetro de metabolitos que contienen glicerol-2-fosfato o una fracción de glicerol-3-fosfato y que están presentes en la fracción lípido tras la extracción y separación del extracto en una fracción lípido y polar
3-O-metilesfingosina	3-O-metilesfingosina presenta los siguientes fragmentos iónicos característicos si se detecta por CG/EM aplicando espectrometría de masas de ionización por impacto de electrones (EI) tras metanolisis ácida y derivatización con 2% O-metilhidroxilamina-clorhidrato en piridina y, posteriormente. Con N-metil-N-trimetilsililtrifluoroacetamida: EM (EI, 70 eV): m/z (%): 204 (100), 73 (18), 205 (16), 206 (7), 354 (4), 442 (1).
5-O-metilesfingosina	5-O-metilesfingosina presenta los siguientes fragmentos iónicos característicos si se detecta con CG/EM aplicando espectrometría de masas de ionización por impacto de electrones(EI), tras la metanolisis ácida y derivatización con 2% de O-metilhidroxilamina-clorhidrato en piridina y posteriormente con N-metil-N-trimetilsililtrifluoroacetamida: EM(EI, 70 eV): m/z (%): 250 (100), 73 (34), 251 (19), 354 (14), 355 (4), 442 (1).
Fosfatidilcolina No 02	Fosfatidilcolina No 02 representa el parámetro suma de fosfatidilcolinas. Presenta las siguientes especies iónicas características cuando se detecta por LC/EM, aplicando espectrometría de masas de ionización por electrospray (ESI): relación masa-a-carga (m/z) de la especie iónica positivamente cargada es 808,4 (+/- 0,5).
TAG (C16:0,C16:1)	TAG (C16:0, C16:1) representa el parámetro suma de triacilglicéridos que contienen la combinación de una unidad de ácido graso C16:0 y una unidad de ácido graso C16:1. Presenta las siguientes especies iónicas características cuando se detecta por CL/EM, aplicando espectrometría de masas de ionización por electrospray (ESI): la relación masa-a-carga (m/z) de las especies iónicas cargadas positivas es 549,6 (+/- 0,5).
TAG (C16:0, C18:2)	TAG (C16:0, C18:2) representa el parámetro suma de triacilglicéridos que contienen una combinación de una unidad de ácido graso de C16:0 y una unidad de ácido graso de C18:2. Presenta las siguientes especies iónicas características cuando se detecta por LC/EM, aplicando espectrometría de masas de ionización por electrospray (ESI): la relación masa-a-carga (m/z) de las especies iónicas cargadas positivamente es 575,6 (+/- 0,5).
TAG (C18:1, C18:2)	TAG (C18:1, C18:2) representa el parámetro suma de triacilglicéridos que contienen una combinación de una unidad de ácido graso de C18:1 y una unidad de ácido graso de C18:2. Presenta las siguientes especies iónicas características cuando se detecta por LC/EM. Aplicando espectrometría de masas de ionización por electrospray (ESI): la relación masa-a-carga (m/z) de las especies iónicas cargadas positivamente es 601,6 (+/- 0,5).

(continuación)

Metabolito	Modelo de fragmentación (EMCG) y descripción
TAG (C18:2, C18:2)	TAG (C18:2, C18:2) representa el parámetro suma de triacilglicéridos que contienen una combinación de dos unidades de ácido graso de C18:2. Presenta las siguientes especies iónicas características cuando se detecta por LC/EM aplicando espectrometría de masas de ionización por electrospray (ESI): la relación masa-a-carga (m/z) de las especies iónicas cargadas positivamente es 599,6 (+/- 0,5).
Colestenol No 02	Colestenol No 02 representa un isómero de colesteno. Presenta los siguientes fragmentos iónicos característicos si se detecta por CG/EM aplicando espectrometría de ionización por impacto de electrones (EI), tras metanolisis ácida y derivatización con 2 % O-metilhidroxilamino-clorhidrato en piridina y posteriormente con N-metil-N-trimetilsililtrifluoroacetamida: EM (EI, 70 eV): m/z (%): 143 (100), 458 (91), 73 (68), 81 (62), 95 (36), 185 (23), 327 (23), 368 (20), 255 (15), 429 (15).

Marcador de diagnóstico y riesgo de diabetes de acuerdo con la patente internacional WO2012/085890:

Tabla 8: Biomarcador de diabetes glioxilato

Glioxilato	Pregunta de diagnóstico	Dirección	Valor p	Relación
	Diabetes frente a sano	arriba	0,011	1,23
	No sano (riesgo y diabetes) frente a personas sanas	arriba	0,017	1,13
	Riesgo de PTGO frente a sano	arriba	0,024	1,16
	Todos los pacientes en riesgo frente a los sanos	arriba	0,052	1,11
	Comparación basada en glucosa positiva (pacientes con diabetes y en riesgo) frente a neg negativo (controles sanos, (umbrales de cuantil con hueco en la concentración de glucosa)	arriba	0,0026	1,19
	Correlación con HbA1c numérico	arriba	0,056	1,051
	Comparación basada en HbA1c pos frente a neg (umbrales normales con hueco)	arriba	0,036	1,15
	Comparación basada en HbA1c pos frente a neg (umbrales de cuantil con hueco)	arriba	0,039	1,13
	Diabetes frente a GAA	arriba	0,095	1,15
	GAA+TGA frente a sano	arriba	0,0043	1,23
	Diabetes frente a TGA	arriba	0,095	1,20
	Diabetes detectable por glucosa en ayunas frente a sano	arriba	0,0082	1,32

5

Marcadores de diagnóstico para diabetes de acuerdo con la patente internacional WO2007/110357:

Tabla 9: Nuevos metabolitos específicos de diabetes determinados en un conjunto de datos completo, los metabolitos ("NOMBRE QUÍMICO") se clasifican de acuerdo con el valor p de la prueba t ("p, t") partiendo de las observaciones más significativas. Asimismo, los valores de cambio en incremento de veces ("Cambio en incremento de veces": media de las relaciones de señal de pacientes con diabetes dividido por la media de la relación de señal de sujetos de control) y se proporciona el tipo de regulación en los pacientes de diabetes ("Tipo de regulación": que distingue si el cambio de incremento de veces está por encima de 1 ("arriba") o por debajo de 1 ("abajo")).

10

Nombre químico	Regulación	Cambio en incremento de veces	p, t
1,5-anhidrosorbitol	abajo	0,83	1,68E-10
Ácido eicosanoico (C20:1)	arriba	1,23	3,68E-09

(continuación)

Nombre químico	Regulación	Cambio en incremento de veces	p, t
Eritrol	arriba	1,17	1,87E-08
Ácido ribónico	arriba	1,12	0,000207352
Ácido tricosanoico (C23:0)	abajo	0,91	0,000690021
Pentadecanol	arriba	1,14	0,002821548
Campesterol	abajo	0,92	0,008032527
Ácido maleico	abajo	0,93	0,012630545
Ácido melísico (C30:0)	abajo	0,97	0,032299205

5 Tabla 10: Metabolitos específicos de diabetes determinados en hombres emparejados por edad. Los metabolitos ("NOMBRE QUÍMICO") se clasifican de acuerdo con el valor p de la prueba t ("p, t") partiendo de las observaciones más significativas. Asimismo, se proporcionan los valores del cambio en incremento de veces ("Cambio en incremento de veces": media de las relaciones de señal de pacientes con diabetes dividido por la media de la relación de señal de sujetos de control) y el tipo de regulación en los pacientes con diabetes ("Tipo de regulación": que distingue si el cambio en el incremento de veces está por encima de 1 ("arriba") o por debajo de 1 ("abajo").

Nombre químico	Regulación	Cambio en incremento de veces	p, t
1,5-Anhidrosorbitol	abajo	0,715966162	5,46E-07
Ácido eicosanoico (C20:1)	arriba	1,289836715	0,00169478
Pentadecanol	arriba	1,215689075	0,029197314

10 Tabla 11: Nuevos metabolitos específicos de diabetes determinados en mujeres emparejadas por edad. Los metabolitos ("NOMBRE QUÍMICO") se clasifican de acuerdo con el valor p de la prueba t ("p, t") partiendo de las observaciones más significativas. Asimismo, se proporcionan los valores del cambio en incremento de veces ("Cambio en incremento de veces": media de las relaciones de señal de pacientes con diabetes dividido por la media de la relación de señal de sujetos de control) y el tipo de regulación en los pacientes con diabetes ("Tipo de regulación": que distingue si el cambio en el incremento de veces está por encima de 1 ("arriba") o por debajo de 1 ("abajo").

