

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 702 123**

51 Int. Cl.:

G01N 33/68 (2006.01)

G01N 33/53 (2006.01)

G01N 33/64 (2006.01)

G01N 33/70 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **13.05.2014 PCT/US2014/037762**

87 Fecha y número de publicación internacional: **20.11.2014 WO14186311**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **13.05.2014 E 14797070 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **10.10.2018 EP 2997366**

54 Título: **Biomarcadores relacionados con la función renal y métodos para utilizarlos**

30 Prioridad:

14.05.2013 US 201361822965 P

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

27.02.2019

73 Titular/es:

**METABOLON, INC. (100.0%)
617 Davis Drive, Suite 100
Morrisville, NC 27560, US**

72 Inventor/es:

**PERICHON, REGIS;
COBB, JEFFERY EDMOND;
BROWN, MEREDITH V. y
KENNEDY, ADAM**

74 Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

ES 2 702 123 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Biomarcadores relacionados con la función renal y métodos para utilizarlos

Campo de la invención

5 La invención se refiere en líneas generales a biomarcadores para la función renal y a los métodos basados en dichos biomarcadores.

Antecedentes de la invención

10 Hay una necesidad clínica significativa que no está satisfecha con referencia a una prueba sensible, exacta y cómoda para valorar la función excretora de los riñones (tasa de filtración glomerular, TFG). La medición más exacta de la función renal es la tasa de filtración glomerular medida (TFGm), que requiere el uso de marcadores de filtración ideales (p. ej., inulina, iotalamato, iohexol). Debido a su complejidad, esta medición es cara, difícil de realizar en la práctica clínica cotidiana y solo se utiliza típicamente en los estudios de investigación o para los posibles donantes de riñón. Por consiguiente, las mediciones alternativas de la función renal que se basan en marcadores tales como la creatinina en el suero se utilizan en ecuaciones complejas para derivar una TFG estimada (TFGe). La ventaja de esta estrategia es su facilidad de uso en la práctica clínica cotidiana para la valoración de la función renal. Sin embargo, estos métodos para determinar la TFG tienen limitaciones a la hora de valorar verdaderamente la función renal; unas ecuaciones subestiman la TFG y otras sobrestiman la TFG, sobre todo cuando está en el margen «normal». Algunas de estas limitaciones probablemente se deben a la variabilidad de los niveles de creatinina en el suero que pueden verse afectados por la masa muscular, la dieta y algunos fármacos, entre ellos los antibióticos, lo que conduce a una concentración variable entre individuos y en el tiempo. La consecuencia clínica de esta inexactitud conduce al diagnóstico incorrecto de los pacientes. En algunos casos, los individuos con una enfermedad renal crónica (ERC) no son diagnosticados por los métodos actuales y, así pues, no reciben el tratamiento adecuado (negativo falso). En otros casos, se puede diagnosticar que los individuos tienen una ERC cuando en realidad no tienen ninguna ERC (positivo falso); estos individuos reciben entonces un tratamiento contra una enfermedad que no tienen. Más recientemente, los niveles de cistatina C en el suero se han utilizado para valorar la función renal, pero la utilidad de esta medición de la función renal está limitada por la variabilidad de los niveles de cistatina C en el suero entre los individuos. Así pues, hay una necesidad de una prueba más cómoda y exacta que las pruebas de valoración de la función renal disponibles en la actualidad para reducir el número de diagnósticos negativos falsos y positivos falsos.

30 Además, las valoraciones actuales de la función renal (p. ej., creatinina en el suero, mediciones de cistatina C y TFGe, NUS, albúmina en la orina) no son suficientemente sensibles y/o exactas para la detección precoz de la enfermedad renal o vigilar su progresión, sobre todo en las etapas más iniciales de la ERC cuando los individuos son asintomáticos. La detección precoz del descenso de la función renal podría impedir el deterioro significativo de la función renal que se puede producir antes de que se detecte el problema con los métodos disponibles en la actualidad. Una nueva prueba con una lectura sensible que valora y vigila la función renal de un individuo permitiría la detección más temprana de la ERC, antes de que la ERC se pueda detectar con los métodos actuales. Como resultado, se reduciría el coste global del tratamiento y de la gestión de la ERC y de las complicaciones asociadas. Con la detección precoz de la ERC, las complicaciones, entre ellas enfermedades cardiovasculares, anemia, desnutrición y osteopatía, pueden tratarse con más eficacia o posiblemente incluso se puedan impedir. La detección precoz de la ERC permitiría introducir modificaciones del estilo de vida, tales como una dieta saludable, el abandono del tabaco, adelgazamiento y tratamiento de hipertensión, lo que podría prevenir o reducir otras lesiones posteriores del riñón, con lo que reduciría la necesidad de diálisis y de trasplante de riñón que son desenlaces clínicos frecuentes asociados a la reducción de la función renal y a la ERC.

45 Sería clínicamente útil una prueba con sangre o con orina para valorar y/o vigilar la función renal de un paciente al medir el nivel de uno o más metabolitos biomarcadores en los pacientes con factores de riesgo para la ERC (p. ej., mayor de 60 años, hipertensión, diabetes, enfermedad cardiovascular, antecedentes familiares de ERC). Por ejemplo, los biomarcadores podrían comprender una prueba que mida cuantitativamente el nivel de un panel de metabolitos biomarcadores gracias a lo cual el incremento o la disminución del nivel de cada biomarcador del panel con respecto a un nivel de referencia estándar es indicativo de la función renal. Tales paneles de pruebas con biomarcadores podrían reemplazar o completar los resultados de las pruebas actuales de la función renal y podrían permitir que los médicos valoraran inicialmente mejor la función renal y/o vigilaran la función renal de los pacientes en el tiempo. Tal prueba podría ser útil también para valorar el efecto de las intervenciones terapéuticas que enlentecen el descenso de la función renal.

En la patente de los EE. UU. US 2012/0034240 A1 (Kas et al.) se describe cómo la proteína PERLECAN o los fragmentos de la misma se utilizan como biomarcador en los métodos para predecir, diagnosticar o vigilar las enfermedades y afecciones renales.

55 En la solicitud de patente internacional WO 2013/048344 A1 (Universidad de Singapur) se describen métodos para valorar en un individuo una tasa de filtración glomerular estimada (TFGe) baja, así como los métodos para diagnosticar la presencia de la función renal baja en un individuo, al valorar en una muestra problema del individuo la concentración de uno o varios metabolitos específicos. Los metabolitos pueden, por ejemplo, ser uno o varios metabolitos

seleccionados del grupo de: octanol, ácido oxálico, ácido fosfórico, benzamida, creatinina, amida 3,5-dimetoximandélica y N-acetilglutamina. Están descritas otras listas de metabolitos, pero no hay ninguna descripción en la que la N-acetilteonina sea un biomarcador.

5 En el artículo científico de Gupta, R. et al. (2004) en *Journal of American College of Cardiology* 44 (7): 1343-1352 se resalta la prevalencia de la arteriopatía coronaria (APC) en la enfermedad renal crónica (ERC), y que los pacientes con APC que además padecen ERC tienen un peor pronóstico. El artículo debate la epidemiología, patogénesis, manifestaciones clínicas, pruebas diagnósticas, tratamiento, pronóstico y numerosos rompecabezas en cuanto a los pacientes con CAD además de la ERC.

Compendio de la invención

10 De acuerdo con esto, la presente invención da a conocer un método para valorar o ayudar a la valoración de la función renal en un sujeto, en donde el método comprende: analizar la muestra biológica del sujeto para determinar el nivel del biomarcador N-acetilteonina; utilizar el nivel determinado de N-acetilteonina en un modelo matemático para calcular una estimación de la tasa de filtración glomerular (TFG); y utilizar la TFG estimada para valorar la función renal.

15 En los métodos preferidos, la TFG estimada se utiliza para diagnosticar y vigilar o ayudar al diagnóstico y al seguimiento de la ERC.

20 En otro aspecto, la invención da a conocer un método para valorar o ayudar a la valoración de la función renal en un sujeto, en donde el método comprende: analizar la muestra biológica del sujeto para determinar el nivel del biomarcador N-acetilteonina; y comparar el nivel de N-acetilteonina en la muestra con un nivel de referencia para la N-acetilteonina en la función renal para valorar la función renal.

En tales métodos preferidos, el sujeto se ha tratado, o se le considera para el tratamiento, con un agente que puede tener un efecto tóxico sobre los riñones; optativamente, en donde el agente se selecciona del grupo que consiste en un contraste para el diagnóstico por imagen, un quimioterápico y un antibiótico.

25 En otro aspecto, la invención da a conocer un método para vigilar la función renal en un sujeto tratado con un agente terapéutico, en donde el método comprende: analizar la muestra biológica del sujeto para determinar el nivel del biomarcador N-acetilteonina; y comparar el nivel de N-acetilteonina en la muestra con un nivel de N-acetilteonina referencia en la función renal para vigilar la función renal en el sujeto.

30 En otro aspecto, la invención da a conocer un método para clasificar un sujeto entre los que tienen poca propensión a desarrollar la reducción de la función renal, propensión intermedia a desarrollar la reducción de la función renal, o que tiene gran propensión a desarrollar la reducción de la función renal, en donde el método comprende: analizar la muestra biológica del sujeto para determinar el nivel del biomarcador N-acetilteonina; y comparar el nivel de la N-acetilteonina en la muestra con un nivel de referencia de N-acetilteonina para clasificar el sujeto entre los que tienen poca propensión a desarrollar la reducción de la función renal, propensión intermedia a desarrollar la reducción de la función renal, o gran propensión a desarrollar la reducción de la función renal.

35 En un método así preferido, la etapa de comparación comprende la generación de la puntuación de la función renal para el sujeto con el fin de clasificar el sujeto entre los que tienen una gran, intermedia o poca propensión a la nefrotoxicidad.

40 En otro aspecto, la invención da a conocer un método para vigilar la función renal en un sujeto, en donde el método comprende: analizar una primera muestra biológica de un sujeto para determinar el nivel del biomarcador N-acetilteonina, en donde la primera muestra se obtiene del sujeto en un primer punto temporal; analizar una segunda muestra biológica de un sujeto para determinar el nivel del biomarcador N-acetilteonina, en donde la segunda muestra se obtiene del sujeto en un segundo punto temporal; y comparar el nivel de N-acetilteonina en la segunda muestra con el nivel de N-acetilteonina en (a) la primera muestra, (b) el nivel de referencia para la N-acetilteonina en la función renal, (c) el nivel de referencia para la N-acetilteonina en la ERC positiva y/o (d) nivel de referencia para la N-acetilteonina en la ERC negativa, con el fin de vigilar la función renal en el sujeto.

45 En cualquiera de los métodos arriba mencionados de la invención, en donde el nivel o niveles de uno o varios biomarcadores que se están determinando además de la N-acetilteonina y estos otros biomarcadores que se están utilizando o comparando son tal y como se presenta en la presente memoria más arriba o se seleccionan de las tablas 1, 2, 3 o 4.

50 De igual modo, en cualquiera de los métodos arriba mencionados de la invención, la N-acetilteonina y, optativamente, uno o varios biomarcadores, se utilizan en combinación con una o varias mediciones clínicas u otras mediciones útiles para la determinación del nivel de la función renal seleccionadas del grupo que consiste en edad, sexo, antecedentes familiares de ERC, NUS, creatinina en el suero, albúmina en la orina, microglobulina β -2, β -TRACE y 2-aminopiranosilriptófano (2-MPT).

55

Además, en cualquiera de los métodos arriba mencionados de la invención, la muestra se analiza con el uso de una o varias técnicas seleccionadas del grupo que consiste en espectrometría de masas, ELISA y fijación de anticuerpos.

Además de la N-acetilteonina, se pueden seleccionar uno o varios biomarcadores adicionales del grupo que consiste en pseudouridina, C-glucosilriptófano, N-acetilserina, N-acetilalanina, N6-carbamoilteoniladenosina, 4-acetamidobutanoato, eritritol, mioinositol, eritronato, urea, arabitol, N2,N2-dimetilguanosina, N1-metiladenosina, 3-metilglutarilcarnitina (C6), S-adenosilhomocisteina (SAH), N-acetilmetionina, N6-acetil-lisina, quinurenina, arabonato, succinilcarnitina, ribosa, xilonita, N-formilmietionina, sulfato de O-metilcatecol, 2-metilbutirilcarnitina (C5), fenilacetilglutamina, N2,N5-diacetilornitina y creatinina.

Los métodos descritos en la presente memoria se pueden utilizar para valorar la función renal y/o diagnosticar la ERC en los pacientes con estimaciones de TFG de 40-80 ml/(min/1.73 m²).

Además de la N-acetilteonina, un panel de biomarcadores puede comprender adicionalmente pseudouridina, C-glucosilriptófano y creatinina, y se puede utilizar para valorar la función renal y/o diagnosticar la ERC en un sujeto.

Breve descripción de los dibujos

La figura 1 es un ejemplo de un algoritmo para el tratamiento de pacientes que ilustra cuándo sería útil integrar la prueba de metabolitos biomarcadores (prueba con biomarcadores nuevos) en la práctica clínica. Los pacientes con puntuaciones de la TFGe y/o de albúmina en la orina en el intervalo de diagnóstico inseguro (tal y como se indica en la caja de línea discontinua) recibirían la prueba de metabolitos biomarcadores. La prueba con biomarcadores nuevos se refiere a una prueba de la función renal con metabolitos biomarcadores. G1: ERC de etapa 1, TFG > 90; G2: ERC de etapa 2, TFG de 60 a 89; G3a: ERC de etapa 3, TFG de 45 a 59; G3b: ERC de etapa 3, TFG de 30 a 44; G4: ERC de etapa 4, TFG de 15 a 29; G5: ERC de etapa 5, TFG < 15 o en diálisis. A1: cociente de albúmina entre creatinina <30 mg/g; A2: cociente de albúmina entre creatinina de 30 a 300 mg/g; A3: cociente de albúmina entre creatinina >300 mg/g. ERC, enfermedad renal crónica; TFGe, tasa de filtración glomerular estimada; CrS, creatinina en el suero.

La figura 2 es un ejemplo de un algoritmo para el tratamiento de pacientes cuando se someten a un tratamiento farmacológico que muestra el uso de la prueba de metabolitos biomarcadores. El nivel de la función renal se valoraría mediante el uso de la prueba de metabolitos biomarcadores y las recomendaciones para la pauta del tratamiento farmacológico se podrían hacer basándose en los resultados. La prueba de biomarcadores se refiere a la prueba de la función renal con metabolitos biomarcadores.

La figura 3A es una ilustración gráfica de la distribución de las muestras de suero de los pacientes en función del nivel de C-glucosilriptófano medido en la muestra tal y como se describe en el ejemplo 2.

La figura 3B es una ilustración gráfica de una curva ROC generada al hacer uso del biomarcador ejemplar C-glucosilriptófano para diferenciar la ERC de lo normal, tal y como se describe en el ejemplo 2.

La figura 4A es una ilustración gráfica de la distribución de las muestras de suero de los pacientes en función del nivel de N-acetilteonina medido en la muestra, tal y como se describe en el ejemplo 2.

La figura 4B es una ilustración gráfica de una curva ROC generada al hacer uso del biomarcador ejemplar N-acetilteonina para diferenciar la ERC de lo normal, tal y como se describe en el ejemplo 2.

La figura 5A es una ilustración gráfica de la distribución de las muestras de suero de los pacientes en función del nivel de pseudouridina medido en la muestra, tal y como se describe en el ejemplo 2.

La figura 5B es una ilustración gráfica de una curva ROC generada al hacer uso del biomarcador ejemplar pseudouridina para diferenciar la ERC de lo normal, tal y como se describe en el ejemplo 2.

La figura 6A es una ilustración gráfica del análisis de correlación de la TFG estimada que se calcula al hacer uso del modelo 1 descrito en el ejemplo 3 con la TFGe calculada al hacer uso de la ecuación de ERC-EPI.

La figura 6B es una ilustración gráfica del análisis de correlación de la TFG estimada que se calcula al hacer uso del modelo 2 descrito en el ejemplo 3 con la TFGe calculada al hacer uso de la ecuación de ERC-EPI.

La figura 6C es una ilustración gráfica del análisis de correlación de la TFG estimada que se calcula al hacer uso del modelo 3 descrito en el ejemplo 3 con la TFGe calculada al hacer uso de la ecuación de ERC-EPI.

La figura 6D es una ilustración gráfica del análisis de correlación de la TFG estimada que se calcula al hacer uso del modelo 4 descrito en el ejemplo 3 con la TFGe calculada al hacer uso de la ecuación de ERC-EPI.

La figura 6E es una ilustración gráfica del análisis de correlación de la TFG estimada que se calcula al hacer uso del modelo 5 descrito en el ejemplo 3 con la TFGe calculada al hacer uso de la ecuación de ERC-EPI.

Descripción detallada de la invención

En la presente memoria se describen biomarcadores de la función renal, métodos de valoración o de ayuda para la valoración de la función renal, métodos para el diagnóstico o para ayudar al diagnóstico de la enfermedad renal crónica (ERC); métodos para clasificar a los sujetos de acuerdo con el nivel de la función renal; métodos para vigilar la función renal; métodos para determinar la propensión a la ERC; métodos para valorar la función renal en respuesta a una composición; así como otros métodos basados en los biomarcadores de la función renal.

Se identifican grupos (también denominados «paneles») de metabolitos biomarcadores que se pueden utilizar además de la N-acetiltreonina para valorar o ayudar a la valoración de la función renal.

Sin embargo, antes de describir esta invención con más detalle, se definirán los términos que vienen a continuación.

Definiciones:

«Biomarcador» significa un compuesto, preferiblemente un metabolito, que está diferencialmente presente (a saber, está incrementado o disminuido) en una muestra biológica de un sujeto o de un grupo de sujetos que tienen un primer fenotipo (p. ej., que tienen una enfermedad) en comparación con una muestra biológica de un sujeto o grupo de sujetos que tienen un segundo fenotipo (p. ej., que no tienen la enfermedad). Un biomarcador puede estar diferencialmente presente en cualquier nivel, pero por lo general está presente a un nivel que está incrementado hasta al menos el 5%, hasta al menos el 10%, hasta al menos el 15%, hasta al menos el 20%, hasta al menos el 25%, hasta al menos el 30%, hasta al menos el 35%, hasta al menos el 40%, hasta al menos el 45%, hasta al menos el 50%, hasta al menos el 55%, hasta al menos el 60%, hasta al menos el 65%, hasta al menos el 70%, hasta al menos el 75%, hasta al menos el 80%, hasta al menos el 85%, hasta al menos el 90%, hasta al menos el 95%, hasta al menos el 100%, hasta al menos el 110%, hasta al menos el 120%, hasta al menos el 130%, hasta al menos el 140%, hasta al menos el 150% o más; o está por lo general presente a un nivel que está disminuido hasta al menos el 5%, hasta al menos el 10%, hasta al menos el 15%, hasta al menos el 20%, hasta al menos el 25%, hasta al menos el 30%, hasta al menos el 35%, hasta al menos el 40%, hasta al menos el 45%, hasta al menos el 50%, hasta al menos el 55%, hasta al menos el 60%, hasta al menos el 65%, hasta al menos el 70%, hasta al menos el 75%, hasta al menos el 80%, hasta al menos el 85%, hasta al menos el 90%, hasta al menos el 95% o hasta el 100% (a saber, ausente). Un biomarcador está preferible y diferencialmente presente a un nivel que es estadísticamente significativo (a saber, un valor de P de menos de 0.05 y/o un valor Q de menos de 0.10 según se determina al hacer uso de la prueba de la T de Welch o la prueba de la suma de rangos de Wilcoxon).

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

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

«Sujeto» significa cualquier animal, pero es preferiblemente un mamífero, tal como, por ejemplo, un humano, mono, ratón, conejo o rata.

