

(19)



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS
ESPAÑA



(11) Número de publicación: **2 987 582**

(51) Int. Cl.:
G01N 33/68
(2006.01)

(12)

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **16.01.2014 E 17209399 (9)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **13.03.2024 EP 3321686**

(54) Título: **Biomarcadores relacionados con la progresión de la resistencia a la Insulina y métodos que lo utilizan**

(30) Prioridad:

31.01.2013 US 201361758924 P

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

15.11.2024

(73) Titular/es:

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

(72) Inventor/es:

**COBB, JEFFERY, EDMOND;
PAPPAN, KIRK LANE y
GALL, WALTER**

(74) Agente/Representante:

ISERN JARA, Jorge

ES 2 987 582 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 progresión de la resistencia a la Insulina y métodos que lo utilizan

5 Campo

La presente invención se refiere, en general, a biomarcadores para predicción de la diabetes de tipo 2, la susceptibilidad a padecerla y su desarrollo.

10 Antecedentes

La diabetes se clasifica en diabetes de tipo 1 (de aparición temprana) o de tipo 2 (de aparición en la edad adulta), comprendiendo la diabetes de tipo 2 el 90-95 % de los casos de diabetes. La diabetes es el estadio final en un proceso de enfermedad que comienza a afectar a los individuos mucho antes de que se realice el diagnóstico de diabetes. La diabetes de tipo 2 se desarrolla a largo de 10 a 20 años y es el resultado de una capacidad alterada de utilizar la glucosa (utilización de glucosa, captación de glucosa en tejidos periféricos) debido a una sensibilidad alterada a la insulina (resistencia a la insulina).

20 Además, la resistencia a la insulina es fundamental para el desarrollo de una serie de enfermedades y trastornos diferentes, tales como la enfermedad cardiovascular, el síndrome metabólico, la esteatohepatitis no alcohólica (NASH), el síndrome del ovario poliquístico (PCOS) y la hipertensión.

25 En la prediabetes, la insulina cada vez es menos eficaz para ayudar a los tejidos a metabolizar la glucosa. Los prediabéticos pueden detectarse en un momento tan temprano como 20 años antes de que los síntomas diabéticos se hagan evidentes. Los estudios han demostrado que, aunque los pacientes muestran muy pocos síntomas manifiestos, en este estadio ya se están produciendo daños fisiológicos a largo plazo. Hasta 60 % de estos individuos desarrollarán una diabetes de tipo 2 en 10 años.

30 The American Diabetes Association (ADA, Asociación de Diabetes Americana) ha recomendado una evaluación rutinaria para detectar pacientes con prediabetes. Los métodos de evaluación actuales para la prediabetes incluyen el ensayo de glucosa plasmática en ayunas (FPG), el ensayo de tolerancia a la glucosa oral (OGTT), el ensayo de insulina en ayunas y el pinzamiento hiperinsulinémico-euglucémico (pinzamiento HI). Los dos primeros ensayos se emplean a nivel clínico, mientras que los dos últimos ensayos se emplean mucho en la investigación, pero muy pocas veces en la clínica. Además, se han propuesto medios matemáticos (por ejemplo, HOMA, QUICKI) que consideran la glucosa en ayunas y los niveles de insulina conjuntamente. Sin embargo, las concentraciones de insulina plasmática normales varían considerablemente entre individuos, así como dentro de un individuo a lo largo del día. Además, estos métodos presentan diferencias de variabilidad y metodológicas entre laboratorios y no se correlacionan rigurosamente con los estudios de pinzamiento HI.

40 A nivel mundial, se calcula que 194 millones de adultos padecen diabetes de tipo 2 y se espera que este número aumente a 333 millones en 2025, en gran medida debido a la epidemia de obesidad en las sociedades occidentalizadas. En Estados Unidos, se calcula que más de 54 millones de adultos son prediabéticos. Aparecen aproximadamente 1,5 millones de casos nuevos de diabetes de tipo 2 anuales en Estados Unidos. Se calcula que el coste sanitario anual en Estados Unidos de la diabetes es de 174.000 millones de dólares. Esta cifra ha aumentado más del 32 % desde 2002. En los países industrializados, tales como Estados Unidos, aproximadamente el 25 % de los gastos médicos son para tratar el control glucémico, el 50 % están asociados con los cuidados médicos generales asociados con la diabetes, y el 25 % restante de los costes se destinan a tratar las complicaciones a largo plazo, principalmente la enfermedad cardiovascular. Considerando la distribución de los costes sanitarios y el hecho de que la resistencia a la insulina es un factor causal directo en la enfermedad cardiovascular y la progesión de la diabetes, no sorprende que la enfermedad cardiovascular sea responsable del 70-80 % de la mortalidad observada en pacientes diabéticos. La detección y la prevención de la diabetes de tipo 2 se han convertido en una importante prioridad sanitaria.

55 La diabetes también puede conducir al desarrollo de otras enfermedades o trastornos, o es un factor de riesgo para el desarrollo de trastornos, tales como el síndrome metabólico y la enfermedad cardiovascular. El síndrome metabólico es la agrupación de una serie de factores de riesgo en un individuo. Según the American Heart Association, estos factores de riesgo incluyen: obesidad abdominal, disminución de la capacidad de procesar de modo adecuado la glucosa (la resistencia a la insulina o intolerancia a la glucosa), dislipidemia (altos niveles de triglicéridos, bajos niveles de colesterol LDL, altos niveles de colesterol HDL), hipertensión, estado protrombótico (altos niveles de fibrinógeno o inhibidor-1 del activador de plasminógeno en sangre) y estado proinflamatorio (niveles elevados de proteína C reactiva en la sangre). El síndrome metabólico también se conoce como síndrome X, síndrome de resistencia a la insulina, síndrome de obesidad, síndrome dismetabólico y síndrome de Reaven. Los pacientes diagnosticados con síndrome metabólico tienen mayor riesgo de desarrollar diabetes y enfermedad cardíaca y vascular. Se calcula que, en Estados Unidos, el 20 % de la población adulta (> 50 millones de personas) padece síndrome metabólico. Aunque puede afectar a cualquier persona de cualquier edad, la incidencia aumenta a medida que aumenta la edad y en individuos que son inactivos y, de modo significativo, tienen sobrepeso, en especial un exceso de grasa abdominal.

La diabetes de tipo 2 es la forma más común de diabetes en Estados Unidos. Según the American Diabetes Foundation, más del 90 % de los diabéticos en Estados Unidos padecen diabetes de tipo 2. Los individuos con diabetes de tipo 2 presentan una combinación de mayor resistencia a la insulina y menor secreción de insulina que se combinan para provocar hiperglucemía. La mayoría de las personas con diabetes de tipo 2 presentan síndrome metabólico.

El diagnóstico del síndrome metabólico se basa en la aparición de tres o más factores de riesgo en un individuo. Varias organizaciones médicas ofrecen definiciones para el síndrome metabólico. Los criterios propuestos por the National Cholesterol Education Program (NCEP) Adult Treatment Panel III (ATP III), con pequeñas modificaciones, son los que se recomiendan en la actualidad y son ampliamente utilizados en Estados Unidos.

The American Heart Association and the National Heart, Lung, and Blood Institute recomienda que se identifique el síndrome metabólico como la presencia de tres o más de estos componentes: mayor circunferencia de cintura (hombres: igual o superior a 40 pulgadas (102 cm); mujeres: igual o superior a 35 pulgadas (88 cm)); nivel elevado de triglicéridos (igual o superior a 150 mg/dl); nivel reducido de colesterol HDL ("bueno") (hombres: inferior a 40 mg/dl; mujeres: inferior a 50 mg/dl); presión sanguínea elevada (igual o superior a 130/85 mm Hg); nivel elevado de glucosa (igual o superior a 100 mg/dl).

La diabetes de tipo 2 se desarrolla lentamente y, a menudo, las personas conocen por primera vez que padecen diabetes de tipo 2 a través de pruebas de sangre realizadas para otra enfermedad o como parte de un examen rutinario. En algunos casos, la diabetes de tipo 2 no se detecta antes de que se hayan producido daños en los ojos, riñones u otros órganos. Es necesaria una evaluación objetiva y bioquímica (por ejemplo, un ensayo de laboratorio) que pueda ser administrada por un profesional de sanidad primaria para identificar individuos que están en riesgo de desarrollar el síndrome metabólico o la diabetes de tipo 2.

Son necesarios diagnósticos moleculares más novedosos e innovadores que reflejen los mecanismos progresión fisiopatológica hacia la prediabetes y la diabetes, porque la prevalencia de la prediabetes y la diabetes está aumentando en proporciones epidémicas a escala mundial. Al igual que la epidemia de la obesidad, la prediabetes y la diabetes se pueden prevenir en gran medida, pero con frecuencia no se diagnostican o se diagnostican demasiado tarde debido a la naturaleza asintomática de la progresión hacia la enfermedad clínica.

Aunque la resistencia a la insulina desempeña un papel fundamental en el desarrollo de numerosas enfermedades, no puede detectarse con facilidad empleando muchas de las mediciones clínicas para trastornos prediabéticos. La resistencia a la insulina se desarrolla antes de la aparición de la hiperglucemía y está asociada con una mayor producción de insulina. A lo largo del tiempo (décadas), la capacidad de la célula para responder a la insulina disminuye y el sujeto se vuelve resistente a la acción de la insulina (es decir, es resistente a la insulina, IR). Finalmente, las células beta del páncreas no pueden producir la insulina suficiente para compensar la menor sensibilidad a la insulina, y las células beta comienzan a perder la función y se desencadena la apoptosis. La función de las células beta puede disminuir hasta un 80 % en sujetos prediabéticos. A medida que aumenta la disfunción de las células beta, disminuye la producción de insulina, lo que se traduce en niveles de insulina más bajos y niveles de glucosa elevados en los sujetos diabéticos. Se asocian daños vasculares al aumento de la resistencia a la insulina y al desarrollo de la diabetes de tipo 2.

Por tanto, existe una necesidad no cubierta de biomarcadores y ensayos de diagnóstico que puedan determinar el riesgo de desarrollar la resistencia a la insulina, la diabetes de tipo 2 y la enfermedad cardiovascular en sujetos dentro de al menos 3 años hasta al menos 5 años, y de la progresión de la resistencia a la insulina a la diabetes de tipo 2 y/o la enfermedad cardiovascular en sujetos no diabéticos con resistencia a la insulina. Los biomarcadores y pruebas diagnósticas de resistencia a la insulina pueden identificar y determinar mejor el riesgo de desarrollar la enfermedad cardiovascular y/o la diabetes en un sujeto en riesgo y/o un sujeto prediabético, pueden controlar el desarrollo y la progresión y/o regresión de la enfermedad, pueden permitir el desarrollo de nuevos tratamientos terapéuticos y pueden emplearse para probar la eficacia de los agentes terapéuticos en la reversión de la resistencia a la insulina y/o la prevención de la resistencia a la insulina y enfermedades relacionadas. Además, son necesarios biomarcadores de diagnóstico para evaluar de modo más eficaz la eficacia y la seguridad de candidatos terapéuticos prediabéticos y diabéticos.

55 Descripción detallada

De acuerdo con un primer aspecto, la presente invención proporciona un método para determinar la probabilidad de que un sujeto desarrolle diabetes de tipo-2, siendo el método según se reivindica en la reivindicación 1. Un segundo aspecto de la invención proporciona un método para monitorizar la progresión o regresión de la diabetes de tipo-2 en un sujeto, siendo el método según se reivindica en la reivindicación 7.

También se describen en el presente documento otros métodos basados en biomarcadores de diabetes de tipo 2 y también métodos basados en biomarcadores de resistencia a la insulina, la disglucemía y la enfermedad cardiovascular.

Los actuales ensayos de sangre para la resistencia a la insulina, la disglucemia, la diabetes de tipo 2 y la enfermedad cardiovascular no son buenos para la detección temprana de la resistencia a la insulina, la disglucemia, la diabetes de tipo 2 y la enfermedad cardiovascular o implican importantes procedimientos médicos.

- 5 Los grupos (también denominados "paneles") de metabolitos que pueden utilizarse en un ensayo sencillo de sangre, orina, etc., para predecir la resistencia a la insulina, la disglucemia, la diabetes de tipo 2 y la enfermedad cardiovascular pueden identificarse empleando un análisis metabólico. Se realizaron estudios independientes para identificar un conjunto de biomarcadores que, cuando se emplean con un algoritmo polinómico, permiten la detección temprana de los cambios en la sensibilidad a la insulina, la disglucemia, la diabetes de tipo 2 y/o la enfermedad cardiovascular en un sujeto. Los biomarcadores descritos en el presente documento pueden emplearse para proporcionar una puntuación que indica la probabilidad de resistencia a la insulina, disglucemia, diabetes de tipo 2 y/o enfermedad cardiovascular en un sujeto (por ejemplo, la "puntuación de riesgo"). La puntuación puede basarse en un cambio clínicamente significativo en el nivel de referencia de un biomarcador y/o una combinación de biomarcadores. El nivel de referencia puede obtenerse a partir de un algoritmo o calcularse a partir de índices para la tolerancia alterada a la glucosa y puede presentarse en un informe. La puntuación de riesgo coloca al sujeto en un intervalo de riesgo para la resistencia a la insulina, la disglucemia, la diabetes de tipo 2 y/o la enfermedad cardiovascular desde normal (bajo riesgo) hasta alto riesgo y/o puede emplearse para determinar la probabilidad de que el sujeto padezca resistencia a la insulina, disglucemia, diabetes de tipo 2 o enfermedad cardiovascular. La progresión o la remisión de la enfermedad puede controlarse mediante la determinación periódica y el control de la puntuación de riesgo. La respuesta a la intervención terapéutica puede determinarse controlando la puntuación de riesgo. La puntuación de riesgo también puede emplearse para evaluar la eficacia de un fármaco o para identificar sujetos que se van a tratar con terapias para la resistencia a la insulina, la disglucemia, la diabetes de tipo 2 y/o la enfermedad cardiovascular, tales como sensibilizantes a la insulina, o para identificar sujetos para su inclusión en ensayos clínicos.
- 10
- 15
- 20
- 25 Sin embargo, antes de describir esta invención con más detalle, se definen los siguientes términos.

Definiciones

- 30 Un "biomarcador" significa un compuesto, preferiblemente un metabolito, que está diferencialmente presente (es decir, a mayor o menor nivel) en una muestra biológica procedente de un sujeto o un grupo de sujetos que presentan un primer fenotipo (por ejemplo, que padecen una enfermedad), en comparación con una muestra biológica procedente de un sujeto o un grupo de sujetos que presentan un segundo fenotipo (por ejemplo, no padecen la enfermedad). Un biomarcador puede estar diferencialmente presente a cualquier nivel, pero en general está presente a un nivel que es mayor en al menos 5 %, en al menos 10 %, en al menos 15 %, en al menos 20 %, en al menos 25 %, en al menos 30 %, en al menos 35 %, en al menos 40 %, en al menos 45 %, en al menos 50 %, en al menos 55 %, en al menos 60 %, en al menos 65 %, en al menos 70 %, en al menos 75 %, en al menos 80 %, en al menos 85 %, en al menos 90 %, en al menos 95 %, en al menos 100 %, en al menos 110 %, en al menos 120 %, en al menos 130 %, en al menos 140 %, en al menos 150 %, o más; o en general está presente a un nivel que es menor en al menos 5 %, en al menos 10 %, en al menos 15 %, en al menos 20 %, en al menos 25 %, en al menos 30 %, en al menos 35 %, en al menos 40 %, en al menos 45 %, en al menos 50 %, en al menos 55 %, en al menos 60 %, en al menos 65 %, en al menos 70 %, en al menos 75 %, en al menos 80 %, en al menos 85 %, en al menos 90 %, en al menos 95 %, o en 100 % (es decir, está ausente). Un biomarcador preferiblemente está diferencialmente presente a un nivel que es estadísticamente significativo (por ejemplo, un valor de p inferior a 0,05 y/o un valor de q inferior a 0,10, según se determina empleando un ensayo de la T de Welch o un ensayo de la suma de rangos de Wilcoxon). Como alternativa, los biomarcadores demuestran una correlación con la resistencia a la insulina o con niveles o estadios concretos de la resistencia a la insulina. El intervalo de posibles correlaciones es entre 1 negativo (-1) y 1 positivo (+1). Un resultado de 1 negativo (-1) significa una correlación negativa perfecta y un 1 positivo (+1) significa una correlación positiva perfecta, y 0 significa que no existe correlación. Una "correlación sustancial positiva" se refiere a un biomarcador que tiene una correlación de +0,25 a +1,0 con un trastorno o con una medición clínica concretos (por ejemplo, R_d), mientras que una "correlación sustancial negativa" se refiere a una correlación de -0,25 a -1,0 con un trastorno o con una medición clínica concretos. Una "correlación significativa positiva" se refiere a un biomarcador que tiene una correlación de +0,5 a +1,0 con un trastorno o con una medición clínica concretos (por ejemplo, R_d), mientras que una "correlación significativa negativa" se refiere a una correlación de -0,5 a -1,0 con un trastorno o con una medición clínica concretos.
- 45
- 50
- 55
- 60
- 65
- El "nivel" de uno o más biomarcadores significa la cantidad o concentración absoluta o relativa del biomarcador en la muestra.
- Una "muestra" o una "muestra biológica" o un "espécimen" significa un material biológico aislado de un sujeto. La muestra biológica puede contener cualquier material biológico adecuado para detectar los biomarcadores deseados, y puede comprender material celular y/o no celular del sujeto. La muestra puede aislarse de cualquier tejido o fluido biológico, tal como, por ejemplo, tejido adiposo, tejido aórtico, tejido hepático, sangre, plasma sanguíneo, saliva, suero, líquido cefalorraquídeo, fluido quístico, exudados u orina.
- Un "sujeto" significa cualquier animal, pero preferiblemente es un mamífero, tal como, por ejemplo, un ser humano, un mono, un primate no humano, una rata, un ratón, una vaca, un perro, un gato, un cerdo, un caballo o un conejo.

Un "nivel de referencia" de un biomarcador significa un nivel del biomarcador que es indicativo de un estado de enfermedad particular, de un fenotipo particular o de la ausencia de cualquiera de estos, así como de combinaciones de estados de enfermedad, de fenotipos o de la ausencia de estos. Un nivel de referencia "positivo" de un biomarcador significa un nivel que es indicativo de un estado de enfermedad o fenotipo concretos. Un nivel de referencia "negativo" de un biomarcador significa un nivel que es indicativo de la ausencia de un estado de enfermedad o fenotipo concretos. Por ejemplo, un "nivel de referencia positivo de la resistencia a la insulina" de un biomarcador significa un nivel de un biomarcador que es indicativo de un diagnóstico positivo de la resistencia a la insulina en un sujeto, y un "nivel de referencia negativo de la resistencia a la insulina" de un biomarcador significa un nivel de un biomarcador que es indicativo de un diagnóstico negativo de la resistencia a la insulina en un sujeto. Como otro ejemplo, un "nivel de referencia positivo de progresión de la resistencia a la insulina" de un biomarcador significa un nivel de un biomarcador que es indicativo de la progresión de la resistencia a la insulina en un sujeto, y un "nivel de referencia positivo de regresión de la resistencia a la insulina" de un biomarcador significa un nivel de un biomarcador que es indicativo de la regresión de la resistencia a la insulina en un sujeto. Un "nivel de referencia" de un biomarcador puede ser una cantidad o concentración absoluta o relativa del biomarcador, la presencia o ausencia del biomarcador, un intervalo de cantidad o concentración del biomarcador, una cantidad o concentración mínima y/o máxima del biomarcador, una cantidad o concentración promedio del biomarcador y/o una mediana de la cantidad o concentración del biomarcador; y, además, los "niveles de referencia" de combinaciones de biomarcadores también pueden ser proporciones de cantidades o concentraciones absolutas o relativas de dos o más biomarcadores entre sí. Un "nivel de referencia" también puede ser un "nivel de referencia de curva estándar" basado en los niveles de uno o más biomarcadores determinados a partir de una población y representados gráficamente en los ejes apropiados para producir una curva de referencia (por ejemplo, una curva de probabilidad estándar). Los niveles de referencia positivos y negativos apropiados de biomarcadores para un estado de enfermedad particular, un fenotipo particular o de la ausencia de cualquiera de estos, pueden determinarse midiendo los niveles de los biomarcadores deseados en uno o más sujetos apropiados, y estos niveles de referencia pueden adaptarse a poblaciones específicas de sujetos (por ejemplo, un nivel de referencia puede agruparse por edad de modo que puedan realizarse comparaciones entre los niveles de biomarcadores en muestras procedentes de sujetos de cierta edad y los niveles de referencia para un estado de enfermedad particular, un fenotipo particular o de la ausencia de cualquiera de estos, en cierto grupo de edad). Puede determinarse un nivel de referencia de curva estándar a partir de un grupo de niveles de referencia procedentes de un grupo de sujetos que presentan un estado de enfermedad particular, un fenotipo particular o de la ausencia de cualquiera de estos (por ejemplo, unas tasas de eliminación de glucosa conocidas) empleando análisis estadísticos, tales como análisis de regresión de una o múltiples variables, análisis de regresión logística, análisis de regresión lineal y similares, de los niveles de dichos biomarcadores en muestras procedentes del grupo. Estos niveles de referencia también pueden adaptarse a las técnicas específicas que se emplean para medir niveles de biomarcadores en muestras biológicas (por ejemplo, LC-MS, GC-MS, etc.), en las que los niveles de biomarcadores pueden diferir según la técnica específica empleada.