Nombre químico	Regulación	Cambio en incremento de veces	p, t
Ácido eicosanoico (C20:1)	arriba	1,179797938	0,001492544
Campesterol	abajo	0,808075198	0,003629138
Ácido tricosanoico (C23:0)	abajo	0,894095758	0,013812625
Ácido ribónico	arriba	1,138360459	0,01522522
Eritrol	arriba	1,129463926	0,033964934

20 Tabla 12: Nuevos metabolitos específicos de diabetes combinados de las tablas 1-3. Los metabolitos ("NOMBRE QUÍMICO") se clasifican de acuerdo con el valor p de la prueba t ("p, t") partiendo de las observaciones más significativas. Asimismo, se proporcionan los valores del cambio en incremento de veces ("Cambio en incremento de veces": media de las relaciones de señal de pacientes con diabetes dividido por la media de la relación de señal de sujetos de control) y el tipo de regulación en los pacientes con diabetes ("Tipo de regulación": que distingue si el cambio en el incremento de veces está por encima de 1 ("arriba") o por debajo de 1 ("abajo").

Nombre químico	Regulación	Cambio en incremento de veces	p, t
1,5-Anhidrosorbitol	abajo	0,829793095	1,68E-10
Ácido eicosanoico (C20:1)	arriba	1,232521755	3,68E-09
Eritrol	arriba	1,165086499	1,87E-08

(continuación)

Nombre químico	Regulación	Cambio en incremento de veces	p, t
Ácido ribónico	arriba	1,123283244	0,000207352
Ácido tricosanoico (C23:0)	abajo	0,914819475	0,000690021
Pentadecanol	arriba	1,137229303	0,002821548
Campesterol	abajo	0,808075198	0,003629138
Ácido maleico	abajo	0,925831953	0,012630545
Ácido melísico (C30:0)	abajo	0,967955786	0,032299205

5 Tabla 13: Metabolitos específicos de diabetes determinados en un conjunto de datos completo. Los metabolitos ("NOMBRE QUÍMICO") se clasifican de acuerdo con el valor p de la prueba t ("p, t") partiendo de las observaciones más significativas. Asimismo, se proporcionan los valores del cambio en incremento de veces ("Cambio en incremento de veces": media de las relaciones de señal de pacientes con diabetes dividido por la media de la relación de señal de sujetos de control) y el tipo de regulación en los pacientes con diabetes ("Tipo de regulación": que distingue si el cambio en el incremento de veces está por encima de 1 ("arriba") o por debajo de 1 ("abajo"). Se excluyó de la tabla la observación trivial de niveles de glucosa significativamente alterados de pacientes con diabetes en relación con los sujetos de control

Nombre químico	Regulación	Cambio en incremento de veces	p, t
Ácido ascórbico	arriba	1,46	3,36E-57
Manosa	arriba	1,49	1,73E-42
Valina	arriba	1,20	5,67E-21
Isoleucina	arriba	1,23	4,91E-20
Leucina	arriba	1,19	7,13E-18
Ácido úrico	arriba	1,22	3,51E-17
Cisteína	arriba	1,27	6,53E-15
DAG putativo(C18:1,C18:2 o C18:0,C18:3)	arriba	1,35	1,65E-14
Piruvato	arriba	1,43	1,08E-13
Glicerol, fracción lípido	arriba	1,36	2,60E-13
Alanina	arriba	1,16	9,73E-13
Ácido docosahexaenoico (C22:cis[4,7,10,13,16,19]6)	arriba	1,35	2,92E-12
Ácido a-cetoisocaproico	arriba	1,36	3,71E-12
Tirosina	arriba	1,15	3,94E-12
Coenzima Q10	arriba	1,44	4,82E-12
Fenilalanina	arriba	1,12	4,79E-10
Ácido araquidónico (C20:cis-[5,8,11,14]4)	arriba	1,18	1,03E-09
Ácido palmítico (C16:0)	arriba	1,16	2,25E-09
Glicina	abajo	0,88	3,11E-07
Metionina	arriba	1,12	3,97E-07
Ácido eicosapentaenoico (C20:cis[5,8,11,14,17]5)	arriba	1,40	6,24E-07
Prolina	arriba	1,13	8,62E-07

ES 2 686 542 T3

(continuación)

Nombre químico	Regulación	Cambio en incremento de veces	p, t
Ácido pantoténico	arriba	1,15	8,71E-07
Ácido esteárico (C18:0)	arriba	1,12	1,88E-06
Citrato	arriba	1,10	2,00E-06
Ácido heptadecanoico (C17:0)	arriba	1,13	3,08E-06
Ácido trans-9-hexadecenoico (C16:trans[9]1)	arriba	1,23	1,01E-05
Urea	arriba	1,15	1,39E-05
Ácido mirístico (C14:0)	arriba	1,24	2,07E-05
Trans-4-hidroxiprolina	arriba	1,17	3,23E-05
Ácido 3-hidroxiбутírico	arriba	1,29	5,88E-05
Malato	arriba	1,09	7,55E-05
Ácido lignocérico (C24:0)	abajo	0,92	0,000180162
Mio-inositol	arriba	1,10	0,00026466
Fosfato (inorgánico y de fosfatos orgánicos)	arriba	1,06	0,000360853
Glicerol. Fracción polar	arriba	1,12	0,000497516
Lisina	arriba	1,09	0,001206357
Creatinina	arriba	1,12	0,004335171
Ácido treónico	abajo	0,90	0,00480835
Succinato	abajo	0,93	0,005840745
Ácido glicérico	abajo	0,90	0,006088538
Ácido linoléico (C18:cis[9,12,15]3)	arriba	1,10	0,006887601
Lactato	arriba	1,10	0,007055085
Glicerol-3-fosfato. Fracción polar	arriba	1,08	0,010395131
Treonina	abajo	0,95	0,011333993
Fosfato, lípido (fosfolípidos)	abajo	0,96	0,011654865
Alfa-tocoferol	arriba	1,15	0,01644293
Mio-inositol-2-monofosfato, fracción lípido (mio-inositolfosfolípidos)	arriba	1,10	0,023497772
Ácido linoleico (C18:cis[9,12]2)	arriba	1,05	0,029803521
Colesterol	abajo	0,95	0,040018899
Triptofano	arriba	1,04	0,044645682
Glutamina	arriba	1,08	0,048316597

5 Tabla 14: Metabolitos específicos de diabetes determinados en hombres emparejados por edad. Los metabolitos ("NOMBRE QUÍMICO") se clasifican de acuerdo con el valor p de la prueba t ("p, t") partiendo de las observaciones más significativas. Asimismo, se proporcionan los valores del cambio en incremento de veces ("Cambio en incremento de veces": media de las relaciones de señal de pacientes con diabetes dividido por la media de la relación de señal de sujetos de control) y el tipo de regulación en los pacientes con diabetes ("Tipo de regulación": que distingue si el cambio en el incremento de veces está por encima de 1 ("arriba") o por debajo de 1 ("abajo"). Se excluyeron de la tabla las observaciones triviales de niveles de glucosa significativamente alterados de pacientes con diabetes en relación con los sujetos de control

Nombre químico	Regulación	Cambio en incremento de veces	p, t
Ácido ascórbico	arriba	1,484165764	4,48E-16
Manosa	arriba	1,441573139	1,02E-10
Triacilglicéridos (que contienen C16:1, C18:1 o C16:0)	arriba	1,241759768	5,15E-06
Glicerol, fracción lípido	arriba	1,450283984	0,000120249
Valina	arriba	1,1519912	0,000250545
Glicina	abajo	0,893625097	0,000402058
Ácido úrico	arriba	1,154617325	0,000417209
Alanina	arriba	1,135942086	0,000824962
Isoleucina	arriba	1,14342636	0,000977933
Leucina	arriba	1,122545097	0,001040907
Ácido $\alpha$ -cetoisocaproico	arriba	1,237299055	0,001333169
Cisteína	arriba	1,185825621	0,002788438
Ácido trans-9-hexadecenoico (C16:trans[9]1)	arriba	1,335554411	0,003179817
Ácido palmítico (C16:0)	arriba	1,154644873	0,00355258
Fosfato (inorgánico y de fosfatos orgánicos)	arriba	1,085474184	0,003897319
Tirosina	arriba	1,101189829	0,006262303
Ácido pantoténico	arriba	1,150110477	0,008641156
Ácido mirístico (C14:0)	arriba	1,347548843	0,00904407
Coenzima Q10	arriba	1,358078148	0,010579477
Piruvato	arriba	1,219379362	0,01116163
Ácido esteárico (C18:0)	arriba	1,135222404	0,01651251
Ácido heptadecanoico (C17:0)	arriba	1,135873084	0,016656669
Ácido araquidónico (C20:cis-[5,8,11,14]4)	arriba	1,113293751	0,017485633
Citrato	arriba	1,085160753	0,017527845
Ácido treónico	abajo	0,841572782	0,02001934
Treonina	abajo	0,92665537	0,029210563
Prolina	arriba	1,103973996	0,034468001
Fenilalanina	arriba	1,088412821	0,035540147
Glicerol. Fracción polar	arriba	1,146918974	0,038229859