Un «nivel de referencia» de un biomarcador significa un nivel del biomarcador que es indicativo de un estado patológico o fenotipo concretos, o ausencia de los mismos, así como combinaciones de estados patológicos, fenotipos o ausencia de los mismos. Un «nivel de referencia» de un biomarcador puede ser una cantidad absoluta o relativa o concentración del biomarcador, una presencia o ausencia del biomarcador, un intervalo de cantidad o concentración del biomarcador, una cantidad o concentración mínima y/o máxima del biomarcador, una media de la cantidad o concentración del biomarcador, y/o una mediana de la cantidad o concentración del biomarcador; y, además, los «niveles de referencia» de las combinaciones de biomarcadores también pueden ser razones de cantidades o concentraciones absolutas o relativas de dos o más biomarcadores, los unos con respecto a los otros. Los niveles de referencia apropiados de los biomarcadores para un estado patológico o fenotipo concretos, o ausencia de los mismos se puede determinar con la medición de los niveles de los biomarcadores deseados en uno o más sujetos apropiados, y tales niveles de referencia se pueden adaptar a poblaciones específicas de sujetos (p. ej., un nivel de referencia se puede emparejar por edades de tal modo que se puedan hacer comparaciones entre los niveles de biomarcadores en las muestras de los sujetos de una determinada edad y los niveles de referencia de un estado patológico o fenotipo concreto, o ausencia de los mismos en determinado grupo de edad). Un nivel de referencia «positivo» de un biomarcador significa un nivel que es indicativo de un estado patológico o fenotipo concretos. Un nivel de referencia «negativo» de un biomarcador significa un nivel que es indicativo de una ausencia de un estado patológico o fenotipo concretos. Por ejemplo, un «nivel de referencia de ERC positivo» de un biomarcador significa un nivel de un biomarcador que es indicativo de un diagnóstico positivo de una ERC en un sujeto, y un «nivel de referencia de ERC negativo» de un biomarcador significa un nivel de un biomarcador que es indicativo de un diagnóstico negativo de ERC en un sujeto (a saber, función renal normal, ausencia de ERC). Del mismo modo, un «nivel de referencia de la función renal» puede indicar el grado de la función renal presente en un sujeto. Por ejemplo, un «nivel de referencia de la función renal normal» de un biomarcador significa un nivel de un biomarcador que es indicativo de la función renal normal en un sujeto, un «nivel de referencia

de la función renal moderadamente reducida» de un biomarcador significa un nivel de un biomarcador que es indicativo de una función renal moderadamente reducida, y un «nivel de referencia de la función renal seriamente reducida» de un biomarcador significa un nivel de un biomarcador que es indicativo de una función renal seriamente reducida en un sujeto.

5 «Compuesto que no es biomarcador» significa un compuesto que no está diferencialmente presente en una muestra biológica de un sujeto o un grupo de sujetos que tienen un primer fenotipo (p. ej., que tienen una primera enfermedad) en comparación con una muestra biológica de un sujeto o de un grupo de sujetos que tienen un segundo fenotipo (p. ej., que no tienen la primera enfermedad). No obstante, tales compuestos que no son biomarcadores pueden ser biomarcadores en una muestra biológica de un sujeto o de un grupo de sujetos que tiene un tercer fenotipo (p. ej., que tienen una segunda enfermedad) en comparación con el primer fenotipo (p. ej., que tienen la primera enfermedad) o con el segundo fenotipo (p. ej., que no tienen la primera enfermedad).

10 «Metabolito» o «molécula pequeña» significa moléculas orgánicas e inorgánicas que están presentes en una célula. El término no incluye las macromoléculas grandes, tales como las proteínas grandes (p. ej., proteínas con masas moleculares de más de 2 000, 3 000, 4 000, 5 000, 6 000, 7 000, 8 000, 9 000 o 10 000), ácidos nucleicos grandes (p. ej., ácidos nucleicos con masas moleculares de más de 2 000, 3 000, 4 000, 5 000, 6 000, 7 000, 8 000, 9 000 o 10 000) o polisacáridos grandes (p. ej., polisacáridos con masas moleculares de más de 2 000, 3 000, 4 000, 5 000, 6 000, 7 000, 8 000, 9 000 o 10 000). Las moléculas pequeñas de la célula se suelen encontrar libres en solución en el citoplasma o en otros orgánulos, tales como las mitocondrias, donde forman un conjunto de intermedios que se pueden metabolizar adicionalmente o utilizarse para generar moléculas grandes, denominadas macromoléculas. El término «moléculas pequeñas» incluye moléculas de señalización e intermedios en las reacciones químicas que transforman la energía procedente de los alimentos en formas utilizables. Los ejemplos de moléculas pequeñas incluyen azúcares, ácidos grasos, aminoácidos, nucleótidos, intermedios formados durante los procesos celulares y otras moléculas pequeñas que se hallan en la célula.

20 «Velocidad de filtración glomerular» o «TFG» es el volumen de líquido filtrado desde los capilares glomerulares del riñón hacia la cápsula de Bowman por unidad de tiempo. La TFG es una medida de la función renal mediante la cual la TFG en o por encima de un determinado umbral indica una función renal normal, y la TFG por debajo del valor del umbral indica que la función renal está comprometida o deteriorada. Por lo general, un valor alto de TFG indica una mejor función renal, mientras que una TFG baja indica un deterioro de la función renal (p. ej., enfermedad renal crónica, lesión renal aguda).

25 «Tasa de filtración glomerular estimada» o «TFGe» significa una estimación calculada de la tasa de filtración glomerular real basándose en la concentración de la creatinina en el suero. Por lo general, los valores bajos de TFGe están asociados a una disminución de la función renal.

30 «TFGe por ERC-EPI» o «Colaboración de la epidemiología de la enfermedad renal crónica» es una ecuación para calcular la TFGe. La ecuación es: $TFG = 141 \times \min(CrS/k, 1)^\alpha \times \max(CrS/k, 1)^{-1.209} \times 0.993^{Edad} \times 1.018$ [si mujer] $\times 1.159$ [si negro], donde CrS es la creatinina en el suero (mg/dl), k es 0.7 para las mujeres y 0.9 para los hombres, α es -0.329 para las mujeres y -0.411 para los hombres, mín indica el mínimo de CrS/k o 1, y máx indica el máximo de CrS/k o 1.

35 «MDER» o «TFGe por modificación de la dieta en la enfermedad renal» es otra ecuación para calcular la TFGe. La ecuación es: $TFGe = 186 \times (CrS)^{-1.154} \times (Edad)^{-0.203} \times (0.742 \text{ si mujer}) \times (1.212 \text{ si negro})$, en donde CrS es la creatinina en el suero (mg/dl).

40 «Albúmina en la orina» es una prueba que mide la cantidad de albúmina en la orina y también se utiliza para detectar enfermedades renales.

«Creatinina en el suero» o «CrS» se refiere a la medición de la creatinina en el suero y se utiliza corrientemente para estimar la TFG.

45 «Nitrógeno ureico en la sangre» o «NUS» se refiere a la medición de la cantidad de nitrógeno en la sangre en forma de urea. La NUS es una prueba que se usa para medir la función renal.

50 «Enfermedad renal crónica» o «ERC» incluye afecciones que dañan los riñones y dan lugar a la disminución de la capacidad del riñón para retirar los desechos desde el organismo, lo que da lugar a la elevación de la cantidad de desechos en el organismo y conduce a un incremento del riesgo de enfermedad y al desarrollo de complicaciones, tales como hipertensión arterial, anemia, salud nutricional deficiente y daño a los nervios. A los pacientes con anomalías de la función renal durante al menos tres meses se les puede diagnosticar una ERC. El daño renal debido a la ERC es permanente.

«Lesión renal aguda» o «LRA» se refiere a una afección en la que hay una pérdida rápida de la función renal. El daño renal debido a la LRA puede ser reversible.

55 «Etapas de la enfermedad renal crónica» o «etapas de la ERC» significa el grado de daño renal que se valora actualmente mediante el uso de la tasa de filtración glomerular medida o estimada (TFGm, TFGe). Desde el punto de

vista clínico, se suelen reconocer 5 etapas de ERC en las que la función renal se considera normal en la etapa 1 (TFG > 90), se considera reducida mínimamente en la etapa 2 (TFG de 60 a 89), se considera moderadamente reducida en las etapas 3A y 3B (TFG de 30 a 59), está seriamente reducida en la etapa 4 (TFG de 15 a 29) y está en insuficiencia renal terminal o muy grave, también denominada insuficiencia renal consolidada, en la etapa 5 (TFG < 15 o en diálisis). Las etapas de la función renal se pueden utilizar para referirse al daño renal presente durante cualquier periodo de tiempo (a saber, daño renal debido a LRA o ERC).

I. Biomarcadores

Por lo general, los perfiles metabólicos se generaron a partir de muestras biológicas recogidas de sujetos humanos cuyo margen de función renal se determinó mediante la TFGe, que se calcula al hacer uso de la ecuación de TFGe por ERC-EPI y/o TFGe por MDER. Los biomarcadores de la función renal se identificaron al analizar los niveles de los metabolitos que se midieron en las muestras de suero y de orina de los sujetos, y la correlación de los niveles con la TFGe; las moléculas que se correlacionaban significativamente con la TFGe se seleccionaron como biomarcadores de la función renal. Los biomarcadores de ERC se identificaron mediante la generación del perfil metabólico para las muestras biológicas recogidas de un grupo de sujetos que tienen ERC (a saber, individuos con la TFGe < 60) y la comparación de dicho perfil con el perfil metabólico de las muestras biológicas de los sujetos que no tienen la ERC (a saber, individuos con la TFGe ≥ 60). Las moléculas diferencialmente presentes, entre ellas las moléculas diferencialmente presentes a un nivel que es estadísticamente significativo ($P < 0.1$), en el perfil metabólico de las muestras séricas de los sujetos con ERC en comparación con el grupo de control (p. ej., sujetos a los que no se ha diagnosticado una ERC) se identificaron como biomarcadores para diagnosticar la ERC.

Los biomarcadores se explican con mayor detalle en la presente memoria. Los biomarcadores identificados se pueden utilizar para valorar la función renal en un sujeto, para vigilar un sujeto con el fin de detectar cambios en la función renal (p. ej., disminuciones de la función que pueden indicar una lesión renal aguda o una ERC incipiente), para clasificar a los sujetos según el grado de la función renal (p. ej., normal, levemente reducida, moderadamente reducida, seriamente reducida, insuficiencia renal terminal) y para distinguir a los sujetos que tienen ERC frente a los sujetos de control a los que no se ha diagnosticado la ERC (véanse las tablas 1, 2, 3 y/o 4). Además, los biomarcadores se pueden utilizar para vigilar los cambios de la función renal con el tiempo o en respuesta a un tratamiento farmacológico, enfermedad (p. ej., diabetes de tipo 2) o intervenciones en el estilo de vida (p. ej., dieta, ejercicio), y para identificar o descartar a los sujetos como candidatos idóneos para tratamientos farmacológicos y/o trasplante de riñón.

II. Métodos

A. Valoración de la función renal con el uso de los biomarcadores

Los biomarcadores de la función renal se pueden utilizar para valorar (o ayudar a la valoración de) la función renal en un sujeto. Se debe saber que los biomarcadores identificados se pueden utilizar para valorar la función renal en cualquier sujeto e incluye la valoración de la función renal en un sujeto asintomático, en un sujeto que tiene el riesgo de ERC o LRA debido a la presencia de síntomas o factores de riesgo (p. ej., hipertensión, diabetes, antecedentes familiares de ERC, exposición a determinadas condiciones químicas/medioambientales, etc.), y en un sujeto en respuesta a una composición o a una intervención terapéutica (p. ej., trasplante de riñón, modificación del estilo de vida). Además, se debe saber que un sujeto puede someterse a una o varias valoraciones de la función renal.

En un método de ejemplo, la valoración de la función renal en un sujeto comprende (1) analizar una muestra biológica obtenida de un sujeto para determinar el nivel o niveles de uno o varios biomarcadores de la función renal en la muestra, y (2) comparar el nivel o niveles del uno o varios biomarcadores en la muestra con el nivel o niveles de referencia de uno o varios biomarcadores para valorar la función renal en un sujeto y determinar si la función renal es normal o está deteriorada, así como para determinar el nivel de deterioro de la función renal. Con la N-acetiltreonina como biomarcador necesario, se pueden seleccionar otros biomarcadores más de las tablas 1, 2, 3 y/o 4, y/o del grupo que consiste en los biomarcadores siguientes: pseudouridina, C-glucosilriptrófano, N-acetilserina, N-acetilalanina, N6-carbamoyltreoniladenosina, 4-acetamidobutanoato, eritritol, mioinositol, eritronato, urea, arabitol, N2,N2-dimetilguanosa, N1-metiladenosina, 3-metilglutarilcarnitina (C6), S-adenosilhomocisteína (SAH), N-acetilmetionina, N6-acetil-lisina, quinurenina, arabonato, succinilcarnitina, ribosa, xilonita, N-formilmetionina, sulfato de O-metilcatecol, 2-metilbutirilcarnitina (C5), fenilacetilglutamina, N2,N5-diacetilornitina, creatinina y combinaciones de los mismos. Cuando se utiliza tal método para ayudar a valorar la función renal, los resultados del método se pueden utilizar junto con otros métodos (o los resultados de los mismos) y/o metadatos del paciente útiles para la determinación clínica para saber si un sujeto tiene una función renal normal o una función renal deteriorada (que puede ser resultado de una lesión renal aguda (LRA) o una ERC), así como el nivel de la función renal (p. ej., normal, levemente deteriorada, moderadamente deteriorada, seriamente deteriorada, insuficiencia renal terminal).

Cualquier método idóneo se puede utilizar para analizar la muestra biológica para determinar el nivel o niveles de uno o varios de los biomarcadores en la muestra. Los métodos idóneos incluyen cromatografía (p. ej., HPLC, cromatografía de gases, cromatografía líquida), espectrometría de masas (p. ej., MS, MS-MS), inmunoensayo enzimático (ELISA), fijación de anticuerpos, otras técnicas inmunoquímicas y combinaciones de las mismas. Además, el nivel o niveles de uno de o varios biomarcadores se puede medir indirectamente, por ejemplo, mediante el uso de un ensayo que mide el nivel de un compuesto (o compuestos) que se correlaciona con el nivel de biomarcador o biomarcadores que se

desean medir.

En los métodos descritos se puede determinar el nivel de N-acetilteonina necesario y de cualquier biomarcador adicional seleccionado de los biomarcadores recogidos en esta lista: pseudouridina, C-glucosiltriptófano, N-acetilserina, N-acetilalanina, N6-carbamoyliladenosina, 4-acetamidobutanoato, eritritol, mioinositol, eritronato, urea, arabitol, N2,N2-dimetilguanosa, N1-metiladenosina, 3-metilglutarilcarnitina (C6), S-adenosilhomocisteína (SAH), N-acetilmetionina, N6-acetil-lisina, quinurenina, arabonato, succinilcarnitina, ribosa, xilonita, N-formilmetionina, sulfato de O-metilcatecol, 2-metilbutirilcarnitina (C5), fenilacetilglutamina, N2,N2-diacetilornitina, creatinina. Por ejemplo, el nivel o niveles de un biomarcador, dos o más biomarcadores, tres o más biomarcadores, cuatro o más biomarcadores, cinco o más biomarcadores, seis o más biomarcadores, siete o más biomarcadores, ocho o más biomarcadores, nueve o más biomarcadores, diez o más biomarcadores, etc., entre ellos una combinación de N-acetilteonina y todos los biomarcadores recogidos en la lista.

La determinación de los niveles de combinaciones de los biomarcadores puede permitir mayor sensibilidad y especificidad en los métodos descritos. Por ejemplo, un análisis por parejas de dos biomarcadores o razones de los niveles de determinados biomarcadores (y compuestos que no son biomarcadores) en las muestras biológicas puede permitir mayor sensibilidad y especificidad a la hora de valorar la función renal y ayudar a la valoración de la función renal. Por ejemplo, en un sujeto se puede utilizar la relación de mioinositol por glicerosfocofolina (GPC), triptófano por quinurenina, triptófano por sulfato de 3-idoxilo y/o triptófano por indolacetato para valorarle la función renal. En otros ejemplos, la determinación de los niveles de combinaciones de dos o más, tres o más, cuatro o más y/o cinco o más biomarcadores puede permitir mayor sensibilidad y especificidad en los métodos que se describen en la presente memoria. En un ejemplo, los niveles necesarios de N-acetilteonina más pseudouridina, C-glucosiltriptófano y creatinina se pueden utilizar para valorar la función renal en un sujeto. En otro ejemplo, los niveles necesarios de N-acetilteonina más pseudouridina, mioinositol y creatinina se pueden utilizar para valorar la función renal en un sujeto. En otro ejemplo, los niveles necesarios de N-acetilteonina más mioinositol, C-glucosiltriptófano y creatinina se pueden utilizar para valorar la función renal en un sujeto. En otro ejemplo, los niveles necesarios de N-acetilteonina, más mioinositol, quinurenina y creatinina se pueden utilizar para valorar la función renal en un sujeto. En otro ejemplo, los niveles necesarios de N-acetilteonina más pseudouridina, C-glucosiltriptófano y mioinositol se pueden utilizar para valorar la función renal en un sujeto.

El nivel o niveles de N-acetilteonina y optativamente otros biomarcadores más se pueden comparar con los niveles de referencia de la función renal mediante el uso de diferentes técnicas, entre ellas una comparación sencilla (p. ej., una comparación manual). El nivel o niveles de N-acetilteonina y optativamente otros biomarcadores más en la muestra biológica se pueden comparar también con los niveles de referencia mediante el uso de uno o más análisis estadísticos (p. ej., prueba de la *t*, prueba de la *T* de Welch, prueba de la suma de rangos de Wilcoxon, análisis de correlación, selvas aleatorias (*random forest*), valor de *T*, valor de *Z*) o mediante un modelo matemático (p. ej., algoritmo, modelo estadístico). Por ejemplo, se puede utilizar un modelo matemático que comprende un solo algoritmo o varios algoritmos para valorar la función renal en un sujeto.

Los resultados del método se pueden utilizar junto con otros métodos y mediciones (o los resultados de los mismos) útiles para la valoración de la función renal en un sujeto. Por ejemplo, con los biomarcadores se pueden utilizar parámetros clínicos, tales como mediciones de NUS, CrS y/o albúmina en la orina; marcadores de la función renal, tales como microglobulina β -2, β -TRACE, 2-manopiranosiltriptófano (2-MPT); así como información del paciente, tal como, por ejemplo, antecedentes familiares de ERC u otros factores de riesgo.

En la presente memoria se describe la identificación de biomarcadores para la función renal que permiten la valoración de (o que ayudan a la valoración de) la función renal en los pacientes que se someten a pruebas de diagnóstico por imagen mediante el uso de agentes de contraste, donde los agentes de contraste para las imágenes pueden ser tóxicos y, como resultado, pueden provocar una lesión renal. Por ejemplo, en un paciente con una reducción de la función renal (p. ej., ERC de etapa 2, o ERC de etapa 3 o etapa 3A), una medición exacta de la función renal ayudará a que los pacientes y los médicos valoren la relación riesgo por beneficio de las pruebas de diagnóstico por imagen, y permitirá tomar decisiones más informadas.

También se describe en la presente memoria la identificación de biomarcadores para la función renal que permiten la valoración de (o que ayudan a la valoración de) la función renal para identificar la ERC incipiente antes de que se pueda diagnosticar la ERC con el uso de los estándares actuales con los que se determina la función renal (p. ej., mediciones de CrS, TFGe, cistatina C, albúmina en la orina y/o NUS). Las mediciones clínicas pueden no ser suficientemente sensibles para detectar los primeros cambios de la función renal o pueden ser inexactas en determinados sujetos debido a, por ejemplo, enfermedad crónica, obesidad, edad avanzada, dieta vegetariana y/o reducción general de la masa muscular. Por ejemplo, en un sujeto con diabetes de tipo 2, los métodos de la invención se pueden utilizar para diagnosticar o ayudar al diagnóstico de la ERC. El diagnóstico exacto y precoz de la ERC puede permitir la intervención terapéutica más temprana, lo que podría retrasar o impedir el desarrollo de daños renales adicionales y una ERC más grave.

También se describe en la presente memoria que una valoración exacta de la función renal en un sujeto que es un posible donante de riñón ayudará al médico a determinar si el posible donante es idóneo para donar un riñón.

Los métodos de la invención pueden tener en cuenta un método de valoración de la función renal en un sujeto que se está tratando con una composición. La composición puede ser cualquier composición, fármaco o agente terapéutico dado a un sujeto para tratar cualquier enfermedad o afección. La composición puede ser además cualquier composición dada a un paciente que tiene una enfermedad o afección, por ejemplo, un contraste para el diagnóstico por imágenes. En la presente memoria se describe que la identificación de biomarcadores para la función renal también tiene en cuenta la valoración de la respuesta del sujeto a una composición que altera la función renal, así como la valoración de la respuesta relativa del paciente a dos o más composiciones que alteran la función renal. Tales valoraciones se pueden utilizar, por ejemplo, para seleccionar composiciones para el tratamiento del cáncer de determinados sujetos o para seleccionar sujetos para un ciclo de tratamiento o la inclusión en un ensayo clínico. Tales valoraciones se pueden utilizar también para vigilar la función renal en respuesta a una composición antes, durante y/o después (a saber, después del lanzamiento) del procedimiento de desarrollo del fármaco.