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

Un "metabolito" o una "molécula pequeña" significa moléculas orgánicas e inorgánicas que están presentes en una célula. El término y la expresión no incluyen macromoléculas grandes, tales como proteínas grandes (por ejemplo, proteínas con unos pesos moleculares superiores a 2.000, 3.000, 4.000, 5.000, 6.000, 7.000, 8.000, 9.000 o 10.000), ácidos nucleicos grandes (por ejemplo, ácidos nucleicos con unos pesos moleculares superiores a 2.000, 3.000, 4.000, 5.000, 6.000, 7.000, 8.000, 9.000 o 10.000), o polisacáridos grandes (por ejemplo, polisacáridos con unos pesos moleculares superiores a 2.000, 3.000, 4.000, 5.000, 6.000, 7.000, 8.000, 9.000 o 10.000). Las moléculas pequeñas de la célula se encuentran en general libres en disolución en el citoplasma o en otros orgánulos, tales como las mitocondrias, en donde forman un conjunto de intermedios que pueden seguir metabolizándose o pueden emplearse para generar moléculas grandes denominadas macromoléculas. La expresión "moléculas pequeñas" incluye moléculas de señalización e intermedios en las reacciones químicas que transforman la energía derivada del alimento 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 encuentran dentro de la célula.

El "perfil metabólico" o el "perfil de moléculas pequeñas" significa un inventario parcial o completo de las moléculas pequeñas dentro de una célula, tejido, órgano u organismo diana o de una de sus fracciones (por ejemplo, un compartimento celular). El inventario puede incluir la cantidad y/o el tipo de moléculas pequeñas presentes. El "perfil de moléculas pequeñas" puede determinarse empleando una sola técnica o múltiples técnicas diferentes.

El "metaboloma" significa todas las moléculas pequeñas presentes en un organismo concreto.

La "diabetes" se refiere a un grupo de enfermedades metabólicas que se caracterizan por unos niveles altos de azúcar (glucosa) en sangre que son producidos por defectos en la secreción o la acción de la insulina o ambas.

5 La "diabetes de tipo 2" o "T2D" se refiere a uno de los dos tipos principales de diabetes, el tipo en el que las células beta del páncreas producen insulina, al menos en los estadios tempranos de la enfermedad, pero el cuerpo es incapaz de utilizarla de modo eficaz porque las células del cuerpo son resistentes a la acción de la insulina. En los estadios posteriores de la enfermedad, las células beta pueden dejar de producir insulina. La diabetes de tipo 2 también es conocida como diabetes resistente a insulina, diabetes no dependiente de insulina y diabetes de aparición en la edad adulta.

10 La "prediabetes" se refiere a uno o más trastornos relacionados con la diabetes temprana que incluyen un utilización alterada de la glucosa, unos niveles de glucosa en ayunas anómalos o alterados, una tolerancia alterada a la glucosa, una sensibilidad alterada a la insulina y una resistencia a la insulina.

15 "Resistente a la insulina" se refiere al trastorno en el que las células se hacen resistentes a los efectos de la insulina, una hormona que regula la captación de la glucosa hacia el interior de las células, o en el que la cantidad de insulina producida es insuficiente para mantener un nivel normal de glucosa. Las células ven disminuida su capacidad para responder a la acción de la insulina para estimular el transporte del azúcar glucosa de la sangre a los músculos y otros tejidos (es decir, disminuye la sensibilidad a la insulina). En último término, el páncreas produce mucha más insulina de lo normal y las células continúan siendo resistentes. Siempre que se produzca la suficiente insulina para superar esta resistencia, los niveles de glucosa en sangre se mantienen normales. Cuando el páncreas ya no puede seguir el ritmo, la glucosa en sangre empieza a aumentar, dando como resultado la diabetes. La resistencia a la insulina varía de normal (sensible a la insulina) a resistente a la insulina (IR).

20 25 La "sensibilidad a la insulina" se refiere a la capacidad de las células de responder a los efectos de la insulina para regular la captación y la utilización de la glucosa. La resistencia a la insulina varía de normal (sensible a la insulina) a resistente a la insulina (IR).

30 35 40 La "puntuación de riesgo" o "puntuación de riesgo de enfermedad (DR)" es una medición de la probabilidad de resistencia a la insulina, disglucemia, diabetes de tipo 2 y/o enfermedad cardiovascular en un sujeto. Tal como se emplea en el presente documento, la expresión puntuación de riesgo de enfermedad o puntuación DR se emplea genéricamente y puede indicar el riesgo frente a cualquiera de las enfermedades asociadas con la resistencia a la insulina y la prediabetes, mientras que una puntuación de riesgo específica indica esa enfermedad específica. Por ejemplo, una "puntuación de riesgo IR" se basa en la tasa de eliminación de glucosa prevista calculada empleando los biomarcadores de resistencia a la insulina (por ejemplo, junto con modelos y/o algoritmos) que permiten al médico determinar la probabilidad de que un sujeto sea resistente a la insulina. Las puntuaciones de riesgo para determinar la probabilidad de que un sujeto sea disglucémico (por ejemplo, la "puntuación de riesgo de disglucemia"), diabético de tipo 2 (por ejemplo, "puntuación de riesgo de t2d") y/o padezca una enfermedad cardiovascular (por ejemplo, "puntuación de riesgo de CVD") se basan en medir los niveles de biomarcadores para la disglucemia, la diabetes de tipo 2 o la enfermedad cardiovascular y emplear dichas mediciones en un modelo matemático (por ejemplo, un modelo estadístico, un algoritmo).

45 La "utilización de glucosa" se refiere a la absorción de glucosa de la sangre por las células musculares y adiposas y la utilización del azúcar para el metabolismo celular. La captación de glucosa hacia el interior de las células es estimulada por la insulina.

50 55 60 "Rd" se refiere a la tasa de eliminación de la glucosa (tasa de desaparición de la glucosa), una medida métrica para la utilización de la glucosa. La tasa en la que desaparece la glucosa de la sangre (tasa de eliminación) es una indicación de la capacidad del cuerpo para responder a la insulina (es decir, si es sensible a la insulina). Existen varios métodos para determinar la Rd y el pinzamiento hiperinsulinémico-euglucémico se considera el método "patrón oro". En esta técnica, a medida que se infusa una cantidad fijada de insulina, la glucosa en sangre se "pinza" a un nivel predeterminado mediante la titulación de una tasa variable de infusión de glucosa. El principio subyacente es que, tras alcanzar un estado estacionario, por definición, la eliminación de la glucosa es equivalente a la aparición de la glucosa. Durante la hiperinsulinemia, la eliminación de la glucosa (Rd) principalmente se produce por la captación de glucosa por el músculo esquelético, y la aparición de la glucosa es igual a la suma de la infusión exógena de glucosa más la tasa de producción de glucosa hepática (HGO). La tasa de infusión de glucosa durante los últimos 30 minutos del ensayo determina la sensibilidad a la insulina. Si se requieren niveles altos de glucosa ($Rd = 7,5 \text{ mg/kg/min}$ o superior), el paciente es sensible a la insulina. Unos niveles muy bajos ($Rd = 4,0 \text{ mg/kg/min}$ o inferior) de glucosa requerida indican que el cuerpo es resistente a la acción de la insulina. Unos niveles entre 4,0 y 7,5 mg/kg/min (valores de Rd entre 4,0 mg/kg/min y 7,5 mg/kg/min) de glucosa requerida no son definitivos y sugieren una sensibilidad alterada a la insulina y que el sujeto pueda presentar una "tolerancia alterada a la glucosa", que a veces puede ser una señal de la resistencia a la insulina.

65 "Mffin" y "Mwbm" se refieren a la eliminación de glucosa (M) calculada como la tasa promedio de infusión de glucosa durante los últimos 60 minutos del estudio de pinzamiento (estado estacionario) y expresada como miligramos por

minuto por kilogramo de masa sin grasas (ffm) o de masa corporal completa (wbm). Los sujetos con una M_{ffm} inferior a 45 umol/min/kg ffm se consideran en general resistentes a la insulina. Los sujetos con una M_{wbm} inferior a 5,6 umol/min/kg ffm se consideran en general resistentes a la insulina.

- 5 Una "glucosa en ayunas alterada (IFG)" y una "tolerancia alterada a la glucosa (IGT)" son las dos definiciones clínicas de "prediabetes". La IFG se define como una concentración de glucosa en sangre en ayunas de 100-125 mg/dl. La IGT se define como una concentración de glucosa en sangre postprandial (después de comer) de 140-199 mg/dl. Se sabe que la IFG y la IGT no siempre detectan las mismas poblaciones prediabéticas. Entre ambas poblaciones, se ha observado un solapamiento de aproximadamente 60 %. Los niveles de glucosa en plasma en ayunas son un medio más eficaz para inferir la función pancreática del paciente, o la secreción de insulina, mientras que los niveles de glucosa postprandial están asociados con más frecuencia con inferir unos niveles de sensibilidad o de resistencia a la insulina. Se sabe que la IGT identifica a un porcentaje mayor de la población prediabética, comparada con la IFG. El trastorno de IFG está asociado con una menor secreción de insulina, mientras que se sabe que el trastorno de IGT está muy asociado con una resistencia a la insulina. Se han realizado numerosos estudios que demuestran que los individuos IGT con valores de FPG normales tienen un mayor riesgo de enfermedad cardiovascular. Los pacientes con valores normales de FPG pueden tener unos valores de glucosa postprandial anómalos y a menudo no son conscientes de su riesgo de desarrollar prediabetes, diabetes y enfermedad cardiovascular.
- 10
- 15
- 20
- 25
- 30
- 35
- 40
- 45
- 50
- 55
- 60
- 65
- El "ensayo de glucosa en plasma en ayunas (FPG)" es un sencillo ensayo para medir los niveles de glucosa en sangre después de un ayuno de 8 horas. Según la ADA, una concentración de glucosa en sangre de 100-125 mg/dl se considera IFG y define la prediabetes, mientras que >126 mg/dl define la diabetes. Tal como indica la ADA, FPG es el ensayo preferido para diagnosticar la diabetes y la prediabetes debido a su facilidad de uso, la aceptación por parte del paciente, su bajo coste y su relativa reproducibilidad. El inconveniente del ensayo FPG es que los pacientes ya están bastante avanzados hacia la diabetes de tipo 2 antes de que cambien los niveles de glucosa en ayunas.
- El "ensayo de tolerancia a la glucosa oral (OGTT)", una medición dinámica de la glucosa, es una medición postprandial de los niveles de glucosa en sangre de un paciente después de la ingestión oral de una bebida con 75 g de glucosa. Las mediciones tradicionales incluyen una muestra de sangre en ayunas al principio del ensayo, una muestra de sangre después de una hora, y una muestra de sangre después de 2 horas. La concentración de glucosa en sangre de un paciente a las 2 horas define el nivel de tolerancia a la glucosa: tolerancia normal a la glucosa (NGT) <140 mg/dl de glucosa en sangre; tolerancia alterada a la glucosa (IGT) = 140-199 mg/dl de glucosa en sangre; diabetes >200 mg/dl de glucosa en sangre. Tal como indica la ADA, aunque se sabe que OGTT es más sensible y específico para diagnosticar la prediabetes y la diabetes, no se recomienda para un uso clínico habitual debido a su mala reproducibilidad y a la dificultad de ponerlo en práctica.
- Un "ensayo de insulina en ayunas" mide la forma madura en circulación de la insulina en el plasma. La actual definición de hiperinsulinemia resulta difícil debido a la falta de estandarización de los inmunoensayos de insulina, la reactividad cruzada con formas de proinsulina, y al hecho de que no existe consenso acerca de los requisitos analíticos de los ensayos. Los CV dentro de ensayo varían de 3,7 %-39 % y los CV entre ensayos varían de 12 %-66 %. Por tanto, habitualmente no se mide la insulina en ayunas en entornos clínicos y esta medición se limita a entornos de investigación.
- El "pinzamiento hiperinsulinémico-euglucémico (pinzamiento HI)" se considera a nivel global como el "patrón oro" para medir la resistencia a la insulina en pacientes. Se realiza en un entorno de investigación, requiere la inserción de dos catéteres en el paciente y este debe permanecer inmovilizado durante hasta seis horas. El pinzamiento HI implica crear un estado estacionario de hiperinsulinemia mediante la infusión de insulina, junto con una infusión de glucosa paralela con el fin de cuantificar la cantidad de glucosa necesaria para mantener la euglucemía (concentración normal de glucosa en la sangre, también denominada *normoglucometria*). El resultado es una medición de la tasa de eliminación de glucosa dependiente de insulina (R_d), que mide la captación periférica de glucosa por el músculo (principalmente) y los tejidos adiposos. Esta tasa de captación de glucosa se indica como M, el metabolismo de glucosa del cuerpo completo por la acción de la insulina en condiciones de estado estacionario. Por tanto, una M alta indica una alta sensibilidad a la insulina y un valor bajo de M indica una sensibilidad reducida a la insulina, es decir, resistencia a la insulina. El pinzamiento de HI requiere a tres profesionales formados para realizar el procedimiento, que incluye infusiones simultáneas de insulina y glucosa a lo largo de 2-4 horas y frecuentes tomas de muestras de sangre cada 5 minutos para el análisis de los niveles de insulina y glucosa. Debido al alto coste, complejidad y tiempo necesario para el pinzamiento HI, este procedimiento está estrictamente limitado al entorno de la investigación clínica.
- La "obesidad" se refiere a un trastorno crónico definido por una excesiva cantidad de grasa corporal. La cantidad normal de grasa corporal (expresada como porcentaje de peso corporal) es de entre 25-30 % en mujeres y 18-23 % en hombres. Las mujeres con más del 30 % de grasa corporal y los hombres con más del 25 % de grasa corporal se consideran obesos.
- El "índice de masa corporal (o BMI)" se refiere a un cálculo que emplea la altura y el peso de un individuo para calcular la cantidad de grasa corporal del individuo. Demasiada grasa corporal (por ejemplo, obesidad) puede dar lugar a enfermedades y otros problemas de salud. El BMI es la medición elegida por muchos médicos e investigadores que estudian la obesidad. El BMI se calcula empleando una fórmula matemática que toma en cuenta tanto la altura como

el peso del individuo. El BMI es igual al peso de la persona en kilogramos dividido entre la altura en metros cuadrados ($\text{BMI} = \text{kg}/\text{m}^2$). Los sujetos con un BMI inferior a 19 se consideran con peso bajo, los que presentan un BMI de entre 19 y 25 se consideran de peso normal, mientras que un BMI de entre 25 y 29 se consideran en general con sobrepeso, mientras que los individuos con un BMI de 30 o más generalmente se consideran obesos. La obesidad mórbida se refiere a un sujeto que tiene un BMI de 40 o mayor.

Un "trastorno relacionado con la resistencia a la insulina" se refiere a enfermedades o trastornos asociados con la resistencia a la insulina e incluyen la disglucemia, la diabetes de tipo 2, la enfermedad cardiovascular (que incluye infarto de miocardio, ictus).

I. Biomarcadores

Los biomarcadores descritos en el presente documento se descubrieron empleando técnicas de formación de perfiles metabolómicos. Estas técnicas de formación de perfiles metabolómicos se describen con más detalle en los ejemplos que aparecen a continuación, así como en las patentes de Estados Unidos n.^{os} 7.005.255 y 7.329.489 y en la patente de Estados Unidos n.^º 7.635.556, la patente de Estados Unidos n.^º 7.682.783, la patente de Estados Unidos n.^º 7.682.784, y la patente de Estados Unidos n.^º 7.550.258.

En general, los perfiles metabólicos pueden determinarse a partir de muestras biológicas procedentes de sujetos humanos diagnosticados con un trastorno, tal como ser resistentes a la insulina, así como de uno o más grupos diferentes de sujetos humanos (por ejemplo, sujetos control sanos con tolerancia normal a la glucosa, sujetos con tolerancia alterada a la glucosa, sujetos con resistencia a la insulina o que tienen unas tasas de eliminación de glucosa conocidas, sujetos con diabetes de tipo 2, sujetos con enfermedad cardiovascular (por ejemplo, sujetos que han sufrido infarto de miocardio o ictus), sujetos humanos que desarrollan diabetes de tipo 2 en un marco temporal (por ejemplo, los sujetos que desarrollan diabetes de tipo 2 en 3 años, los sujetos que desarrollan diabetes de tipo 2 en 5 años), sujetos humanos que no desarrollan diabetes de tipo 2 o sujetos humanos que no desarrollan enfermedad cardiovascular). El perfil metabólico para las muestras biológicas de un grupo de sujetos después puede compararse con el perfil metabólico de muestras biológicas procedentes de uno o más de otros grupos de sujetos. Las comparaciones pueden realizarse utilizando modelos o algoritmos, tales como los descritos en el presente documento. Las moléculas que están diferencialmente presentes, incluyendo las moléculas diferencialmente presentes a un nivel es que estadísticamente significativo, en el perfil metabólico de los sujetos de un grupo, en comparación con otro grupo (por ejemplo, los sujetos sensibles a la insulina que desarrollan diabetes de tipo 2 frente a los sujetos sensibles a la insulina que no desarrollan diabetes de tipos 2, los sujetos sensibles a la insulina que desarrollan enfermedad cardiovascular frente a los sujetos sensibles a la insulina que no desarrollan enfermedad cardiovascular) pueden identificarse como biomarcadores para distinguir estos grupos.

Los biomarcadores para su uso en los métodos descritos en el presente documento pueden obtenerse de cualquier fuente de biomarcadores relacionados con la resistencia a la insulina, la disglucemia, la diabetes de tipo 2 y/o la enfermedad cardiovascular. Los biomarcadores para su uso en los métodos descritos en el presente documento que se relacionan con la predicción del desarrollo de la resistencia a la insulina incluyen incluyen 3-fenilpropionato (hidrocinamato), 3-(4-hidroxifenil)lactato, indol-lactato, 5-oxoprolina, bradiquinina-hidroxi-pro(3), manosa, 7-alfa-hidroxi-3-oxo-4-colestenoato (7-Hoca), hemo, adrenato, alfa-hidroxiisovalerato, glutamina, glicina, tirosina, desoxicolato, cinamoilglicina, sulfato de deshidroisoandrosterona (DHEA-S), disulfato de 5alfa-androstan-3beta,17alfa-diol, urato, 3-indoxilsulfato, propionilcarnitina, 3-deshidrocarnitina, acetilcarnitina, oleoilcarnitina, mioinositol, disulfato de 5alfa-pregnan-3beta, 20alfa-diol, xantina, trigonelina (N'-metilnicotinato), 2-hidroxihipurato (salicilurato), piperina, 1-metilurato, 1,3-dimetilurato, 1,7-dimetilurato, 1,3,7-trimetilurato, quinurenina y sus subconjuntos. Otros biomarcadores para su uso en combinación con los descritos en el presente documento incluyen los descritos en la publicación de solicitud de patente internacional n.^º WO 2009/014639 y la solicitud de patente de Estados Unidos n.^º 12/218.980, presentada el 17 de julio, 2008.