(continuación)

Nombre químico	Regulación	Cambio en incremento de veces	p, t
Ornitina	abajo	0,920136988	0,042452599
Malato	arriba	1,104999923	0,04703203

5  
10

Tabla 15: Metabolitos específicos de diabetes determinados en mujeres emparejadas por edad. Los metabolitos ("NOMBRE QUÍMICO") se clasifican de acuerdo con el valor p de la prueba t ("p, t") partiendo de las observaciones más significativas. Asimismo, se proporcionan los valores del cambio en incremento de veces ("Cambio en incremento de veces": media de las relaciones de señal de pacientes con diabetes dividido por la media de la relación de señal de sujetos de control) y el tipo de regulación en los pacientes con diabetes ("Tipo de regulación": que distingue si el cambio en el incremento de veces está por encima de 1 ("arriba") o por debajo de 1 ("abajo"). Se excluyó de la tabla la observación trivial de niveles de glucosa significativamente alterados de pacientes con diabetes en relación con los sujetos de control

Nombre químico	Regulación	Cambio en incremento de veces	p, t
Ácido ascórbico	arriba	1,380715922	2,95E-15
Manosa	arriba	1,462099754	2,85E-14
Isoleucina	arriba	1,249533174	3,91E-10
Valina	arriba	1,216130562	9,47E-10
Leucina	arriba	1,209312876	4,11E-09
Ácido úrico	arriba	1,212338486	3,68E-07
DAG putativo (C18:1, C18:2 o C18:0, C18:3)	arriba	1,334873111	1,96E-06
Piruvato	arriba	1,422173491	2,55E-06
Glicerol, fracción lípido	arriba	1,293094601	3,32E-06
Cisteína	arriba	1,218774727	2,91E-05
Alanina	arriba	1,151999587	3,40E-05
Ácido araquidónico (C20:cis-[5,8,11,14]4)	arriba	1,184397856	4,34E-05
Ácido a-cetoisocaproico	arriba	1,331702228	6,58E-05
Tirosina	arriba	1,140901171	7,41E-05
Fenilalanina	arriba	1,117874407	0,000102016
Ácido palmítico (C16:0)	arriba	1,151136844	0,000163626
Ácido docosahexaenoico (C22:cis [4,7,10,13,16,19]6)	arriba	1,26073495	0,000260771
Glicina	abajo	0,865358103	0,000565068
Ácido esteárico (C18:0)	arriba	1,111573897	0,00072957
Coenzima Q10	arriba	1,266195595	0,000749378
Metionina	arriba	1,105511152	0,002156394
Prolina	arriba	1,12556561	0,002831665
Citrulina	abajo	0,913837925	0,004639509
Ácido eicosapentaenoico (C20:cis[5,8,11,14,17]5)	arriba	1,365025845	0,005431358
Fosfato (inorgánico y de fosfatos orgánicos)	arriba	1,081308636	0,006424403

(continuación)

Nombre químico	Regulación	Cambio en incremento de veces	p, t
Triptofano	arriba	1,072449337	0,011971631
Ácido 3-hidroxi-butírico	arriba	1,173601577	0,012617371
Ácido heptadecanoico (C17:0)	arriba	1,101194333	0,014202784
Ácido trans-9-hexadecenoico (C16:trans[9]1)	arriba	1,171432156	0,014395605
Ácido lignocérico (C24:0)	abajo	0,904681793	0,014423836
Malato	arriba	1,094591121	0,019963926
Ácido mirístico (C14:0)	arriba	1,161581037	0,022090354
Glicerol, fracción polar	arriba	1,112976588	0,039329749
Trans-4-hidroxiprolin	arriba	1,155965403	0,048937139

5  
10  
Tabla 16: Metabolitos específicos de diabéticos combinados de las Tablas 1-3. Los metabolitos ("NOMBRE QUÍMICO") se clasifican de acuerdo con el valor p de la prueba t ("p, t") partiendo de las observaciones más significativas. Asimismo, se proporcionan los valores del cambio en incremento de veces ("Cambio en incremento de veces": media de las relaciones de señal de pacientes con diabetes dividido por la media de la relación de señal de sujetos de control) y el tipo de regulación en los pacientes con diabetes ("Tipo de regulación": que distingue si el cambio en el incremento de veces está por encima de 1 ("arriba") o por debajo de 1 ("abajo"). Se excluyó de la tabla la observación trivial de niveles de glucosa significativamente alterados de pacientes con diabetes en relación con los sujetos de control

Nombre químico	Regulación	Cambio en incremento de veces	p, t
Ácido ascórbico	arriba	1,460897562	3,36E-57
Manosa	arriba	1,49099366	1,73E-42
Valina	arriba	1,201219187	5,67E-21
Isoleucina	arriba	1,226340595	4,91E-20
Leucina	arriba	1,189558225	7,13E-18
Ácido úrico	arriba	1,221580228	3,51E-17
Cisteína	arriba	1,272344952	6,53E-15
DAG putativo (C18:1,C18:2 o C18:0,C18:3)	arriba	1,354261116	1,65E-14
Piruvato	arriba	1,428873302	1,08E-13
Glicerol, fracción lípido	arriba	1,356574719	2,60E-13
Alanina	arriba	1,1628012	9,73E-13
Ácido docosahexaenoico (C22:cis[4,7,10,13,16,19]6)	arriba	1,351684129	2,92E-12
Ácido a-cetioisocaproico	arriba	1,355419473	3,71E-12
Tirosina	arriba	1,147988422	3,94E-12
Coenzima Q10	arriba	1,437313752	4,82E-12
Fenilalanina	arriba	1,121836648	4,79E-10
Ácido araquidónico (C20:cis-[5,8,11,14]4)	arriba	1,177263087	1,03E-09
Ácido palmítico (C16:0)	arriba	1,157367192	2,25E-09
Glicina	abajo	0,883191047	3,11E-07

ES 2 686 542 T3

(continuación)

Nombre químico	Regulación	Cambio en incremento de veces	p, t
Metionina	arriba	1,122195372	3,97E-07
Ácido eicosapentanoico (C20:cis[5,8,11,14,17]5)	arriba	1,403223234	6,24E-07
Prolina	arriba	1,13167844	8,62E-07
Ácido pantoténico	arriba	1,154905329	8,71E-07
Ácido esteárico (C18:0)	arriba	1,11726154	1,88E-06
Citrato	arriba	1,098766652	2,00E-06
Ácido heptadecanoico (C17:0)	arriba	1,13334341	3,08E-06
Ácido trans-9-Hexadecenoic (C16:trans[9]1)	arriba	1,231675019	1,01E-05
Urea	arriba	1,14574428	1,39E-05
Ácido mirístico (C14:0)	arriba	1,243213274	2,07E-05
Trans-4-hidroxiprolina	arriba	1,170068568	3,23E-05
Ácido 3-hidroxibutírico	arriba	1,289932939	5,88E-05
Malato	arriba	1,094925736	7,55E-05
Ácido lignocérico (C24:0)	abajo	0,917996389	0,000180162
Mio-inositol	arriba	1,101603199	0,00026466
Fosfato (inorgánico y de fosfatos orgánicos)	arriba	1,063347665	0,000360853
Glicerol, fracción polar	arriba	1,124778954	0,000497516
Lisina	arriba	1,090319289	0,001206357
Creatinina	arriba	1,121185726	0,004335171
Citrulina	abajo	0,913837925	0,004639509
Ácido treónico	abajo	0,899837419	0,00480835
Succinato	abajo	0,92986853	0,005840745
Ácido glicérico	abajo	0,903105894	0,006088538
Ácido linolénico (C18:cis[9,12,15]3)	arriba	1,095025387	0,006887601
Lactato	arriba	1,104215189	0,007055085
Glicerol-3-fosfato, fracción polar	arriba	1,084629455	0,010395131
Treonina	abajo	0,95499908	0,011333993
Fosfato, lípido (fosfolípidos)	abajo	0,958528553	0,011654865
Triptofano	arriba	1,072449337	0,011971631
Alfa-Tocoferol	arriba	1,14791735	0,01644293
Mio-inositol-2-monofosfato, fracción lípido (mio-inositolfosfolípidos)	arriba	1,097917328	0,023497772
Ácido linoleico (C18:cis[9,12]2)	arriba	1,048610793	0,029803521
Colesterol	abajo	0,946204153	0,040018899

(continuación)