En la presente memoria se describe una prueba de metabolitos biomarcadores para dar a conocer una determinación exacta de la función renal en los pacientes con valores de TFGe que están en el límite de lo normal, lo que permite así al médico seleccionar un determinado tratamiento o modificar el tratamiento de los pacientes para reducir el riesgo de daños renales adicionales. Tal prueba de biomarcadores supera las limitaciones de las pruebas actuales de la función renal que no valoran de manera exacta a todas las poblaciones de pacientes (lo que a menudo conduce a diagnósticos positivos falsos o negativos falsos), y no detectan con precocidad el deterioro de la función renal (que puede ser indicativo de LRA o ERC incipiente).

En la figura 1 se ilustra un algoritmo de la práctica clínica (diagrama de flujo) que describe las mejores prácticas para el cribado, evaluación diagnóstica, tratamiento y gestión de los síntomas clínicos para diagnosticar la ERC. En este diagrama de flujo está integrada una prueba de biomarcadores de la función renal que se basa en el análisis de los niveles de un panel de biomarcadores para la función renal seleccionados entre los biomarcadores recogidos en esta lista: pseudouridina, N-acetiltreonina, C-glucosilriptrófano, N-acetilserina, N-acetilalanina, N6-carbamoiltreoniladenosina, 4-acetamidobutanoato, eritritol, mioinositol, eritronato, urea, arabitol, N2,N2-dimetilguanosina, N1-metiladenosina, 3-metilglutarilcarnitina (C6), S-adenosilhomocisteína (SAH), N-acetilmetionina, N6-acetil-lisina, quinurenina, arabonato, succinilcarnitina, ribosa, xilonita, N-formilmetionina, sulfato de O-metilcatecol, 2-metilbutirilcarnitina (C5), fenilacetilglutamina, N2,N5-diacetilornitina y creatinina. En este ejemplo, a un paciente sin síntomas de ERC se le puede valorar inicialmente la función renal mediante la medición de la CrS y la TFGe y/o la albúmina en la orina, tal y como se recomienda en las directrices de la práctica clínica actual. Las etapas de la ERC de G2 a G3a que se miden mediante la TFGe y/o la ERC de etapa A1 que se mide mediante la albúmina en la orina a menudo dan lugar a diagnósticos positivos falsos o negativos falsos; se recomienda una prueba de confirmación. Los pacientes con estas puntuaciones se someterían a la nueva prueba de metabolitos biomarcadores para ayudar a diagnosticar la ERC (caja de línea discontinua). La normalidad en los niveles de los biomarcadores de la función renal son indicativos de que el paciente tiene una función renal normal. Se realizaría un seguimiento periódico de los pacientes diagnosticados como normales mediante el uso de la prueba de metabolitos biomarcadores para valorarles la función renal. Si el resultado con respecto a los niveles de metabolitos biomarcadores en el nivel basal sale que están significativamente por encima o por debajo del margen normal, esto indica que un paciente tiene ERC. Los pacientes que se diagnostica que tienen ERC mediante el uso de la prueba de metabolitos biomarcadores recibirían el tratamiento adecuado.

En la presente memoria se describe cómo se pueden utilizar los biomarcadores en un modelo matemático o estadístico o fórmula para proporcionar al médico una puntuación numérica («puntuación de la función renal») que indica el nivel de la función renal y/o a probabilidad de que un sujeto tenga una función renal comprometida, lo que puede indicar una LRA o una ERC. La puntuación se basa en que haya un cambio significativo desde el punto de vista clínico del nivel o de los niveles de referencia para un biomarcador y/o combinación de biomarcadores. El nivel de referencia puede proceder de un algoritmo o calcularse a partir de índices para la TFG deteriorada. Los métodos para determinar la puntuación de la función renal de un sujeto pueden comprender la comparación del nivel o niveles de uno o varios biomarcadores de la función renal en la muestra para los niveles de referencia de la función renal de N-acetiltreonina más, optativamente, otros biomarcadores más para determinar la puntuación de la función renal del sujeto. El método puede emplear cualquier cantidad de marcadores adicionales seleccionados de la siguiente lista: pseudouridina, C-glucosilriptrófano, N-acetilserina, N-acetilalanina, N6-carbamoiltreoniladenosina, 4-acetamidobutanoato, eritritol, mioinositol, eritronato, urea, arabitol, N2,N2-dimetilguanosina, N1-metiladenosina, 3-metilglutarilcarnitina (C6), S-adenosilhomocisteína (SAH), N-acetilmetionina, N6-acetil-lisina, quinurenina, arabonato, succinilcarnitina, ribosa, xilonita, N-formilmetionina, sulfato de O-metilcatecol, 2-metilbutirilcarnitina (C5), fenilacetilglutamina, N2,N5-diacetilornitina y creatinina. Varios biomarcadores se pueden correlacionar con la función renal mediante cualquier método, entre ellos los métodos estadísticos, tales como el análisis de regresión.

La puntuación de la función renal se puede utilizar para colocar al sujeto en el margen de función renal que va de normal (a saber, ningún deterioro de la función renal) a levemente reducida, moderadamente reducida, seriamente reducida o insuficiencia renal terminal. Los usos a modo de ejemplos no limitantes de la puntuación de la función renal incluyen: valoración de la función renal; clasificación de la función renal; propensión a desarrollar ERC; propensión a desarrollar LRA; diagnóstico y etapa de la ERC; vigilancia de la progresión de la ERC mediante la determinación periódica y vigilancia de la puntuación de la función renal; vigilancia del estado de la función renal de los receptores de un trasplante de riñón; determinación de una respuesta a la intervención terapéutica; evaluación de la eficacia farmacológica; y determinación de la tolerancia de los agentes terapéuticos y/o de contraste para el diagnóstico por

imagen.

En la presente memoria se describen métodos que se pueden utilizar para valorar la función renal en el tiempo, con lo que se consigue vigilar la función renal. El cambio (si lo hay) del nivel o de los niveles de N-acetiltreonina más otros biomarcadores optativos adicionales a lo largo del tiempo (a saber, en una primera muestra de un sujeto en un primer punto del tiempo en comparación con una segunda muestra obtenida del sujeto en un segundo punto del tiempo) puede ser indicativo de una función renal alterada en el paciente a lo largo del tiempo. Para caracterizar la función renal de un sujeto a lo largo del tiempo, el nivel o niveles del biomarcador N-acetiltreonina más otros biomarcadores optativos más en la primera muestra, el nivel o niveles del biomarcador N-acetiltreonina más otros biomarcadores optativos más en la segunda muestra, y/o los resultados de la comparación de los niveles de los biomarcadores en la primera y segunda muestras se pueden comparar con los niveles de referencia del uno o varios biomarcadores. Si las comparaciones indican que el nivel o niveles de N-acetiltreonina más otros biomarcadores optativos más se incrementan o disminuyen a lo largo del tiempo (p. ej., en la segunda muestra con respecto a la primera muestra) para llegar a ser más similares a los niveles de referencia bajos de la función renal (o menos similares a los niveles de referencia altos de la función renal), entonces los resultados son indicativos del declive de la función renal. Si las comparaciones indican que el nivel o niveles de N-acetiltreonina más otros biomarcadores optativos más se incrementan o disminuyen de modo similar a los bajos niveles de referencia de la función renal, entonces los resultados son indicativos de normalidad en la función renal. Por ejemplo, un sujeto puede tener una función renal normal en un primer punto del tiempo (p. ej., uno o varios biomarcadores son similares al nivel de referencia alto de la función renal o distintos del nivel de referencia bajo de la función renal) y permanece en el margen normal en un segundo punto de tiempo (p. ej., permanece similar a los niveles de referencia altos de la función renal o distintos de los niveles de referencia bajos de la función renal), esto indica que no hubo ningún cambio en la función renal. En otro ejemplo, la función renal puede ser normal en un primer punto de tiempo (p. ej., uno o varios biomarcadores son similares a los niveles de referencia altos de la función renal o distintos de los niveles de referencia bajos de la función renal) y luego disminuye en un segundo punto del tiempo, aunque permanece en el margen normal de la función renal, esto indica que, aunque siga estando en el margen normal, descendió la función renal. En otra ilustración, un sujeto con una función renal en el límite de lo normal en un primer punto del tiempo se puede diagnosticar con ERC basándose en el nivel o niveles de los biomarcadores en el segundo punto del tiempo, lo que indica un empeoramiento de la función renal en el sujeto.

La diferencia entre la cantidad relativa del biomarcador y el nivel de referencia también se puede utilizar para valorar la función renal a lo largo del tiempo. Por ejemplo, si las comparaciones indican que hay una gran diferencia entre el nivel o niveles de uno o varios biomarcadores y los niveles de referencia altos de la función renal (o una diferencia menor entre el nivel o niveles de uno o varios biomarcadores y los niveles de referencia bajos de la función renal) a lo largo del tiempo, entonces los resultados son indicativos de que el paciente está desarrollando un declive de la función renal.

Después de obtener la primera muestra, se pueden obtener una o varias muestras más del sujeto en un momento posterior en el tiempo. En un aspecto, uno o varias muestras más se obtienen 1, 2, 3, 4, 5, 6 o más días después de la primera muestra. En otro aspecto, la una o varias muestras se obtienen 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 o más semanas después de la primera muestra o después del inicio del tratamiento con la composición. En otro aspecto, una o varias muestras más se pueden obtener 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 o más meses después de la primera muestra o después del inicio del tratamiento con la composición.

En otra realización, los métodos podrían utilizarse para vigilar la función renal en los sujetos que tienen ERC o en los sujetos que se sospecha que están predispuestos a desarrollar una ERC (p. ej., sujetos en riesgo debido a antecedentes familiares de ERC, tratamiento farmacológico, enfermedad crónica, etc.). En un ejemplo, los biomarcadores descritos en la presente memoria se pueden utilizar para vigilar la función renal en los sujetos que no tienen ERC. Por ejemplo, en un sujeto que se sospecha que está predispuesto a desarrollar ERC, los biomarcadores descritos en la presente memoria se pueden utilizar para vigilar el desarrollo de la ERC.

En otro ejemplo, los biomarcadores descritos en la presente memoria se pueden utilizar para vigilar la función renal de los receptores de un trasplante de riñón.

En otra realización, un algoritmo con biomarcadores se podría utilizar para vigilar la función renal de un paciente. Con el uso de los resultados del algoritmo con biomarcadores en combinación con los resultados de la prueba actual de la función renal (p. ej., CrS, TFGe, NUS, albúmina en la orina, cistatina C), un médico podría valorar la relación entre riesgo y beneficio que ofrece el tratamiento farmacológico al paciente. Además, un algoritmo con biomarcadores podría ser utilizado por los médicos que tratan a cualquier paciente en riesgo de desarrollar una pérdida de la función renal (p. ej., diabéticos, hipertensos, ancianos, con antecedentes familiares, fumadores, enfermos crónicos, receptores de trasplante de riñón, etc.). El tratamiento farmacológico puede ser cualquier agente utilizado para tratar cualquier enfermedad o afección.

En la figura 2 se ilustra un ejemplo de un algoritmo con biomarcadores (diagrama de flujo). Los niveles de los biomarcadores de la función renal que son normales a nivel basal y que permanecen dentro del margen normal durante el tratamiento son indicativos de que el paciente tiene una función renal normal.

Un resultado en el que los niveles de los metabolitos biomarcadores en el nivel basal o los cambios en estos niveles durante el tratamiento quedan fuera del margen normal, pero no excesivamente afuera, indicaría que el paciente tiene una pérdida de la función renal de leve a moderada. Estos pacientes representan a aquellos cuyos resultados estarían en el límite con las pruebas actuales de la función renal. Basándose en el resultado de la prueba de metabolitos biomarcadores, el médico que realiza el tratamiento puede elegir entre volver a valorar el riesgo según el beneficio que proporciona la pauta de tratamiento actual (p. ej., agente terapéutico, dosis) en el paciente y el cambio de tratamiento para el paciente.

Un resultado en el que los niveles de los metabolitos biomarcadores a nivel basal o los cambios de estos niveles durante el tratamiento quedan significativamente, y en exceso, por fuera del intervalo normal indicaría que el paciente tiene una pérdida seria de la función renal. Sería muy recomendable introducir cambios en el tratamiento del paciente (p. ej., retirar el tratamiento con un determinado fármaco, cambiar a otro fármaco).

B. Cómo diagnosticar la enfermedad renal crónica mediante el uso de los biomarcadores

La identificación de los biomarcadores para la función renal también permite el diagnóstico de (o ayudar al diagnóstico de) la ERC en un sujeto. Se ha de saber que los biomarcadores identificados se pueden utilizar para diagnosticar o ayudar al diagnóstico de la ERC en cualquier sujeto, entre ellos los sujetos asintomáticos, los sujetos que presentan uno o varios síntomas que concuerdan con la presencia de ERC y/o los sujetos que es probable que tengan ERC (p. ej., enfermedad crónica, tratamientos farmacológicos, uso de contraste para diagnóstico por imágenes, etc.). En un método ejemplar, diagnosticar (o ayudar al diagnóstico) de si un sujeto tiene ERC comprende (1) analizar una muestra biológica de un sujeto para determinar el nivel o niveles del biomarcador N-acetilteonina más otros biomarcadores optativos más de la función renal en la muestra y (2) comparar el nivel o niveles de N-acetilteonina más otros biomarcadores optativos más en la muestra con los niveles de referencia de N-acetilteonina de ERC positiva y/o de ERC negativa más otros biomarcadores optativos para diagnosticar (o ayudar al diagnóstico de) si el sujeto tiene ERC. Los biomarcadores optativos adicionales a la N-acetilteonina se pueden seleccionar de la tabla 1. Cuando se utiliza tal método para ayudar al diagnóstico de la ERC, los resultados del método se pueden utilizar junto con otros métodos y mediciones (o los resultados de los mismos) y/o metadatos del paciente útiles para la determinación clínica de si un sujeto tiene ERC. Se conocen en la técnica los métodos útiles para la determinación clínica de si un sujeto tiene ERC. Por ejemplo, los métodos útiles para la determinación clínica de si un sujeto tiene ERC incluyen, por ejemplo, CrS, NUS, TFG_e, TFG_m, albúmina en la orina y cistatina C. Otras mediciones útiles para determinar si un sujeto tiene ERC incluyen, por ejemplo, la microglobulina β -2, β -TRACE y/o 2-manopiranosilriptófano (2-MPT). Los metadatos del paciente útiles para la determinación clínica de si un sujeto tiene ERC incluyen, por ejemplo, edad, peso, sexo y raza.

Se puede utilizar cualquier método idóneo para analizar la muestra biológica para determinar el nivel o niveles de uno o varios biomarcadores en la muestra. Los métodos idóneos incluyen cromatografía (p. ej., HPLC, cromatografía de gases, cromatografía líquida), espectrometría de masas (p. ej., MS, MS-MS), inmunoensayo enzimático (ELISA), fijación de anticuerpos, otras técnicas inmunoquímicas y combinaciones de las mismas. Además, el nivel o niveles de N-acetilteonina y otros biomarcadores optativos se pueden medir indirectamente, por ejemplo, mediante el uso de un ensayo que mide el nivel de un compuesto (o compuestos) que se correlaciona con el nivel del biomarcador o biomarcadores que se desean medir.

El nivel de N-acetilteonina y otros biomarcadores optativos de la tabla 1 se pueden determinar en los métodos de valoración y los métodos de ayuda a la valoración de la función renal en un sujeto. Por ejemplo, se puede determinar y utilizar en tales métodos el nivel o niveles de un biomarcador más, dos o más biomarcadores adicionales, tres o más biomarcadores adicionales, cuatro o más biomarcadores adicionales, cinco o más biomarcadores adicionales, seis o más biomarcadores adicionales, siete o más biomarcadores adicionales, ocho o más biomarcadores adicionales, nueve o más biomarcadores adicionales, etc., entre ellos una combinación de alguno o todos los biomarcadores de la tabla 1 o cualquier fracción de los mismos.

La determinación de los niveles de las combinaciones de los biomarcadores puede permitir una mayor sensibilidad y especificidad a la hora de diagnosticar la ERC y ayudar al diagnóstico de la ERC. Por ejemplo, el análisis por parejas de dos biomarcadores o razones de los niveles de determinados biomarcadores (y compuestos que no son biomarcadores) en las muestras biológicas puede permitir una mayor sensibilidad y especificidad para diagnosticar la ERC y ayudar al diagnóstico de la ERC. Por ejemplo, la razón de mioinositol por glicerosfocolina (GPC), triptófano por quinurenina, triptófano por sulfato de 3-indoxilo y/o triptófano por indolacetato se pueden utilizar para diagnosticar o ayudar al diagnóstico de la ERC en un sujeto. En otro ejemplo, la determinación de los niveles de las combinaciones de dos o más, tres o más, cuatro o más y/o cinco o más biomarcadores puede permitir una mayor sensibilidad y especificidad en los métodos descritos en la presente memoria. En un ejemplo, los niveles de N-acetilteonina, pseudouridina, C-glucosilriptófano y creatinina se pueden utilizar para diagnosticar o ayudar al diagnóstico de la ERC en un sujeto. En otro ejemplo, los niveles de N-acetilteonina, pseudouridina, mioinositol y creatinina se pueden utilizar para diagnosticar o ayudar al diagnóstico de la ERC en un sujeto. En otro ejemplo, los niveles de N-acetilteonina, mioinositol, C-glucosilriptófano y creatinina se pueden utilizar para diagnosticar o ayudar al diagnóstico de la ERC en un sujeto. En otro ejemplo, los niveles de N-acetilteonina, mioinositol, quinurenina y creatinina se puede utilizar para diagnosticar o ayudar al diagnóstico de la ERC en un sujeto. En otro ejemplo, los niveles de N-acetilteonina, pseudouridina, C-glucosilriptófano y mioinositol se pueden utilizar para diagnosticar o ayudar al diagnóstico de la ERC en un sujeto.

Después de determinar el nivel o niveles de N-acetiltreonina más otros biomarcadores optativos en la muestra, el nivel o niveles se comparan con los niveles de referencia de la ERC positiva y/o de la ERC negativa para diagnosticar o ayudar al diagnóstico de si el sujeto tiene ERC. Los niveles de N-acetiltreonina más otros biomarcadores optativos en una muestra que concuerda con los niveles de referencia de la ERC positiva (p. ej., niveles que son los mismos que los niveles de referencia, sustancialmente los mismos que los niveles de referencia, ligeramente por encima y/o por debajo del mínimo y/o máximo de los niveles de referencia y/o dentro del margen de los niveles de referencia) son indicativos de un diagnóstico de ERC en el sujeto. Los niveles de N-acetiltreonina más otros biomarcadores optativos adicionales en una muestra que concuerda con los niveles de referencia de la ERC negativa (p. ej., niveles que son los mismos que los niveles de referencia, sustancialmente los mismos que los niveles de referencia, ligeramente por encima y/o por debajo del mínimo y/o del máximo de los niveles de referencia, y/o dentro del margen de los niveles de referencia) son indicativos de un diagnóstico de ausencia de ERC en el sujeto. Además, los niveles de N-acetiltreonina más otros biomarcadores optativos adicionales que están diferencialmente presentes (sobre todo a un nivel que es estadísticamente significativo) en la muestra en comparación con los niveles de referencia de la ERC negativa son indicativos de un diagnóstico de ERC en el sujeto. Los niveles de N-acetiltreonina más otros biomarcadores optativos adicionales que están diferencialmente presentes (sobre todo a un nivel que es estadísticamente significativo) en la muestra en comparación con los niveles de referencia de la ERC positiva son indicativos de un diagnóstico de ausencia de ERC en el sujeto.