Los biomarcadores para su uso en los métodos descritos en el presente documento relacionados con la predicción del desarrollo de la diabetes de tipo 2 incluyen los marcadores enumerados en la Tabla 1 y la Tabla 2 y sus subconjuntos. En los métodos de la invención, se determina la cinamoilglicina y, opcionalmente, los niveles de uno o más biomarcadores adicionales. En una realización, el uno o más biomarcadores adicionales pueden incluir uno o más de 3-fenilpropionato (hidrocinamato), 3-(4-hidroxifenil)lactato, indol-lactato, 5-oxoprolina, bradiquinina-hidroxi-pro(3), manosa, 7-alfa-hidroxi-3-oxo-4-colestenoato (7-Hoca), hemo, glicerol-3-fosfato, isoleucina, valina, eritrosa, 3-hidroxi-2-oxovalerato, 4-metil-2-oxopentanoato, 2-metilbutirilcarnitina, 3-hidroxibutirato, tirosina, glicina, quinurenato, xantina, beta-hidroxipiruvato, 3-hidroxipropanoato, hexanoilcarnitina, urato, palmitoil esfingomielina, quinato, hipurato, sulfato de catecol, margarato, 5alfa-androstan-3beta, adrenato, alfa-hidroxiisovalerato, sulfato de deshidroisoandrosterona (DHEA-S), desoxicolato, glutamina, sulfato de 17alfa-diol y sus subconjuntos. Otros biomarcadores para su uso en combinación con los descritos en el presente documento incluyen los descritos en la publicación de solicitud de patente internacional n.^º WO 2009/014639 y la solicitud de patente de Estados Unidos n.^º 12/218.980, presentada el 17 de julio, 2008. En un aspecto, los biomarcadores se correlacionan con la diabetes de tipo 2.

También se describen en el presente documento biomarcadores para su uso en los métodos descritos en la presente memoria relacionados con la predicción del desarrollo de la enfermedad cardiovascular, incluyendo los biomarcadores

los marcadores enumerados en la Tabla 3 y la Tabla 4 y sus subconjuntos. Opcionalmente, dichos biomarcadores incluyen 3-indoxilsulfato, propionilcarnitina, 3-deshidrocarnitina, acetilcarnitina, oleoilcarnitina, mioinositol, disulfato de 5alfa-pregnan-3beta,20alfa-diol, disulfato de 5alfa-pregnan-3alpha,20beta-diol, xantina, trigonelina (N'-metilnicotinato), 2-hidroxihipurato (salicilurato), piperidina, 1-metilurato, 1,3-dimetilurato, 1,7-dimetilurato, 1,3,7-trimetilurato, quinurenina, y sus subconjuntos. En un aspecto, los biomarcadores se correlacionan con la enfermedad cardiovascular. Otros biomarcadores para su uso en combinación con los descritos en el presente documento incluyen los descritos en la publicación de solicitud de patente internacional n.º WO 2009/014639 y la solicitud de patente de Estados Unidos n.º 12/218.980, presentada el 17 de julio, 2008. Opcionalmente, la enfermedad cardiovascular es el infarto de miocardio y los biomarcadores se seleccionan de la Tabla 3. En otra opción, la enfermedad cardiovascular es el ictus y los biomarcadores se seleccionan de la Tabla 4. Otros biomarcadores para su uso en combinación con los descritos en el presente documento incluyen los descritos en la publicación de solicitud de patente internacional n.º WO 2009/014639 y la solicitud de patente de Estados Unidos n.º 12/218.980, presentada el 17 de julio, 2008.

Los biomarcadores para su uso en los métodos descritos en el presente documento que se correlacionan con la resistencia a la insulina, la diabetes de tipo 2 y/o la enfermedad cardiovascular, tal como una sensibilidad alterada a la insulina, la resistencia a la insulina o la prediabetes, incluyen uno o más de los enumerados en las Tablas 1, 2, 3 y/o 4 y sus subconjuntos. Los biomarcadores pueden incluir una combinación de los biomarcadores 3-fenilpropionato (hidrocinamato), 3-(4-hidroxifenil)lactato, indol-lactato, 5-oxoprolina, bradiquinina-hidroxi-pro(3), manosa, 7-alfa-hidroxi-3-oxo-4-colestenoato (7-Hoca), hemo, adrenato, alfa-hidroxiiisovalerato, glutamina, glicina, tirosina, desoxicolato, cinamoilglicina, sulfato de deshidroisoandrosterona (DHEA-S), disulfato de 5alfa-androstan-3beta,17alfa-diol, urato, 3-indoxilsulfato, propionilcarnitina, acetilcarnitina, oleoilcarnitina, mioinositol, disulfato de 5alfa-pregnan-3beta,20alfa-diol, xantina, trigonelina (N'-metilnicotinato), 2-hidroxihipurato (salicilurato), piperina, 1-metilurato, 1,3-dimetilurato, 1,7-dimetilurato, 1,3,7-trimetilurato, quinurenina, 2-metilbutrilcarnitina, 3-hidroxi-2-oxovalerato, 3-hidroxibutirato, 3-hidroxipropanoato, beta-hidroxipiruvato, sulfato de catecol, eritrosa, glicerol-3-fosfato, hexanoilcarnitina, hipurato, margarato, palmitoíl esfingomielina, quinato, e isoleucina para su uso en los métodos descritos en el presente documento. Los biomarcadores para su uso en los métodos descritos pueden incluir una combinación de 3-fenilpropionato (hidrocinamato), 3-(4-hidroxifenil)lactato, indol-lactato, 5-oxoprolina, bradiquinina-hidroxi-pro(3), manosa, 7-alfa-hidroxi-3-oxo-4-colestenoato (7-Hoca), hemo, adrenato, alfa-hidroxiiisovalerato, glutamina, glicina, tirosina, desoxicolato, cinamoilglicina, sulfato de deshidroisoandrosterona (DHEA-S), disulfato de 5alfa-androstan-3 beta,17alfa-diol, urato, eritrosa, glicerol-3-fosfato, isoleucina, valina, para predecir la progresión a diabetes de tipo 2. También se describen el presente documento el uso de una combinación de adrenato, alfa-hidroxiiisovalerato, glutamina, glicina, tirosina, desoxicolato, cinamoilglicina, sulfato de deshidroisoandrosterona (DHEA-S), disulfato de 5alfa-androstan-3beta,17alfa-diol, urato, para determinar la progresión a enfermedad cardiovascular. Estas combinaciones también pueden combinarse con mediciones clínicas o predictores de la resistencia a la insulina y/o la diabetes de tipo 2, tal como el índice de masa corporal, la insulina en plasma en ayunas o mediciones del péptido C. Los ejemplos de otras combinaciones que pueden emplearse en los métodos descritos en el presente documento incluyen los proporcionados en los siguientes ejemplos.

También se describen en el presente documento biomarcadores para su uso en la identificación de sujetos para su tratamiento mediante la administración de productos terapéuticos de resistencia a la insulina, incluyendo los biomarcadores uno o más de los enumerados 3-fenilpropionato (hidrocinamato), 3-(4-hidroxifenil)lactato, indol-lactato, 5-oxoprolina, bradiquinina-hidroxi-pro(3), manosa, 7-alfa-hidroxi-3-oxo-4-colestenoato (7-Hoca), hemo, adrenato, alfa-hidroxiiisovalerato, glutamina, glicina, tirosina, desoxicolato, cinamoilglicina, sulfato de deshidroisoandrosterona (DHEA-S), disulfato de 5alfa-androstan-3 beta,17alfa-diol, urato, 3-indoxilsulfato, propionilcarnitina, 3-deshidrocarnitina, acetilcarnitina, oleoilcarnitina, mioinositol, disulfato de 5alfa-pregnan-3beta,20alfa-diol, xantina, trigonelina (N'-metilnicotinato), 2-hidroxihipurato (salicilurato), piperina, 1-metilurato, 1,3-dimetilurato, 1,7-dimetilurato, 1,3,7-trimetilurato, quinurenina. En otro ejemplo, los biomarcadores para su uso en la identificación de sujetos para su admisión en ensayos clínicos para la administración de composiciones de ensayo para determinar su eficacia en el tratamiento de la resistencia a la insulina o trastornos relacionados incluyen uno o más de los enumerados 3-fenilpropionato (hidrocinamato), 3-(4-hidroxifenil)lactato, indol-lactato, 5-oxoprolina, bradiquinina-hidroxi-pro(3), manosa, 7-alfa-hidroxi-3-oxo-4-colestenoato (7-Hoca), hemo, adrenato, alfa-hidroxiiisovalerato, glutamina, glicina, tirosina, desoxicolato, cinamoilglicina, sulfato de deshidroisoandrosterona (DHEA-S), disulfato de 5alfa-androstan-3beta,17alfa-diol, urato, 3-indoxilsulfato, propionilcarnitina, 3-deshidrocarnitina, acetilcarnitina, oleoilcarnitina, mioinositol, disulfato de 5alfa-pregnan-3beta,20alfa-diol, xantina, trigonelina (N'-metilnicotinato), 2-hidroxihipurato (salicilurato), piperina, 1-metilurato, 1,3-dimetilurato, 1,7-dimetilurato, 1,3,7-trimetilurato, quinurenina.

Otros biomarcadores para su uso en los métodos descritos en el presente documento incluyen metabolitos relacionados con los biomarcadores enumerados 2-hidroxibutirato, 3-hidroxibutirato, ácido 3-metil-2-oxobutírico, arginina, betaina, 3-fenilpropionato (hidrocinamato), 3-(4-hidroxifenil)lactato, indol-lactato, 5-oxoprolina, bradiquinina-hidroxi-pro(3), manosa, 7-alfa-hidroxi-3-oxo-4-colestenoato (7-Hoca), hemo, adrenato, alfa-hidroxiiisovalerato, glutamina, glicina, tirosina, desoxicolato, cinamoilglicina, sulfato de deshidroisoandrosterona (DHEA-S), disulfato de 5alfa-androstan-3beta,17alfa-diol, urato, 3-indoxilsulfato, propionilcarnitina, 3-deshidrocarnitina, acetilcarnitina, oleoilcarnitina, mioinositol, disulfato de 5alfa-pregnan-3beta,20alfa-diol, xantina, trigonelina (N'-metilnicotinato), 2-hidroxihipurato (salicilurato), piperina, 1-metilurato, 1,3-dimetilurato, 1,7-dimetilurato, 1,3,7-trimetilurato, quinurenina. Además, estos biomarcadores adicionales también pueden ser útiles en combinación y con mediciones clínicas, por ejemplo, como proporciones de biomarcadores y dichas mediciones clínicas adicionales.

Puede emplearse cualquier número de biomarcadores en los métodos descritos en el presente documento. Es decir, los métodos descritos pueden incluir la determinación del 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, quince o más biomarcadores, etc., incluyendo una combinación de todos los biomarcadores de las Tablas 1, 2, 3, 4 y/o 5. En otro aspecto, el número de biomarcadores para su uso en los métodos descritos incluyen los niveles de aproximadamente veinticinco o menos biomarcadores, veinte o menos, quince o menos, diez o menos, nueve o menos, ocho o menos, siete o menos, seis o menos, cinco o menos biomarcadores. En otro aspecto, el número de biomarcadores para su uso en los métodos descritos incluye los niveles de uno, dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete, ocho, nueve, diez, once, doce, trece, catorce, quince, veinte o veinticinco biomarcadores.

Los biomarcadores descritos en el presente documento también pueden emplearse para generar una puntuación de riesgo ("puntuación de riesgo de enfermedad") para predecir la probabilidad de un sujeto de ser resistente a la insulina, diabético de tipo 2 y/o padecer una enfermedad cardiovascular (que incluye infarto de miocardio o ictus) para su uso en cualquiera de los métodos descritos. Puede emplearse cualquier método o algoritmo para generar una puntuación de riesgo de enfermedad basándose en los biomarcadores en las Tablas 1, 2, 3, 4 y/o 5 para su uso en los métodos de la presente descripción.

Los biomarcadores, paneles y algoritmos pueden proporcionar unos niveles mayores de sensibilidad para detectar o predecir la predisposición a la resistencia a la insulina, la diabetes de tipo 2 y/o la enfermedad cardiovascular que los métodos convencionales, tales como el ensayo de tolerancia a glucosa oral, el ensayo de la glucosa en plasma en ayunas, la hemoglobina A1C (y la glucosa promedio calculada, eAG), la insulina en plasma en ayunas, la proinsulina en ayunas, la adiponectina, HOMA-IR, y similares. En algunas realizaciones, los biomarcadores, paneles y algoritmos descritos en el presente documento proporcionan unos niveles de sensibilidad mayores que aproximadamente 55 %, 56 %, 57 %, 58 %, 59 %, 60 % o superiores.

Los biomarcadores, paneles y algoritmos descritos en el presente documento pueden proporcionar un nivel mayor de especificidad para detectar o predecir la resistencia a la insulina, la diabetes de tipo 2 y/o la enfermedad cardiovascular en un sujeto que los métodos convencionales, tales como el ensayo de tolerancia a la glucosa oral, el ensayo de glucosa en plasma en ayunas, la adiponectina y similares. En algunos ejemplos, los biomarcadores, paneles y algoritmos descritos en el presente documento pueden proporcionar unos niveles de especificidad mayores que aproximadamente 80 %, 85 %, 90 %, o superiores.

Además, los métodos descritos en el presente documento que emplean los biomarcadores y los modelos enumerados en las tablas pueden utilizarse en combinación con mediciones de diagnóstico clínicas de los respectivos trastornos. Las combinaciones con diagnósticos clínicos (tales como el ensayo de tolerancia a la glucosa oral, ensayo de glucosa en plasma en ayunas, medición de los ácidos grasos libres, mediciones de hemoglobina A1C (y glucosa promedio calculada, eAG), mediciones de insulina en plasma en ayunas, mediciones de proinsulina en ayunas, mediciones de péptido C en ayunas, mediciones de sensibilidad a la glucosa (índice de células beta), mediciones de adiponectina, mediciones de ácido úrico, mediciones de presión sanguínea sistólica y diastólica, mediciones de triglicéridos, proporción de triglicéridos/HDL, mediciones de colesterol (HDL, LDL), proporción de LDL/HDL, proporción de cintura/cadera, edad, historia familiar de diabetes (T1D y/o T2D), historia familiar de enfermedad cardiovascular) pueden facilitar los métodos descritos, o confirmar los resultados de los métodos descritos (por ejemplo, facilitar o confirmar el diagnóstico, controlar la progresión o la regresión y/o determinar la predisposición a la prediabetes, la disglucemia, la diabetes de tipo 2 y/o la enfermedad cardiovascular).

Puede utilizarse cualquier método adecuado para detectar los biomarcadores en una muestra biológica para determinar el nivel o niveles de dichos uno o más biomarcadores. Los métodos adecuados incluyen la cromatografía (por ejemplo, HPLC, cromatografía de gases, cromatografía líquida), la espectrometría de masas (por ejemplo, MS, MS-MS), el ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA), la unión de anticuerpos, otras técnicas inmunoenzimáticas y sus combinaciones (por ejemplo, LC-MS-MS). Además, el nivel o niveles de dichos uno o más biomarcadores pueden detectarse de modo indirecto, por ejemplo, empleando 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.

En algunas realizaciones, las muestras biológicas para su uso en la detección de los biomarcadores se transforman en muestras analíticas antes del análisis del nivel o la detección de los biomarcadores en la muestra. Por ejemplo, en algunas realizaciones, las extracciones de proteínas pueden realizarse para transformar la muestra antes del análisis, por ejemplo, mediante una cromatografía líquida (LC) o una espectrometría de masas en tandem (MS-MS), o sus combinaciones. En otras realizaciones, las muestras pueden transformarse durante el análisis, por ejemplo, mediante métodos de espectrometría de masas en tandem.

A. Métodos de diagnóstico

Los biomarcadores descritos en el presente documento pueden emplearse para diagnosticar o para ayudar a diagnosticar si un sujeto padece una enfermedad o un trastorno, tal como si es resistente a la insulina, disglucémico,

diabético de tipo 2 y/o padecer una enfermedad cardiovascular. Por ejemplo, los biomarcadores para su uso en el diagnóstico o para ayudar al diagnóstico de un sujeto para saber si es resistente a la insulina incluyen uno o más de los biomarcadores identificados en las Tablas 1, 2, 5. En una opción, los biomarcadores incluyen uno o más de los identificados en las Tablas 1, 2, 5, y sus combinaciones. Cualquier biomarcador enumerado en las Tablas 1, 2, 5 puede emplearse en los métodos de diagnóstico, así como cualquier combinación de los biomarcadores enumerados en las Tablas 1, 2, 5, o sus combinaciones.

Los métodos para diagnosticar o para ayudar a diagnosticar si un sujeto padece una enfermedad o un trastorno, tal como si es resistente a la insulina o presenta un trastorno relacionado con la resistencia a la insulina, pueden realizarse empleando uno o más de los biomarcadores identificados en las Tablas 1, 2, 3, 4 y/o 5. Un método para diagnosticar (o ayudar a diagnosticar) si un sujeto padece una enfermedad o un trastorno, tal como si es resistente a la insulina, comprende (1) analizar una muestra biológica procedente de un sujeto para determinar el nivel o niveles de uno o más de los biomarcadores de resistencia a la insulina enumerados 2-hidroxibutirato, 3-hidroxibutirato, ácido 3-metil-2-

oxobutírico, arginina, betaina, 3-fenilpropionato (hidrocinamato), 3-(4-hidroxifenil)lactato, indol-lactato, 5-oxoprolina, bradiquinina-hidroxi-pro(3), manosa, 7-alfa-hidroxi-3-oxo-4-colestenoato (7-Hoca), hemo, adrenato, alfa-hidroxiisovalerato, glutamina, glicina, tirosina, desoxicolato, cinamoilglicina, sulfato de deshidroisoandrosterona (DHEA-S), disulfato de 5alfa-androstan-3beta,17alfa-diol, urato, 3-indoxilsulfato, propionilcarnitina, 3-deshidrocarnitina, acetilcarnitina, oleoilcarnitina, mioinositol, disulfato de 5alfa-pregnan-3beta,20alfa-diol, xantina, trigonelina (N¹-metilnicotinato), 2-hidroxihipurato (salicilurato), piperina, 1-metilurato, 1,3-dimetilurato, 1,7-dimetilurato, 1,3,7-trimetilurato, quinurenina, en la muestra, y (2) comparar el nivel o niveles de dichos uno o más biomarcadores en la muestra con los niveles de referencia positivos de resistencia a la insulina y/o negativos de resistencia a la insulina de dichos uno o más biomarcadores para diagnosticar (o ayudar a diagnosticar) si un sujeto es resistente a la insulina. Cuando dicho método se emplea para ayudar al diagnóstico de una enfermedad o un trastorno, tal como la resistencia a la insulina o la prediabetes, los resultados del método pueden emplearse junto con otros métodos (o sus resultados) útiles en la determinación clínica para saber si un sujeto padece una enfermedad o un trastorno concretos.

Los métodos útiles en la determinación clínica para saber si un sujeto padece una enfermedad o un trastorno, tal como la resistencia a la insulina o la prediabetes, son conocidos en la técnica. Por ejemplo, los métodos útiles en la determinación clínica para saber si un sujeto es resistente a la insulina o está en riesgo de ser resistente a la insulina incluyen, por ejemplo, las tasas de eliminación de glucosa (Rd, M-wbm, M- ffb), las mediciones del peso corporal, las mediciones de la circunferencia de la cintura, las determinaciones de BMI, la proporción de cintura/cadera, las mediciones de los triglicéridos, las mediciones del colesterol (HDL, LDL), la proporción de LDL/HDL, la proporción de triglicéridos/HDL, la edad, la historia familiar de diabetes (T1D y/o T2D), la historia familiar de enfermedad cardiovascular, las mediciones del péptido YY, las mediciones del péptido C, las mediciones de la hemoglobina A1C y la glucosa promedio calculada (eAG), las mediciones de la adiponectina, las mediciones de la glucosa en plasma en ayunas (por ejemplo, el ensayo de tolerancia a la glucosa oral, el ensayo de glucosa en plasma en ayunas), las mediciones de los ácidos grasos libres, las mediciones de insulina y proinsulina en plasma en ayunas, las mediciones de la presión sanguínea sistólica y diastólica, las mediciones del urato y similares. Los métodos útiles para la determinación clínica para saber si un sujeto presenta resistencia a la insulina incluyen el pinzamiento hiperinsulinémico-euglucémico (pinzamiento HI).