Nombre químico	Regulación	Cambio en incremento de veces	p, t
Ornitina	abajo	0,920136988	0,042452599
Glutamina	arriba	1,075976861	0,048316597

Marcadores de riesgo de diabetes de acuerdo con la patente internacional WO2007/110358:

- 5 Tabla 17: Resultados generales, metabolitos que difieren significativamente ( $p < 0,05$ ) entre grupos de riesgo para diabetes mellitus tipo 2 (GAA, TGA y GAAyTGA) y controles (efecto principal significativo "riesgo", es decir, igual tipo de regulación ("arriba", "abajo") en hombres y en mujeres). Se clasificaron los metabolitos por el valor p, [GAA = glucosa en ayunas alterada; TGA = Tolerancia a la glucosa alterada; GAAyTGA: pacientes que tienen tanto GAA como TGA]

Metabolito	Regulación	Grupo_riesgo
Criptoxantina	abajo	TGA
Ácido 2-hidroxi- palmítico	arriba	GAA
Triacilglicérido (C16:0,C18:1,C18:2)		TGA
Ácido gondoico	arriba	TGA
Ácido tricosanoico	abajo	GAAyTGA
5-Oxoprolina	arriba	GAA

- 10 Tabla 18: Metabolitos que difieren específicamente entre controles hombre y pacientes hombres de los grupos de riesgo para diabetes. Los metabolitos que difieren significativamente ( $p < 0,05$ ) con respecto a la interacción riesgo-género, es decir, se regulan de forma diferente en hombres y en mujeres con respecto al riesgo de diabetes mellitus tipo 2 (GAA, TGA y GAAyTGA) y controles. Se clasificaron los metabolitos por el valor p, [GAA = glucosa en ayunas alterada; TGA = Tolerancia a la glucosa alterada; GAAyTGA: pacientes que tienen tanto GAA como TGA]

Metabolito	Reg_hombre	Grupo_riesgo
Diacilglicérido (C18:1, C18:2)	abajo	TGA
Triacilglicérido (C16:0, C18:2, C18:2)	abajo	TGA
Triacilglicérido (C16:0, C18:1, C18:2)	abajo	GAA

- 15 Tabla 19: Resultados generales. Los metabolitos que difieren significativamente ( $p < 0,05$ ) entre los grupos de riesgo para diabetes mellitus tipo 2 (GAA, TGA y GAAyTGA) y controles (efecto principal significativo "riesgo", es decir, igual tipo de regulación ("arriba", "abajo") en hombres y en mujeres). Se clasificaron los metabolitos por el valor p, [GAA = glucosa en ayunas alterada; TGA = Tolerancia a la glucosa alterada; GAAyTGA: pacientes que tienen tanto GAA como TGA]

Metabolito	Regulación	Grupo_riesgo
Lactato	arriba	GAA
Ácido alfa-cetoisocaproico	abajo	TGA
Glucosa	arriba	GAAyTGA
Metionina	abajo	TGA
Manosa	arriba	GAAyTGA

## ES 2 686 542 T3

(continuación)

Metabolito	Regulación	Grupo_riesgo
Ácido 3-hidroxiбутírico	arriba	TGA
Leucina	arriba	TGA
Ácido úrico	arriba	GAA
Ácido treónico	arriba	GAA
Beta-caroteno	abajo	GAAyTGA
Ácido ascórbico	arriba	GAAyTGA
Glicina	abajo	TGA
Triacilglicéridos	abajo	GAA
Lactato	arriba	TGA
Fosfolípidos	arriba	TGA
Creatinina	abajo	TGA
Glutamato	arriba	GAA
Ácido alfa-cetoisocaproico	abajo	GAAyTGA
Triacilglicéridos	arriba	TGA
Valina	arriba	TGA
Malato	arriba	GAA
Ácido alfa-cetoisocaproico	abajo	GAA
Isoleucina	arriba	TGA
Succinato	arriba	GAA
Glucosa-1-fosfato	arriba	GAAyTGA
Valina	arriba	GAAyTGA
Ácido eicosapentanoico (C20:cis[5,8,11,14,17]5)	abajo	GAAyTGA
Fosfolípidos	arriba	GAA
Ácido úrico	arriba	GAAyTGA
Citrato	arriba	TGA
Asparagina	abajo	GAAyTGA
Metionina	abajo	GAA
Glutamina	abajo	TGA
Ácido palmítico	arriba	TGA
Triptofano	abajo	GAAyTGA
Alanina	arriba	TGA
Glutamato	arriba	TGA
Citrulina	abajo	TGA

(continuación)

Metabolito	Regulación	Grupo_riesgo
Colestenol	abajo	GAAyTGA
Treonina	abajo	TGA
Ornitina	arriba	GAA
Arginina	abajo	TGA
Manosa	arriba	GAA
Ácido 3-hidroxi-butírico	arriba	GAAyTGA
Glutamina	abajo	GAA
Sulfato de pregnenolona	arriba	GAAyTGA
Ácido glicérico	arriba	TGA
Folato	arriba	GAA
Malato	arriba	TGA
Beta-caroteno	abajo	GAA
Leucina	arriba	GAA
Glutamina	abajo	GAAyTGA
Alfa-tocoferol	arriba	GAAyTGA
Mio-inositol	arriba	GAA
Ácido esteárico	arriba	TGA
Glicerol-3-fosfato	arriba	GAA
Beta-caroteno	abajo	TGA

5 Tabla 20: Metabolitos que difieren específicamente entre controles hombre y pacientes hombres de los grupos de riesgo para diabetes. Metabolitos que difieren significativamente ( $p < 0,05$ ) con respecto a la interacción riesgo-género, es decir, regulados de forma diferente en hombres y en mujeres con respecto al riesgo de diabetes mellitus tipo 2 (GAA, TGA y GAAyTGA) y controles (efecto principal significativo "riesgo", es decir, igual tipo de regulación ("arriba", "abajo") en hombres y en mujeres). Se clasificaron los metabolitos por el valor p, [GAA = glucosa en ayunas alterada; TGA = Tolerancia a la glucosa alterada; GAAyTGA: pacientes que tienen tanto GAA como TGA]

Metabolito	Reg_hombre	Grupo_riesgo
Triptofano	abajo	TGA
Alanina	abajo	GAA
Leucina	abajo	TGA
Ácido palmítico	abajo	GAA
Ácido eicosatrienoico	abajo	TGA
Glicerofosfolípidos		TGA
Isoleucina	abajo	GAA
Ácido eicosatrienoico	abajo	GAA
Triptofano	abajo	GAA

(continuación)

Metabolito	Reg_hombre	Grupo_riesgo
Ácido lignocérico	abajo	TGA
Ácido linoleico	abajo	TGA
Serina	arriba	GAA
Tirosina	abajo	TGA
Ácido linoleico	abajo	GAA
Sulfato de pregnenolona	abajo	TGA
Aspartato	arriba	TGA
Ácido araquidónico	abajo	TGA
Succinato	arriba	GAAyTGA

5 Tabla 21: Metabolitos que difieren específicamente entre controles mujer y pacientes mujer entre grupos de riesgo para diabetes. Metabolitos que difieren significativamente ( $p < 0,05$ ) con respecto a la interacción riesgo-género, es decir, regulados de forma diferente en hombres y mujeres con respecto al riesgo de diabetes mellitus tipo 2 (GAA, TGA y GAAyTGA) y controles. Se clasificaron los metabolitos por el valor  $p$ , [GAA = glucosa en ayunas alterada; TGA = Tolerancia a la glucosa alterada; GAAyTGA: pacientes que tienen tanto GAA como TGA]

Metabolito	Reg_mujer	Grupo_riesgo
Alanina	arriba	GAA
Ácido palmítico	arriba	GAA
Isoleucina	arriba	GAA
Ácido eicosatrienoico	arriba	GAA
Ácido úrico	arriba	GAA
Ácido esteárico	arriba	GAA
Serina	abajo	GAA

### Ejemplo 2: Correlación de metabolitos de plasma con cistatina C

10 En un estudio metabólico que comprendió individuos sanos así como pacientes con ICC de diferentes tipos y gravedad clasificados por de acuerdo con el estadio NYHA, se investigó la correlación de metabolitos con los niveles de cistatina C, utilizando ANOVA se correlacionaron metabolitos polares pequeños positivamente en plasma (Tabla 22).