El nivel o niveles de N-acetiltreonina más otros biomarcadores optativos adicionales se pueden comparar con los niveles de referencia de ERC positiva y/o de ERC negativa mediante el uso de diferentes técnicas, entre ellas una comparación simple (p. ej., una comparación manual) del nivel o niveles de N-acetiltreonina más otros biomarcadores optativos adicionales en la muestra biológica con los niveles de referencia de la ERC positiva y/o de la ERC negativa. El nivel o niveles de N-acetiltreonina más otros biomarcadores optativos adicionales en la muestra biológica se pueden comparar también con los niveles de referencia de la ERC positiva y/o de la ERC negativa mediante el uso de uno o más análisis estadísticos (p. ej., prueba de la t , prueba de la T de Welch, prueba de la suma de rangos de Wilcoxon, análisis de correlación, selvas aleatorias, puntuación de T) o mediante el uso de un modelo matemático (p. ej., algoritmo, modelo estadístico).

Por ejemplo, un modelo matemático que comprende un único algoritmo o numerosos algoritmos se puede utilizar para valorar la función renal en un sujeto. También se puede utilizar un modelo matemático para determinar si un sujeto tiene ERC. También se puede utilizar un modelo matemático para diferenciar entre las etapas de la ERC. Un modelo matemático ejemplar puede utilizar los niveles medidos de cualquier número de biomarcadores (por ejemplo, 2, 3, 5, 7, 9, etc.) de un sujeto para determinar, mediante el uso de un algoritmo o una serie de algoritmos basados en las relaciones matemáticas entre los niveles de los biomarcadores medidos, si un sujeto tiene la función renal normal o ERC, si un sujeto está predispuesto a desarrollar una ERC, si la ERC está progresando en un sujeto, si un sujeto está en una etapa alta (reducción de la función renal grave o muy grave), etapa intermedia (función moderadamente reducida) o etapa baja (función levemente reducida) de ERC, etc. Un modelo matemático ejemplar diferente puede utilizar los niveles medidos de cualquier cantidad de biomarcadores (por ejemplo, 2, 3, 5, 7, 9, etc.) de un sujeto para clasificar un sujeto basándose en el nivel o en la etapa de la función renal (p. ej., alta, moderada, baja).

En un ejemplo, la identificación de los biomarcadores para la ERC tiene en cuenta el diagnóstico de ERC en un sujeto al que no se le ha diagnosticado anteriormente una ERC. Por ejemplo, en un sujeto con factores de riesgo para ERC (p. ej., mayor de 60 años, hipertensión, diabetes, enfermedad cardiovascular y/o antecedentes familiares de ERC, etc.), los biomarcadores descritos en la presente memoria se pueden utilizar para diagnosticar o ayudar al diagnóstico de la ERC.

En otro ejemplo, la identificación de los biomarcadores para la ERC tiene en cuenta la detección y el diagnóstico precoces antes de que se pueda diagnosticar la ERC mediante el uso de los estándares actuales para determinar la función renal (p. ej., mediciones de CrS, TFG_e, albúmina en la orina, cistatina C y/o NUS). El diagnóstico precoz de la ERC puede permitir la intervención terapéutica más temprana, lo que podría retrasar o impedir el desarrollo de otros daños renales y una ERC más grave.

En otro ejemplo, los biomarcadores descritos en la presente memoria se pueden utilizar para diagnosticar o ayudar al diagnóstico de la ERC en los pacientes en los que los estándares actuales para determinar la ERC (mediciones de CrS, albúmina en la orina, cistatina C y/o NUS) en los sujetos son inexactos debido a, por ejemplo, enfermedad crónica, obesidad, edad avanzada, dieta vegetariana y/o reducción general de la masa muscular en el sujeto. Por ejemplo, en un sujeto con diabetes de tipo 2, los biomarcadores descritos en la presente memoria se pueden utilizar para diagnosticar o ayudar al diagnóstico de la ERC.

C. Composiciones y kits

Cualquiera de los métodos descritos, solos o en combinación, se pueden llevar a cabo mediante el uso de las herramientas dadas a conocer en forma de un kit. Los kits pueden comprender además los controles, estándares y/o reactivos de detección adecuados. En una realización, el kit puede incluir herramientas y reactivos para el análisis de una muestra de sangre. El kit puede comprender un elemento de recogida de muestras y un recipiente para la conservación de la muestra. Por ejemplo, el kit puede comprender un elemento de recogida de muestras, un receptáculo de recogida de suero recuperado, etiquetas para las muestras, códigos de barras para las muestras y un

protocolo de instrucciones. El protocolo de instrucciones se puede dar a conocer como una forma impresa o un folleto o un medio electrónico, tal como, por ejemplo, un disco de ordenador u otro medio legible por ordenador.

5 El kit se puede utilizar de acuerdo con el siguiente método ejemplar. Una muestra sérica se puede recoger del sujeto por medio de una aguja y una jeringuilla. A continuación, el suero se puede extraer hacia un receptáculo de recogida (p. ej., un vial, un tubo cónico, etc.). La muestra en el receptáculo de recogida se puede someter entonces al análisis bioquímico. Los códigos de barras y las etiquetas permiten identificar cada muestra y rastrear los resultados de los análisis a través de los análisis bioquímicos.

La invención se explicará adicionalmente con los siguientes ejemplos que se ofrecen a modo de ilustración y no de limitación.

10 Ejemplos

I. Métodos generales

A. Identificación de perfiles metabólicos

15 En líneas generales, cada muestra se analizó para determinar la concentración de varios cientos de metabolitos. Para analizar los metabolitos se utilizaron técnicas analíticas, tales como la GC-MS (cromatografía de gases-espectrometría de masas) y LC-MS (cromatografía líquida-espectrometría de masas). Se analizaron simultáneamente y en paralelo numerosas alícuotas y, después del control de calidad (CC) apropiado, se recombinó la información procedente de cada análisis. Cada muestra se caracterizó en función de varios miles de características, que finalmente ascienden a varios cientos de especies químicas. Las técnicas utilizadas fueron capaces de identificar compuestos nuevos y sin denominación química.

20 Las muestras se recogieron de una cohorte de pacientes tal y como se describe en el ejemplo 1. Se extrajeron los metabolitos y se precipitaron las proteínas desde las muestras (100 µl) mediante la adición de 450 µl de metanol. Se utilizaron dos métodos de UPLC (cromatografía líquida ultraresolutiva) independientes, uno en condiciones ácidas y el otro en condiciones básicas. El extracto que se precipitó se dividió en cuatro alícuotas y se secaron en nitrógeno, y a continuación al vacío. Una alícuota se reconstituyó en 50 µl de ácido fórmico al 0.1% en agua (para ser usada en el método ácido) y otra alícuota se reconstituyó en 50 µl de bicarbonato de amonio a 6.5 mM en agua, pH 8 (para ser usada en el método básico).

30 Ambos métodos utilizaron la cromatografía que se realizó en columnas Acquity 1.7 µm C18 BEH de 2.1 mm × 100 mm (Waters Corp., Mildford, MA, EE. UU.) mediante el uso de un sistema de UPLC de Acquity. La fase móvil, a una velocidad de flujo de 350 µl/min, utilizó el solvente A, ácido fórmico al 0.1% en agua, y el solvente B, ácido fórmico al 0.1% en metanol (perfil del gradiente: de B al 0% a B al 70% en 4 min, B del 70% al 98% en 0.5 min, B al 98% durante 0.9 min), para el método ácido. Las alícuotas de muestra procesadas para el método básico se eluyeron según el gradiente a una velocidad de flujo de 350 µl/min mediante el uso del solvente A, bicarbonato de amonio a 6.5 mM en agua, pH 8, y el solvente B, bicarbonato de amonio a 6.5 mM en 95/5 de metanol/agua (perfil del gradiente: de B al 0% a B al 70% en 4 min, B del 70 al 98% en 0.5 min, B al 98% durante 0.9 min).

35 Se analizaron los eluyentes de las muestras mediante el uso de un espectrómetro de masas (MS) LTQ (ThermoFisher Corporation) y la utilización de ionización por electropulverización (ESI, por su nombre en inglés). El método ácido medía los iones positivos y el método básico medía los iones negativos en inyecciones independientes que utilizaban columnas especializadas e independientes de ácido/base calentadas a 40 °C. El capilar de la interfaz de la MS se mantuvo a 350 °C, con un flujo de gas introductor de 40 (unidades arbitrarias) y un flujo de gas auxiliar de 5 (unidades arbitrarias) para ambas inyecciones positivas y negativas. El voltaje de la pulverización para la inyección de iones positivos fue de 4.5 kV, y 3.75 kV para la inyección de iones negativos. El instrumento barrió 99-1000 m/z y alternó entre barridos de MS y MS/MS. La velocidad de barrido era de aproximadamente 6 barridos/s (3 MS y 3 barridos de MS/MS). La energía de colisión normalizada de la MS/MS se estableció a 40, Q de activación a 0.25 y el tiempo de activación a 30 ms, con una ventana de aislamiento de 3 m/z. Los barridos de MS/MS se recogieron mediante el uso de exclusión dinámica con un tiempo de exclusión de 3.5 s. Cada muestra se enriqueció con los compuestos marcados isotópicamente y se utilizaron para valorar el funcionamiento e idoneidad del instrumento, lo que incluye tiempo de retención, masa y estabilidad de la sensibilidad durante el transcurso del ciclo (normalmente 20 horas). Además, una muestra de control de la calidad, que consistía de una alícuota agrupada de todas las muestras, se analizó cada 8 inyecciones para garantizar la reproducibilidad técnica.

50 Se utilizó un programa informático que utiliza estrategias estándares de la industria para la detección de picos de MS con el fin de detectar e integrar los picos de la MS. Brevemente, los cromatogramas de iones extraídos se distribuyeron según la masa en un intervalo dado, se determinó el ruido basal, se calculó el área de los picos, y a los picos detectados por la MS se les aplicaron diferentes umbrales de pico definidos por el usuario, entre ellos la altura mínima, la señal por ruido, la anchura, la simetría, y el área. Los picos de la MS que superaban los criterios de los umbrales se agruparon en listas que a continuación se introdujeron en una base de datos relacional para su almacenamiento y posterior análisis. Finalmente, cada pico de la MS se agrupó con otros en función del tiempo de retención de la punta del pico para facilitar la visualización de las características de los iones retenidos de manera parecida. Todas las muestras se alinearon en función de los marcadores del tiempo de retención (TR) presentes por toda la cromatografía

mediante el uso de un índice de retención (IR). El índice de retención de un componente de la muestra es un número, obtenido por la interpolación (normalmente logarítmica), que se refiere al volumen de retención ajustado (tiempo) o el factor de retención del componente de la muestra por los volúmenes de retención ajustados (tiempos) de dos estándares eluidos antes y después del pico del componente de la muestra.

5 Los datos resultantes se buscaron en una colección de compuestos químicos generada específicamente para cada método (p. ej., los datos de iones positivos de la UPLC se buscaron en una colección específica del modo de iones positivos de la UPLC). Las identificaciones bioquímicas se basaban en tres criterios: índice de retención dentro del margen de 75 unidades de IR de la identificación propuesta (o aproximadamente 5 s), concordancia de masa del precursor experimental en la colección en el margen de 0.4 m/z, y las puntuaciones directa e inversa de la MS/MS.

10 Las puntuaciones de la MS/MS se basaron en una comparación de los iones presentes en el espectro experimental frente a los iones presentes en el espectro de la colección. La identificación bioquímica se llevó a cabo mediante un programa informático y la identificación generada por ordenador la verificó un analista humano.

15 El programa informático comprobó todos los iones que no estaban asignados a ninguna entrada de la colección a través de una serie de inyecciones y dentro de una ventana de tiempo especificada para la cromatografía. Mediante la correlación de los iones entre las diferentes inyecciones, la variabilidad biológica natural de los compuestos bioquímicos se utilizó para identificar posibles compuestos bioquímicos nuevos verosímiles que no estaban aún incluidas como una entrada que formara parte de la biblioteca. Cualquier compuesto bioquímico que no tenía una coincidencia en la colección, pero que se determinó de manera genuina que era un compuesto bioquímico se añadió a la colección basándose en la naturaleza recurrente del patrón espectral para ese compuesto bioquímico, por lo que

20 el compuesto bioquímico, aunque no tuviera nombre, se pudiera rastrear en los estudios actuales y futuros. Así pues, aunque el compuesto bioquímico no estaba identificado (ya que no estaba disponible un estándar químico verosímil en la colección), se indicaban las propiedades o el comportamiento del compuesto bioquímico se que obtuvieron a partir del método de análisis, sin indicar la composición o estructura química específica del compuesto bioquímico (denominado compuesto bioquímico sin nombre).

25 Los compuestos bioquímicos sin nombre representan entidades para los cuales se ha consolidado la «firma de fragmentación iónica», pero para las cuales no hay disponible ningún estándar conocido en la colección química. Los compuestos bioquímicos sin nombre se han caracterizado suficientemente mediante técnicas analíticas (descritas más arriba) para la identificación única. Los compuestos bioquímicos sin nombre se designan en la presente memoria mediante la nomenclatura «X-», seguida de un número específico de cinco dígitos. Se describe la información analítica

30 identificadora de las moléculas bioquímicas pequeñas y sin nombre que se recogen en la tabla 1. Por ejemplo, para el metabolito sin nombre X-17299, el tiempo de retención era de 1.2, el índice de retención era de 1265.9, la masa cuantificada era de 229.2 y la polaridad del ion cuantitativo con el uso de los métodos analíticos descritos más arriba era positiva, tal y como se midió en la LC-MS/MS optimizada para las especies ácidas. En un ejemplo adicional, para el metabolito sin nombre X-11564, el tiempo de retención era de 1.2, el índice de retención era de 1188, la masa cuantificada era de 177.1 y la polaridad del ion cuantitativo con el uso de los métodos analíticos descritos más arriba era negativa, tal y como se midió en la LC-MS/MS optimizada para las especies básicas. Estas características analíticas permiten que dichos biomarcadores (X-17299 y X-11564) se puedan cuantificar incluso aunque no se conozca su identidad química exacta (a saber, el nombre del compuesto).

B. Análisis estadístico:

40 Los datos se analizaron con pruebas de la t para identificar moléculas (bien sean conocidas, metabolitos con nombre o metabolitos sin nombre) presentes a niveles diferenciales en una población o subpoblación definible (p. ej., biomarcadores para sujetos con deterioro de la función renal en comparación con los sujetos sin deterioro de la función renal) útiles para distinguir entre las poblaciones definibles (p. ej., con deterioro de la función renal y sin deterioro de la función renal). También se identificaron otras moléculas (bien sean conocidas, metabolitos con nombre o metabolitos

45 sin nombre) en la población o subpoblación definible.

También se analizaron los datos mediante el uso del análisis de correlación para identificar las moléculas (bien sean conocidas, metabolitos con nombre o metabolitos sin nombre) que se correlacionan con los cálculos de la TFGe (p. ej., TFGe por ERC-EPI, TFGe por MDER).

Se utilizaron varios análisis de regresión para valorar el valor predictivo de los paneles de biomarcadores de ejemplo.

50 Sobre la base del nivel del metabolito biomarcador, se calcularon la sensibilidad y la especificidad para la clasificación de las muestras. La sensibilidad es la capacidad para identificar positivos o la proporción de sujetos clasificados como positivos entre todos los que son verdaderamente positivos. La especificidad es la capacidad para identificar negativos o la proporción de los sujetos clasificados como negativos entre todos los que son verdaderamente negativos. Mediante el uso de estos datos, se generó una curva de eficacia diagnóstica (ROC, por su nombre en inglés). La curva

55 ROC es un modelo matemático y es una representación de la sensibilidad frente a la tasa de positivos falsos (1 – especificidad). El área bajo la curva (ABC) de esta curva es la probabilidad de que un clasificador catalogue un caso positivo elegido al azar más alto que uno negativo elegido al azar.

Ejemplo 1: Biomarcadores para valorar la función renal

Las muestras utilizadas para el análisis eran muestras de suero recogidas de 281 individuos diabéticos. La función renal de cada paciente se evaluó con dos ecuaciones para estimar la TFG, 1) TFGe por MDER y 2) TFGe por ERC-EPI. Mediante el uso de las estimaciones de la TFGe por MDER, los pacientes con TFGe de menos de 60 ml/(min/1.73 m²) se clasificaron entre los que tienen ERC y los pacientes con TFGe = 60 ml/(min/1.73 m²) o mayor se clasificaron entre los normales. Se clasificaron 46 pacientes en total entre los que tienen ERC y 235 pacientes se clasificaron entre los normales el en el momento de la recogida de las muestras.

Después de que se determinasen los niveles de los metabolitos, los datos se analizaron con la prueba de la *t*. Los biomarcadores para la función renal se identificaron al comparar las muestras con ERC con las normales. Tal y como se recoge en la tabla 1 que viene a continuación, el análisis dio lugar a la identificación de biomarcadores que están diferencialmente presentes entre las muestras de suero de los pacientes con ERC y los normales. Todos los biomarcadores de la tabla 1 son estadísticamente significativos ($P < 0.1$). Otro modo de identificar los biomarcadores para el deterioro de la función renal fue mediante la realización de un análisis de correlación entre los niveles de los biomarcadores y los cálculos de la TFGe (a saber, TFGe por MDER y TFGe por ERC-EPI). El valor de la correlación para cada biomarcador se muestra en la tabla 1.

En la tabla 1 se incluye, para cada biomarcador, el nombre bioquímico del biomarcador, el valor de correlación del biomarcador con la MDER, el valor de correlación del biomarcador con la ERC-EPI, la magnitud del cambio del biomarcador en los sujetos con ERC con respecto a los sujetos normales (ERC/normal), que es la razón entre el nivel medio del biomarcador en las muestras de ERC en comparación con el nivel medio normal, y el valor de la *P* determinado en el análisis estadístico de los datos que hacen referencia a los biomarcadores. En la tabla 1 también se recoge lo siguiente: el identificador interno para el compuesto biomarcador en la colección doméstica de compuestos químicos de estándares verosímiles (ID del compuesto); el identificador para el compuesto biomarcador en la Enciclopedia de Genes y Genomas de Kioto (KEGG, por su nombre en inglés), si está disponible; y el identificador para el compuesto biomarcador en la base de datos del Metaboloma Humano (HMDB, por su nombre en inglés), si está disponible.