Se realizaron estudios independientes para identificar un conjunto de biomarcadores que, cuando se emplean con un algoritmo polinómico, permiten la detección temprana de cambios en la resistencia a la insulina en un sujeto. En un aspecto, los biomarcadores proporcionados en el presente documento pueden emplearse para proporcionar a un médico una puntuación de probabilidad ("puntuación de riesgo de enfermedad (DR)") que indica la probabilidad de que el sujeto sea resistente a la insulina. La puntuación se basa en un nivel o niveles de referencia cambiados clínicamente significativos para un biomarcador y/o una combinación de biomarcadores. El nivel de referencia puede derivarse de un algoritmo o puede calcularse a partir de índices para la eliminación alterada de la glucosa. La puntuación de DR coloca al sujeto en un intervalo de resistencia a la insulina, desde normal (es decir, es sensible a la insulina) hasta resistente a la insulina hasta muy resistente. La progresión o remisión de la enfermedad puede controlarse mediante la determinación periódica y el control de la puntuación de DR. La respuesta a la intervención terapéutica puede determinarse controlando la puntuación de DR. La puntuación de DR también puede utilizarse para evaluar la eficacia de un fármaco.

Así, en el presente documento se divulan métodos para determinar la puntuación de riesgo de enfermedad (puntuación de DR) de un sujeto que pueden realizarse empleando uno o más de los biomarcadores identificados 2-hidroxibutirato, 3-hidroxibutirato, ácido 3-metil-2-oxobutírico, arginina, betaina, creatina, decanoil carnitina, ácido docosatetraenoico, ácido glutámico, glicina, ácido linoleico, ácido linolénico, ácido margárico, octanoil carnitina, ácido oleico, oleoil-LPC, palmitato, ácido palmitoleico, palmitoil-LPC, serina, estearato, treonina, triptófano, linoleoil- LPC, 1,5-anhidroglicitol, estearoil-LPC, glutamil valina, gamma-glutamil-leucina, ácido heptadecenoico, alfa-cetobutirato, cisteína, urato o un modelo que emplee dichos biomarcadores. Por ejemplo, un método para determinar la puntuación de DR de un sujeto comprende las etapas de: (1) analizar una muestra biológica procedente de un sujeto para determinar el nivel o niveles de uno o más de los biomarcadores de resistencia a la insulina 2- hidroxibutirato, 3-hidroxibutirato, ácido 3-metil-2-oxobutírico, arginina, betaina, creatina, decanoil carnitina, ácido docosatetraenoico, ácido glutámico, glicina, ácido linoleico, ácido linolénico, ácido margárico, octanoil carnitina, ácido oleico, oleoil-LPC, palmitato, ácido palmitoleico, palmitoil-LPC, serina, estearato, treonina, triptófano, linoleoil- LPC, 1,5-anhidroglicitol, estearoil-LPC, glutamil valina, gamma-glutamil-leucina, ácido heptadecenoico, alfa-cetobutirato, cisteína, urato en la

55

60

65

70

75

80

85

90

95

100

105

110

115

120

125

130

135

140

145

150

155

160

165

170

175

180

185

190

195

200

205

210

215

220

225

230

235

240

245

250

255

260

265

270

275

280

285

290

295

300

305

310

315

320

325

330

335

340

345

350

355

360

365

370

375

380

385

390

395

400

405

410

415

420

425

430

435

440

445

450

455

460

465

470

475

480

485

490

495

500

505

510

515

520

525

530

535

540

545

550

555

560

565

570

575

580

585

590

595

600

605

610

615

620

625

630

635

640

645

650

655

660

665

670

675

680

685

690

695

700

705

710

715

720

725

730

735

740

745

750

755

760

765

770

775

780

785

790

795

800

805

810

815

820

825

830

835

840

845

850

855

860

865

870

875

880

885

890

895

900

905

910

915

920

925

930

935

940

945

950

955

960

965

970

975

980

985

990

995

1000

1005

1010

1015

1020

1025

1030

1035

1040

1045

1050

1055

1060

1065

1070

1075

1080

1085

1090

1095

1100

1105

1110

1115

1120

1125

1130

1135

1140

1145

1150

1155

1160

1165

1170

1175

1180

1185

1190

1195

1200

1205

1210

1215

1220

1225

1230

1235

1240

1245

1250

1255

1260

1265

1270

1275

1280

1285

1290

1295

1300

1305

1310

1315

1320

1325

1330

1335

1340

1345

1350

1355

1360

1365

1370

1375

1380

1385

1390

1395

1400

1405

1410

1415

1420

1425

1430

1435

1440

1445

1450

1455

1460

1465

1470

1475

1480

1485

1490

1495

1500

1505

1510

1515

1520

1525

1530

1535

1540

1545

1550

1555

1560

1565

1570

1575

1580

1585

1590

1595

1600

1605

1610

1615

1620

1625

1630

1635

1640

1645

1650

1655

1660

1665

1670

1675

1680

1685

1690

1695

1700

1705

1710

1715

1720

1725

1730

1735

1740

1745

1750

1755

1760

1765

1770

1775

1780

1785

1790

1795

1800

1805

1810

1815

1820

1825

1830

1835

1840

1845

1850

1855

1860

1865

1870

1875

1880

1885

1890

1895

1900

1905

1910

1915

1920

1925

1930

1935

1940

1945

1950

1955

1960

1965

1970

1975

1980

1985

1990

1995

2000

2005

2010

2015

2020

2025

2030

2035

2040

2045

2050

2055

2060

2065

2070

2075

2080

2085

2090

2095

2100

2105

2110

2115

2120

2125

2130

2135

2140

2145

2150

2155

2160

2165

2170

2175

2180

2185

2190

2195

2200

2205

2210

2215

2220

2225

2230

2235

2240

2245

2250

2255

2260

2265

2270

2275

2280

2285

2290

2295

2300

2305

2310

2315

2320

2325

2330

2335

2340

2345

2350

2355

2360

2365

2370

2375

2380

2385

2390

2395

2400

2405

2410

2415

2420

2425

2430

2435

2440

2445

2450

2455

2460

2465

2470

2475

2480

2485

2490

2495

2500

2505

2510

2515

2520

2525

2530

2535

2540

2545

2550

2555

2560

2565

2570

2575

2580

2585

2590

2595

2600

2605

2610

2615

2620

2625

2630

2635

2640

2645

2650

2655

2660

2665

2670

2675

2680

2685

2690

2695

2700

2705

2710

2715

2720

2725

2730

2735

2740

2745

2750

2755

2760

2765

2770

2775

2780

2785

2790

2795

2800

2805

2810

2815

2820

2825

2830

2835

2840

2845

2850

2855

2860

2865

2870

2875

2880

2885

2890

2895

2900

2905

2910

2915

2920

2925

2930

2935

2940

2945

2950

2955

2960

2965

2970

2975

2980

2985

2990

2995

3000

3005

3010

3015

3020

3025

3030

3035

3040

3045

3050

3055

3060

3065

3070

3075

3080

3085

3090

3095

3100

3105

3110

3115

3120

3125

3130

3135

3140

3145

3150

3155

3160

3165

3170

3175

3180

3185

3190

3195

3200

3205

3210

3215

3220

3225

3230

3235

3240

3245

3250

3255

3260

3265

3270

3275

3280

3285

3290

3295

3300

3305

3310

3315

3320

3325

3330

3335

3340

3345

3350

3355

3360

3365

3370

3375

3380

3385

3390

3395

3400

3405

3410

3415

3420

3425

3430

3435

3440

3445

3450

3455

3460

3465

3470

3475

3480

3485

3490

3495

3500

3505

3510

3515

3520

3525

3530

3535

3540

3545

3550

3555

3560

3565

3570

3575

3580

3585

3590

3595

3600

3605

3610

3615

3620

3625

3630

3635

3640

3645

3650

3655

3660

3665

3670

3675

3680

3685

3690

3695

3700

3705

3710

3715

3720

3725

3730

3735

3740

3745

3750

3755

3760

3765

3770

3775

3780

3785

3790

3795

3800

3805

3810

3815

3820

3825

3830

3835

3840

3845

3850

3855

3860

3865

3870

3875

3880

3885

3890

3895

3900

3905

3910

3915

3920

3925

3930

3935

3940

3945

3950

3955

3960

3965

3970

3975

3980

3985

3990

3995

4000

4005

4010

4015

4020

4025

4030

4035

4040

4045

4050

4055

4060

4065

4070

4075

4080

4085

4090

4095

4100

4105

4110

4115

4120

4125

4130

4135

4140

4145

4150

4155

4160

4165

4170

4175

4180

4185

4190

4195

4200

4205

4210

4215

4220

4225

4230

4235

4240

4245

4250

4255

4260

4265

4270

4275

4280

4285

4290

4295

4300

4305

4310

4315

4320

4325

4330

4335

4340

4345

4350

4355

4360

4365

4370

4375

4380

4385

4390

4395

4400

4405

4410

4415

4420

4425

4430

4435

4440

4445

4450

4455

4460

4465

4470

4475

4480

4485

4490

4495

4500

4505

4510

4515

4520

4525

4530

4535

4540

4545

4550

4555

4560

4565

4570

4575

4580

4585

4590

4595

4600

4605

4610

4615

4620

4625

4630

4635

4640

4645

4650

4655

4660

4665

4670

4675

4680

4685

4690

4695

4700

4705

4710

4715

4720

4725

4730

4735

4740

4745

4750

4755

4760

4765

4770

4775

4780

4785

4790

4795

4800

4805

4810

4815

4820

4825

4830

4835

4840

4845

4850

4855

4860

4865

4870

4875

4880

4885

4890

4895

4900

4905

4910

4915

4920

4925

4930

4935

4940

4945

4950

4955

4960

4965

4970

4975

4980

4985

4990

4995

5000

5005

<p

muestra, y (2) comparar el nivel o niveles de dichos uno o más biomarcadores de resistencia a la insulina en la muestra con unos niveles de referencia de resistencia a la insulina de dichos uno o más biomarcadores para determinar la puntuación de resistencia a la insulina del sujeto. El método puede emplear cualquier número de marcadores seleccionados de los enumerados 2-hidroxibutirato, 3-hidroxibutirato, ácido 3-metil-2-oxobutírico, arginina, betaina, creatina, decanoil carnitina, ácido docosatetraenoico, ácido glutámico, glicina, ácido linoleico, ácido linolénico, ácido margárico, octanoil carnitina, ácido oleico, oleoil-LPC, palmitato, ácido palmitoleico, palmitoil-LPC, serina, estearato, treonina, triptófano, linoleoil-LPC, 1,5-anhidroglucitol, estearoil-LPC, glutamyl valina, gamma-glutamyl-leucina, ácido heptadecenoico, alfa-cetobutirato, cisteína, urato, incluyendo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 o más marcadores. Pueden correlacionarse múltiples biomarcadores con un trastorno concreto, tal como la resistencia a la insulina, mediante cualquier método, que incluyen métodos estadísticos, tales como análisis de regresión.

Puede utilizarse cualquier método adecuado para analizar la muestra biológica para determinar el nivel o niveles de dichos uno o más biomarcadores. Los métodos adecuados incluyen la cromatografía (por ejemplo, HPLC, cromatografía de gases, cromatografía líquida), la espectrometría de masas (por ejemplo, MS, MS-MS), el ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA), la unión de anticuerpos, otras técnicas inmunoquímicas y sus combinaciones. Además, el nivel o niveles de dichos uno o más biomarcadores pueden medirse de modo indirecto, por ejemplo, empleando 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.

Después de determinar el nivel o niveles de uno o más biomarcadores, este nivel o niveles pueden compararse con un nivel o niveles de referencia o curvas de referencia de la enfermedad o trastorno de dichos uno o más biomarcadores para determinar una clasificación de cada uno de dichos uno o más biomarcadores en la muestra. La clasificación o clasificaciones pueden agregarse empleando cualquier algoritmo para crear una puntuación, por ejemplo, una puntuación de riesgo de enfermedad (DR), para el sujeto. El algoritmo puede considerar cualquier factor relacionado con la enfermedad o el trastorno, tal como tener una historia familiar de diabetes de tipo 2, incluir el número de biomarcadores, la correlación de los biomarcadores con la enfermedad o el trastorno, etc.

En un ejemplo, el nivel de riesgo de enfermedad predicho para el sujeto puede emplearse para determinar la probabilidad de que el sujeto sea resistente a la insulina, diabético de tipo 2 y/o padezca una enfermedad cardiovascular (es decir, para determinar la puntuación de DR del sujeto). Por ejemplo, empleando una curva estándar generada empleando uno o más biomarcadores (por ejemplo, seleccionados de 3-fenilpropionato (hidrocinamato), 3-(4-hidroxifenil)lactato, indol-lactato, 5-oxoprolina, bradiquinina-hidroxi-pro(3), manosa, 7-alfa-hidroxi-3-oxo-4-colestenoato (7-Hoca), hemo, adrenato, alfa-hidroxiosvalerato, glutamina, glicina, tirosina, desoxicolato, cinamoilglicina, sulfato de deshidroisoandrosterona (DHEA-S), disulfato de 5alfa-androstan-3beta,17alfa-diol, urato, 3-indoxilsulfato, propionilcarnitina, 3-deshidrocarnitina, acetilcarnitina, oleoilcarnitina, mioinositol, disulfato de 5alfa-pregnan-3beta,20alfa-diol, xantina, trigonelina (N'-metilnicotinato), 2-hidroxihipurato (salicilurato), piperina, 1-metilurato, 1,3-dimetilurato, 1,7-dimetilurato, 1,3,7-trimetilurato, quinurenina, 2-metilbutrilcarnitina, 3-hidroxi-2-oxovalerato, 3-hidroxibutirato, 3-hidroxipropanoato, beta-hidroxipiruvato, sulfato de catecol, eritrosa, glicerol-3-fosfato, hexanoilcarnitina, hipurato, margarato, palmitoil esfingomielina, quinato, e isoleucina), un sujeto al que se le predice un nivel de DR de 9 puede tener una probabilidad del 10 % de ser un diabético de tipo 2. Como alternativa, en otro ejemplo, un sujeto al que se le predice un nivel de DR de 3 puede tener una probabilidad del 90 % de ser diabético de tipo 2.

B. Determinación de la predisposición a una enfermedad o un trastorno

Los biomarcadores identificados en el presente documento también pueden utilizarse para determinar si un sujeto que no muestra ningún síntoma de una enfermedad o trastorno, tal como resistencia a la insulina, disglucemia, diabetes de tipo 2 y/o enfermedad cardiovascular, tiene predisposición a desarrollar dicho trastorno. Los biomarcadores pueden emplearse, por ejemplo, para determinar si un sujeto tiene predisposición a desarrollar resistencia a la insulina o convertirse en resistente a la insulina. Estos métodos para determinar si un sujeto que no muestra síntomas de una enfermedad o un trastorno concretos, tales como sensibilidad alterada a la insulina, ser resistente a la insulina o tener diabetes de tipo 2 y/o una enfermedad cardiovascular, tiene predisposición a desarrollar una enfermedad o un trastorno concretos comprenden (1) analizar una muestra biológica procedente de un sujeto para determinar el nivel o niveles de uno o más biomarcadores enumerados en las Tablas 1, 2, 3, 4 y/o 5 y combinaciones de los biomarcadores 3-fenilpropionato (hidrocinamato), 3-(4-hidroxifenil)lactato, indol-lactato, 5-oxoprolina, bradiquinina-hidroxi-pro(3), manosa, 7-alfa-hidroxi-3-oxo-4-colestenoato (7-Hoca), hemo, adrenato, alfa-hidroxiosvalerato, glutamina, glicina, tirosina, desoxicolato, cinamoilglicina, sulfato de deshidroisoandrosterona (DHEA-S), disulfato de 5alfa-androstan-3beta,17alfa-diol, urato, 3-indoxilsulfato, propionilcarnitina, 3-deshidrocarnitina, acetilcarnitina, oleoilcarnitina, mioinositol, disulfato de 5alfa-pregnan-3beta,20alfa-diol, xantina, trigonelina (N'-metilnicotinato), 2-hidroxihipurato (salicilurato), piperina, 1-metilurato, 1,3-dimetilurato, 1,7-dimetilurato, 1,3,7-trimetilurato, quinurenina, 2-metilbutrilcarnitina, 3-hidroxi-2-oxovalerato, 3-hidroxibutirato, 3-hidroxipropanoato, beta-hidroxipiruvato, sulfato de catecol, eritrosa, glicerol-3-fosfato, hexanoilcarnitina, hipurato, margarato, palmitoil esfingomielina, quinato, e isoleucina en la muestra, y (2) comparar el nivel o niveles de dichos uno o más biomarcadores en la muestra con los niveles de referencia positivos de enfermedad o trastorno y/o niveles de referencia negativos de enfermedad o trastorno de dichos uno o más biomarcadores para determinar si el sujeto tiene predisposición a desarrollar la respectiva enfermedad o trastorno. Por ejemplo, la identificación de biomarcadores para la enfermedad cardiovascular

permite la determinación para saber si un sujeto que no muestra síntomas de enfermedad cardiovascular tiene predisposición a desarrollar la enfermedad cardiovascular. Un método para determinar si un sujeto que no muestra síntomas de enfermedad cardiovascular tiene predisposición a desarrollar la enfermedad cardiovascular comprende (1) analizar una muestra biológica procedente de un sujeto para determinar el nivel o niveles de uno o más de los biomarcadores enumerados en las Tablas 3 y/o 4 y/o combinaciones de los biomarcadores: adrenato; alfa-hidroxiisovalerato; glutamina; glicina; tirosina; desoxicolato; cinamoilglicina; sulfato de deshidroisoandrosterona (DHEA-S); disulfato de 5alfa-androstan-3beta,17alfa-diol; urato; 3-indoxilsulfato; propionilcarnitina; 3-deshidrocarnitina; acetilcarnitina; oleoilcarnitina; mioinositol; disulfato de 5alfa-pregnan- 3beta,20alfa-diol; xantina; trigonelina (N'-metilnicotinato); 2-hidroxihipurato (salicilurato); piperina; 1-metilurato; 1,3-dimetilurato; 1,7-dimetilurato; 1,3,7-trimetilurato; quinurenina; en la muestra, y (2) comparar el nivel o niveles de dichos uno o más biomarcadores en la muestra con los niveles de referencia positivos de la enfermedad cardiovascular y/o negativos de la enfermedad cardiovascular de dichos uno o más biomarcadores para determinar si el sujeto tiene predisposición a desarrollar una enfermedad cardiovascular. Los resultados del método pueden emplearse junto con otros métodos (o sus resultados) útiles para la determinación clínica para saber si un sujeto tiene predisposición a desarrollar una enfermedad o un trastorno.