15 Tabla 22: Correlación de metabolitos con cistatina C. Se presentan metabolitos que se correlacionan positivamente en plasma humano con niveles de cistatina C (valor  $p < 0,05$ ). Se muestra también la relación de los metabolitos entre individuos sanos, así como pacientes con ICC de diferentes tipos y gravedad clasificados de acuerdo con el estadio NYHA

NOMBRE_METABOLITO	VALOR P	RELACION
Aldosterona	0,0000587	1,3849
Ácido pentadecenoico (C15:cis[10]1)	0,00484362	1,286
TAG_ácido linoleico conjugado (C18:cis[9]trans[11]2)	0,00274666	1,2257
PC_ácido linoleico conjugado (C18:cis[9]trans[11]2)	0,01436876	1,1917
Ácido glicólico	0,02083947	1,1854

ES 2 686 542 T3

(continuación)

NOMBRE_METABOLITO	VALOR P	RELACIÓN
FFA_ácido palmitoleico (C16:cis[9]1)	0,00085376	1,179
Sacarosa	0,00169411	1,1771
Timolol	0,00676457	1,1751
FFA_ácido linoleico conjugado (C18:cis[9]trans[11]2)	0,01218157	1,1738
Ácido 4-hidroxi-3-metoximandélico	0,01604282	1,1641
18-hidroxycorticosterona	0,02350604	1,1573
1-metilhistidina	8,96E-08	1,1555
CE_colesteriléster C14:1	0,00162974	1,1458
CE_colesteriléster C12:0	0,00915302	1,1377
PE_cis-ácido vaccénico	0,01122019	1,1365
TAG_ácido mirístico (C14:0)	0,01858981	1,1286
TAG_ácido palmitoleico (C16:cis[9]1)	0,01751954	1,1273
Pseudouridina	1,01E-21	1,1253
Ácido láurico (C12:0)	0,01944424	1,1253
Ácido galactónico	0,02827966	1,1172
FFA_ácido mirístico (C14:0)	0,00043414	1,1166
Glicerol-3-fosfato, fracción polar	0,00251244	1,1153
Lactosa	0,0083945	1,1142
TAG (C16:0,C16:1)	0,00377556	1,1138
PI_ácido dihomo-gamma-linolénico (C20:cis[8,11,14]3)	0,01492842	1,1118
TAG_ácido eicosenoico (C20:cis[11]1)	0,01897445	1,1086
Ácido homovanílico (HVA)	0,00049775	1,1079
Ácido palmitoleico (C16:cis[9]1)	0,00308213	1,1066
Ácido mirístico (C14:0)	0,00703577	1,1064
Cistina	8,64E-07	1,105
Celobiosa	0,00904955	1,1028
PE_ácido linoleico (C18:cis[9,12]2)	0,00736073	1,1
CE_colesteriléster C15:0	0,0000859	1,0994
Melecitosa	0,02701434	1,0987
Ácido linoleico conjugado (C18:trans[9,11]2)	0,00034109	1,0982
Esfingosina-1-fosfato (d16:1)	0,0000112	1,0966
Eritrol	5,52E-07	1,0956

(continuación)

NOMBRE_METABOLITO	VALOR P	RELACIÓN
PC_ácido trans-vaccénico (C18:trans[11]1)	0,00806179	1,0955
Metoprolol	0,0018019	1,0921
Fenacetina	0,0119848	1,0914
PE_ácido palmítico (C16:0)	0,01111048	1,091
Ácido isopalmítico (C16:0)	0,00090355	1,0904
Norvalina	0,01594927	1,089
3-metoxitirosina	0,00046215	1,0878
Mio-inositol	2,15E-09	1,0875
CE_colesteriléster C16:1	0,01203778	1,0866
PE_ácido esteárico (C18:0)	0,02000861	1,0859
TAG_ácido esteárico (C18:0)	0,03708277	1,0858
PC_ácido palmitoleico (C16:cis[9]1)	0,03528904	1,0845
TAG_ácido eláidico (C18:trans[9]1)	0,04166398	1,0833
PI_ácido oleico(C18:cis[9]1)	0,01087038	1,0822
Isocitrato	3,88E-07	1,0818
Creatinina	0,00162734	1,0812
Treitol	0,02038094	1,0811
PE_ácido oleico (C18:cis[9]1)	0,03203527	1,0804
TAG_ácido palmítico (C16:0)	0,03434188	1,0803
Ácido 14-metilhexadecanoico	0,00523372	1,0796
Urea	0,00572012	1,0795
CER_ceramida (d16:1, C22:1)	0,01363344	1,0795
Ácido cunurénico	0,00887948	1,0791
Prolina	0,00010698	1,0783
PI_ácido palmítico (C16:0)	0,00447938	1,078
Esfingosina-1-fosfato (d17:1)	0,00013659	1,0767
Citrulina	0,0000601	1,0766
Glucosa, fracción lípido	0,00880658	1,0758
Ácido heptadecenoico (C17:cis[10]1)	0,00384771	1,075
PE_ácido palmitoleico (C16:cis[9]1)	0,01284879	1,0747
FFA_ácido oleico(C18:cis[9]1)	0,04512226	1,073
Norleucina	0,02655041	1,0729
PI_ácido linoleico (C18:cis[9,12]2)	0,03037486	1,0714

ES 2 686 542 T3

(continuación)

NOMBRE_METABOLITO	VALOR P	RELACIÓN
Ácido ribónico	0,00065116	1,0711
Alfa-cetoglutarato	0,00031263	1,0697
Ácido sacárico	0,01058718	1,0682
Glucosa-1-fosfato	0,04620231	1,0674
CER_ceramida (d18:2, C22:1)	0,01177441	1,0669
S-adenosilhomocisteína	0,00085876	1,0668
CER_ceramida (d18:1, C23:1)	0,00482234	1,0664
PI_cis-ácido vaccénico	0,03666484	1,0663
TAG (C16:0,C18:2)	0,02954298	1,0646
Ácido úrico	0,00011566	1,0645
Cistationina	0,01743588	1,0643
PC_ácido docosapentaenoico (C22:cis[7,10,13,16,19]5)	0,02400337	1,0643
Mio-inositol-2-fosfato, fracción lípido	0,04247546	1,0637
Trans-4-hidroxiprolina	0,0380941	1,0632
FFA_ácido palmítico (C16:0)	0,03262711	1,0611
Galactitol	0,00441193	1,0609
SM_esfingomielina (d18:2, C14:0)	0,00137019	1,0599
CER_ceramida (d17:1, C16:0)	0,00481832	1,0572
CE_colesteriléster C16:2	0,02663127	1,0569
CER_ceramida (d18:1, C14:0)	0,00657081	1,0563
CER_ceramida (d18:2, C14:0)	0,01441601	1,0559
MAG_ácido oleico(C18:cis[9]1)	0,03574089	1,0549
SM_esfingomielina (d18:1, C14:0)	0,00027973	1,0546
Esfingadienina-1-fosfato (d18:2)	0,00099076	1,0543
Cisteína	0,00000134	1,0541
7-metilguanina	0,02521028	1,0537
CE_colesteriléster C14:0	0,00691342	1,0536
Ácido eicosanoico (C20:cis[11]1)	0,04645017	1,053
Malato	0,01003198	1,0505
PC_ácido dihomo-gamma-linolénico (C20:cis[8,11,14]3)	0,03194076	1,0503
CER_ceramida (d18:1, C16:0)	0,00041067	1,049
Galactosa, fracción lípido	0,0085052	1,0487

ES 2 686 542 T3

(continuación)

NOMBRE_METABOLITO	VALOR P	RELACIÓN
CER_ceramida (d18:1,C22:1)	0,04844811	1,0471
MAG_cis-ácido vaccénico	0,03095777	1,0465
MAG_ácido palmitoleico (C16:cis[9]1)	0,03531624	1,0465
Colesterol, sin	0,00031928	1,046
Citrato	0,00520095	1,0459
CE_colesteriléster C22:4	0,04253297	1,0456
CER_ceramida (d16:1, C16:0)	0,03631033	1,0452
Ácido eritrónico	0,00345681	1,0449
SM_esfingomielina (d17:1, C16:0)	0,00421295	1,0449
Ácido heptadecanoico (C17:0)	0,01706649	1,0444
CE_colesteriléster C20:3	0,04978668	1,0434
CER_ceramida (d18:2,C24:2)	0,0485298	1,043
Ornitina	0,00233216	1,0411
Esfingosina-1-fosfato (d18:1)	0,02652481	1,0404
CER_ceramida (d18:1,C24:2)	0,0350854	1,0401
CER_ceramida (d18:0, C16:0)	0,0417336	1,0395
CER_ceramida (d18:2, C16:0)	0,01328616	1,0394
2-hidroxiácido palmítico (C16:0)	0,01357086	1,0381
SM_esfingomielina (d16:1, C16:0)	0,02603957	1,0375
3,4-Dihidroxifenilalanina (DOPA)	0,03324624	1,0365
Arginina	0,03208162	1,0319
SM_esfingomielina (d18:1, C23:1)	0,04107742	1,0309
PE_ácido elaídico (C18:trans[9]1)	0,00830393	1,0263
Fenilalanina	0,01504421	1,0262
SM_esfingomielina (d18:1, C16:0)	0,02973833	1,026
PE_ácido trans-vaccénico (C18:trans[11]1)	0,04596375	1,0242
SM_esfingomielina (d18:0, C16:0)	0,04518524	1,0238
Fosfatidilcolina (C18:0,C18:1)	0,02490652	1,0208
PC_ácido miristotélico (C14:cis[9]1)	0,00672447	1,0093
LPC_ácido docosatetraenoico (C22:cis[7,10,13,16]4)	0,02863556	1,0083