Tabla 1. Biomarcadores para valorar la función renal

Nombre bioquímico	Correlación con TFGe por:		ERC/Normal		ID del compuesto	KEGG	HMDB
	MDER	ERC- EPI	Magnitud del cambio	<i>P</i>			
N-acetiltreonina	-0.6187	-0.6897	1.5403	p<0.0001	33939	C01118	
eritronato	-0.5298	-0.6393	1.5487	p<0.0001	33477		HMDB00613
N-acetilalanina	-0.5848	-0.6502	1.3258	p<0.0001	1585	C02847	HMDB00766
arabitol	-0.5153	-0.6022	2.0099	p<0.0001	38075	C00474	HMDB01851
N-acetilserina	-0.6004	-0.6736	1.6718	p<0.0001	37076		HMDB02931
mioinositol	-0.5440	-0.6216	1.7167	p<0.0001	19934	C00137	HMDB00211
quinurenina	-0.4968	-0.5619	1.3355	p<0.0001	15140	C00328	HMDB00684
trans-4-hidroxiprolina	-0.1227	-0.1345	1.1241	0.1352345	32319	C01157	HMDB00725
triptófano	0.2418	0.2986	0.8968	0.0002	54	C00078	HMDB00929
3-metilhistidina	-0.2240	-0.2979	1.8903	0.0017	15677	C01152	HMDB00479
4-acetamidobutanoato	-0.5563	-0.6526	1.5779	p<0.0001	1558	C02946	HMDB03681
N6-carbamoiltreoniladenosina	-0.5840	-0.6704	1.6955	p<0.0001	35157		
eritritol	-0.5563	-0.6362	1.9232	p<0.0001	20699	C00503	HMDB02994
3-metilglutarilcarnitina (C6)	-0.5013	-0.5784	2.5612	p<0.0001	37060		HMDB00552
S-adenosilhomocisteína (SAH)	-0.5010	-0.5799	1.5955	p<0.0001	15948	C00021	HMDB00939
N1-metiladenosina	-0.5020	-0.5713	1.2493	p<0.0001	15650	C02494	HMDB03331
N2,N2-dimetilguanosina	-0.5047	-0.5656	1.4345	p<0.0001	35137		HMDB04824
N-acetilcarnosina	-0.4513	-0.4846	1.5465	p<0.0001	43488		
arabonato	-0.4849	-0.5620	1.9490	p<0.0001	37516		HMDB00539
sulfato de p-cresol	-0.3864	-0.4835	1.9200	p<0.0001	36103	C01468	HMDB11635

ES 2 702 123 T3

Nombre bioquímico	Correlación con TFGe por:		ERC/Normal		ID del compuesto	KEGG	HMDB
	MDER	ERC- EPI	Magnitud del cambio	P			
xilonato	-0.4610	-0.5561	1.7750	p<0.0001	35638	C05411	
N-formilmetionina	-0.4554	-0.5439	1.3820	p<0.0001	2829	C03145	HMDB01015
succinilcarnitina	-0.4716	-0.5435	1.6696	p<0.0001	37058		
Sulfato de O-metilcatecol	-0.4525	-0.5431	2.1496	p<0.0001	42496		
N-acetilmetionina	-0.5005	-0.5381	1.5394	p<0.0001	1589	C02712	HMDB11745
N2,N5-diacetilornitina	-0.4462	-0.5328	1.9997	p<0.0001	43591		
ribosa	-0.4688	-0.5324	2.1962	p<0.0001	12080	C00121	HMDB00283
2-metilbutirilcarnitina (C5)	-0.4514	-0.5212	1.7446	p<0.0001	35431		HMDB00378
N4-acetilcitudina	-0.4512	-0.4937	1.5599	p<0.0001	35130		HMDB05923
N1-metil-2-piridona-5-carboxamida	-0.4459	-0.4919	1.6845	p<0.0001	40469	C05842	HMDB04193
1-metilhistidina	-0.4230	-0.4809	2.1189	0.0006	30460	C01152	HMDB00001
piroglutamina	-0.4327	-0.4782	1.6290	p<0.0001	32672		
tioglil carnitina	-0.4342	-0.4762	1.4830	0.0001	35428		HMDB02366
5-metiltoadenosina (MTA)	-0.3689	-0.4654	1.7931	p<0.0001	1419	C00170	HMDB01173
isobutirilcarnitina	-0.3896	-0.4634	1.9746	p<0.0001	33441		HMDB00736
indol-lactato	-0.3987	-0.4565	1.4340	0.0002	18349	C02043	HMDB00671
glutarilcarnitina (C5)	-0.4069	-0.4470	1.4393	p<0.0001	35439		HMDB13130
colina	-0.3417	-0.4423	1.2088	p<0.0001	15506	C00114	
1-metilurato	-0.3759	-0.4346	1.5167	p<0.0001	34395		HMDB03099
hidroxisovaleroil carnitina	-0.3817	-0.4264	1.6680	p<0.0001	35433		
pro-hidroxi-pro	-0.3760	-0.4263	1.7757	0.0006	35127		HMDB06695
N-acetil-3-metilhistidina	-0.3329	-0.4102	1.7492	0.0067	43256		
glucurónido salicílico	-0.3123	-0.4062	4.5780	0.0036	33384		
esciloinositol	-0.3506	-0.3965	1.5525	0.0013	32379	C06153	HMDB06088
quinato	-0.3438	-0.3928	1.9220	0.0021	18335	C00296	HMDB03072
2,3-dihidroxisovalerato	-0.3285	-0.3750	2.5621	0.0036	38276	C04039	
trigonelina (N'-metilnicotinato)	-0.3246	-0.3691	1.7038	p<0.0001	32401	C01004	HMDB00875
propionilcarnitina	-0.3266	-0.3629	1.3841	0.0001	32452	C03017	HMDB00824
3-metilxantina	-0.3153	-0.3558	1.6600	0.0051	32445	C16357	HMDB01886
1,3,7-trimetilurato	-0.3243	-0.3426	1.9010	0.0041	34404	C16361	HMDB02123
tartrato	-0.2925	-0.3371	2.7353	0.0088	15336	C00898	HMDB00956
fenilcarnitina	-0.2847	-0.3328	2.1264	0.0358	43265		
N-acetilfenilalanina	-0.2945	-0.3318	1.3810	0.0002	33950	C03519	HMDB00512
sulfato de 3-metilcatecol 1	-0.3161	-0.3304	1.7389	0.0018	42494		
4-hidroxifenilacetato	-0.2640	-0.3282	1.8160	0.0306	541	C00642	HMDB00020
cistina	-0.2673	-0.3209	1.9586	0.0245	39512	C00491	HMDB00192
acetilcarnitina	-0.2831	-0.3159	1.1845	0.0014	32198	C02571	HMDB00201
guanosina	-0.2982	-0.3139	1.5370	p<0.0001	1573	C00387	HMDB00133
furosemida	-0.2481	-0.3057	2.0624	0.0185	43009	D00331	HMDB01933
xantina	-0.2493	-0.2949	1.9277	0.0425	3147	C00385	HMDB00292

Nombre bioquímico	Correlación con TFGe por:		ERC/Normal		ID del compuesto	KEGG	HMDB
	MDER	ERC- EPI	Magnitud del cambio	P			
sulfato de 4-acetilfenol	-0.2970	-0.2850	1.9232	0.0012	22115	C00548	
cis-4-decenoilcarnitina	-0.2656	-0.2831	1.3248	0.0028	38178		
fenil-lactato (PLA)	-0.2415	-0.2804	1.5813	0.0447	22130	C05607	HMDB00779
estaquidrina	-0.2190	-0.2628	1.6889	0.0059	34384	C10172	HMDB04827
N- β -acetilornitina	-0.1927	-0.2494	1.7173	0.0004	43249		
5-acetilamino-6-formilamino-3-metiluracilo	-0.2297	-0.2439	2.4545	0.0179	34401	C16365	HMDB11105
sulfato de 2-aminofenol	-0.2355	-0.2414	1.6228	0.0005	43266		
quiroinósitol	-0.1817	-0.2405	2.2202	0.0266	37112		
manitol	-0.1836	-0.2397	3.0328	0.018	15335	C00392	HMDB00765
sulfato de taurocolenato	-0.1990	-0.2297	1.9086	0.014	32807		
hidroclorotiazida	-0.1787	-0.2196	2.1933	0.0336	39625	C07041	HMDB01928
1-líneoilglicerol monolinoleína) (1-	-0.1768	-0.1966	1.5333	0.0016	27447		
histidilfenilalanina	-0.0172	-0.0069	0.3352	0.0317	42084		
ADSGEGDFXAEGGGVR	0.0259	0.0269	0.3517	0.0181	33084		
HXGXA	0.0716	0.1187	0.3912	0.002	31534		
esfingomielina esteaorilica	0.1230	0.1254	0.8587	0.0020	19503	C00550	HMDB01348
3-metil-2-oxovalerato	0.1222	0.1420	0.9061	0.0553776	15676	C00671	HMDB03736
oleamida	0.2356	0.1621	0.1499	p<0.0001	27408		HMDB02117
4-metil-2-oxopentanoato	0.1603	0.1732	0.9022	0.0474	22116	C00233	HMDB00695
3-metil-2-oxobutirato	0.1499	0.1955	0.9085	0.0087	21047	C00141	HMDB00019
latosterol	0.1904	0.2377	0.7393	0.0024	39864	C01189	HMDB01170
glicerofosforilcolina (GPC)	0.3754	0.3384	0.6102	p<0.0001	15990	C00670	HMDB00086
indolacetilglutamina	-0.1830	-0.2200	1.6285	0.0023	42087		
esfingomielina palmitoíllica	0.1465	0.1794	0.8685	0.0001	37506		
urea	-0.5269	-0.5702	1.4498	p<0.0001	1670	C00086	HMDB00294
X-11564	-0.6573	-0.5961	1.0487	0.3906392	32881		
X-17299	-0.6484	-0.5820	1.1898	0.0124034	40097		
pseudouridina	-0.6659	-0.7484	1.6032	p<0.0001	33442	C02067	HMDB00767
C-glucosiltriptófano	-0.6017	-0.6928	1.6913	p<0.0001	32675		
creatinina	-0.6322	-0.6732	1.4077	p<0.0001	513	C00791	HMDB00562
N6-acetil-lisina	-0.4973	-0.5513	1.3680	p<0.0001	36752	C02727	HMDB00206
fenilacetilglutamina	-0.4481	-0.5484	2.2309	p<0.0001	35126	C04148	HMDB06344
treitol	-0.4189	-0.4883	1.9801	p<0.0001	35854	C16884	HMDB04136
sulfato de 3-indoxilo	-0.3875	-0.4422	1.4877	p<0.0001	27672		HMDB00682
2-hidroxipurato (salicilurato)	-0.1561	-0.2047	5.3527	0.0145	18281	C07588	HMDB00840

Ejemplo 2: Comportamiento diagnóstico de cada biomarcador para la valoración de la función renal

En otro ejemplo, se seleccionaron de la tabla 1 tres biomarcadores ejemplares para valorar la función renal e identificar los individuos con ERC, y se les evaluó el comportamiento diagnóstico. Estos modelos no pretenden ser limitantes y

se presentan a modo de ejemplo de la invención. Los biomarcadores identificados estaban presentes a niveles que diferían entre las muestras de los pacientes que eran de individuos con la función renal normal y las muestras de los individuos con ERC. Por ejemplo, C-glucosilriptófano, N-acetiltreonina y pseudouridina eran biomarcadores significativos para distinguir entre los sujetos con ERC y los sujetos normales.

5 Las muestras utilizadas para el análisis eran muestras séricas recogidas de 281 individuos diabéticos. La función renal de cada paciente se evaluó con la ecuación de MDER para estimar la TFG. Los pacientes con valores de TFGe por MDER de menos de $60 \text{ ml}/(\text{min}/1.73 \text{ m}^2)$ se clasificaron entre los que tenían ERC y los pacientes con valores de TFGe de $60 \text{ ml}/(\text{min}/1.73 \text{ m}^2)$ o más se clasificaron entre los normales. Se clasificaron 46 pacientes en total entre los que
10 tenían ERC y 235 pacientes se clasificaron entre los normales en el momento de la recogida de la muestra. A los biomarcadores identificados en el ejemplo 1, tabla 1, para diagnosticar o ayudar al diagnóstico de la ERC, se les evaluó su comportamiento diagnóstico mediante el uso del modelado de la curva de eficacia diagnóstica (curva ROC).

También se evaluó el comportamiento diagnóstico del biomarcador ejemplar N-acetiltreonina. En la figura 4A se muestra la distribución de las muestras de los pacientes en función del nivel de N-acetiltreonina medido en las muestras. En el eje x se muestra el grupo de diagnóstico (normal o ERC) y en el eje y se muestra el nivel de N-acetiltreonina. A continuación, se utilizaron los niveles de N-acetiltreonina en un modelo matemático para determinar el comportamiento diagnóstico del biomarcador. En la figura 4B muestra la curva ROC para la N-acetiltreonina. La curva ROC tiene un ABC de 0.8801. Sobre la base de esta curva ROC, se determinó que al medir el nivel de C-glucosilriptófano, los sujetos con ERC se diferenciaban de los sujetos normales con una sensibilidad del 85% y una especificidad del 80%.

20 Al biomarcador ejemplar N-acetiltreonina también se le evaluó su comportamiento diagnóstico. En la figura 4A se muestra la distribución de las muestras de los pacientes en función del nivel de N-acetiltreonina medido en las muestras. En el eje x se muestra el grupo de diagnóstico (normal o ERC) y en el eje y se muestra el nivel de N-acetiltreonina. A continuación, se utilizaron los niveles de N-acetiltreonina en un modelo matemático para determinar el comportamiento diagnóstico del biomarcador. En la figura 4B se muestra la curva ROC para la N-acetiltreonina. La curva ROC tiene un ABC de 0.8801. Sobre la base de esta curva ROC, se determinó que al medir el nivel de N-acetiltreonina, los sujetos con ERC se diferenciaban de los sujetos normales con una sensibilidad del 83% y una especificidad del 87%.

30 Al biomarcador ejemplar pseudouridina también se le evaluó su comportamiento diagnóstico. En la figura 5A se muestra la distribución de las muestras de los pacientes en función del nivel de pseudouridina medido en las muestras. En el eje x se muestra el grupo de diagnóstico (normal o ERC) y en el eje y se muestra el nivel de pseudouridina. A continuación, se utilizaron los niveles de pseudouridina en un modelo matemático para determinar el comportamiento diagnóstico del biomarcador. En la figura 5B se muestra la curva ROC para la pseudouridina. La curva ROC tiene un ABC de 0.9041. Sobre la base de esta curva ROC, se determinó que al medir el nivel de pseudouridina, los sujetos con ERC se diferenciaban de los sujetos normales con una sensibilidad del 80% y una especificidad del 93%.

35 Ejemplo 3. Comportamiento diagnóstico de los paneles de biomarcadores para la valoración de la función renal

En otro ejemplo, se desarrollaron modelos matemáticos que proporcionan una estimación de la TFG. Estas estimaciones de la TFG de los modelos se utilizaron para evaluar la función renal, y el comportamiento de las estimaciones obtenidas mediante el uso de estos modelos se compararon con la TFGe calculada al hacer uso de la ecuación ERC-EPI («TFGe por ERC-EPI»). Se desarrollaron cinco modelos de ejemplo mediante el uso de combinaciones de los biomarcadores siguientes: pseudouridina, N-acetiltreonina, C-glucosilriptófano, quinurenina, mioinositol, creatinina. En el ejemplo 1 se describe que los biomarcadores de ejemplo también son significativos para diferenciar entre los individuos con una función renal normal y los que tienen ERC. Estos modelos no pretenden ser limitantes y se presentan para ilustrar la invención.

45 Los biomarcadores pseudouridina, N-acetiltreonina, C-glucosilriptófano, quinurenina, mioinositol y creatinina se midieron en las muestras de suero en ayunas recogidas de 258 individuos diabéticos para quienes la ecuación ERC-EPI para estimar la TFG se utilizó para evaluar la función renal. Los pacientes con valores de TFGe por ERC-EPI de $60 \text{ ml}/(\text{min}/1.73 \text{ m}^2)$ o menos se clasificaron entre los que tienen un diagnóstico «positivo» (a saber, función renal comprometida, ERC) y los pacientes con valores de TFGe de más de $60 \text{ ml}/(\text{min}/1.73 \text{ m}^2)$ se clasificaron entre los que tienen un diagnóstico «negativo» (a saber, función renal normal). Sobre la base de los resultados de TFGe por ERC-EPI, se clasificaron 40 pacientes en total con un diagnóstico positivo para la ERC y/o la función renal comprometida, y 218 pacientes se clasificaron entre los que tienen un diagnóstico negativo y/o función renal normal.

55 En el presente ejemplo, se generaron cinco modelos mediante el uso de análisis de regresión múltiple: el modelo 1 ejemplar comprende los biomarcadores pseudouridina, C-glucosilriptófano, N-acetiltreonina y creatinina; el modelo 2 ejemplar comprende los biomarcadores pseudouridina, N-acetiltreonina, mioinositol y creatinina; el modelo 3 ejemplar comprende los biomarcadores N-acetiltreonina, mioinositol, C-glucosilriptófano y creatinina; el modelo 4 ejemplar comprende los biomarcadores N-acetiltreonina, mioinositol, quinurenina y creatinina; y el modelo 5 ejemplar comprende los biomarcadores pseudouridina, C-glucosilriptófano, N-acetiltreonina y mioinositol. A cada modelo se le evaluó su comportamiento diagnóstico mediante el uso de curvas ROC y el cálculo del área bajo la curva (ABC).

Para el modelo 1 ejemplar, los valores de TFG calculados al hacer uso del modelo 1 se correlacionaron significativamente con los valores calculados de TFGe por ERC-EPI; el R^2 ajustado fue de 0.614 con un valor de P global de menos de 0.001. El comportamiento diagnóstico del modelo 1 basado en el ABC calculada fue de 0.932. Los resultados del análisis de correlación para el modelo 1 se representan gráficamente en la figura 6A. La TFG calculada al hacer uso del modelo 1 se representa gráficamente en el eje x y la TFGe por ERC-EPI se representa gráficamente en el eje y.

Para el modelo 2 ejemplar, los valores de TFG calculados al hacer uso del modelo 2 se correlacionaron con los valores calculados de TFGe por ERC-EPI; el R^2 ajustado fue de 0.614 con un valor de P global de menos de 0.0001. El comportamiento diagnóstico del modelo 2 basado en el ABC calculada fue de 0.932. Los resultados del análisis de correlación para el modelo 2 se representan gráficamente en la figura 6B. La TFG calculada al hacer uso del modelo 2 se representa gráficamente en el eje x y la TFGe por ERC-EPI se representa gráficamente en el eje y.

Para el modelo 3 ejemplar, los valores de TFG calculados al hacer uso del modelo 3 se correlacionaron con los valores calculados de TFGe por ERC-EPI; el R^2 ajustado fue de 0.594 con un valor de P global de menos de 0.0001. El comportamiento diagnóstico del modelo 3 basado en el ABC calculada fue de 0.931. Los resultados del análisis de correlación para el modelo 3 se representan gráficamente en la figura 6C. La TFG calculada al hacer uso del modelo 3 se representa gráficamente en el eje x y la TFGe por ERC-EPI se representa gráficamente en el eje y.

Para el modelo 4 ejemplar, los valores de TFG calculados al hacer uso del modelo 4 se correlacionaron significativamente con los valores calculados de TFGe por ERC-EPI; el R^2 ajustado fue de 0.613 con un valor de P global de menos de 0.0001. El comportamiento diagnóstico del modelo 4 basado en el ABC calculada fue de 0.935. Los resultados del análisis de correlación para el modelo 4 se representan gráficamente en la figura 6D. La TFG calculada al hacer uso del modelo 4 se representa gráficamente en el eje x y la TFGe por ERC-EPI se representa gráficamente en el eje y.

Para el modelo 5 ejemplar, los valores de TFG calculados al hacer uso del modelo 5 se correlacionaron significativamente con los valores calculados de TFGe por ERC-EPI; el R^2 ajustado fue de 0.563 con un valor de P global de menos de 0.0001. El comportamiento diagnóstico del modelo 5 basado en el ABC calculada fue de 0.933. Los resultados del análisis de correlación para el modelo 5 se representan gráficamente en la figura 6E. La TFG calculada al hacer uso del modelo 5 se representa gráficamente en el eje x y la TFGe por ERC-EPI se representa gráficamente en el eje y.

Ejemplo 4: Biomarcadores para valorar la función renal en los pacientes con la TFGe intermedia

Para los pacientes con la TFGe en un margen intermedio (G2-G3a) con la TFGe entre 45 y 74 ml/min por 1.63 m² y/o puntuaciones intermedias de albúmina en la orina, la valoración de la función renal y el diagnóstico de la ERC es poco segura; tales pacientes se beneficiarían de una TFG estimada de manera más precisa, tal como la prueba de metabolitos biomarcadores. En la figura 1 se ilustra la integración de tal prueba de nuevos biomarcadores en una valoración de la función renal y el algoritmo del tratamiento.

Los biomarcadores útiles para evaluar la función renal y estimar la TFG se identificaron al medir el nivel de los biomarcadores en las muestras de suero y en las muestras de orina de individuos diabéticos con valores de TFGe de 40 a 80.

Las muestras de suero cuyos valores caían en este margen se analizaron en 78 individuos en quienes la TFGe se obtuvo por MDER y en 69 individuos en quienes la TFGe se obtuvo por ERC-EPI. Los niveles de los biomarcadores se correlacionaban con los valores de TFGe por MDER y de TFGe por ERC-EPI. Los resultados de las correlaciones se presentan en la tabla 2. Para cada biomarcador recogido en la tabla 2, se representan el nombre bioquímico del biomarcador, el valor de correlación del biomarcador con la TFGe por ERC-EPI, el valor de P de la correlación del biomarcador con la TFGe por ERC-EPI, el valor de correlación del biomarcador con la TFGe por MDER y el valor de P de la correlación del biomarcador con la TFGe por MDER.