Después de determinar el nivel o niveles de dichos uno o más biomarcadores en la muestra, el nivel o niveles se comparan con unos niveles de referencia positivos de la enfermedad o trastorno y/o negativos de la enfermedad o trastorno para predecir si el sujeto tiene predisposición a desarrollar una enfermedad o un trastorno, tal como la resistencia a la insulina, la diabetes de tipo 2 o la enfermedad cardiovascular. Los niveles de dichos uno o más biomarcadores en una muestra que se corresponden con unos niveles de referencia positivos de enfermedad o trastorno (por ejemplo, unos niveles que son iguales a los niveles de referencia, sustancialmente iguales a los niveles de referencia, mayores y/o menores que el mínimo y/o máximo de los niveles de referencia y/o dentro del intervalo de los niveles de referencia) son indicativos de que el sujeto tiene predisposición a desarrollar la enfermedad o el trastorno. Los niveles de dichos uno o más biomarcadores en una muestra que se corresponden con unos niveles de referencia negativos de enfermedad o trastorno (por ejemplo, unos niveles que son iguales a los niveles de referencia, sustancialmente iguales a los niveles de referencia, mayores y/o menores que el mínimo y/o máximo de los niveles de referencia y/o dentro del intervalo de los niveles de referencia) son indicativos de que el sujeto no tiene predisposición a desarrollar la enfermedad o el trastorno. Además, los niveles de dichos uno o más biomarcadores que están diferencialmente presentes (en especial a un nivel que sea estadísticamente significativo) en la muestra, en comparación con los niveles de referencia negativos de enfermedad o trastorno, pueden ser indicativos de que el sujeto tiene predisposición a desarrollar la enfermedad o el trastorno. Los niveles de dichos uno o más biomarcadores que están diferencialmente presentes (en especial a un nivel que sea estadísticamente significativo) en la muestra, en comparación con los niveles de referencia positivos de enfermedad o trastorno, son indicativos de que el sujeto no tiene predisposición a desarrollar la enfermedad o el trastorno.

Como ejemplo, después de determinar el nivel o niveles de dichos uno o más biomarcadores en la muestra, el nivel o niveles se comparan con los niveles de referencia positivos de la enfermedad cardiovascular y/o negativos de la enfermedad cardiovascular para predecir si el sujeto tiene predisposición a desarrollar una enfermedad cardiovascular. Los niveles de dichos uno o más biomarcadores en una muestra que se corresponden con unos niveles de referencia positivos de enfermedad cardiovascular (por ejemplo, unos niveles que son iguales a los niveles de referencia, sustancialmente iguales a los niveles de referencia, mayores y/o menores que el mínimo y/o máximo de los niveles de referencia y/o dentro del intervalo de los niveles de referencia) son indicativos de que el sujeto tiene predisposición a desarrollar la enfermedad cardiovascular. Los niveles de dichos uno o más biomarcadores en una muestra que se corresponden con unos niveles de referencia negativos de enfermedad cardiovascular (por ejemplo, unos niveles que son iguales a los niveles de referencia, sustancialmente iguales a los niveles de referencia, mayores y/o menores que el mínimo y/o máximo de los niveles de referencia y/o dentro del intervalo de los niveles de referencia) son indicativos de que el sujeto no tiene predisposición a desarrollar la enfermedad cardiovascular. Además, los niveles de dichos uno o más biomarcadores que están diferencialmente presentes (en especial a un nivel que sea estadísticamente significativo) en la muestra, en comparación con los niveles de referencia negativos de enfermedad cardiovascular, son indicativos de que el sujeto tiene predisposición a desarrollar la enfermedad cardiovascular. Los niveles de dichos uno o más biomarcadores que están diferencialmente presentes (en especial a un nivel que sea estadísticamente significativo) en la muestra, en comparación con los niveles de referencia positivos de enfermedad cardiovascular, son indicativos de que el sujeto no tiene predisposición a desarrollar resistencia a la insulina.

Además, también es posible determinar unos niveles de referencia específicos para evaluar si un sujeto que no padece una enfermedad o un trastorno, tales como la resistencia a la insulina, la diabetes de tipo 2 o la enfermedad cardiovascular, tiene predisposición o no a desarrollar una enfermedad o un trastorno. Por ejemplo, pueden determinarse unos niveles de referencia de los biomarcadores para evaluar diferentes grados de riesgo (por ejemplo, bajo, intermedio, alto) en un sujeto por desarrollar una enfermedad o un trastorno. Estos niveles de referencia pueden emplearse como comparación con los niveles de dichos uno o más biomarcadores en una muestra biológica procedente de un sujeto.

C. Control de la progresión/regresión de la enfermedad o el trastorno

La identificación de biomarcadores en el presente documento permite controlar la progresión/regresión de la

resistencia a la insulina o trastornos relacionados en un sujeto. Un método para controlar la progresión/regresión de la resistencia a la insulina o un trastorno relacionado (es decir, la diabetes de tipo 2, una tolerancia alterada a la glucosa (IGT), enfermedad cardiovascular (CVD)) en un sujeto comprende (1) analizar una primera muestra biológica procedente de un sujeto para determinar el nivel o niveles de uno o más biomarcadores enumerados en las Tablas 1, 5 2, 3, 4 y/o 5 y sus combinaciones, que incluyen 3-fenilpropionato (hidrocinamato), 3-(4-hidroxifenil)lactato, indol-lactato, 5-oxoprolina, bradiquinina-hidroxi-pro(3), manosa, 7-alfa-hidroxi-3-oxo-4-colestenoato (7-Hoca), hemo, adrenato, alfa-hidroxiisovalerato, glutamina, glicina, tirosina, desoxicolato, cinamoilglicina, sulfato de deshidroisoandrosterona 10 (DHEA-S), disulfato de 5alfa-androstan-3beta,17alfa-diol, urato, 3-indoxilsulfato, propionilcarnitina, 3-deshidrocarnitina, acetilcarnitina, oleoilcarnitina, mioinositol, disulfato de 5alfa-pregnan-3beta,20alfa-diol, xantina, trigonelina (N'-metilnicotinato), 2-hidroxihipurato (salicilurato), piperina, 1-metilurato, 1,3-dimetilurato, 1,7-dimetilurato, 1,3,7-trimetilurato, quinurenina, 2-metilbutrilcarnitina, 3-hidroxi-2-oxovalerato, 3-hidroxibutirato, 3-hidroxipropanoato, 15 beta-hidroxipiruvato, sulfato de catecol, eritrosa, glicerol-3-fosfato, hexanoilcarnitina, hipurato, margarato, palmitoíl esfingomielina, quinato, e isoleucina y sus combinaciones en la primera muestra obtenida del sujeto en un primer momento, (2) analizar una segunda muestra biológica procedente de un sujeto para determinar el nivel o niveles de dichos uno o más biomarcadores, obteniéndose dicha segunda muestra del sujeto en un segundo momento, y (3) 20 comparar el nivel o niveles de dichos uno o más biomarcadores en la primera muestra con el nivel o niveles de dichos uno o más biomarcadores en la segunda muestra para controlar la progresión/regresión de la enfermedad o el trastorno en el sujeto. Los resultados del métodos son indicativos del desarrollo de la resistencia a la insulina, la diabetes de tipo 2 y/o la enfermedad cardiovascular (es decir, de la progresión o la regresión, si se han producido cambios) en el sujeto.

Opcionalmente, los resultados del método pueden basarse en una puntuación de riesgo de enfermedad (DR) que es representativa de la probabilidad, por ejemplo, de la resistencia a la insulina en el sujeto y que puede controlarse a lo largo del tiempo. Comparando la puntuación de DR de una muestra tomada en un primer momento con la puntuación de DR de al menos una segunda muestra tomada en un segundo momento puede determinarse la progresión o la regresión de la resistencia a la insulina. Este método de controlar la progresión/regresión de la resistencia a la insulina, la diabetes de tipo 2 y/o la enfermedad cardiovascular en un sujeto comprende (1) analizar una primera muestra biológica procedente de un sujeto para determinar una puntuación de DR para la primera muestra obtenida del sujeto en un primer momento, (2) analizar una segunda muestra biológica procedente de un sujeto para determinar una 25 segunda puntuación de DR, y dicha segunda muestra se obtiene del sujeto en un segundo momento, y (3) comparar la puntuación de DR en la primera muestra con la puntuación de DR en la segunda muestra para controlar la progresión/regresión de la resistencia a la insulina, la diabetes de tipo 2 y/o la enfermedad cardiovascular en el sujeto. Un aumento en la probabilidad, por ejemplo, de resistencia a la insulina desde un primer hasta un segundo momento es indicativo de la progresión de la resistencia a la insulina en el sujeto, mientras que una disminución en la 30 probabilidad desde un primer hasta un segundo momento es indicativa de la regresión de la resistencia a la insulina en el sujeto.

El empleo de los biomarcadores y el algoritmo descritos en el presente documento para controlar el desarrollo puede ayudar o guiar la decisión del médico de poner en marcha medidas preventivas, tales como restricciones en la dieta, 40 ejercicio y/o un tratamiento con fármaco en un estadio temprano.

D. Control de la eficacia terapéutica

Los biomarcadores descritos en el presente documento también permiten la evaluación de la eficacia de una 45 composición para tratar una enfermedad o un trastorno, tal como la resistencia a la insulina, la diabetes de tipo 2 o la enfermedad cardiovascular. Por ejemplo, la identificación de los biomarcadores para la resistencia a la insulina también permite la evaluación de la eficacia de una composición para tratar la resistencia a la insulina, así como la evaluación de la eficacia relativa de dos o más composiciones para tratar la resistencia a la insulina. Estas evaluaciones pueden emplearse, por ejemplo, en estudios de eficacia, así como en la selección de composiciones de partida para tratar la enfermedad o el trastorno. Además, estas evaluaciones pueden emplearse para controlar la eficacia de procedimientos 50 quirúrgicos y/o intervenciones en el estilo de vida para la resistencia a la insulina en un sujeto. Los procedimientos quirúrgicos incluyen la cirugía bariátrica, mientras que las intervenciones en el estilo de vida incluyen la modificación o la reducción de la dieta, programas de ejercicios y similares.

Así, también se describen en el presente documento métodos para evaluar la eficacia de una composición para tratar 55 una enfermedad o un trastorno, tal como la resistencia a la insulina, la diabetes de tipo 2 o la enfermedad cardiovascular, que comprenden (1) analizar, a partir de un sujeto (o un grupo de sujetos) que padecen una enfermedad o un trastorno, tal como la resistencia a la insulina, la diabetes de tipo 2 o la enfermedad cardiovascular, que en la actualidad se están tratando o que han sido tratados con una composición, una muestra biológica (o un grupo de muestras) para determinar el nivel o niveles de uno o más biomarcadores de la resistencia a la insulina, la diabetes de tipo 2 o la enfermedad cardiovascular seleccionados de los biomarcadores enumerados en las Tablas 1, 60 2, 3, 4 y/o 5 y los biomarcadores 3-fenilpropionato (hidrocinamato), 3-(4-hidroxifenil)lactato, indol-lactato, 5-oxoprolina, bradiquinina-hidroxi-pro(3), manosa, 7-alfa-hidroxi-3-oxo-4-colestenoato (7-Hoca), hemo, adrenato, alfa-hidroxiisovalerato, glutamina, glicina, tirosina, desoxicolato, cinamoilglicina, sulfato de deshidroisoandrosterona (DHEA-S), disulfato de 5alfa-androstan-3 beta,17alfa-diol, urato, 3-indoxilsulfato, propionilcarnitina, 3-deshidrocarnitina, acetilcarnitina, oleoilcarnitina, mioinositol, disulfato de 5alfa-pregnan-3beta,20alfa-diol, xantina, 65

trigonelina (N'-metilnicotinato), 2-hidroxihipurato (salicilurato), piperina, 1-metilurato, 1,3-dimetilurato, 1,7-dimetilurato, 1,3,7-trimetilurato, quinurenina, 2-metilbutirilcarnitina, 3-hidroxi-2-oxovalerato, 3-hidroxibutirato, 3-hidroxipropanoato, beta-hidroxipiruvato, sulfato de catecol, eritrosa, glicerol-3-fosfato, hexanoilcarnitina, hipurato, margarato, palmitoíl esfingomielina, quinato, e isoleucina, y (2) comparar el nivel o niveles de dichos uno o más biomarcadores en la muestra con (a) el nivel o niveles de dichos uno o más biomarcadores en una muestra biológica previamente obtenida del sujeto, en el que la muestra biológica previamente obtenida se obtuvo del sujeto antes de ser tratado con la composición, (b) los niveles de referencia positivos de enfermedad o trastorno de dichos uno o más biomarcadores, (c) los niveles de referencia negativos de enfermedad o trastorno de dichos uno o más biomarcadores, (d) los niveles de referencia positivos de la progresión de la enfermedad o trastorno de dichos uno o más biomarcadores y/o (e) los niveles de referencia positivos de la regresión de la enfermedad o trastorno de dichos uno o más biomarcadores. Los resultados de la comparación son indicativos de la eficacia de la composición para tratar la respectiva enfermedad o trastorno.

También se describen en el presente documento métodos para evaluar la eficacia de un procedimiento quirúrgico para tratar una enfermedad o un trastorno, tal como la resistencia a la insulina o un trastorno relacionado que comprenden (1) analizar, a partir de un sujeto (o un grupo de sujetos) que presentan resistencia a la insulina, diabetes de tipo 2 o enfermedad cardiovascular, y que previamente se han sometido a un procedimiento quirúrgico, una muestra biológica (o un grupo de muestras) para determinar el nivel o niveles de uno o más biomarcadores de la resistencia a la insulina seleccionados de los biomarcadores enumerados en las Tablas 1, 2, 3 y/o 4 y los biomarcadores 3-fenilpropionato (hidrocinamato), 3-(4-hidroxifenil)lactato, indol-lactato, 5-oxoprolina, bradiquinina-hidroxi-pro(3), manosa, 7-alfa-hidroxi-3-oxo-4-colestenoato (7-Hoca), hemo, adrenato, alfa-hidroxiisovalerato, glutamina, glicina, tirosina, desoxicolato, cinamoilglicina, sulfato de deshidroisoandrosterona (DHEA-S), disulfato de 5alfa-androstan-3 beta,17alfa-diol, urato, 3-indoxilsulfato, propionilcarnitina, 3-deshidrocarnitina, acetilcarnitina, oleoilcarnitina, mioinositol, disulfato de alfa-pregnan-3beta,20alfa-diol, xantina, trigonelina (N'-metilnicotinato), 2-hidroxihipurato (salicilurato), piperina, 1-metilurato, 1,3-dimetilurato, 1,7-dimetilurato, 1,3,7-trimetilurato, quinurenina, 2-metilbutirilcarnitina, 3-hidroxi-2-oxovalerato, 3-hidroxibutirato, 3-hidroxipropanoato, beta-hidroxipiruvato, sulfato de catecol, eritrosa, glicerol-3-fosfato, hexanoilcarnitina, hipurato, margarato, palmitoíl esfingomielina, quinato, e isoleucina, y (2) comparar el nivel o niveles de dichos uno o más biomarcadores en la muestra con (a) el nivel o niveles de dichos uno o más biomarcadores en una muestra biológica previamente obtenida del sujeto, en el que la muestra biológica previamente obtenida se obtuvo del sujeto antes de ser sometido al procedimiento quirúrgico o se tomó inmediatamente después de someterse al procedimiento quirúrgico, (b) los niveles de referencia positivos de resistencia a la insulina (o positivos de diabetes de tipo 2, positivos de enfermedad cardiovascular) de dichos uno o más biomarcadores, (c) los niveles de referencia negativos de resistencia a la insulina (o negativos de diabetes de tipo 2, negativos de enfermedad cardiovascular) de dichos uno o más biomarcadores, (d) los niveles de referencia positivos de la progresión de la resistencia a la insulina (o positivos de la progresión de la diabetes de tipo 2, positivos de la progresión de la enfermedad cardiovascular) de dichos uno o más biomarcadores, y/o (e) los niveles de referencia positivos de regresión de la resistencia a la insulina (o positivos de regresión de la diabetes de tipo 2, positivos de regresión de la enfermedad cardiovascular) de dichos uno o más biomarcadores. Los resultados de la comparación son indicativos de la eficacia del procedimiento quirúrgico para tratar la respectiva enfermedad o trastorno. En un ejemplo, el procedimiento quirúrgico es un procedimiento quirúrgico gastrointestinal, tal como una cirugía bariátrica.

El cambio (si se ha producido) en el nivel o niveles de dichos uno o más biomarcadores a lo largo del tiempo puede ser indicativo de la progresión o la regresión de la enfermedad o el trastorno en el sujeto. Para caracterizar el desarrollo de una enfermedad o trastorno concretos en el sujeto, el nivel o niveles de dichos uno o más biomarcadores en la primera muestra, el nivel o niveles de dichos uno o más biomarcadores en la segunda muestra y/o los resultados de la comparación de los niveles de los biomarcadores en la primera y la segunda muestra pueden compararse con los respectivos niveles de referencia positivos de enfermedad o trastorno y/o negativos de enfermedad o trastorno de dichos uno o más biomarcadores. Si las comparaciones indican que el nivel o niveles de dichos uno o más biomarcadores aumentan o disminuyen con el tiempo (por ejemplo, en la segunda muestra en comparación con la primera muestra) para ser más similares a los niveles de referencia positivos de enfermedad o trastorno (o menos similares a los niveles de referencia negativos de enfermedad o trastorno), entonces los resultados son indicativos de la progresión de la enfermedad o trastorno. Si las comparaciones indican que el nivel o niveles de dichos uno o más biomarcadores aumentan o disminuyen con el tiempo para ser más similares a los niveles de referencia negativos de enfermedad o trastorno (o menos similares a los niveles de referencia positivos de enfermedad o trastorno), entonces los resultados son indicativos de la regresión de la enfermedad o trastorno.

Por ejemplo, para caracterizar el desarrollo de la resistencia a la insulina en el sujeto, el nivel o niveles de dichos uno o más biomarcadores en la primera muestra, el nivel o niveles de dichos uno o más biomarcadores en la segunda muestra y/o los resultados de la comparación de los niveles de los biomarcadores en la primera y la segunda muestra pueden compararse con los niveles de referencia positivos de resistencia a la insulina y/o negativos de resistencia a la insulina de dichos uno o más biomarcadores. Si las comparaciones indican que el nivel o niveles de dichos uno o más biomarcadores están aumentan o disminuyen con el tiempo (por ejemplo, en la segunda muestra en comparación con la primera muestra) para ser más similares a los niveles de referencia positivos de resistencia a la insulina (o menos similares a los niveles de referencia negativos de resistencia a la insulina), entonces los resultados son indicativos de la progresión de la resistencia a la insulina. Si las comparaciones indican que el nivel o niveles de dichos uno o más biomarcadores aumentan o disminuyen con el tiempo para ser más similares a los niveles de referencia

negativos de la resistencia a la insulina (o menos similares a los niveles de referencia positivos de resistencia a la insulina), entonces los resultados son indicativos de la regresión de la resistencia a la insulina.