**Ejemplo 3:**

Corrección de metabolitos de plasma y orina para aclaramiento renal

En un estudio metabólico que comprendió individuos sanos, así como pacientes con ICC de diferentes tipos y

gravedad clasificados de acuerdo con el estadio NYHA, se analizó el perfil metabólico tal como se describe en una cualquiera de las patentes internacionales WO2011/092285 A2, WO2012/085890, WO2007/110357 o WO2007/110358. Se ha aplicado la nomenclatura de lípidos a partir del análisis de lípidos complejos descrita en la patente internacional WO2011/092285. Los grupos contenían individuos con una función renal reducida o sin ella. Se calculó ANOVA sobre la base del conjunto de datos utilizando el modelo ANOVA (con corrección en cuanto a la edad, el índice de masa corporal, el género, el tiempo de almacenamiento de la muestra, véase Tabla 23A, columnas encabezadas por conf\_int\_diab) y segundo modelo ANOVA incluyendo la normalización adicional para cistatina C (véase Tabla 23. Columnas encabezadas conf\_int\_diab\_CisC). El grupo de pacientes investigados se clasificó de acuerdo con el diagnóstico como DCMP o HCMP y la gravedad de la enfermedad se clasificó de acuerdo con NYHA.

Los individuos con reducción de la función renal pueden determinarse por un aumento significativo de los niveles de urea (valor  $p < 0,05$ ). En la Tabla 23 se ofrece un detalle del conjunto de datos con y sin normalización para cistatina C. Se evaluaron los datos con y sin normalización para cistatina C. Los autores de la invención observaron que el biomarcador clásico para ICC, NT-BNP, proporciona valores más altos de cambio en incremento de veces. Por ejemplo: en contraposición con el subgrupo NYHA grupo DMP\_II-III con respecto al control el cambio en el incremento de veces aumentó después de la corrección de cistatina C de 8,5928 a 9,0259, Tabla 23A, al tiempo que los valores de significancia permanecieron altamente significativos con el valor  $p$  de aproximadamente  $10E-22$ . Tabla 23B). Simultáneamente, el cambio en incremento de veces del biomarcador de enfermedad renal de riñón urea medido tanto por perfil de metabolito como por técnicas convencionales fue menor a través del procedimiento de normalización. Por ejemplo, en contraste, en el subgrupo NYHA grupo DCMP\_II\_III con respecto al control el cambio en incremento de veces de los valores de urea determinados en este estudio disminuyó tras la corrección de cistatina C de 1,103 a 1,0743. Tabla 23A. Al mismo tiempo, la significancia de estos cambios en el incremento de veces fue menor y el valor  $p$  aumentó de 0,054782 a 0,170723, respectivamente. Tabla 23B.

Estas observaciones son de acuerdo con la invención descrita en el presente documento. Estos datos demuestran que la normalización según los valores de cistatina C compensa la distorsión de las concentraciones de metabolito introducidas por disfunción renal. Si bien los biomarcadores de ICC presentan una potenciación de la significancia, los biomarcadores de la función renal presentaron una menor significancia.

Tabla 23: Detalle de la tabla de datos del estudio ICC que demuestra el efecto de la normalización de cistatina C en el conjunto de datos. Al mismo tiempo que mejora la significancia del biomarcador ICC, NT-pro BNP, disminuye la significancia del biomarcador de ECR urea. Otros posibles marcadores incluidos en la lista. En el grupo NYHA I DCMP, los pacientes tienen por lo general una función renal normal, en consecuencia, la normalización mediante cistatina C no tiene mucho efecto en los datos

A

Tipo de modelo	Sin normalización de cistatina C					Con normalización de cistatina C				
	conf_int_diab	conf_in t_diab	conf_int_diab	conf_in t_diab	conf_int_diab	conf_int_diab	conf_in t_diab	conf_int_diab	conf_in t_diab	conf_int
<b>Factor</b>	SUBGRUPO _NYHA	SUB-GRUPO _NY HA	SUBGRUPO _NYHA	SUB-GRUPO _NY HA	SUBGRUPO _NYHA	SUBGRUPO _NYHA	SUB-GRUPO _NY HA	SUBGRUPO _NYHA	SUB-GRUPO _NY	SUB-GRUPO _NYHA
<b>Grupo</b>	GRUPO	GRUPO	GRUPO	GRUPO	GRUPO	GRUPO	GRUPO	GRUPO	GRUPO HA	GRUPO
<b>Referencias</b>	DCMP_I - I/II	DCMP_II - III	DCMP_I I - III	HCMP_I - I/II	HCMP_I I - III	control	control	control	control	control
<b>NOMBRE_METABOLITO</b>	RELACIÓN	RELACIÓN	RELACIÓN	RELACIÓN	RELACIÓN	RELACIÓN	RELACIÓN	RELACIÓN	RELACIÓN	RELACIÓN
NT-proBNP	4,5547	8,5928	2,1366	1,6755	2,1366	5,0965	9,0259	1,7893	2,168	
Isocitrato	1,2052	1,3852	1,1462	1,0979	1,1462	1,228	1,3162	1,1205	1,1193	
Urea	1,1463	1,1003	1,1093	0,9792	1,1093	1,1386	1,0743	0,9847	1,0839	
SM_esfingomielina (d17:1,C24:1)	0,924	0,7919	0,9581	0,9316	0,9581	0,9094	0,7932	0,9236	0,9349	
SM_esfingomielina (d17:1,C20:0)	0,8909	0,7285	0,9047	0,9004	0,9047	0,8525	0,7496	0,8856	0,8848	
SM_esfingomielina (d18:2,C23:0)	0,8891	0,7666	0,9123	0,8811	0,9123	0,8619	0,7884	0,8746	0,9005	
Eritro-C16-esfingosina	0,8608	0,647	0,9629	0,9202	0,9629	0,8163	0,6174	0,9084	0,9148	
SM_esfingomielina (d16:1,C22:0)	0,8563	0,6732	0,9449	0,9299	0,9449	0,7936	0,6629	0,914	0,9056	
Ácido tricosanoico (C23:0)	0,844	0,6899	0,8827	0,8573	0,8827	0,8248	0,7003	0,8546	0,8642	

(continuación)

A	Sin normalización de cistatina C						Sin normalización de cistatina C								
	conf_int_diab	conf_in t_diab	conf_in t_diab	conf_int_diab	conf_int_diab	conf_int_diab	CisC	conf_int_diab	conf_in t_diab	conf_in t_diab	conf_int_diab	CisC	conf_int_diab	conf_in t_diab	conf_int_diab
<b>Tipo de modelo</b>															
<b>Factor</b>	SUBGRUPO _NYHA	SUBGRUPO _NYHA	SUBGRUPO _NYHA	SUBGRUPO _NYHA	SUBGRUPO _NYHA	SUBGRUPO _NYHA	SUBGRUPO _NYHA	SUBGRUPO _NYHA	SUBGRUPO _NYHA	SUBGRUPO _NYHA	SUBGRUPO _NYHA	SUBGRUPO _NYHA	SUBGRUPO _NYHA	SUBGRUPO _NYHA	SUBGRUPO _NYHA
<b>Grupo</b>	GRUPO	GRUPO	GRUPO	GRUPO	GRUPO	GRUPO	GRUPO	GRUPO	GRUPO	GRUPO	GRUPO	GRUPO	GRUPO	GRUPO	GRUPO
<b>Referencias</b>	DCMP_I - I/II	DCMP_II - III	DCMP_I - I/II	DCMP_II - III	DCMP_I - I/II	DCMP_II - III	DCMP_I - I/II	DCMP_II - III	DCMP_I - I/II	DCMP_II - III	DCMP_I - I/II	DCMP_II - III	DCMP_I - I/II	DCMP_II - III	DCMP_I - I/II
<b>NOMBRE_METABOLITO</b>	control	control	control	control	control	control	control	control	control	control	control	control	control	control	control
	<b>RELACIÓN</b>	<b>RELACIÓN</b>	<b>RELACIÓN</b>	<b>RELACIÓN</b>	<b>RELACIÓN</b>	<b>RELACIÓN</b>	<b>RELACIÓN</b>	<b>RELACIÓN</b>	<b>RELACIÓN</b>	<b>RELACIÓN</b>	<b>RELACIÓN</b>	<b>RELACIÓN</b>	<b>RELACIÓN</b>	<b>RELACIÓN</b>	<b>RELACIÓN</b>
SM_esfingomielina (d16:1,C23:0)	0,834	0,6229	0,8791	0,8449	0,7545	0,6059	0,8654	0,808							
1-hidroxi-2-amino- (cis,trans)-3,5- octadecadien (de esfingolípidos)	0,831	0,6707	0,8837	0,9224	0,8151	0,6522	0,878	0,8853							
SM_esfingomielina (d17:1, C22:0)	0,818	0,6755	0,9113	0,9053	0,7652	0,6692	0,8983	0,8749							
SM_esfingomielina (d17:1,C24:0)	0,795	0,6429	0,9127	0,8534	0,7504	0,6344	0,9046	0,8255							
SM_esfingomielina (d16:1,C24:0)	0,7652	0,5994	0,8963	0,96	0,7354	0,5989	0,8835	0,9171							
Colesteriléster C18:2	0,749	0,6681	0,7413	0,7695	0,7875	0,7499	0,7041	0,7726							
SM_esfingomielina (d17:1,C23:0)	0,737	0,5707	0,8211	0,8594	0,6987	0,5801	0,8117	0,8216							
CE_Colisteril C15:0 éster	0,709	0,6213	0,8249	0,835	0,6711	0,576	0,8448	0,7958							