Tabla 2. Biomarcadores en el suero para valorar la función renal de los pacientes con TFGe de 40 a 80

Nombre del biomarcador	TFGe por ERC-EPI (Suero)		TFGe por MDER (Suero)	
	Correlación	P	Correlación	P
pseudouridina	-0.6412	2.93E-09	-0.6016	5.71E-09
N-acetiltreonina	-0.5323	2.51E-06	-0.5267	7.31E-07
C-glucosilriptófano	-0.5614	5.20E-07	-0.5153	1.39E-06
X - 11564	-0.5685	3.47E-07	-0.5206	1.03E-06
N6-carbamoiltreoniladenosina	-0.5656	4.11E-07	-0.5055	2.35E-06
N4-acetilcitidina	-0.5451	1.28E-06	-0.5687	5.58E-08

ES 2 702 123 T3

Nombre del biomarcador	TFGe por ERC-EPI (Suero)		TFGe por MDER (Suero)	
	Correlación	P	Correlación	P
N1-metil-2-piridona-5-carboxamida	-0.524	3.83E-06	-0.4698	1.43E-05
urea	-0.5096	7.74E-06	-0.5015	2.91E-06
X - 17299	-0.501	1.16E-05	-0.4468	4.11E-05
N-acetilserina	-0.4931	1.67E-05	-0.4459	4.29E-05
4-acetamidobutanoato	-0.4909	1.85E-05	-0.4185	0.0001
N-acetilalanina	-0.4803	2.96E-05	-0.4185	0.0001
creatinina	-0.4749	3.74E-05	-0.4163	0.0002
5-metiloadenosina (MTA)	-0.4518	9.74E-05	-0.4319	7.86E-05
glicerofosforilcolina (GPC)	0.4456	0.0001	0.4796	8.89E-06
ribosa	-0.4224	0.0003	-0.4328	7.57E-05
N1-metiladenosina	-0.4171	0.0004	-0.3644	0.001
fenilacetilglutamina	-0.4137	0.0004	-0.3799	0.0006
pro-hidroxi-pro	-0.4122	0.0004	-0.415	0.0002
propionilcarnitina	-0.4109	0.0005	-0.4319	7.86E-05
2-metilbutirilcarnitina (C5)	-0.4049	0.0006	-0.3792	0.0006
guanosina	-0.4043	0.0006	-0.3719	0.0008
succinilcarnitina	-0.3993	0.0007	-0.3941	0.0004
eritronato	-0.396	0.0008	-0.3974	0.0003
quinurenina	-0.3941	0.0008	-0.31	0.0058
N6-acetil-lisina	-0.3908	0.0009	-0.3466	0.0019
colina	-0.3819	0.0012	-0.2876	0.0107
isobutirilcarnitina	-0.381	0.0012	-0.3827	0.0005
triptófano	0.3738	0.0016	0.2994	0.0077
mioinositol	-0.3725	0.0016	-0.3579	0.0013
γ-glutamilfenilalanina	-0.3716	0.0017	-0.3651	0.001
fenilcarnitina	-0.3711	0.0017	-0.3876	0.0005
esfingomielina palmitoílica	0.3695	0.0018	0.3686	0.0009
glucurónido salicílico	-0.3689	0.0018	-0.3126	0.0053
glutarilcarnitina (C5)	-0.367	0.0019	-0.3391	0.0024
S-adenosilhomocisteína (SAH)	-0.3619	0.0022	-0.3438	0.0021
furosemida	-0.3589	0.0025	-0.3332	0.0029
1-metilhistidina	-0.3576	0.0026	-0.3374	0.0025
2-hidroxiisobutirato	-0.3555	0.0027	-0.3352	0.0027
sulfato de p-cresol	-0.3531	0.0029	-0.3042	0.0068
2-hidroxihipurato (salicilurato)	-0.3472	0.0035	-0.3223	0.004
quiro-inositol	-0.3456	0.0036	-0.3141	0.0051
desoxicarnitina	-0.3419	0.004	-0.287	0.0108
sulfato de O-metilcatecol	-0.3405	0.0042	-0.3567	0.0013
hidroxiisovaleroilcarnitina	-0.3384	0.0045	-0.3166	0.0047
N-β-acetilornitina	-0.3322	0.0053	-0.398	0.0003
N2,N2-dimetilguanosina	-0.3264	0.0062	-0.2851	0.0114
xilonato	-0.3244	0.0065	-0.2949	0.0088

ES 2 702 123 T3

Nombre del biomarcador	TFGe por ERC-EPI (Suero)		TFGe por MDER (Suero)	
	Correlación	P	Correlación	P
3-metilglutarilcarnitina (C6)	-0.321	0.0072	-0.2833	0.012
γ-glutamilvalina	-0.3172	0.0079	-0.3666	0.001
quinurenato	-0.3147	0.0084	-0.2818	0.0124
1-pentadecanoilglicerofosfolina	-0.3057	0.0106	-0.3231	0.0039
arabitol	-0.3052	0.0108	-0.3268	0.0035
estaquidrina	-0.3045	0.011	-0.2543	0.0247
γ-glutamilmetionina	-0.3004	0.0122	-0.3254	0.0036
cistina	-0.2994	0.0125	-0.2351	0.0383
fucosa	-0.2906	0.0154	-0.3022	0.0072
sulfato de 3-indoxilo	-0.282	0.0189	-0.273	0.0156
treitol	-0.2765	0.0214	-0.2583	0.0224
1-linoleoilglicerol (1-monolinoleína)	-0.2756	0.0219	-0.2561	0.0236
eritritol	-0.2748	0.0223	-0.2691	0.0172
N2,N5-diacetilornitina	-0.2673	0.0264	-0.2862	0.0111
N-formilmetionina	-0.264	0.0284	-0.2501	0.0272
N-acetilcarnosina	-0.2624	0.0294	-0.184	0.1069
1-oleoilglicerol (1-monooleína)	-0.2607	0.0305	-0.2573	0.0229
pantotenato	-0.2584	0.032	-0.2597	0.0217
γ-glutamilglutamina	-0.2546	0.0347	-0.2871	0.0108
arabonato	-0.2527	0.0362	-0.2683	0.0176
γ-glutamil-leucina	-0.2454	0.0421	-0.282	0.0124
tioglucosaminidasa	-0.2428	0.0444	-0.2551	0.0242
cisteína	-0.2425	0.0447	-0.2447	0.0308
γ-glutamiltirosina	-0.2367	0.0502	-0.2293	0.0434
sulfato de 2-aminofenol	-0.2326	0.0545	-0.2402	0.0341
5-acetilamino-6-formilamino-3-metiluracilo	-0.2297	0.0576	-0.2185	0.0546
ranitidina	-0.228	0.0595	-0.213	0.0611
salicilato	-0.2224	0.0662	-0.1921	0.092
hipurato	-0.221	0.068	-0.2139	0.06
sulfato de catecol	-0.2164	0.0741	-0.2564	0.0234
N-acetilaspártato (NAA)	-0.2128	0.0791	-0.1664	0.1455
manitol	-0.2122	0.08	-0.1826	0.1096
indol-lactato	-0.2054	0.0905	-0.1898	0.096
N-acetil-3-metilhistidina	-0.2051	0.091	-0.188	0.0992
γ-glutamilisoleucina	-0.2039	0.0929	-0.2494	0.0276
sulfato de fenol	-0.2002	0.0991	-0.1723	0.1314
gluconato	-0.1984	0.1022	-0.2148	0.059
trigonelina (N'-metilnicotinato)	-0.1846	0.1289	-0.2241	0.0486
HWESASLLR	-0.1778	0.1438	-0.2589	0.0221
N-acetilmetionina	-0.1731	0.155	-0.206	0.0703
acetilcarnitina	-0.1603	0.1883	-0.2195	0.0535
bilirrubina (E,E)	0.1558	0.2011	0.2033	0.0743

ES 2 702 123 T3

Nombre del biomarcador	TFGe por ERC-EPI (Suero)		TFGe por MDER (Suero)	
	Correlación	P	Correlación	P
teofilina	0.1624	0.1825	0.2186	0.0545
disulfato de pregnendiol	0.1662	0.1722	0.2034	0.0741
disulfato de 4-androstén-3 β ,17 β -diol 1	0.1689	0.1652	0.2002	0.0789
oleamida	0.1733	0.1544	0.2273	0.0453
azelato (nonanodioato)	0.1754	0.1494	0.2011	0.0775
sulfato de deshidroisoandrosterona (DHEA-S)	0.1913	0.1153	0.2143	0.0596
1-pasmitoilplasmeniletanolamina	0.194	0.1101	0.214	0.0599
1-linoleoilglicerofosfoetanolamina	0.2017	0.0964	0.1173	0.3063
3-metil-2-oxovalerato	0.2026	0.095	0.1736	0.1284
10-undecenoato (11:1n1)	0.2033	0.0938	0.1418	0.2157
8-aminocaprilato	0.2069	0.088	-0.0025	0.9824
1-araquidonoilglicerofosfocolina	0.2081	0.0861	0.1601	0.1615
glutamina	0.21	0.0833	0.2145	0.0594
leucilfenilalanina	0.2105	0.0825	0.1874	0.1004
colesterol	0.2152	0.0758	0.1885	0.0983
3-etilfenilsulfato	0.2296	0.0577	0.1378	0.2289
iminodiacetato (IDA)	0.2313	0.0558	0.1771	0.1209
N-óxido de cotinina	0.232	0.0551	0.136	0.2351
glicerol	0.233	0.0541	0.1679	0.1418
3-fosfoglicerato	0.2362	0.0507	0.1999	0.0792
campesterol	0.2369	0.0501	0.1938	0.0891
2-fosfato de glicerol	0.2438	0.0435	0.2105	0.0644
ester metílico de palmitato	0.2446	0.0428	0.1984	0.0817
octadecanodioato	0.2446	0.0428	0.2531	0.0254
2-aminooctanoato	0.2453	0.0422	0.2291	0.0436
1-linoleoilglicerofosfocolina	0.2466	0.0411	0.1776	0.1199
fosfato	0.2481	0.0399	0.2361	0.0374
sulfato de pregnenolona	0.2543	0.035	0.2531	0.0253
3-fosfato de glicerol (G3P)	0.2547	0.0347	0.2504	0.027
2-linoleoilglicerofosfocolina	0.2611	0.0302	0.2151	0.0586
glicerato	0.2647	0.028	0.2837	0.0118
sebacato (decanodioato)	0.2733	0.0231	0.3051	0.0066
isoleucil-leucina	0.2735	0.023	0.2405	0.0339
EDTA	0.2759	0.0218	0.2173	0.056
β -sitosterol	0.2791	0.0202	0.2697	0.017
pirofosfato (PPi)	0.2804	0.0196	0.2215	0.0513
monosulfato de pregnesteroide	0.283	0.0185	0.2907	0.0098
eicosanodioato	0.2836	0.0182	0.237	0.0367
glucurónido de etilo	0.2904	0.0155	0.2254	0.0472
2-hidroxiocetanoato	0.2987	0.0127	0.2656	0.0187
esfingomielina estearílica	0.307	0.0103	0.3483	0.0018
piruvato	0.3092	0.0097	0.2754	0.0147

Nombre del biomarcador	TFGe por ERC-EPI (Suero)		TFGe por MDER (Suero)	
	Correlación	P	Correlación	P
8-hidroxi octanoato	0.3287	0.0058	0.3082	0.0061
heptanoato (7:0)	0.3308	0.0055	0.3516	0.0016
5'-monofosfato de adenosina (AMP)	0.3325	0.0053	0.3649	0.001
caproato (6:0)	0.3366	0.0047	0.3867	0.0005

De igual forma, las muestras de orina con valores en este margen se analizaron en 76 individuos en los que la TFGe se obtuvo por MDER y en 64 individuos en quienes la TFGe se obtuvo por ERC-EPI. Los niveles medidos de los biomarcadores se correlacionaban con los valores de TFGe por MDER y de TFGe por ERC-EPI. Los resultados de las correlaciones se presentan en la tabla 3. Para cada biomarcador, se presentan el nombre bioquímico del biomarcador, el valor de correlación del biomarcador de la TFGe por ERC-EPI, el valor de *P* de la correlación del biomarcador con la TFGe por ERC-EPI, el valor de correlación del biomarcador con la TFGe por MDER y el valor de *P* de la correlación del biomarcador con la TFGe por MDER.

5

10

Tabla 3. Biomarcadores en la orina para valorar la función renal de los pacientes con TFGe de 40 a 80

Nombre del biomarcador	TFGe por ERC-EPI (Orina)		TFGe por MDER (Orina)	
	Correlación	P	Correlación	P
furosemida	-0.3835	0.0018	-0.3193	0.0049
mioinositol	-0.3693	0.0027	-0.3493	0.002
quiro-inositol	-0.3255	0.0087	-0.2936	0.01
lactosa	-0.2919	0.0192	-0.269	0.0188
quinolinato	-0.2729	0.0291	-0.2023	0.0796
homoestaquidrina	-0.2711	0.0302	-0.1346	0.2464
propionato de imidazol	-0.2624	0.0362	-0.1842	0.1111
guanidosuccinato	-0.2498	0.0465	-0.2972	0.0091
2-oxo-1-pirrolidinapropionato	-0.2451	0.0509	-0.257	0.025
N-acetilfenilalanina	-0.2384	0.0578	-0.2052	0.0754
N1-metil-2-piridona-5-carboxamida	-0.2339	0.0629	-0.1986	0.0855
estaquidrina	-0.2335	0.0633	-0.1122	0.3345
N4-acetilciticidina	-0.2327	0.0642	-0.1837	0.1122
N-acetilriptófano	-0.2305	0.0669	-0.2546	0.0264
ofloxacino	-0.2297	0.0679	-0.2365	0.0397
5-oxoprolina	-0.2254	0.0733	-0.0409	0.7258
1,3,7-trimetilurato	-0.2203	0.0802	-0.106	0.362
isosorbida	-0.218	0.0835	-0.1914	0.0976
sulfato de hidroquinona	-0.2177	0.084	-0.2127	0.0651
5-metiltetrahidrofolato (5MeTHF)	-0.2145	0.0888	-0.2145	0.0628
ácido hidantoiín-5-propiónico	-0.2116	0.0933	-0.2143	0.063
manitol	-0.2107	0.0947	-0.1993	0.0844
nicotinato	-0.2039	0.1061	-0.1992	0.0845
abscisato	-0.2028	0.108	-0.1704	0.1412
pipecolato	-0.2026	0.1083	-0.2191	0.0572
N-acetilrosina	-0.1898	0.133	-0.1349	0.2452
N-(2-furoil)glicina	-0.1871	0.1388	-0.1657	0.1525

Nombre del biomarcador	TFGe por ERC-EPI (Orina)		TFGe por MDER (Orina)	
	Correlación	P	Correlación	P
1,7-dimetilurato	-0.187	0.139	-0.1136	0.3284
quinurenina	-0.1794	0.1561	-0.1828	0.114
glucurónido de α-CEHC	-0.1764	0.1632	-0.1362	0.2406
guanidina	-0.173	0.1716	-0.2664	0.02
sulfato de O-metilcatecol	-0.1677	0.1853	-0.1881	0.1037
orotidina	-0.1676	0.1856	-0.1075	0.3552
3-metoxitirosina	-0.1674	0.1862	-0.1364	0.2401
neopterina	-0.1673	0.1863	-0.1842	0.1112
alanil-leucina	-0.1573	0.2144	-0.1742	0.1323
3-deshidrocarnitina	-0.1541	0.224	-0.1272	0.2736
fenilcarnitina	-0.1494	0.2388	-0.1504	0.1947
cafeína	-0.1464	0.2485	-0.1437	0.2155
orotato	-0.1425	0.2614	-0.0994	0.3932
arginilsoleucina	-0.141	0.2663	-0.1034	0.3743
N-acetilspartilglutamato (NAAG)	0.1428	0.2605	0.0904	0.4373
hipoxantina	0.1436	0.2576	0.0962	0.4084
3-metilcitidina	0.1437	0.2574	0.1196	0.3033
N-acetilglicina	0.1461	0.2494	0.0563	0.6292
mandelato	0.1473	0.2454	0.0434	0.7094
sulfato de androsterona	0.1484	0.2419	0.1093	0.3472
2,3-dihidroxiisovalerato	0.1489	0.2404	0.0527	0.651
taurina	0.149	0.24	0.0706	0.5442
sulfato de deshidroisoandrosterona (DHEA-S)	0.1494	0.2387	0.1481	0.2018
N-aciltreonina	0.15	0.2369	0.0387	0.7401
itaconato (metilensuccinato)	0.1503	0.2358	0.0151	0.8971
ácido homoverátrico	0.1522	0.2299	0.1318	0.2564
verapamilo	0.1522	0.2299	0.2047	0.0761
1-metilhistidina	0.1544	0.2233	0.0946	0.4161
3-hidroxibutirato (BHBA)	0.1557	0.2192	0.0518	0.6568
alanina	0.1557	0.2191	0.098	0.3999
pantotenato	0.1563	0.2173	0.1216	0.2953
indol-3-acetato de metilo	0.1571	0.2151	0.0894	0.4422
N2-acetil-lisina	0.1625	0.1996	0.286	0.0123
sulfato de 4-acetaminofeno	0.1634	0.197	0.1829	0.1138
cis-aconitato	0.1638	0.196	0.0496	0.6706
5-hidroxihexanoato	0.1639	0.1957	0.0866	0.4569
alo-treonina	0.1646	0.1936	0.0796	0.4945
2-hidroxibutirato (AHB)	0.1647	0.1933	0.062	0.5947
homocitrato	0.1649	0.1928	0.106	0.362
acisoga	0.1651	0.1924	0.141	0.2243
arabinosa	0.1667	0.188	0.0469	0.6874

Nombre del biomarcador	TFGe por ERC-EPI (Orina)		TFGe por MDER (Orina)	
	Correlación	P	Correlación	P
lactato	0.1682	0.184	0.0733	0.5292
gentisato	0.1701	0.1791	0.0824	0.4792
N-acetilhistidina	0.1707	0.1775	0.1738	0.1332
γ-glutamilvalina	0.1732	0.1712	0.1248	0.2828
β-hidroxiisovalerato	0.1747	0.1674	0.0821	0.481
N-acetilprolina	0.1757	0.1649	0.0402	0.7303
7-metilguanina	0.1761	0.164	0.1013	0.3839
arabitol	0.177	0.1618	0.0695	0.551
cortisol	0.1777	0.1601	0.1648	0.1547
4-metil-2-oxopentanoato	0.1778	0.1598	0.0846	0.4673
putrescina	0.1788	0.1575	0.0585	0.6156
2-isopropilmalato	0.1789	0.1572	0.0691	0.5533
trans-uocanato	0.1803	0.154	0.1788	0.1222
tirosina	0.1803	0.154	0.1657	0.1526
monosulfato de androsteroido 2	0.1818	0.1505	0.1449	0.2117
sulforafano	0.182	0.15	0.1276	0.272
glicina	0.1827	0.1484	0.2002	0.0829
disulfato de 4-androstén-3β,17β-diol 1	0.1897	0.1332	0.1766	0.1271
7-cetodesoxicolato	0.1899	0.1328	0.2549	0.0263
3-ureidopropionato	0.1935	0.1255	0.1318	0.2563
3-metilglutaconato	0.1936	0.1252	0.0987	0.3963
cotinina	0.1968	0.119	0.0939	0.4197
tartrato	0.1973	0.1182	0.0788	0.4984
etanolamina	0.2005	0.1122	0.2327	0.0431
N1-metilguanosina	0.2015	0.1103	0.2281	0.0475
succinimida	0.2036	0.1066	0.0815	0.4839
malato	0.2083	0.0986	0.0894	0.4423
3-hidroxiglutarato	0.209	0.0974	0.1233	0.2884
3-(3-hidroxifenil)propionato	0.2093	0.097	0.142	0.221
2-piperidinona	0.213	0.0911	0.1119	0.3359
3-hidroxiisobutirato	0.214	0.0895	0.1118	0.3365
acilglucurónido de ibuprofeno	0.2147	0.0885	0.1785	0.1229
pregnandiol-3-glucurónido	0.2163	0.086	0.0902	0.4384
lisina	0.2171	0.0848	0.2017	0.0806
adipato	0.2196	0.0813	0.1126	0.3326
3-metilglutarato	0.2197	0.0811	0.1089	0.3489
tetrahidrocortisona	0.2207	0.0797	0.1809	0.1178
prolilglicina	0.2215	0.0786	0.102	0.3808
sulfato de o-cresol	0.223	0.0765	0.1157	0.3196
disulfato de 5α-pregnán-3β,20α-diol	0.224	0.0751	0.1073	0.3564
histidina	0.2267	0.0716	0.1705	0.1408