- 5 La segunda muestra puede obtenerse del sujeto en cualquier momento después de haber obtenido la primera muestra. En un aspecto, la segunda muestra se obtiene 1, 2, 3, 4, 5, 6, o más días después de la primera muestra o después de haber iniciado la administración de una composición, haber realizado un procedimiento quirúrgico o una intervención en el estilo de vida. En otro aspecto, la segunda muestra se obtiene 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, o más semanas después de la primera muestra o después de haber iniciado la administración de una composición, haber realizado un procedimiento quirúrgico o una intervención en el estilo de vida. En otro aspecto, la segunda muestra 10 puede obtenerse 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 o más meses después de la primera muestra o después de haber iniciado la administración de una composición, haber realizado un procedimiento quirúrgico o una intervención en el estilo de vida.
- 15 El desarrollo de una enfermedad o trastorno, tal como la resistencia a la insulina o la diabetes de tipo 2 o la enfermedad cardiovascular, en un sujeto también puede caracterizarse comparando el nivel o niveles de dichos uno o más biomarcadores en la primera muestra, el nivel o niveles de dichos uno o más biomarcadores en la segunda muestra y/o los resultados de la comparación de los niveles de los biomarcadores en la primera y segunda muestra con los niveles de referencia positivos de la progresión de la enfermedad o trastorno y/o los niveles de referencia positivos de regresión de la enfermedad o trastorno. Si las comparaciones indican que el nivel o niveles de dichos uno o más biomarcadores aumentan o disminuyen con el tiempo (por ejemplo, en la segunda muestra en comparación con la primera muestra) para ser más similares a los niveles de referencia positivos de la progresión de la enfermedad o trastorno (o menos similares a los niveles de referencia positivos de regresión de la enfermedad o trastorno), entonces los resultados son indicativos de la progresión de la enfermedad o trastorno. Si las comparaciones indican que el nivel o niveles de dichos uno o más biomarcadores aumentan o disminuyen con el tiempo para ser más similares a los 20 niveles de referencia positivos de regresión de la enfermedad o trastorno (o menos similares a los niveles de referencia positivos de enfermedad o trastorno), entonces los resultados son indicativos de la regresión de la enfermedad o trastorno.
- 25 30 Al igual que con los otros métodos descritos en el presente documento, las comparaciones realizadas en los métodos para controlar la progresión/regresión de una enfermedad o un trastorno, tal como la resistencia a la insulina, la diabetes de tipo 2 o la enfermedad cardiovascular, en un sujeto pueden realizarse empleando diversas técnicas, que incluyen comparaciones sencillas, uno o más análisis estadísticos y sus combinaciones.
- 35 Los resultados del método pueden emplearse junto con otros métodos (o sus resultados) útiles para el control clínico de la progresión/regresión de la enfermedad o trastorno en el sujeto.
- 40 Tal como se describió anteriormente con respecto a los métodos de diagnóstico (o para ayudar en el diagnóstico) de una enfermedad o trastorno, tal como la resistencia a la insulina, la diabetes de tipo 2 o la enfermedad cardiovascular, puede emplearse cualquier método adecuado para analizar las muestras biológicas para determinar el nivel o niveles de dichos uno o más biomarcadores en las muestras. Además, el nivel o niveles de uno o más biomarcadores, que incluyen una combinación de todos los biomarcadores (Tablas 1, 2, 3, 4 y/o 5 y/o los biomarcadores 3-fenilpropionato (hidrocinamato), 3-(4-hidroxifenil)lactato, indol-lactato, 5-oxoprolina, bradiquinina-hidroxi-pro(3), manosa, 7-alfa-hidroxi-3-oxo-4-colestenoato (7-Hoca), hemo, adrenato, alfa-hidroxiisovalerato, glutamina, glicina, tirosina, desoxicolato, cinamoilglicina, sulfato de deshidroisoandrosterona (DHEA-S), disulfato de 5alfa-androstan-45 3beta,17alfa-diol, urato, 3-indoxilsulfato, propionilcarnitina, 3-deshidrocarnitina, acetilcarnitina, oleoilcarnitina, mioinositol, disulfato de 5alfa-pregnan-3beta,20alfa-diol, xantina, trigonelina (N'-metilnicotinato), 2-hidroxihipurato (salicilurato), piperina, 1-metilurato, 1,3-dimetilurato, 1,7-dimetilurato, 1,3,7-trimetilurato, quinurenina, 2-metilbutirilcarnitina, 3-hidroxi-2-oxovalerato, 3-hidroxibutirato, 3-hidroxipropanoato, beta-hidroxipiruvato, sulfato de catecol, eritrosa, glicerol-3-fosfato, hexanoilcarnitina, hipurato, margarato, palmitoil esfingomielina, quinato, e 50 isoleucina) o cualquiera de sus fracciones, pueden determinarse y emplearse en los métodos para controlar la progresión/regresión de la respectiva enfermedad o trastorno en un sujeto.
- 55 Estos métodos pueden realizarse para controlar el desarrollo de la enfermedad o trastorno en sujetos, por ejemplo, el desarrollo de la resistencia a la insulina a la diabetes de tipo 2 y/o la enfermedad cardiovascular en un sujeto que presenta prediabetes, o pueden utilizarse en sujetos que no presentan una enfermedad o trastorno (por ejemplo, sujetos con supuesta predisposición a desarrollar la enfermedad o trastorno) para controlar los niveles de predisposición a la enfermedad o trastorno.
- 60 65 Se han realizado estudios clínicos a lo largo del mundo para determinar si ciertas terapias antidiabéticas, tales como metformina o acarbosa, pueden prevenir la progresión de la diabetes en pacientes prediabéticos. Estos estudios han demostrado que estas terapias pueden prevenir la aparición de la diabetes. A partir del programa de prevención de la diabetes en Estados Unidos (U.S. Diabetes Prevention Program, DPP), se ha sabido que la metformina reduce la tasa de progresión a diabetes en 38 % y que la intervención en el estilo de vida y el ejercicio reduce la tasa de progresión a diabetes en 56 %. Debido a estos éxitos, el ADA ha revisado sus estándares de 2008 de cuidados médicos de la diabetes para incluir la siguiente afirmación en la sección de prevención/retraso de la diabetes de tipo 2: "Además del asesoramiento sobre el estilo de vida, la metformina puede considerarse en aquellos que presentan un riesgo muy

elevado (IFG e IGT combinadas más otros factores de riesgo) y aquellos que son obesos y menores de 60 años de edad".

- 5 Las empresas farmacéuticas han realizado estudios para evaluar si ciertas clases de fármacos, tales como la clase PPARy de sensibilizantes a la insulina (por ejemplo, muraglitozar), pueden prevenir la progresión de la diabetes. De modo similar al ensayo de DPP, algunos de estos estudios han demostrado ser muy prometedores y tener éxito para prevenir la diabetes, mientras que otros han mostrado cierta cantidad de riesgo asociado con ciertos tratamientos farmacológicos antidiabéticos cuando se administran a la población prediabética general, según se define mediante el diagnóstico actual de resistencia a la insulina. Las empresas farmacéuticas necesitan un diagnóstico que pueda identificar y estratificar a los prediabéticos en alto riesgo de modo que puedan evaluar la eficacia de sus candidatos terapéuticos prediabéticos de una manera más eficaz y estable. En algunas realizaciones, los sujetos que se identifican como más resistentes a la insulina o con mayor predisposición a desarrollar diabetes de tipo 2 o enfermedad cardiovascular pueden responder con mayor probabilidad a una composición sensibilizante a la insulina.
- 10 15 Considerando la poca frecuencia con que se aplican los procedimientos del ensayo de tolerancia a la glucosa oral (OGTT) en un entorno clínico, un nuevo ensayo de diagnóstico que mida directamente la resistencia a la insulina, la diabetes de tipo 2 o la enfermedad cardiovascular en una muestra tomada en ayunas permitiría a un médico identificar y estratificar mucho antes a los pacientes que avanzan hacia la etiología de la prediabetes, la diabetes de tipo 2 y la enfermedad cardiovascular.
- 20 25 30 E. Identificación de los respondedores y no respondedores a productos terapéuticos

Los biomarcadores descritos en el presente documento también permiten la identificación de sujetos en los que la composición para tratar una enfermedad o trastorno, tal como la resistencia a la insulina, la prediabetes, o la diabetes de tipo 2 resultaría eficaz (es decir, pacientes que responden al producto terapéutico). Por ejemplo, la identificación de los biomarcadores para la resistencia a la insulina también permite la evaluación de la respuesta del sujeto a una composición para tratar la resistencia a la insulina, así como la evaluación de la respuesta relativa del paciente a dos o más composiciones para tratar la resistencia a la insulina. Estas evaluaciones pueden emplearse, por ejemplo, en la selección de composiciones para tratar la enfermedad o el trastorno en ciertos sujetos, o en la selección de sujetos para someterse a un tratamiento o ensayo clínico.

35 Así, también se describen en el presente documento métodos para predecir la respuesta de un paciente a una composición para tratar una enfermedad o un trastorno, tal como la resistencia a la insulina, la prediabetes, o la diabetes de tipo 2 que comprenden (1) analizar, a partir de un sujeto (o un grupo de sujetos) que padecen una enfermedad o un trastorno, tal como la resistencia a la insulina, la prediabetes, o la diabetes de tipo 2, que en la actualidad se están tratando o que han sido tratados con una composición, una muestra biológica (o un grupo de muestras) para determinar el nivel o niveles de uno o más biomarcadores de la resistencia a la insulina seleccionados de los biomarcadores enumerados en las Tablas 1, 2, 3 y/o 4 y uno o más de los biomarcadores seleccionados enumerados 3-fenilpropionato (hidrocinamato), 3-(4-hidroxifenil)lactato, indol-lactato, 5-oxoprolina, bradiquinina-hidroxi-pro(3), manosa, 7-alfa-hidroxi-3-oxo-4-colestenoato (7-Hoca), hemo, adrenato, alfa-hidroxiisovalerato, glutamina, glicina, tirosina, desoxicolato, cinamoilglicina, sulfato de deshidroisoandrosterona (DHEA-S), disulfato de 5alfa-androstan-3beta,17alfa-diol, urato, 3-indoxilsulfato, propionilcarnitina, 3-deshidrocarnitina, acetilcarnitina, oleoilcarnitina, mioinositol, disulfato de alfa- pregnan-3beta,20alfa-diol, xantina, trigonelina (N'-metilnicotinato), 2-hidroxihipurato (salicilurato), piperina, 1- metilurato, 1,3-dimetilurato, 1,7-dimetilurato, 1,3,7-trimetilurato, quinurenina, 2-metilbutirilcarnitina, 3-hidroxi-2-oxovalerato, 3-hidroxibutirato, 3-hidroxipropanoato, beta-hidroxipiruvato, sulfato de catecol, eritrosa, glicerol-3-fosfato, hexanoilcarnitina, hipurato, margarato, palmitoíl esfingomielina, quinato, e isoleucina, y (2) comparar el nivel o niveles de dichos uno o más biomarcadores en la muestra con (a) el nivel o niveles de dichos uno o más biomarcadores en una muestra biológica previamente obtenida del sujeto, en el que la muestra biológica previamente obtenida se obtuvo del sujeto antes de ser tratado con la composición, (b) los niveles de referencia positivos de enfermedad o trastorno de dichos uno o más biomarcadores, (c) los niveles de referencia negativos de enfermedad o trastorno de dichos uno o más biomarcadores, (d) los niveles de referencia positivos de la progresión de la enfermedad o trastorno de dichos uno o más biomarcadores y/o (e) los niveles de referencia positivos de la regresión de la enfermedad o trastorno de dichos uno o más biomarcadores. Los resultados de la comparación son indicativos de la respuesta del paciente a la composición para tratar la respectiva enfermedad o trastorno.

55 60 65 El cambio (si se ha producido) en el nivel o niveles de dichos uno o más biomarcadores a lo largo del tiempo puede ser indicativo de la respuesta del sujeto al producto terapéutico. Para caracterizar el desarrollo de un producto terapéutico concreto en el sujeto, el nivel o niveles de dichos uno o más biomarcadores en la primera muestra, el nivel o niveles de dichos uno o más biomarcadores en la segunda muestra y/o los resultados de la comparación de los niveles de los biomarcadores en la primera y la segunda muestra pueden compararse con los respectivos niveles de referencia positivos de enfermedad o trastorno y/o negativos de enfermedad o trastorno de dichos uno o más biomarcadores. Si las comparaciones indican que el nivel o niveles de dichos uno o más biomarcadores aumentan o disminuyen con el tiempo (por ejemplo, en la segunda muestra en comparación con la primera muestra) para ser más similares a los niveles de referencia positivos de enfermedad o trastorno (o menos similares a los niveles de referencia negativos de enfermedad o trastorno), entonces los resultados son indicativos de que el paciente no está respondiendo al producto terapéutico. Si las comparaciones indican que el nivel o niveles de dichos uno o más biomarcadores e

aumentan o disminuyen con el tiempo para ser más similares a los niveles de referencia negativos de enfermedad o trastorno (o menos similares a los niveles de referencia positivos de enfermedad o trastorno), entonces los resultados son indicativos de que el paciente está respondiendo al producto terapéutico.

- 5 Por ejemplo, para caracterizar la respuesta del paciente a un producto terapéutico para la resistencia a la insulina, el nivel o niveles de dichos uno o más biomarcadores en la primera muestra, el nivel o niveles de dichos uno o más biomarcadores en la segunda muestra y/o los resultados de la comparación de los niveles de los biomarcadores en la primera y la segunda muestra pueden compararse con los niveles de referencia positivos de resistencia a la insulina y/o negativos de resistencia a la insulina de dichos uno o más biomarcadores. Si las comparaciones indican que el nivel o niveles de dichos uno o más biomarcadores aumentan o disminuyen con el tiempo (por ejemplo, en la segunda muestra en comparación con la primera muestra) para ser más similares a los niveles de referencia positivos de resistencia a la insulina (o menos similares a los niveles de referencia negativos de resistencia a la insulina), entonces los resultados son indicativos de que no se produce respuesta al producto terapéutico. Si las comparaciones indican que el nivel o niveles de dichos uno o más biomarcadores aumentan o disminuyen con el tiempo para ser más similares a los niveles de referencia negativos de la resistencia a la insulina (o menos similares a los niveles de referencia positivos de resistencia a la insulina), entonces los resultados son indicativos de que se está produciendo una respuesta al producto terapéutico.
- 10 La segunda muestra puede obtenerse del sujeto en cualquier momento después de haber obtenido la primera muestra.
- 15 En un ejemplo, la segunda muestra se obtiene 1, 2, 3, 4, 5, 6, o más días después de la primera muestra. En otro ejemplo, la segunda muestra se obtiene 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, o más semanas después de la primera muestra o después de haber iniciado el tratamiento con la composición. En otro ejemplo, la segunda muestra puede obtenerse 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, o más meses después de la primera muestra o después de haber iniciado el tratamiento con la composición.
- 20 Al igual que con los otros métodos descritos en el presente documento, las comparaciones realizadas en los métodos para determinar la respuesta de un paciente a un producto terapéutico para una enfermedad o un trastorno, tal como la resistencia a la insulina, la prediabetes, o la diabetes de tipo 2 en un sujeto pueden realizarse empleando diversas técnicas, que incluyen comparaciones sencillas, uno o más análisis estadísticos y sus combinaciones.
- 25 Los resultados del método pueden emplearse junto con otros métodos (o sus resultados) útiles para determinar la respuesta de un paciente a un producto terapéutico para la enfermedad o trastorno en el sujeto.
- 30 Tal como se describió anteriormente con respecto a los métodos de diagnóstico (o para ayudar en el diagnóstico) de una enfermedad o trastorno, tal como la resistencia a la insulina, la prediabetes, o la diabetes de tipo 2, puede emplearse cualquier método adecuado para analizar las muestras biológicas para determinar el nivel o niveles de dichos uno o más biomarcadores en las muestras. Además, el nivel o niveles de uno o más biomarcadores, que incluyen una combinación de todos los biomarcadores 3-fenilpropionato (hidrocinamato), 3-(4-hidroxifenil)lactato, indol-lactato, 5-oxoprolina, bradiquinina-hidroxi-pro(3), manosa, 7-alfa-hidroxi-3-oxo-4-colestenoato (7-Hoca), hemo, adrenato, alfa-hidroxiiisovalerato, glutamina, glicina, tirosina, desoxicolato, cinamoilglicina, sulfato de deshidroisoandrosterona (DHEA-S), disulfato de 5alfa-androstan-3beta,17alpha-diol, urato, 3-indoxilsulfato, propionilcarnitina, 3-deshidrocarnitina, acetilcarnitina, oleoilcarnitina, mioinositol, disulfato de 5alfa-pregnano-3beta,20alpha-diol, xantina, trigonelina (N'-metilnicotinato), 2-hidroxihipurato (salicilurato), piperina, 1-metilurato, 1,3-dimetilurato, 1,7-dimetilurato, 1,3,7-trimetilurato, quinurenina, 2-metilbutirilcarnitina, 3-hidroxi-2-oxovalerato, 3-hidroxibutirato, 3-hidroxipropanoato, beta-hidroxipiruvato, sulfato de catecol, eritrosa, glicerol-3-fosfato, hexanoilcarnitina, hipurato, margarato, palmitoíl esfingomielina, quinato, e isoleucina o cualquiera de sus fracciones, pueden determinarse y emplearse en los métodos para controlar la progresión/regresión de la respectiva enfermedad o trastorno en un sujeto.
- 35 Estos métodos pueden realizarse para controlar la respuesta del paciente a un producto terapéutico para el desarrollo de una enfermedad o trastorno en sujetos, por ejemplo, el desarrollo de la prediabetes hasta la diabetes de tipo 2 en un sujeto que presenta prediabetes, o pueden utilizarse en sujetos que no presentan una enfermedad o trastorno (por ejemplo, sujetos sospechosos de estar predisponentes a desarrollar la enfermedad o trastorno) para controlar los niveles de predisposición a la enfermedad o trastorno.
- 40 Las empresas farmacéuticas han realizado estudios para evaluar si ciertas clases de fármacos, tales como la clase PPARy de sensibilizantes a la insulina, pueden prevenir la progresión de la diabetes. Algunos de estos estudios han demostrado ser muy prometedores y tener éxito para prevenir la diabetes, mientras que otros han mostrado cierta cantidad de riesgo asociado con ciertos tratamientos farmacológicos antidiabéticos cuando se administran a la población prediabética general, según se define mediante el diagnóstico actual de IR. Las empresas farmacéuticas necesitan un diagnóstico que pueda identificar a los respondedores y no respondedores para estratificar a los prediabéticos en alto riesgo de modo que puedan evaluar la eficacia de sus candidatos terapéuticos prediabéticos de una manera más eficaz y estable. Un nuevo ensayo de diagnóstico que discrimine entre los pacientes no respondedores y respondedores frente a un producto terapéutico permitiría a las empresas farmacéuticas identificar y estratificar a los pacientes que es probable que respondan al agente terapéutico y emplear productos terapéuticos específicos en ciertas cohortes que es más probable que respondan al producto terapéutico.
- 45
- 50
- 55
- 60
- 65

F. Otros métodos

5 También se contemplan otros métodos para emplear los biomarcadores analizados en el presente documento. Por ejemplo, puede realizarse los métodos descritos en las patentes de Estados Unidos n.^{os} 7.005.255; 7.329.489; 7.550.258; 7.550.260; 7.553.616; 7.635.556; 7.682.782; y 7.682.784 empleando un perfil de molécula pequeña que comprende uno o más de los biomarcadores descritos en el presente documento.

10 Ejemplos

I. Métodos generales

A. Identificación de los perfiles metabólicos

15 Cada muestra se analizó para determinar la concentración de varios cientos de metabolitos. Se emplearon técnicas analíticas, tales como GC-MS (cromatografía de gases-espectrometría de masas) y LC-MS (cromatografía líquida-espectrometría de masas) para analizar los metabolitos. Se analizaron múltiples partes alícuotas simultáneamente y en paralelo, y después de un control de calidad (QC) apropiado, se recombinó la información obtenida de cada análisis. Cada muestra se caracterizó según varios miles de características, que en último término constituyen varios cientos 20 de especies químicas. Las técnicas empleadas fueron capaces de identificar compuestos nuevos y sin nombre químico.

B. Análisis estadístico

25 Los datos se analizaron empleando varios métodos estadísticos para identificar moléculas (metabolitos conocidos, nombrados o metabolitos sin nombre) presentes a diferentes niveles en una población o subpoblación definible (por ejemplo, biomarcadores para muestras biológicas resistentes a la insulina frente a muestras biológicas de control o en comparación con pacientes sensibles a la insulina) útiles para distinguir entre las poblaciones definibles (por ejemplo, resistencia a la insulina y control, resistencia a la insulina y sensible a la insulina, resistencia a la insulina y diabetes 30 de tipo 2). También se identificaron otras moléculas (metabolitos conocidos, nombrados o metabolitos sin nombre) en la población o subpoblación definible.

35 Se emplearon análisis de bosque aleatorios para la clasificación de las muestras en grupos (por ejemplo, enfermos o sanos, resistentes a la insulina o sensibilidad normal a la insulina). Los análisis de bosque aleatorios produjeron un cálculo de lo correctamente que se pueden clasificar los individuos en un nuevo conjunto de datos en cada grupo, por contraste con un ensayo de la t, que ensaya si el medio desconocido para dos poblaciones es o no diferente. Los análisis de bosque crean un conjunto de árboles de clasificación basados en la toma de muestras continua de los compuestos y unidades experimentales. Después cada observación se clasifica basándose en la mayoría de los votos procedentes de todos los árboles de clasificación.

40 El análisis de regresión se realizó empleando el método de regresión de análisis de bosque aleatorio y el método de correlación univariante/regresión lineal para construir modelos que son útiles para identificar los compuestos biomarcadores que están asociados con una enfermedad o con indicadores de enfermedad (por ejemplo, Rd) y después para identificar los compuestos biomarcadores útiles para clasificar los individuos según, por ejemplo, el nivel 45 de utilización de glucosa, que puede ser normal, con alteración de la sensibilidad a la insulina o con resistencia a la insulina. En estos análisis se identificaron compuestos biomarcadores que son útiles para predecir una enfermedad o son mediciones de una enfermedad (por ejemplo, Rd) y que están positiva o negativamente correlacionados con una enfermedad o con mediciones de una enfermedad (por ejemplo, Rd). Todos los compuestos biomarcadores identificados en estos análisis son estadísticamente significativos ($p<0,05$, $q<0,1$).