(continuación)

		Sin normalización de cistatina C										Con normalización de cistatina C														
		conf_int_diab	conf_int_diab_NYHA GRUPO	conf_int_diab_NYHA GRUPO	DCMP_II - III	conf_in t_diab	SUBGRUPO NYHA GRUPO	HCMP_I - I/II	control	valor-P	conf_int_diab	conf_int_diab_NYHA GRUPO	DCMP_II - III	control	valor-P	conf_in t_diab	conf_in t_diab_NYHA GRUPO	HCMP_I - I/II	control	valor-P	conf_int_diab	conf_int_diab_NYHA GRUPO	DCMP_II - III	control	valor-P	
<b>Tipo de modelo</b>		control																								
<b>Factor</b>		SUBGRUPO NYHA GRUPO	SUBGRUPO NYHA GRUPO	SUBGRUPO NYHA GRUPO	SUBGRUPO NYHA GRUPO	SUBGRUPO NYHA GRUPO	SUBGRUPO NYHA GRUPO	SUBGRUPO NYHA GRUPO	SUBGRUPO NYHA GRUPO	SUBGRUPO NYHA GRUPO	SUBGRUPO NYHA GRUPO	SUBGRUPO NYHA GRUPO	SUBGRUPO NYHA GRUPO	SUBGRUPO NYHA GRUPO	SUBGRUPO NYHA GRUPO	SUBGRUPO NYHA GRUPO	SUBGRUPO NYHA GRUPO	SUBGRUPO NYHA GRUPO	SUBGRUPO NYHA GRUPO	SUBGRUPO NYHA GRUPO	SUBGRUPO NYHA GRUPO	SUBGRUPO NYHA GRUPO	SUBGRUPO NYHA GRUPO	SUBGRUPO NYHA GRUPO	SUBGRUPO NYHA GRUPO	SUBGRUPO NYHA GRUPO
<b>Grupo</b>		DCMP_I - I/II	DCMP_II - III	DCMP_II - III	DCMP_II - III	DCMP_I - I/II	DCMP_I - I/II	DCMP_I - I/II	DCMP_I - I/II	DCMP_I - I/II	DCMP_I - I/II	DCMP_I - I/II	DCMP_I - I/II	DCMP_I - I/II	DCMP_I - I/II	DCMP_I - I/II	DCMP_I - I/II	DCMP_I - I/II	DCMP_I - I/II	DCMP_I - I/II						
<b>Referencias</b>		control	control	control	control	control	control	control	control	control	control	control	control	control	control	control	control	control	control	control	control	control	control	control	control	control
<b>NOMBRE_METABOLITO</b>		VALOR-P	VALOR-P	VALOR-P	VALOR-P	VALOR-P	VALOR-P	VALOR-P	VALOR-P	VALOR-P	VALOR-P	VALOR-P	VALOR-P	VALOR-P	VALOR-P	VALOR-P	VALOR-P	VALOR-P	VALOR-P	VALOR-P	VALOR-P	VALOR-P	VALOR-P	VALOR-P	VALOR-P	VALOR-P
NT-proBNP		4,82E-12	1,74E-22	8,68E-11	0,0547 822	0,1099 126	0,0657 395	0,0156078	0,00101 68	0,00005 17	0,00005 17	0,00005 17	0,00005 17	0,00005 17	0,00005 17	0,00005 17	0,00005 17	0,00005 17	0,00005 17	0,00005 17	0,00005 17	0,00005 17	0,00005 17	0,00005 17	0,00005 17	
Isocitrato		0,00826 734	0,0547 822	0,0547 822	0,0547 822	0,0547 822	0,0547 822	0,0547 822	0,0547 822	0,0547 822	0,0547 822	0,0547 822	0,0547 822	0,0547 822	0,0547 822	0,0547 822	0,0547 822	0,0547 822	0,0547 822	0,0547 822	0,0547 822	0,0547 822	0,0547 822	0,0547 822	0,0547 822	
Urea		0,08192 016	3,09E-07	3,09E-07	3,09E-07	3,09E-07	3,09E-07	3,09E-07	3,09E-07	3,09E-07	3,09E-07	3,09E-07	3,09E-07	3,09E-07	3,09E-07	3,09E-07	3,09E-07	3,09E-07	3,09E-07	3,09E-07	3,09E-07	3,09E-07	3,09E-07	3,09E-07	3,09E-07	
SM_estingomielina (d17:1, C24:1)		0,03550 351	1,04E-08	1,04E-08	1,04E-08	1,04E-08	1,04E-08	1,04E-08	1,04E-08	1,04E-08	1,04E-08	1,04E-08	1,04E-08	1,04E-08	1,04E-08	1,04E-08	1,04E-08	1,04E-08	1,04E-08	1,04E-08	1,04E-08	1,04E-08	1,04E-08	1,04E-08	1,04E-08	
SM_estingomielina (d17:1, C20:0)		0,01328 734	2,54E-08	2,54E-08	2,54E-08	2,54E-08	2,54E-08	2,54E-08	2,54E-08	2,54E-08	2,54E-08	2,54E-08	2,54E-08	2,54E-08	2,54E-08	2,54E-08	2,54E-08	2,54E-08	2,54E-08	2,54E-08	2,54E-08	2,54E-08	2,54E-08	2,54E-08	2,54E-08	
SM_estingomielina (d18:2, C23:0)		0,03161 874	3,26E-10	3,26E-10	3,26E-10	3,26E-10	3,26E-10	3,26E-10	3,26E-10	3,26E-10	3,26E-10	3,26E-10	3,26E-10	3,26E-10	3,26E-10	3,26E-10	3,26E-10	3,26E-10	3,26E-10	3,26E-10	3,26E-10	3,26E-10	3,26E-10	3,26E-10	3,26E-10	
Eritro-C16-estingosina		0,01504 927	8,45E-10	8,45E-10	8,45E-10	8,45E-10	8,45E-10	8,45E-10	8,45E-10	8,45E-10	8,45E-10	8,45E-10	8,45E-10	8,45E-10	8,45E-10	8,45E-10	8,45E-10	8,45E-10	8,45E-10	8,45E-10	8,45E-10	8,45E-10	8,45E-10	8,45E-10	8,45E-10	
SM_estingomielina (d16:1, C22:0)		0,00205 816	1,17E-11	1,17E-11	1,17E-11	1,17E-11	1,17E-11	1,17E-11	1,17E-11	1,17E-11	1,17E-11	1,17E-11	1,17E-11	1,17E-11	1,17E-11	1,17E-11	1,17E-11	1,17E-11	1,17E-11	1,17E-11	1,17E-11	1,17E-11	1,17E-11	1,17E-11	1,17E-11	
Ácido tricosanoico (C23:0)		0,00774 815	8,55E-12	8,55E-12	8,55E-12	8,55E-12	8,55E-12	8,55E-12	8,55E-12	8,55E-12	8,55E-12	8,55E-12	8,55E-12	8,55E-12	8,55E-12	8,55E-12	8,55E-12	8,55E-12	8,55E-12	8,55E-12	8,55E-12	8,55E-12	8,55E-12	8,55E-12	8,55E-12	
SM_estingomielina (d16:1, C23:0)		0,00197 934	1,86E-11	1,86E-11	1,86E-11	1,86E-11	1,86E-11	1,86E-11	1,86E-11	1,86E-11	1,86E-11	1,86E-11	1,86E-11	1,86E-11	1,86E-11	1,86E-11	1,86E-11	1,86E-11	1,86E-11	1,86E-11	1,86E-11	1,86E-11	1,86E-11	1,86E-11	1,86E-11	
1-hidroxi-2-amino-(cis,trans)-3,5-octadecadiene estingolípidos (de estingolípidos)		0,00197 934	1,86E-11	1,86E-11	1,86E-11	1,86E-11	1,86E-11	1,86E-11	1,86E-11	1,86E-11	1,86E-11	1,86E-11	1,86E-11	1,86E-11	1,86E-11	1,86E-11	1,86E-11	1,86E-11	1,86E-11	1,86E-11	1,86E-11	1,86E-11	1,86E-11	1,86E-11	1,86E-11	