Nombre del biomarcador	TFGe por ERC-EPI (Orina)		TFGe por MDER (Orina)	
	Correlación	P	Correlación	P
3-etilfenilsulfato	0.2278	0.0703	0.1169	0.3145
γ-glutamylisoleucina	0.2295	0.0681	0.1393	0.23
monosulfato de andosteroide 1	0.2305	0.0669	0.1617	0.163
citramalato	0.2393	0.0568	0.0874	0.4526
2-hidroxi-glutarato	0.2467	0.0494	0.1025	0.3782
3-hidroxi-3-metilglutarato	0.2474	0.0488	0.1151	0.322
3-metoxi-4-hidroxifenilglicol	0.2487	0.0475	0.1276	0.2719
guanidinoacetato	0.2487	0.0475	0.3448	0.0023
glucurónido de etilo	0.2502	0.0461	0.1545	0.1826
3-hidroxi-propanoato	0.2509	0.0455	0.1692	0.1439
N-acetilisoleucina	0.2511	0.0453	0.1146	0.3241
disulfato de pregnendiol	0.2515	0.045	0.1932	0.0944
sulfato de timol	0.2516	0.0449	0.2185	0.0579
citrato	0.252	0.0445	0.1569	0.1759
3-deshidrocolato	0.2537	0.0431	0.221	0.0551
sorbitol	0.2545	0.0424	0.1737	0.1334
argininosuccinato	0.2563	0.0409	0.1956	0.0905
glucosamina	0.2604	0.0377	0.1624	0.1611
N6-metiladenosina	0.2666	0.0332	0.1903	0.0996
S-metilcisteína	0.2688	0.0317	0.1516	0.1911
2-aminoadipato	0.2725	0.0294	0.2413	0.0357
5,6-dihidrouracilo	0.2759	0.0273	0.2008	0.082
N-acetilaspartato (NAA)	0.2832	0.0234	0.1778	0.1245
xilitol	0.285	0.0225	0.1951	0.0913
N1-metiladenosina	0.2859	0.022	0.2608	0.0229
N6-acetil-lisina	0.2981	0.0167	0.2376	0.0388
uracilo	0.305	0.0142	0.3646	0.0012
disulfato de 4-androsten-3β,17β-diol 2	0.3071	0.0136	0.2664	0.02
disulfato de 21-hidroxipregnenolona	0.318	0.0104	0.219	0.0573
triptófano	0.32	0.01	0.2654	0.0205
3-metil-2-oxovalerato	0.3278	0.0082	0.2353	0.0408
N2-metilguanosina	0.3307	0.0076	0.3335	0.0032
ribitol	0.3366	0.0065	0.2194	0.0568
N-acetil-β-alanina	0.338	0.0063	0.2264	0.0493
ribulosa	0.3382	0.0063	0.2708	0.018
glicolato (hidroxiacetato)	0.3563	0.0039	0.3646	0.0012
γ-aminobutirato (GABA)	0.3611	0.0034	0.2828	0.0133
timina	0.3706	0.0026	0.3172	0.0052

En otro ejemplo, mediante el uso de las muestras de suero de los pacientes descritas en el ejemplo 1, las muestras con valores de TFGe por ERC-EPI de 40 a 80 se clasificaron además entre que tienen valores de TFGe altos o bajos. Las muestras de los pacientes con valores de TFGe de 40 a 60 se clasificaron entre las que tienen una TFGe baja; las muestras de los pacientes con valores de TFGe de 61 a 80 se clasificaron entre las que tienen una TFGe alta. Se

clasificaron 41 pacientes en total entre los que tienen una TFGe baja y 42 pacientes se clasificaron entre los que tienen una TFGe alta en el momento de la recogida de la muestra.

Se midieron los niveles de los metabolitos y los resultados se analizaron mediante pruebas de la *t*. Los biomarcadores para la función renal en los pacientes con mediciones intermedias de TFGe (p. ej., cálculos de TFGe por ERC-EPI de 40 a 80) se analizaron mediante la comparación de las muestras altas (cálculo de TFGe de 61 a 80) frente a las bajas (cálculo de TFGe de 40 a 60). Tal y como se recoge en la tabla 4, el análisis dio lugar a la identificación de biomarcadores que estaban diferencialmente presentes entre las muestras de suero de pacientes con TFGe alta y los que tienen la TFGe baja.

La tabla 4 incluye, para cada biomarcador, el nombre bioquímico del biomarcador, la magnitud del cambio del biomarcador en los sujetos con la TFGe alta en comparación con los sujetos con la TFGe baja (alta/baja es el cociente del nivel medio del biomarcador de las muestras de pacientes con la TFGe por ERC-EPI de 61 a 80 en comparación con el nivel medio de las muestras de pacientes con la TFGe por ERC-EPI de 40 a 60) y el valor de *P* y el valor de *Q* determinados en el análisis estadístico de los datos referentes a los biomarcadores. La tabla 4 también recoge lo siguiente: el identificador interno del compuesto biomarcador (ID del compuesto); el identificador para el compuesto biomarcador en la Enciclopedia de Genes y Genomas de Kioto (KEGG, por su nombre en inglés), si está disponible; y el identificador para el compuesto biomarcador en la base de datos del Metaboloma Humano (HMDB, por su nombre en inglés), si está disponible.

Tabla 4. Biomarcadores en el suero para valorar la función renal de los pacientes con TFGe de 40 a 80

Nombre bioquímico	ALTO/BAJO			ID del compuesto	KEGG	HMDB
	Magnitud del cambio	<i>P</i>	<i>Q</i>			
pseudouridina	0.75	p<0.0001	0.0009	33442	C02067	HMDB00767
N-acetiltreonina	0.79	p<0.0001	0.0097	33939	C01118	
C-glucosiltriptófano	0.74	p<0.0001	0.0021	32675		
N6-carbamoiltreoniadenosina	0.73	p<0.0001	0.0021	35157		HMDB41623
N4-acetilcitidina	0.72	p<0.0001	0.0097	35130		HMDB05923
eritronato	0.78	0.0001	0.0097	33477		HMDB00613
X - 11564	0.76	0.0001	0.0097	32881		
N1-metiladenosina	0.86	0.0002	0.0131	15650	C02494	HMDB03331
3-metilglutarilcarnitina (C6)	0.68	0.0004	0.02	37060		HMDB00552
5-metiloadenosina (MTA)	0.62	0.0004	0.02	1419	C00170	HMDB0 1173
glicerofosforilcolina (GPC)	1.45	0.0007	0.0288	15990	C00670	HMDB00086
ADpSGEGDFXAEGGGVR	2.54	0.0008	0.0288	33801		
triptófano	1.14	0.0009	0.0314	54	C00078	HMDB00929
N-formilmetionina	0.81	0.0013	0.0422	2829	C03145	HMDB01015
2-hidroxiisobutirato	0.46	0.0015	0.0451	22030		HMDB00729
fucosa	0.72	0.0017	0.0461	15821	C01018	HMDB00174
succinilcarnitina	0.75	0.0021	0.0553	37058		
N-acetilserina	0.78	0.0027	0.0636	37076		HMDB02931
N-acetilalanina	0.88	0.0028	0.0636	1585	C02847	HMDB00766
4-acetamidobutanoato	0.81	0.0028	0.0636	1558	C02946	HMDB03681
1-docosapentaenoilglicerofosfocolina (22:5n3)	1.38	0.0032	0.0688	37231		
mioinositol	0.75	0.0034	0.0722	19934	C00137	HMDB00211
gluconato	0.73	0.0046	0.0886	587	C00257	HMDB00625
1-linoleoilglicerol (1-monolinoleína)	0.62	0.005	0.0907	27447		
ribitol	0.83	0.0058	0.0961	15772	C00474	HMDB00508
N1-metil-2-piridona-5-carboxamida	0.78	0.0061	0.0983	40469	C05842	HMDB04193

ES 2 702 123 T3

Nombre bioquímico	ALTO/BAJO			ID del compuesto	KEGG	HMDB
	Magnitud del cambio	P	Q			
arabitol	0.78	0.0071	0.1064	38075	C01904	HMDB01851
octadecanodioato	1.31	0.009	0.1233	36754		HMDB00782
eicosapentaenoato (EPA; 20:5n3)	1.58	0.0093	0.1247	18467	C06428	HMDB01999
cortisol	0.86	0.0095	0.1247	1712	C00735	HMDB00063
eritritol	0.76	0.0119	0.1461	20699	C00503	HMDB02994
furosemida	0.47	0.0124	0.1461	43009	D00331	HMDB01933
cafeína	1.54	0.0126	0.1461	569	C07481	HMDB01847
1-docosahexaenoilglicerofosfolina (22:6n3)	1.36	0.0127	0.1461	33822		
ergotioneína	0.48	0.0127	0.1461	37459	C05570	HMDB03045
sacarina	3.34	0.0132	0.1481	21151	D01085	HMDB29723
guanosina	0.78	0.0137	0.1481	1573	C00387	HMDB00133
glucurónido de etilo	2.51	0.0141	0.1487	39603		
N2,N2-dimetilguanosina	0.85	0.0155	0.1521	35137		HMDB04824
10-undecenoato (11:1n1)	1.37	0.0157	0.1521	32497		
1-metilxantina	1.45	0.0177	0.1618	34389	C16358	HMDB10738
teofilina	1.66	0.0181	0.1632	18394	C07130	HMDB01889
monosulfato de pregnesteroide	1.61	0.0187	0.1632	32619		
N2,N5-diacetilornitina	0.71	0.0191	0.1632	43591		
paraxantina	1.43	0.0191	0.1632	18254	C13747	HMDB0 1860
pro-hidroxi-pro	0.75	0.0224	0.1747	35127		HMDB06695
8-aminocaprilato	2.17	0.0224	0.1747	21161		
pantotenato	0.82	0.0227	0.1748	1508	C00864	HMDB00210
azelato (nonanodioato)	2.99	0.0232	0.1764	18362	C08261	HMDB00784
DSGEGDFXAEGGGVR	2.72	0.0239	0.1797	31548		
1-araquidonoilglicerofosfolina (20:4n6)	1.28	0.0261	0.1934	33228	C05208	
acisoga	0.78	0.0284	0.2034	43258		
creatinina	0.89	0.0309	0.2144	513	C00791	HMDB00562
X - 17299	0.87	0.0314	0.2144	40097		
2-araquidonoilglicerofosfolina	1.32	0.0317	0.2144	35256		
isoleucil-leucina	1.28	0.032	0.2144	36760		
ADSGEGDFXAEGGGVR	1.84	0.0341	0.2229	33084		
1-linoleoilglicerofosfolina (18:2n6)	1.21	0.0342	0.2229	34419	C04100	
esfingomielina esteaórfica	1.15	0.0346	0.2229	19503	C00550	HMDB01348
indolacetilglutamina	0.86	0.0366	0.2288	42087		HMDB13240
5-oxoprolina	1.16	0.0371	0.2295	1494	C01879	HMDB00267
dimetilarginina (SDMA + ADMA)	0.65	0.0377	0.2311	36808	C03626	HMDB01539
ribosa	0.71	0.0389	0.2314	12080	C00121	HMDB00283
urea	0.87	0.039	0.2314	1670	C00086	HMDB00294
docosahexaenoato (DHA; 22:6n3)	1.21	0.0393	0.2314	19323	C06429	HMDB02183
treitol	0.7	0.0415	0.2401	35854	C16884	HMDB04136

Nombre bioquímico	ALTO/BAJO			ID del compuesto	KEGG	HMDB
	Magnitud del cambio	<i>P</i>	<i>Q</i>			
propionilcarnitina	0.84	0.0443	0.2534	32452	C03017	HMDB00824
1,3-dihidroxiacetona	0.6	0.0458	0.2534	35963	C00184	HMDB01882
2-metilbutirilcarnitina (C5)	0.77	0.0464	0.2547	35431		HMDB00378
2-aminobutirato	1.19	0.0487	0.2624	32309	C02261	HMDB00650
xilonato	0.71	0.0497	0.2633	35638	C05411	HMDB60256

REIVINDICACIONES

1. Un método para valorar o ayudar a la valoración de la función renal en un sujeto, en donde el método comprende:
 analizar una muestra biológica del sujeto para determinar el nivel del biomarcador N-acetiltreonina;
- 5 utilizar el nivel determinado de N-acetiltreonina en un modelo matemático para calcular una tasa de filtración glomerular (TFG) estimada; y
 utilizar la TFG estimada para valorar la función renal.
2. El método de acuerdo con la reivindicación 1, en donde la TFG estimada se utiliza para diagnosticar y vigilar o ayudar al diagnóstico y la vigilancia de la ERC.
- 10 3. Un método para valorar o ayudar a la valoración de la función renal en un sujeto, en donde el método comprende:
 analizar una muestra biológica del sujeto para determinar el nivel del biomarcador N-acetiltreonina; y
 comparar el nivel de la N-acetiltreonina en la muestra con el nivel de referencia de la función renal para la N-acetiltreonina para valorar la función renal.
- 15 4. El método de acuerdo con la reivindicación 3, en donde el sujeto ha sido tratado con o se considera para el tratamiento con un agente que puede tener un efecto tóxico en los riñones.
5. El método de acuerdo con la reivindicación 4, en donde el agente se selecciona del grupo que consiste en un contraste para diagnóstico por imágenes, un quimioterápico y un antibiótico.
- 20 6. Un método para vigilar la función renal en un sujeto tratado con un agente terapéutico, en donde el método comprende:
 analizar una muestra biológica del sujeto para determinar el nivel del biomarcador N-acetiltreonina; y
 comparar el nivel de la N-acetiltreonina de la muestra con un nivel de referencia para la N-acetiltreonina en la función renal para vigilar la función renal en el sujeto.
- 25 7. Un método de clasificación de un sujeto que tiene poca propensión a desarrollar la reducción de la función renal, propensión intermedia a desarrollar la reducción de la función renal, o que tiene gran propensión a desarrollar la reducción de la función renal, en donde el método comprende:
 analizar una muestra biológica del sujeto para determinar el nivel del biomarcador N-acetiltreonina; y
 comparar el nivel de la N-acetiltreonina en la muestra con un nivel de referencia de la N-acetiltreonina para clasificar al sujeto como que tiene poca propensión a desarrollar la reducción de la función renal, propensión intermedia a desarrollar la reducción de la función renal, o gran propensión a desarrollar la reducción de la función renal.
- 30 8. El método de acuerdo con la reivindicación 7, en donde la etapa de comparación comprende la generación de la puntuación de la función renal para el sujeto con el fin de clasificar al sujeto entre los que tienen gran, intermedia o poca propensión a la nefrotoxicidad.
9. Un método para vigilar la función renal en un sujeto, en donde el método comprende:
- 35 analizar una primera muestra biológica de un sujeto para determinar el nivel del biomarcador N-acetiltreonina, en donde la primera muestra se obtiene del sujeto en un primer punto temporal;
 analizar una segunda muestra biológica de un sujeto para determinar el nivel del biomarcador N-acetiltreonina, en donde la segunda muestra se obtiene del sujeto en un segundo punto temporal; y
 comparar el nivel de N-acetiltreonina en la segunda muestra con el nivel de N-acetiltreonina en (a) la primera muestra, (b) nivel de referencia para la N-acetiltreonina en la función renal, (c) nivel de referencia para la N-acetiltreonina en la ERC positiva, y/o (d) nivel de referencia para la N-acetiltreonina en la ERC negativa, para vigilar la función renal en el sujeto.
- 40 10. El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde además del nivel de la N-acetiltreonina, se determinan el nivel o niveles de uno o varios biomarcadores y utilizan o se comparan tal y como se presenta en cualquiera de las reivindicaciones 1, 3, 6, 7, o 9, y en donde el uno o varios biomarcadores se seleccionan de las tablas 1, 2, 3, o 4.
- 45

- 5 11. El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde la N-acetiltreonina, y optativamente el uno o varios biomarcadores, se utilizan en combinación con una o varias mediciones clínicas u otras mediciones útiles para la determinación del nivel de la función renal seleccionadas del grupo que consiste en edad, sexo, antecedentes familiares de ERC, NUS, creatinina en el suero, albúmina en la orina, microglobulina β -2, β -TRACE y 2-manopiranosilriptófano (2-MPT).
12. El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde la muestra se analiza al hacer uso de una o varias técnicas seleccionadas del grupo que consiste en espectrometría de masas, ELISA y fijación de anticuerpos.
- 10 13. El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 10 a 12, en donde el uno o varios biomarcadores se seleccionan del grupo que consiste en pseudouridina, C-glucosilriptófano, N-acetilserina, N-acetilalanina, N6-carbamoyltreoniladenosina, 4-acetamidobutanoato, eritritol, mioinositol, eritronato, urea, arabitol, N2,N2-dimetilguanosina, N1-metiladenosina, 3-metilglutarilcarnitina (C6), S-adenosilhomocisteína (SAH), N-acetilmetionina, N6-acetil-lisina, quinurenina, arabonato, succinilcarnitina, ribosa, xilonita, N-formilmetionina, sulfato de O-metilcatecol, 2-metilbutirilcarnitina (C5), fenilacetilglutamina, N2,N5-diacetilornitina, y creatinina.

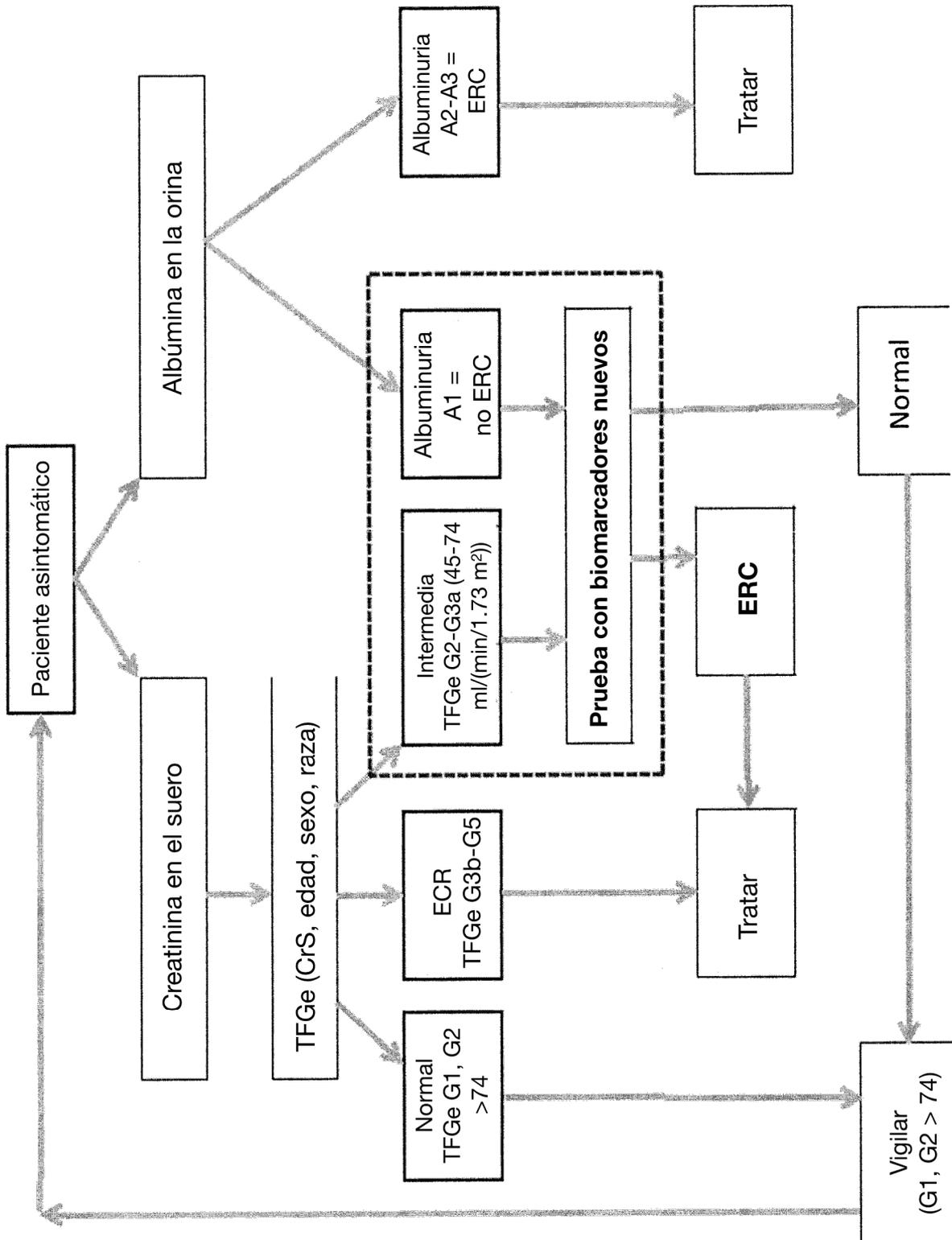


FIG. 1

Prueba de metabolitos biomarcadores: positiva (+++), (+) o bien negativa (-)