50 La partición recursiva relaciona una variable "dependiente" (Y) con una colección de variables independientes ("predictoras") (X) para descubrir, o simplemente comprender, la relación desconocida, $Y = f(X)$. El análisis se realizó con el programa JMP (SAS) para generar un árbol de decisión. La significancia estadística de la "partición" de los datos puede considerarse a un nivel más cuantitativo calculando los valores de p, que distinguen la calidad de una partición con relación a un acontecimiento aleatorio. El nivel de significancia de cada "partición" de los datos en los nodos o ramas del árbol se calcula como valores de p, que distinguen la calidad de la partición con relación a un acontecimiento aleatorio. Se indica como LogWorth, que es el log₁₀ negativo de un valor de p bruto.

55 Los análisis estadísticos se realizaron con el programa "R" disponible en la página web cran.r-project.org y en JMP 6.0.2 (SAS® Institute, Cary, NC).

Ejemplo 2: Biomarcadores útiles para predecir la progresión de una enfermedad

60 Se identificaron una serie de biomarcadores útiles para detectar a individuos sensibles a la insulina (IS) que desarrollarán diabetes de tipo 2 (T2D), infarto de miocardio (MI) o ictus. Los biomarcadores se identificaron recogiendo muestras de plasma en el momento de la inscripción en el estudio (línea de base) de 543 sujetos humanos no

diabéticos con una historia familiar de diabetes, que fueron seguidos durante al menos 7 años o más de 10 años. A lo largo del estudio, los participantes se incluyeron en los siguientes grupos: 262 fueron "no progresores" (es decir, sujetos que permanecieron estables y no progresaron a IR, T2D o cVd (por ejemplo, MI o ictus)), 131 sujetos que desarrollaron T2D ("progresores a T2D"), 105 sujetos que padecieron infarto de miocardio (MI, "progresores a MI"), 45 sujetos que padecieron ictus ("progresores a ictus"). Brevemente, las muestras de plasma se extrajeron y se dividieron en partes iguales para su análisis en plataformas GC/MS y LC/MS/MS. Se empleó un software patentado para emparejar los iones con bancos de estándares de los inventores para la identificación de metabolitos y para la cuantificación de los metabolitos mediante Integración del área de los picos. Los perfiles metabolómicos resultantes se analizaron estadísticamente para identificar los biomarcadores que están diferencialmente presentes entre los grupos empleando análisis de ensayo de la t de dos muestras de Welch.

Se identificaron biomarcadores que, cuando se miden en plasma humano, predicen el desarrollo de la diabetes de tipo 2 dentro de 3 años. Estos biomarcadores están presentes a diferentes niveles (mayores o menores) en la línea de base del plasma de los participantes que progresaron a diabetes de tipo 2 ($N = 131$) dentro de 3 años, en comparación con los sujetos que no progresaron a diabetes de tipo 2 ("no progresores", $N = 262$). Los biomarcadores para predecir la progresión a diabetes de tipo 2 en 3 años se presentan en la Tabla 1. La Tabla 1 incluye, para cada biomarcador enumerado, el nombre bioquímico del biomarcador, una indicación del cambio en número de veces en el promedio de las muestras de "progresores", comparado con el promedio de las muestras de "no progresores" (los valores $>1,0$ representan un aumento en el número de sujetos que progresan a T2D, y los valores $<1,0$ representan un nivel menor en los progresores), el valor de p, y el valor de q determinados en los análisis estadísticos de los datos referentes a los biomarcadores. En la Tabla 2 también se incluyen: el identificador interno para ese compuesto biomarcador en el banco de compuestos químicos de los inventores de estándares auténticos (Comp. ID); el identificador para ese compuesto biomarcador en the Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG), si está disponible; y el identificador para ese compuesto biomarcador en la base de datos Human Metabolome Database (HMDB), si está disponible.

Tabla 1. Biomarcadores para predecir la progresión a diabetes de tipo 2 en 3 años

Biomarcador	Progresor a T2D en 3 años/no progresor	valor de p	valor de q	Comp. ID	KEGG ID	HMDB ID
glicina	0,88	0,0452	0,4401	32338	C00037	00123
glutamina	0,64	0,0401	0,3991	53	C00064	00641
3-fenilpropionato (hidrocinamato)	0,57	0,0176	0,2796	15749	C05629	00764
3-metil-2-oxobutirato	0,97	0,0246	0,3406	21047	C00141	00019
5-oxoprolina	0,85	0,0308	0,3791	1494	C01879	00267
bradiquinina, hidroxi-pro(3)	0,69	0,0271	0,3438	33962		11728
bradiquinina, des-arg(9)	0,66	0,0395	0,3991	34420	C00306	04246
HGXAX	0,73	<0,001	0,0111	31534		
HWESASXX	0,47	<0,001	0,0017	32836		
XHWESASXXR	0,58	0,0096	0,2050	31538		
[H]HWESASLLR[OH]	0,62	0,0381	0,3991	33964		
fosfato	0,91	0,0383	0,3991	11438	C00009	01429
oleato de n-butilo	0,70	0,0270	0,3438	36802		
1-linoleoilglicerofosfocolina	0,82	<0,001	0,0256	34419	C04100	
palmitoíl esfingomielina	0,88	0,0387	0,3991	37506		
disulfato de 5alfa-androstan-3beta, 17alfa-diol	0,81	<0,001	0,0000	37187		
hemo	0,30	0,0403	0,3991	32593	C00032	03178

(continuación)

Biomarcador	Progresor a T2D en 3 años/no progresor	valor de p	valor de q	Comp. ID	KEGG ID	HMDB ID
iminodiacetato (IDA)	0,54	0,0064	0,1699	35837		11753
N-acetiltreonina	1,24	0,0052	0,1532	33939	C01118	
tirosina	1,18	0,0355	0,3991	1299	C00082	00158
3-(4-hidroxifenil)lactato	1,34	0,0116	0,2291	32197	C03672	00755
indol-lactato	1,26	0,0241	0,3406	18349	C02043	00671
valina	1,07	0,0395	0,3991	1649	C00183	00883
3-hidroxiisobutirato	1,35	<0,001	0,0304	1549	C06001	00336
2-hidroxibutirato (AHB)	1,18	0,0145	0,2614	21044	C05984	00008
manosa	1,14	0,0167	0,2721	584	C00159	00169
trehalosa	1,51	0,0064	0,1699	15573	C01083	00975
glucosa	1,14	0,0029	0,1059	20488	C00293	00122
succinato	1,10	0,0140	0,2614	1437	C00042	00254
1-oleoilglicerofosfoinositol	1,07	0,0112	0,2291	36602		
urato	1,21	<0,001	0,0087	1604	C00366	00289

Se identificaron biomarcadores que, cuando se miden en plasma humano, predicen el desarrollo de la T2D en 5 años. Estos biomarcadores están presentes a diferentes niveles (mayores o menores) en la línea de base del plasma de los participantes que desarrollaron T2D en 5 años ("progresores", N = 131), comparado con los sujetos que no lo desarrollaron ("no progresores", N = 262). Los biomarcadores de la progresión a T2D en 5 años se presentan en la Tabla 2. La Tabla 2 incluye, para cada biomarcador enumerado, el nombre bioquímico del biomarcador, una indicación del cambio en número de veces en el promedio de las muestras de "progresores", comparado con el promedio de las muestras de "no progresores" (los valores >1,0 representan un aumento en el número de sujetos que progresan a T2D, y los valores <1,0 representan un nivel menor en los progresores), el valor de p, y el valor de q determinados en los análisis estadísticos de los datos referentes a los biomarcadores. En la Tabla 2 también se incluyen: el identificador interno para ese compuesto biomarcador en el banco de compuestos químicos de los inventarios de estándares auténticos (Comp. ID); el identificador para ese compuesto biomarcador en the Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG), si está disponible; y el identificador para ese compuesto biomarcador en la base de datos Human Metabolome Database (HMDB), si está disponible.

Tabla 2. Biomarcadores para predecir la progresión a diabetes de tipo 2 en 5 años

Biomarcador	Progresor a T2D en 5 años/no progresor	valor de p	valor de q	Comp. ID	KEGG ID	HMDB ID
3-fenilpropionato (hidrocinamato)	0,54	<0,001	0,0012	15749	C05629	00764
5-oxoprolina	0,90	0,0189	0,1727	1494	C01879	00267
bradiquinina, hidroxi-pro(3)	0,68	<0,001	0,0255	33962		11728
fosfato	0,95	0,0319	0,2186	11438	C00009	01429
10-undecenoato (11:1n1)	0,90	0,0388	0,2431	32497		
2-hidroxipalmitato	0,93	0,0193	0,1729	35675		
glicerol 3-fosfato (G3P)	0,83	<0,001	0,0190	15365	C00093	00126
glicerofosforilcolina (GPC)	0,89	0,0058	0,0945	15990	C00670	00086

(continuación)

Biomarcador	Progresor a T2D en 5 años/no progresor	valor de p	valor de q	Comp. ID	KEGG ID	HMDB ID
2-palmioilglicerofosfoetanolamina	0,81	0,0334	0,2253	35688		
1-linoleoilglicerofosfoetanolamina	0,86	0,0353	0,2332	32635		11507
1-heptadecanoilglicerofosfocolina	0,86	0,0294	0,2154	33957		12108
1-oleoilglicerofosfocolina	0,93	0,0130	0,1465	33960		
1-linoleoilglicerofosfocolina	0,85	<0,001	0,0012	34419	C04100	
1-araquidoilglicerofosfocolina	0,86	0,0251	0,1902	35623		10390
sulfato de deshidroisoandrosterona (DHEA-S)	0,79	0,0142	0,1469	32425	C04555	01032
sulfato de epiandrosterona	0,83	0,0167	0,1565	33973	C07635	00365
disulfato de 4-androsten-3beta,17beta-diol	0,86	0,0307	0,2158	37203		03818
disulfato de 5alfa-androstan-3beta,17alpha-diol	0,85	0,0011	0,0351	37187		
treonato	0,86	0,0139	0,1469	27738	C01620	00943
hemo	0,37	0,0020	0,0544	32593	C00032	03178
biliverdina	0,82	0,0168	0,1565	2137	C00500	01008
sulfato de catecol	0,83	0,0365	0,2355	35320	C00090	
glicerol 2-fosfato	0,86	0,0165	0,1565	27728	C02979, D01488	02520
sulfato de timol	0,61	0,0403	0,2489	36095	C09908	01878
cinamoilglicina	0,75	0,0024	0,0622	38637		
tirosina	1,08	0,0373	0,2371	1299	C00082	00158
3-(4-hidroxifenil)lactato	1,21	<0,001	0,0266	32197	C03672	00755
indol-lactato	1,13	0,0234	0,1865	18349	C02043	00671
isoleucina	1,10	<0,001	0,0255	1125	C00407	00172
valina	1,07	0,0052	0,0908	1649	C00183	00883
alfa-hidroxiisovalerato	1,16	0,0065	0,1022	33937		00407
2-hidroxibutirato (AHB)	1,17	<0,001	0,0255	21044	C05984	00008
bradiquinina, des-arg(9)	1,14	0,0211	0,1813	34420	C00306	04246
[H]HWESASLLR[OH]	1,30	0,0472	0,2721	33964		
eritrosa	1,18	0,0048	0,0877	27722	C01796	02649
manosa	1,12	0,0032	0,0704	584	C00159	00169
glucosa	1,15	<0,001	0,0000	20488	C00293	00122
succinato	1,09	0,0092	0,1229	1437	C00042	00254
estearidonato (18:4n3)	1,17	0,0415	0,2497	33969	C16300	06547

(continuación)

Biomarcador	Progresor a T2D en 5 años/no progresor	valor de p	valor de q	Comp. ID	KEGG ID	HMDB ID
adrenato (22:4n6)	1,15	0,0144	0,1469	32980	C16527	02226
desoxicolato	1,20	0,0414	0,2497	1114	C04483	00626
7-alfa-hidroxi-3-oxo-4-colestenoato (7-Hoca)	1,31	<0,001	0,0255	36776	C17337	12458
urato	1,10	0,0040	0,0822	1604	C00366	00289

Se identificaron biomarcadores que, cuando se miden en plasma humano, predicen el desarrollo de infarto de miocardio (MI). Estos biomarcadores están presentes a diferentes niveles (mayores o menores) en la línea de base del plasma de los participantes que sufrieron infarto de miocardio (MI) ("progresores", N = 105), en comparación con los sujetos que no sufrieron infarto de miocardio (MI) ("no progresores", N = 262). Los biomarcadores de progresión a infarto de miocardio se presentan en la Tabla 3. La Tabla 3 incluye, para cada biomarcador enumerado, el nombre bioquímico del biomarcador, una indicación del cambio en número de veces en el promedio de las muestras de "progresores", comparado con el promedio de las muestras de "no progresores" (los valores >1,0 representan un aumento en el número de sujetos que progresan a MI, y los valores <1,0 representan un nivel menor en los progresores), el valor de p, y el valor de q determinados en los análisis estadísticos de los datos referentes a los biomarcadores. En la Tabla 3 también se incluyen: el identificador interno para ese compuesto biomarcador en el banco de compuestos químicos de los inventarios de estándares auténticos (Comp. ID); el identificador para ese compuesto biomarcador en the Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG), si está disponible; y el identificador para ese compuesto biomarcador en la base de datos Human Metabolome Database (HMDB), si está disponible.

Tabla 3. Biomarcadores para predecir la progresión a infarto de miocardio

Biomarcador	Progresor a MI/no progresor	valor de p	valor de q	Comp. ID	KEGG ID	HMDB ID
glicina	0,94	0,0390	0,0986	32338	C00037	00123
N-acetilglicina	0,86	0,0196	0,0639	27710		00532
serina	0,96	0,0397	0,0996	32315	C00065	03406
glutamina	0,78	0,0081	0,0374	53	C00064	00641
HXGXA	0,69	0,0039	0,0265	31534		
ADSGEGDFXAEGGGVR	0,86	0,0359	0,0935	33084		
glicerato	0,91	0,0019	0,0208	1572	C00258	00139
heptanoato (7:0)	0,95	0,0423	0,1050	1644	C17714	00666
caprilato (8:0)	0,93	0,0014	0,0187	32492	C06423	00482
caprato (10:0)	0,94	0,0069	0,0345	1642	C01571	00511
10-undecenoato (11:1n1)	0,93	0,0315	0,0853	32497		
laurato (12:0)	0,95	0,0020	0,0208	1645	C02679	00638
5-dodecenoato (12:1n7)	0,88	0,0184	0,0618	33968		00529
estearato (18:0)	0,95	0,0286	0,0811	1358	C01530	00827
palmitato de metilo (15 o 2)	0,95	0,0262	0,0790	38768		
17-metilestearato	0,91	0,0085	0,0388	38296		
glicerofosforilcolina (GPC)	0,93	0,0104	0,0442	15990	C00670	00086
1-linoleoilglicerofosfocolina	0,94	0,0286	0,0811	34419	C04100	

(continuación)

Biomarcador	Progresor a MI/no progresor	valor de p	valor de q	Comp. ID	KEGG ID	HMDB ID
disulfato de 5alfa-pregnan-3beta,20alpha-diol	0,54	0,0101	0,0442	37198		
disulfato de 5alfa-pregnan-3alpha,20beta-diol	0,56	<0,001	0,0121	37201		
piperina	0,74	0,0018	0,0208	33935	C03882	
betaína	1,09	0,0077	0,0369	3141	C00719	00043
N-acetilalanina	1,05	0,0484	0,1100	1585	C02847	00766
glutamato	1,04	0,0050	0,0297	57	C00025	03339
piroglutamina	1,22	<0,001	0,0067	32672		
fenil-lactato (PLA)	1,10	0,0137	0,0502	22130	C05607	00779
fenilalanina	1,05	<0,001	0,0053	64	C00079	00159
tirosina	1,06	<0,001	0,0121	1299	C00082	00158
3-(4-hidroxifenil)lactato	1,13	<0,001	0,0067	32197	C03672	00755
fenilacetilglutamina	1,32	<0,001	0,0067	35126	C05597	06344
quinurenina	1,08	0,0034	0,0257	15140	C00328	00684
indol-lactato	1,10	0,0042	0,0270	18349	C02043	00671
C-glicosiltriptófano	1,09	<0,001	0,0001	32675		
sulfato de 3-indoxilo	1,17	<0,001	0,0136	27672		00682
alfa-hidroxiisocaproato	1,13	0,0167	0,0590	22132	C03264	00746
isoleucina	1,06	<0,001	0,0083	1125	C00407	00172
leucina	1,05	0,0026	0,0241	60	C00123	00687
valina	1,03	0,0173	0,0590	1649	C00183	00883
2-metilbutiroilcarnitina	1,10	0,0035	0,0257	35431		00378
dimetilarginina (SDMA + ADMA)	1,05	0,0123	0,0475	36808	C03626	01539, 03334
ornitina	1,14	0,0032	0,0257	35832	C00077	03374
urea	1,12	0,0033	0,0257	1670	C00086	00294
citrulina	1,08	0,0113	0,0464	2132	C00327	00904
creatinina	1,04	0,0284	0,0811	513	C00791	00562
4-guanidinobutanoato	1,05	0,0457	0,1084	15681	C01035	03464
manitol	1,18	0,0114	0,0464	15335	C00392	00765
1,5-anhidroglucitol (1,5-AG)	1,07	0,0154	0,0552	20675	C07326	02712
lactato	1,12	0,0054	0,0298	527	C00186	00190
succinato	1,07	0,0017	0,0208	1437	C00042	00254
3-carboxi-4-metil-5-propil-2-furanpropanoato (CMPF)	1,29	0,0037	0,0257	31787		
3-deshidrocarnitina	1,06	0,0218	0,0677	32654	C02636	12154

(continuación)

Biomarcador	Progresor a MI/no progresor	valor de p	valor de q	Comp. ID	KEGG ID	HMDB ID
palmitoilcarnitina	1,08	0,0334	0,0884	22189	C02990	00222
oleoilcarnitina	1,08	0,0280	0,0811	35160		05065
sulfato de glicocolenato	1,12	0,0473	0,1084	32599		
colina	1,08	<0,001	0,0002	15506	C00114	00097
mioinositol	1,07	<0,001	0,0121	19934	C00137	00211
2-palmitoilglicerofosfocolina	1,08	0,0270	0,0803	35253		
1-estearoilglicerofosfocolina	1,05	0,0319	0,0853	33961		
2-estearoilglicerofosfocolina	1,05	0,0463	0,1084	35255		
1-araquidoilglicerofosfocolina	1,11	0,0197	0,0639	35623		10390
1-estearoilglicerol (1-monoestearina)	1,04	0,0220	0,0677	21188	001947	
disulfato de 5alpha-androstan-3beta,17beta-diol	1,19	0,0102	0,0442	37190		00493
xantina	1,29	0,0119	0,0472	3147	C00385	00292
pseudouridina	1,06	<0,001	0,0053	33442	C02067	00767
trigonalina (N'-metilnicotinato)	1,30	0,0117	0,0471	32401	C01004	00875
2-hidroxihipurato (salicilurato)	1,97	0,0054	0,0298	18281	C07588	00840
sulfato de 4-vinilfenol	1,24	0,0051	0,0297	36098	C05627	04072
1-metilurato	1,24	0,0011	0,0148	34395		03099
1,3-dimetilurato	1,21	0,0026	0,0241	32391		01857
1,7-dimetilurato	1,22	0,0173	0,0590	34400	C16356	11103
1,3,7-trimetilurato	1,18	0,0092	0,0411	34404	C16361	02123
eritritol	1,09	0,0376	0,0969	20699	C00503	02994

Se identificaron biomarcadores que, cuando se miden en plasma humano, predicen el desarrollo de un ictus. Estos biomarcadores están presentes a diferentes niveles (mayores o menores) en la línea de base del plasma de los participantes que desarrollaron un ictus ("progresores", N = 45), comparado con los sujetos que no lo desarrollaron ("no progresores", N = 262). Los biomarcadores de progresión a ictus se presentan en la Tabla 4. La Tabla 4 incluye, para cada biomarcador enumerado, el nombre bioquímico del biomarcador, una indicación del cambio en número de veces en el promedio de las muestras de "progresores", comparado con el promedio de las muestras de "no progresores" (los valores >1,0 representan un aumento en el número de sujetos que progresan a ictus, y los valores <1,0 representan un nivel menor en los progresores), el valor de p, y el valor de q determinados en los análisis estadísticos de los datos referentes a los biomarcadores. En la Tabla 4 también se incluyen: el identificador interno para ese compuesto biomarcador en el banco de compuestos químicos de los inventores de estándares auténticos (Comp. ID); el identificador para ese compuesto biomarcador en la Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG), si está disponible; y el identificador para ese compuesto biomarcador en la base de datos Human Metabolome Database (HMDB), si está disponible.