(continuación)

		Sin normalización de cistatina C						Con normalización de cistatina C					
		conf_int_diab	conf_in_t_diab	conf_in_t_diab_NYHA GRUPO	conf_in_t_diab_NYHA GRUPO	conf_int_diab_CisC	conf_in_t_diab_CisC	conf_int_diab_NYHA GRUPO	conf_in_t_diab_NYHA GRUPO	conf_int_diab_CisC	conf_in_t_diab_CisC	conf_int_diab_NYHA GRUPO	conf_in_t_diab_NYHA GRUPO
<b>Tipo de modelo</b>		SUBGRUPO	SUBGRUPO	SUBGRUPO	SUBGRUPO	SUBGRUPO	SUBGRUPO	SUBGRUPO	SUBGRUPO	SUBGRUPO	SUBGRUPO	SUBGRUPO	SUBGRUPO
<b>Factor</b>		NYHA GRUPO	NYHA GRUPO	NYHA GRUPO	NYHA GRUPO	NYHA GRUPO	NYHA GRUPO	NYHA GRUPO	NYHA GRUPO	NYHA GRUPO	NYHA GRUPO	NYHA GRUPO	NYHA GRUPO
<b>Grupo</b>		DCMP_I-I/II	DCMP_II - III	DCMP_I - I/II	DCMP_I - I/II	DCMP_I - III	DCMP_I - III	DCMP_I - III	DCMP_I - III	DCMP_I - III	DCMP_I - III	DCMP_I - III	DCMP_II - III
<b>Referencias</b>		control	control	control	control	control	control	control	control	control	control	control	control
<b>NOMBRE_METABOLITO</b>		VALOR-P	VALOR-P	VALOR-P	VALOR-P	VALOR-P	VALOR-P	VALOR-P	VALOR-P	VALOR-P	VALOR-P	VALOR-P	VALOR-P
SM_esfingomielina (d17:1, C22:0)		0,00029 769	,18E-12	30,0838 062	0,07721 37	0,00000 544	1,01E-10	0,0464 069	0,01971 957	0,00000 544	7,46E-12	0,00000 544	0,01971 957
SM_esfingomielina (d17:1, C24:0)		0,00007 13	5,84E-14	0,1012 501	0,00684 72	0,00000 457	7,46E-12	0,0797 326	0,00174 465	0,00000 457	2,39E-07	0,00000 457	0,00174 465
SM_esfingomielina (d16:1, C24:0)		0,00232 813	6,77E-09	0,1990 696	0,64736 53	0,00113 505	2,39E-07	0,1545 728	0,34904 969	0,00113 505	0,00029 474	0,00113 505	0,34904 969
Colesteriléster C18:2		0,00002 36	1,74E-09	0,0000 138	0,00036 4	0,00181 547	0,00029 474	0,0000 011	0,00066 417	0,00181 547	0,00000 011	0,00000 011	0,00066 417
SM_esfingomielina (d17:1, C23:0)		0,00030 377	4,76E-11	0,0161 611	0,07683 64	0,00006 54	8,13E-09	0,0116 072	0,02521 292	0,00006 54	0,00000 011	0,00006 54	0,02521 292
CE_Colesteril éster C15:0		0,00001 38	1,69E-09	0,0117 082	0,02405 09	0,00000 179	3,29E-10	0,0269 829	0,00498 157	0,00000 179	0,00000 011	0,00000 179	0,00498 157

**REIVINDICACIONES**

1. Un procedimiento para determinar una cantidad normalizada de aclaramiento de un biomarcador de enfermedad metabólica en un tipo de muestra que comprende las etapas de:
  - 5 (a) determinar la cantidad del biomarcador de enfermedad metabólica en dicho tipo de muestra de un sujeto del que se sospecha que padece la enfermedad;
  - (b) determinar la cantidad de un biomarcador de función renal que se correlaciona con la tasa de filtración glomerular (TFG) en el mismo tipo de muestra; y
  - 10 (c) determinar una cantidad normalizada de aclaramiento para el biomarcador de enfermedad metabólica normalizando la cantidad determinada para el biomarcador de enfermedad metabólica en la etapa (a) con respecto a la cantidad del biomarcador de función renal determinada en la etapa (b),

en el que dicho tipo de muestra es sangre o un derivado de la misma.
2. El procedimiento de la reivindicación 1, en el que dicho biomarcador de función renal se selecciona del grupo que consiste en cistatina C.
- 15 3. El procedimiento de la reivindicación 1 o 2, en el que dicho biomarcador de enfermedad metabólica es un biomarcador para enfermedades o trastornos cardiovasculares, diabetes o síndrome metabólico o enfermedades neurodegenerativas.
4. El procedimiento de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que dicho biomarcador de enfermedad metabólica es un biomarcador seleccionado de cualquiera de las Tablas 1 a 6 y 8 a 21.
- 20 5. El procedimiento de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en el que dicha normalización en la etapa (c) abarca calcular una relación entre la cantidad determinada para el biomarcador de enfermedad metabólica en la etapa (a) y la cantidad del biomarcador de función renal determinada en la etapa (b).
6. El procedimiento de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en el que las etapas (a) y (b) se llevan a cabo en la misma parte alícuota de una muestra de dicho tipo, en diferentes partes alícuotas de una muestra de dicho tipo o en partes alícuotas de diferentes muestras de dicho tipo.
- 25 7. Un procedimiento para diagnosticar una enfermedad en un sujeto del que se sospecha que la padece que comprende:
  - (a) determinar una cantidad normalizada de aclaramiento para un biomarcador de enfermedad metabólica en una muestra de dicho sujeto de acuerdo con el procedimiento de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6; y
  - 30 (b) comparar dicha cantidad normalizada de aclaramiento con una referencia, mediante lo cual se ha de diagnosticar la enfermedad.
8. El procedimiento de la reivindicación 7, en el que dicha enfermedad es una enfermedad o trastorno cardiovascular, diabetes o síndrome metabólico o enfermedades neurodegenerativas.
9. El procedimiento de la reivindicación 7 u 8, en el que dicho biomarcador de enfermedad metabólica es un biomarcador seleccionado de cualquiera de las tablas 1 a 6 y 8 a 21.
- 35 10. Uso de un biomarcador de la función renal en una muestra de un sujeto que comprende un biomarcador de enfermedad metabólica para normalizar dicho biomarcador de enfermedad metabólica, en el que dicha muestra es sangre o un derivado de la misma.
11. El uso de la reivindicación 10, en el que dicho biomarcador de función renal se selecciona del grupo que consiste en cistatina C.
- 40 12. Un dispositivo para determinar una cantidad normalizada de aclaramiento de un biomarcador de enfermedad metabólica en una muestra de acuerdo con el procedimiento de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, comprendiendo dicho dispositivo:
  - 45 a) una unidad de análisis que comprende un agente de detección que detecta específicamente la cantidad de al menos un biomarcador de enfermedad metabólica en al menos un primer tipo de muestra y un agente de detección que detecta específicamente la cantidad de un biomarcador de función renal en dicho al menos primer tipo de muestra; y
  - b) una unidad de evaluación que comprende un procesador de datos que tiene incorporado tangiblemente un código de programa informático que lleva un algoritmo que normaliza la cantidad del biomarcador de enfermedad metabólica con respecto a la cantidad del biomarcador de función renal,

50 en el que dicha normalización abarca calcular una relación entre la cantidad determinada para el biomarcador de enfermedad metabólica y la cantidad del biomarcador de función renal.

13. El dispositivo de la reivindicación 12, en el que dicha unidad de evaluación comprende una base de datos con referencias almacenadas que permiten diagnosticar una enfermedad sobre la base de la cantidad normalizada de aclaramiento para el biomarcador de enfermedad metabólica.