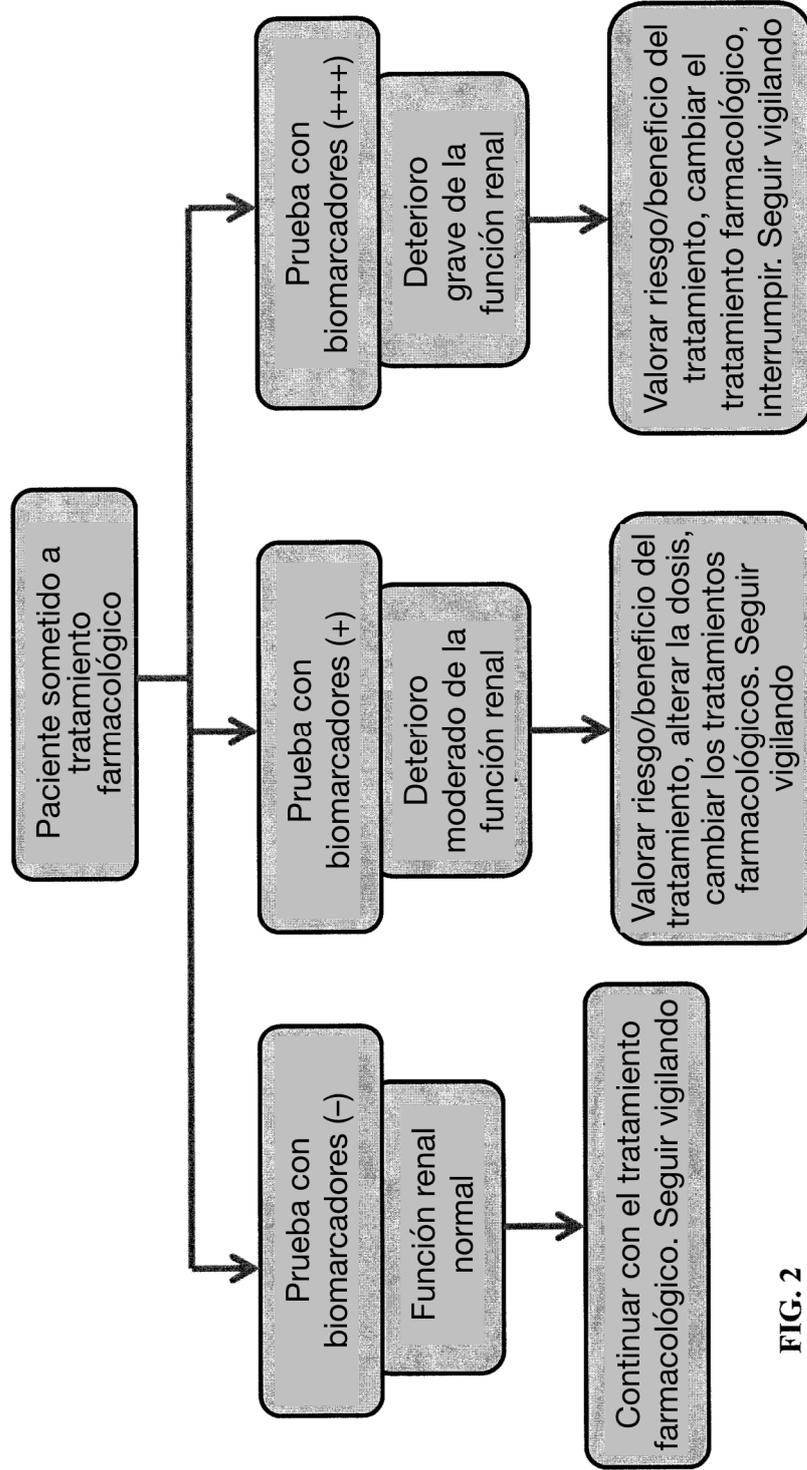


FIG. 2

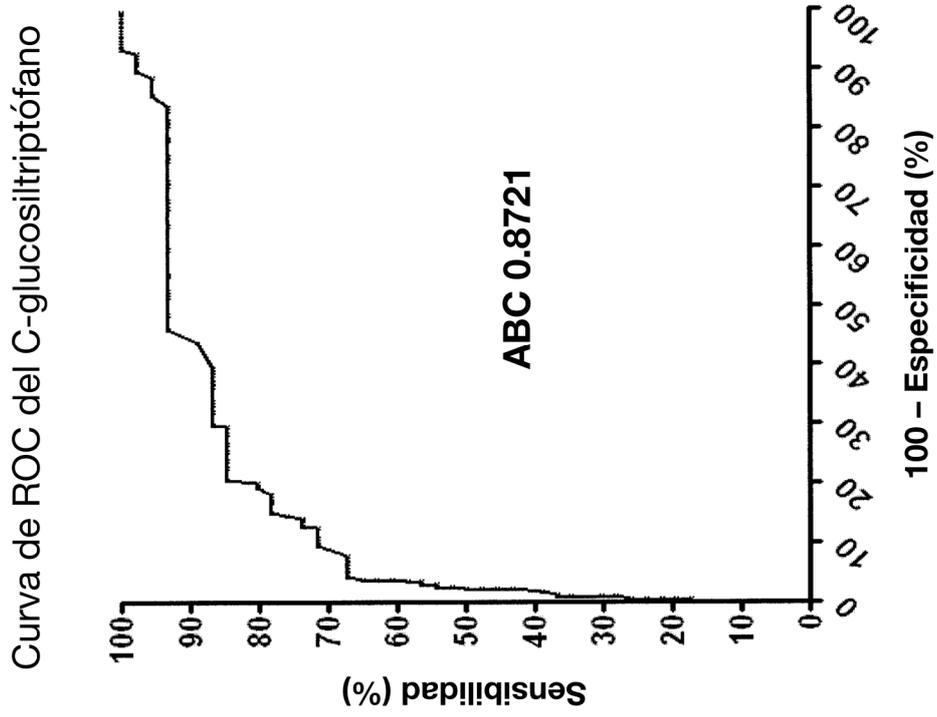


FIG. 3B

Distribución de las muestras de los pacientes

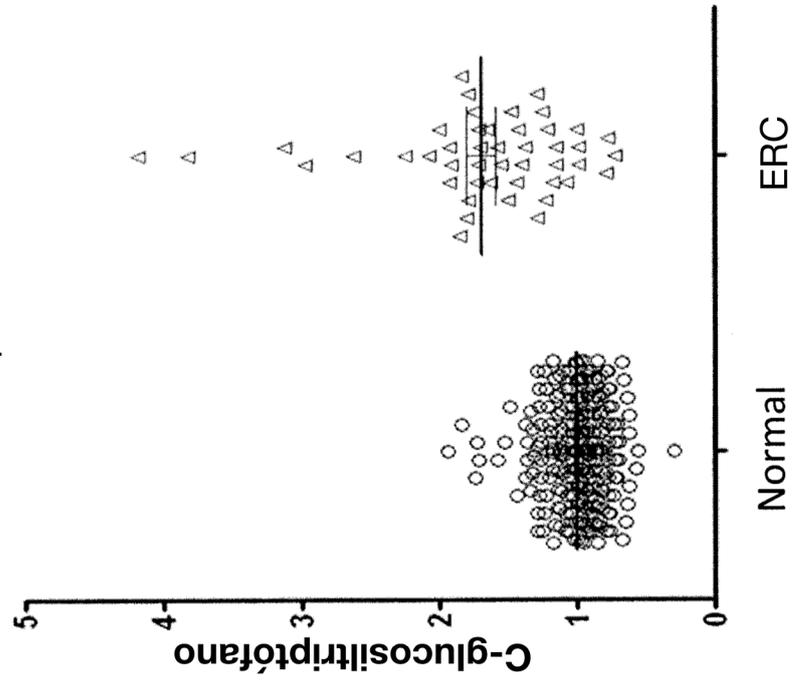


FIG. 3A

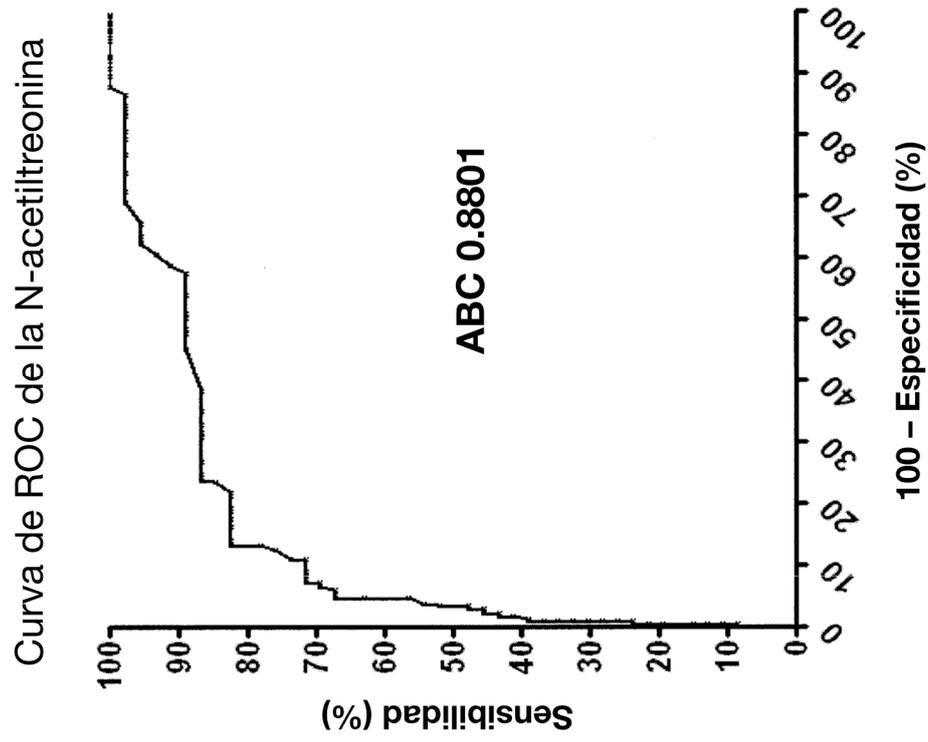


FIG. 4B

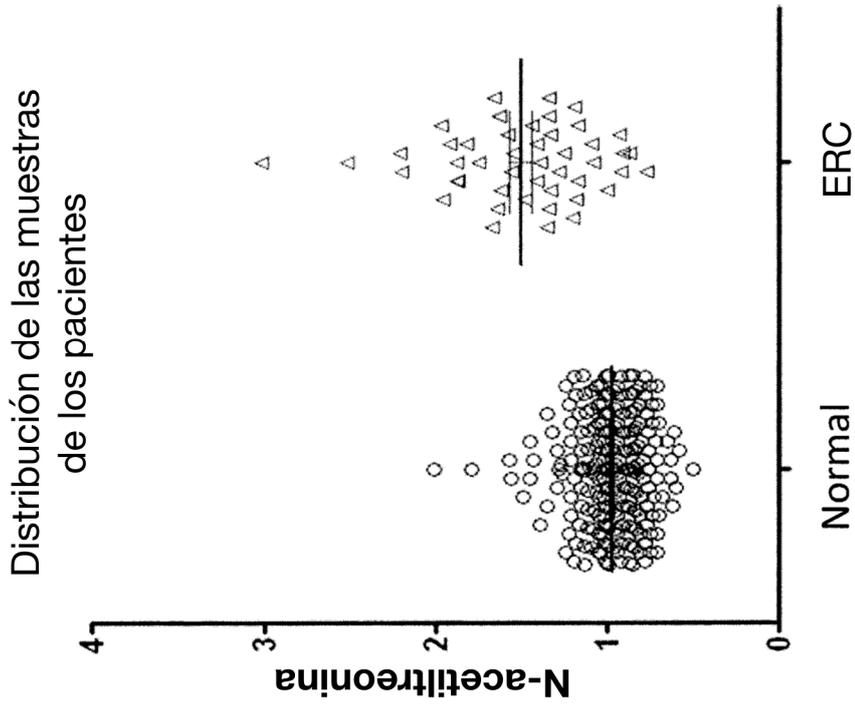


FIG. 4A

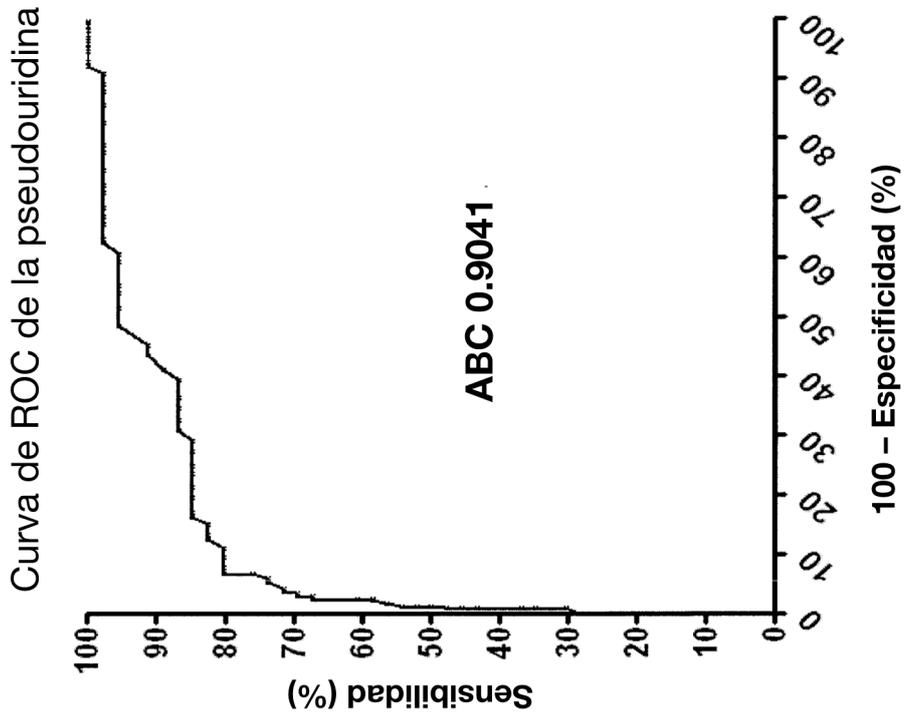


FIG. 5B

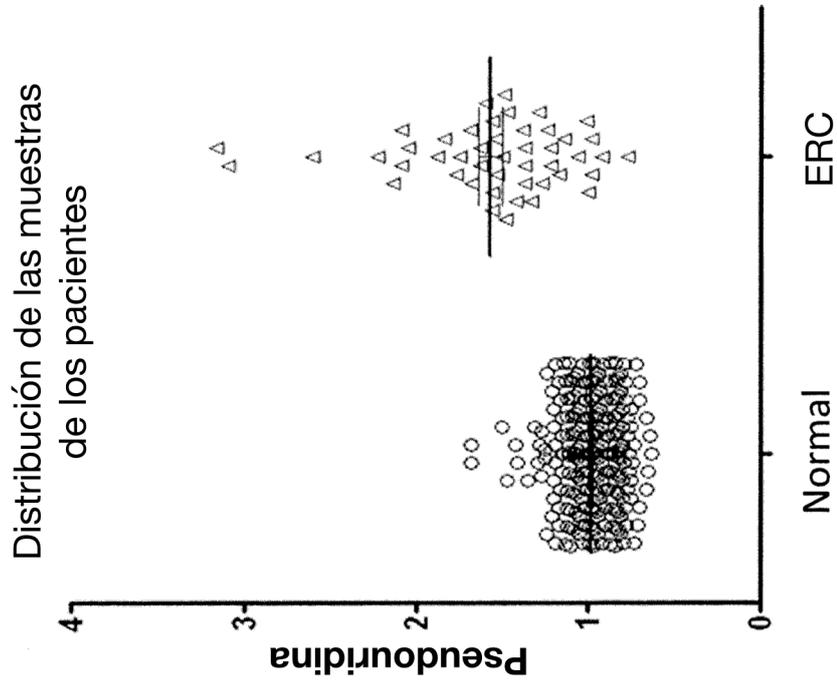


FIG. 5A

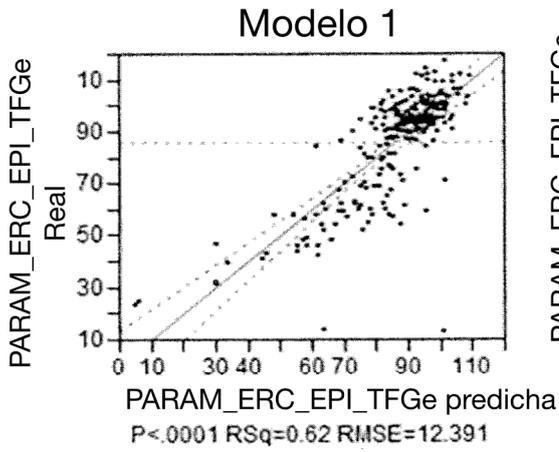


FIG. 6A

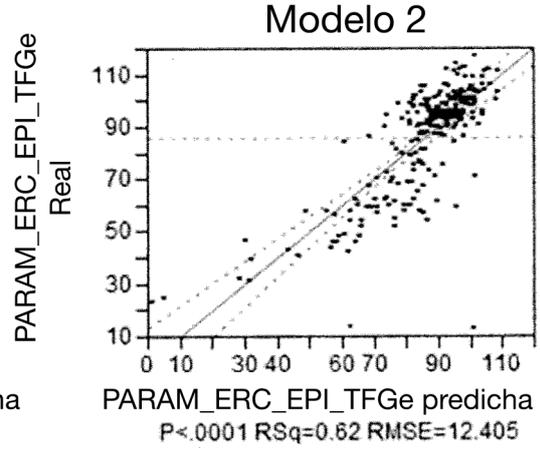


FIG. 6B

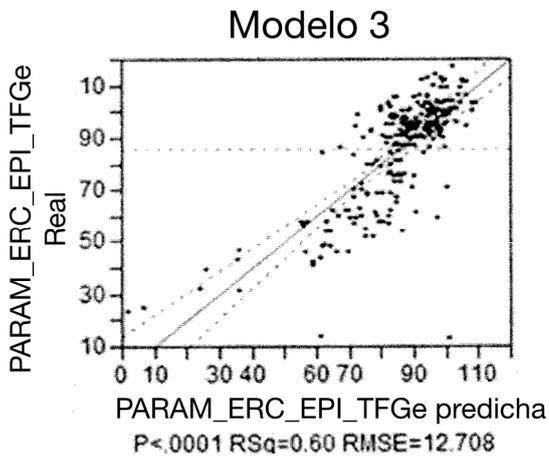


FIG. 6C

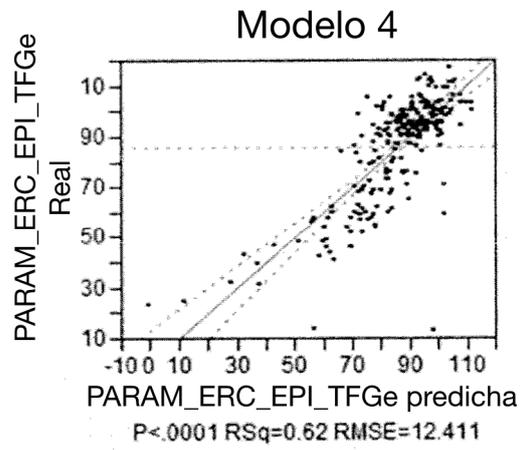


FIG. 6D

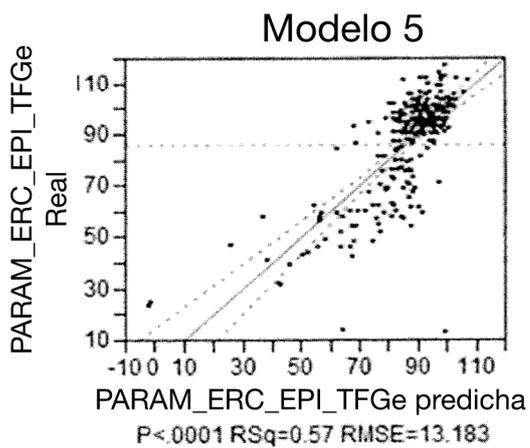


FIG. 6E