Tabla 4. Biomarcadores para predecir la progresión a ictus

Biomarcador	Progresores a ictus/no progresores	valor de p	valor de q	Comp. ID	KEGG ID	HMDB ID
antranilato	0,88	0,0184	0,1669	4970	C00108	01123
caproato (6:0)	0,91	0,0370	0,2217	32489	C01585	00535

(continuación)

Biomarcador	Progresores a ictus/no progresores	valor de p	valor de q	Comp. ID	KEGG ID	HMDB ID
heptanoato (7:0)	0,92	0,0096	0,1437	1644	C17714	00666
3-hidroxioctanoato	0,91	0,0321	0,2062	22001		01954
8-hidroxioctanoato	0,89	0,0439	0,2468	21239		00711
2-hidroxiestearato	0,93	0,0403	0,2294	17945	C03045	
2-hidroxipalmitato	0,93	0,0258	0,1875	35675		
azelato (nonadioato)	0,89	0,0253	0,1875	18362	C08261	00784
isovalerato	0,91	0,0319	0,2062	34732	C08262	00718
glicerofosforilcolina (GPC)	0,91	0,0169	0,1669	15990	C00670	00086
sulfato de deshidroisoandrosterona (DHEA-S)	0,86	0,0311	0,2059	32425	C04555	01032
disulfato de 5alfa-pregnan-3beta,20alpha-diol	0,49	<0,001	0,0451	37198		
disulfato de 5alfa-pregnan-3alfa,20beta-diol	0,46	<0,001	0,0135	37201		
pregnesteroides monosulfato	0,82	0,0254	0,1875	32619	C18044	00774
arabonato	0,87	0,0150	0,1669	37516		00539
trietilenglicol	0,82	0,0046	0,0903	27743		
alanina	1,05	0,0176	0,1669	32339	C00041	00161
N-acetilalanina	1,09	0,0015	0,0606	1585	C02847	00766
glutamato	1,04	0,0198	0,1669	57	C00025	03339
glutaroíl carnitina	1,10	0,0028	0,0690	35439		13130
C-glicosiltriptófano	1,07	0,0018	0,0682	32675		
ornitina	1,17	0,0085	0,1315	35832	C00077	03374
citrulina	1,10	0,0178	0,1669	2132	C00327	00904
4-acetamidobutanoato	1,06	0,0333	0,2110	1558	C02946	03681
lactato	1,21	<0,001	0,0130	527	C00186	00190
citrato	1,11	0,0108	0,1437	1564	000158	00094
acetilfosfato	1,08	0,0026	0,0690	15488	C00227	01494
propionilcarnitina	1,26	0,0391	0,2283	32452	C03017	00824
desoxicarnitina	1,05	0,0200	0,1669	36747	C01181	01161
3-deshidrocarnitina	1,16	<0,001	0,0014	32654	C02636	12154
acetilcarnitina	1,72	0,0358	0,2186	32198	C02571	00201
oleoilcarnitina	1,23	0,0063	0,1146	35160		05065
glicerol	1,06	0,0338	0,2111	15122	C00116	00131
mioinositol	1,08	<0,001	0,0290	19934	C00137	00211

(continuación)

Biomarcador	Progresores a ictus/no progresores	valor de p	valor de q	Comp. ID	KEGG ID	HMDB ID
1-palmitoilglicerol (1-monopalmitina)	1,04	0,0267	0,1904	21127		
1-oleoilglicerol (1-monooleína)	1,13	0,0045	0,0903	21184		11567
palmitoíl esfingomielina	1,13	<0,001	0,0451	37506		
estearoíl esfingomielina	1,12	0,0024	0,0690	19503	C00550	01348
latosterol	1,36	0,0227	0,1822	33488	C01189	01170
colesterol	1,10	0,0044	0,0903	63	C00187	00067
uridina	1,06	0,0197	0,1669	606	C00299	00296
pseudouridina	1,08	<0,001	0,0014	33442	C02067	00767
bilirrubina (E,E)	1,18	0,0250	0,1875	32586		
trigonalina (N'-metilnicotinato)	1,27	0,0142	0,1669	32401	C01004	00875
benzoato	1,07	0,0030	0,0690	15778	C00180	01870
sulfato de 4-vinilfenol	1,15	0,0139	0,1669	36098	C05627	04072
1,3,7-trimetilurato	1,28	0,0446	0,2475	34404	C16361	02123
eritritol	1,11	0,0297	0,2053	20699	C00503	02994

En un experimento independiente con una cohorte diferente, se identificaron una serie de biomarcadores útiles para determinar los individuos no diabéticos que desarrollarán diabetes de tipo 2 (T2D). Los biomarcadores se identificaron recolectando muestras de plasma en el momento del alistamiento en el estudio (línea de base) de 660 sujetos humanos no diabéticos que recibieron un seguimiento durante 5 años. A lo largo del estudio, los participantes se incluyeron en los siguientes grupos: 440 eran "no progresores" (es decir, sujetos que permanecieron estables y no progresaron a T2D) y 220 desarrollaron T2D ("progresores a T2D"). Brevemente, las muestras de plasma se extrajeron y se dividieron en partes iguales para su análisis en plataformas GC/MS y LC/MS/MS, tal como se describe en los métodos generales.

Se empleó un software patentado para emparejar los iones con bancos de estándares de los inventarios para la identificación de metabolitos y para la cuantificación de los metabolitos mediante integración del área de los picos. Se midió un total de 695 metabolitos, de los cuales se determinó la identidad estructural de 402 ("nombrados") y no se determinó la identidad estructural de 293 ("no nombrados"). Los perfiles metabólicos resultantes se analizaron estadísticamente para identificar los biomarcadores que están diferencialmente presentes entre los grupos empleando un análisis de la varianza (ANOVA) con contrastes y mediante clasificación de bosque aleatoria.

Se identificaron biomarcadores que, cuando se miden en plasma humano, predicen el desarrollo de la diabetes de tipo 2 en 5 años. En la línea de base, los biomarcadores estaban presentes a diferentes niveles (mayores o menores) en el plasma de los participantes que progresaron a diabetes de tipo 2 en 5 años ("progresores"), comparado con los sujetos que no progresaron a diabetes de tipo 2 ("no progresores"). Los biomarcadores para predecir la progresión a diabetes de tipo 2 en 5 años validan los resultados anteriores presentados en la Tabla 2 y se presentan en la Tabla 5.

Estos biomarcadores del plasma se evalúan para su capacidad para predecir los individuos que progresarán a diabetes de tipo 2 empleando un análisis de regresión. Los biomarcadores candidatos se clasificaron empleando análisis de bosque aleatorios según su contribución a la capacidad de predecir la separación de los participantes que progresan a diabetes de tipo 2 en 5 años ("progresores"), en comparación con los sujetos que no progresan a diabetes de tipo 2 ("no progresores"). Los mejores biomarcadores identificados para predecir la progresión a diabetes de tipo 2 en 5 años según la clasificación de bosque aleatoria se presentan en la Tabla 5. La Tabla 5 incluye, para cada biomarcador enumerado, el nombre bioquímico del biomarcador, una indicación del cambio en número de veces en el promedio de las muestras de "progresores", comparado con el promedio de las muestras de "no progresores" (los valores >1,0 representan un aumento en el número de sujetos que progresan a T2D, y los valores <1,0 representan un nivel menor en los progresores), el valor de p, y el valor de q determinados en los análisis estadísticos de los datos referentes a los biomarcadores. En la Tabla 5 también se incluyen: el identificador interno para ese compuesto biomarcador en el banco de compuestos químicos de los inventarios de estándares auténticos (Comp. ID); el identificador para ese compuesto biomarcador en the Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG), si está disponible; y el identificador para ese compuesto biomarcador en la base de datos Human Metabolome Database (HMDB), si está disponible.

Tabla 5. Biomarcadores para predecir la progresión a diabetes de tipo 2 en 5 años

Biomarcador	Factor de cambio en la progresión/no progresión a T2D en 5 años	valor de P	valor de q	Comp. ID	KEGG ID	HMDB ID
3-metil-2-oxovalerato	1,13	2,00E-15	1,77E-13	15676	C00671	03736
2-metilbutirilcarnitina (C5)	1,15	4,04E-11	7,69E-10	35431		00378
quinurenato	1,15	0,0001	0,0003	1417	C01717	00715
manosa	1,19	0,00E+0	0,00E+00	584	C00159	00169
alfa-cetoglutarato	1,33	9,61E-09	7,75E-08	33453	C00026	00208
2-hidroxibutirato (AHB)	1,24	1,44E-11	3,81E-10	21044	C05984	00008
4-metil-2-oxopentanoato	1,13	2,00E-15	1,77E-13	22116	C00233	00695
alfa-cetobutirato	1,32	6,44E-12	2,08E-10	42107	C00109	00005
xantina	1,33	3,98E-11	7,69E-10	3147	C00385	00292
glicina	0,88	3,25E-11	7,34E-10	32338	C00037	00123
araquidonato (20:4n6)	1,13	1,35E-10	2,07E-09	1110	C00219	01043
valina	1,08	2,84E-09	2,61E-08	1649	C00183	00883
estearidonato (18:4n3)	1,24	3,51E-09	3,00E-08	33969	C16300	06547
creatina	1,24	2,25E-10	3,11E-09	27718	C00300	00064
3-hidroxiisobutirato	1,18	3,84E-12	1,52E-10	1549	C06001	00336
tirosina	1,11	2,63E-13	1,33E-11	1299	C00082	00158
carnitina	1,07	4,24E-11	7,69E-10	15500	C00318	
alfa-hidroxiisocaproato	1,17	2,25E-07	1,21E-06	22132	C03264	00746
glucosa	1,13	0,00E+0	0,00E+00	20488	C00031	00122
isovalerilcarnitina	1,19	1,09E-11	3,18E-10	34407		00688
ciclo(leu-pro)	1,4	1,24E-10	2,07E-09	37104		
palmitato (16:0)	1,13	4,63E-10	5,60E-09	1336	C00249	00220
palmitoíl esfingomielina	0,9	2,25E-09	2,25E-08	37506		
dihomo-linolenato (20:3n3 o n6)	1,14	1,30E-10	2,07E-09	35718	C03242	02925
beta-hidroxiisovalerato	1,12	8,14E-06	3,19E-05	12129		00754
hexanoilcarnitina	1,14	1,41E-08	1,08E-07	32328		00705
palmitoleato (16:1n7)	1,26	3,18E-09	2,80E-08	33447	C08362	03229
10-heptadecenoato (17:1n7)	1,2	8,96E-09	7,44E-08	33971		
N-acetilmetionina	0,92	4,99E-06	2,01E-05	1589	C02712	11745
piruvato	1,17	1,24E-07	7,37E-07	599	C00022	00243
oleato (18:1n9)	1,12	5,75E-08	3,63E-07	1359	C00712	00207
isoleucina	1,07	1,15E-07	6,96E-07	1125	C00407	00172
piperina	1,42	4,35E-06	1,81E-05	33935	C03882	

(continuación)

Biomarcador	Factor de cambio en la progresión/no progresión a T2D en 5 años	valor de P	valor de q	Comp. ID	KEGG ID	HMDB ID
leucina	1,07	1,25E-08	9,77E-08	60	C00123	00687
beta-hidroxipiruvato	1,2	0,0019	0,0038	15686	C00168	01352
cinamoilglicina	0,69	5,48E-07	2,74E-06	38637		
3-metil-2-oxobutirato	1,07	0,8276	0,4012	21047	C00141	00019
docosapentaenoato (n6 DPA; 22:5n6)	1,22	1,87E-06	8,26E-06	37478	C16513	13123
gamma-glutamiltirosina	1,1	3,15E-10	4,16E-09	2734		
glicerol 3-fosfato (G3P)	1,02	0,0005	0,0012	15365	C00093	00126
dihomo-linoleato (20:2n6)	1,17	1,43E-07	8,00E-07	17805	C16525	
3-(4-hidroxifenil)lactato	1,16	2,67E-09	2,58E-08	32197	C03672	00755
gamma-glutamilfenilalanina	1,1	1,66E-08	1,24E-07	33422		00594
3-hidroxipropanoato	1,14	1,67E-06	7,69E-06	42103	C01013	00700
pantotenato	1,15	2,33E-07	1,23E-06	1508	C00864	00210
glutamato	1,13	1,91E-08	1,35E-07	57	C00025	03339
alanina	1,11	2,66E-08	1,76E-07	1126	C00041	00161
urato	1,08	1,41E-07	8,00E-07	1604	C00366	00289
glicerol 2-fosfato	0,96	0,0009	0,0021	27728	C02979	02520
propionilcarnitina	1,13	1,79E-08	1,30E-07	32452	C03017	00824
triptófano	1,05	1,43E-05	5,18E-05	54	C00078	00929
7-alfa-hidroxi-3-oxo-4-colestenoato (7-Hoca)	1,13	7,15E-07	3,52E-06	36776	C17337	12458
fenilalanina	1,05	4,07E-06	1,71E-05	64	C00079	00159
bradiquinina, hidroxi-pro(3)	0,75	1,59E-09	1,71E-08	33962		11728
disulfato de 4-androsten-3beta,17beta-diol 1*	1,59	3,12E-06	1,35E-05	37202		03818
1-linoleoilglicerofosfocolina	0,9	5,35E-06	2,13E-05	34419	C04100	
sulfato de catecol	0,84	4,58E-07	2,37E-06	35320	C00090	
quinato	0,79	0,0002	0,0007	18335	C00296	03072
docosapentaenoato (n3 DPA; 22:5n3)	1,18	1,88E-06	8,26E-06	32504	C16513	01976
2-linoleoilglicerofosfocolina	0,85	1,72E-05	6,10E-05	35257		
hipurato	0,81	1,71E-06	7,75E-06	15753	C01586	00714
glutamina	0,95	6,44E-05	0,0002	53	C00064	00641
2-aminobutirato	1,11	1,29E-06	6,15E-06	32348	C02261	00650
triptófano betaína	0,5	0,0011	0,0025	37097	C09213	
N-acetyltriptófano	1,16	1,53E-06	7,17E-06	33959	C03137	
eicosenoato (20:1n9 u 11)	1,15	7,82 E-05	0,0002	33587		02231

(continuación)

Biomarcador	Factor de cambio en la progresión/no progresión a T2D en 5 años	valor de p	valor de q	Comp. ID	KEGG ID	HMDB ID
butirilcarnitina	1,22	1,32E-07	7,67E-07	32412		
3-fenilpropionato (hidrocinamato)	0,75	2,21E-05	7,55E-05	15749	C05629	00764
lactato	1,1	5,26E-05	0,0002	527	C00186	00190
gluconato	1,08	0,0075	0,0118	587	C00257	00625
hidroxibutirilcarnitina	1,24	3,60E-05	0,0001	33910		
hidroclorotiazida	1,44	1,14E-05	4,19E-05	39625	C07041	01928
isovalerato	1,11	0,0104	0,0154	34732	C08262	00718
cafeína	1,31	7,33E-05	0,0002	569	C07481	01847
asparagina	0,95	0,0121	0,0173	34283	C00152	00168
estearato (18:0)	1,09	9,64E-06	3,68E-05	1358	C01530	00827
2-hidroxi-3-metilvalerato	1,27	9,24E-06	3,58E-05	36746		00317
1,3,7-trimetilurato	1,26	0,0007	0,0017	34404	C16361	02123
10-nonadecenoato (19:1n9)	1,16	1,13E-05	4,19E-05	33972		
linoleato (18:2n6)	1,06	0,0032	0,0059	1105	C01595	00673
gamma-glutamilglutamina	0,92	2,24E-05	7,56E-05	2730		11738
maltotetraosa	1,46	0,0105	0,0154	15910	C02052	01296
3-deshidrocarnitina*	1,07	0,0118	0,017	32654	C02636	12154
3-hidroxi-2-etilpropionato	1,09	0,0047	0,0081	32397		00396
taurocolato	0,73	0,0004	0,001	18497	C05122	00036
adrenato (22:4n6)	1,09	0,0004	0,001	32980	C16527	02226
fumarato	1,06	0,0012	0,0026	1643	C00122	00134
trigonalina (N'-metilnicotinato)	0,82	0,0022	0,0041	32401	C01004	00875
2-hidroxihipurato (salicilurato)	5,02	0,3372	0,2298	18281	C07588	00840
3-hidroxihipurato	0,8	0,0062	0,0101	39600		06116
campesterol	0,84	0,0002	0,0005	39511	C01789	02869
indolpropionato	0,79	0,0002	0,0005	32405		02302
2-hidroxiglutarato	1,06	0,0399	0,0462	37253	C02630	00606
metionina	1,03	0,0053	0,009	1302	C00073	00696
gamma-glutamil-leucina	1,1	3,36E-06	1,43E-05	18369		11171
xilitol	1,08	0,2375	0,1879	4966	C00379	02917
margarato (17:0)	1,1	0,0002	0,0005	1121		02259
fenil-lactato (PLA)	1,1	0,0112	0,0164	22130	C05607	00779
acetilcarnitina	1,09	0,0002	0,0005	32198	C02571	00201

(continuación)

Biomarcador	Factor de cambio en la progresión/no progresión a T2D en 5 años	valor de p	valor de q	Comp. ID	KEGG ID	HMDB ID
1-araquidonoolglicerofosfoinositol	1,11	0,001	0,0023	34214		
latosterol	1,06	0,4008	0,2519	39864	C01189	01170
dodecandioato	0,98	0,085	0,0866	32388	C02678	00623
eicosapentaenoato (EPA; 20:5n3)	1,14	0,0011	0,0024	18467	C06428	01999
5-oxoprolina	0,94	0,0115	0,0166	1494	C01879	00267
malato	1,09	0,0036	0,0065	1303	C00149	00156
piroglutamina	0,89	0,0006	0,0014	32672		
desoxicolato	1,16	0,0019	0,0038	1114	C04483	00626
disulfato de 5alfa-pregnano-3beta,20alpha-diol	1,12	0,008	0,0124	37198		
1,3-dihidroxiacetona	1,13	0,0152	0,0209	35963	C00184	01882
linolenato [alfa o gamma; (18:3n3 o 6)]	1,07	0,0047	0,0081	34035	C06427	01388
indolacrilato	0,9	0,0144	0,0199	22114		00734
inosina 5'-monofosfato (IMP)	1,08	0,6603	0,348	2133	C00130	00175
serotonina (5HT)	0,94	0,2798	0,2073	2342	C00780	00259
androesteroide monosulfato	1,31	0,0001	0,0004	32792	C04555	02759
N-acetilfenilalanina	1,14	0,0014	0,003	33950	C03519	00512
alantoína	0,97	0,1396	0,1267	1107	C02350	00462
fosfoetanolamina	0,91	0,0929	0,0926	12102	C00346	00224
3-hidroxibutirato (BHBA)	1,03	0,448	0,2708	542	C01089	00357
leucil-leucina	1,28	0,0204	0,0267	36756	C11332	
metil-beta-glucopiranósido	0,58	0,0039	0,007	40480		
cortisona	1,05	0,0138	0,0193	1769	C00762	02802
glicolato (hidroxiacetato)	1,04	0,086	0,0871	15737	C00160	00115
4-hidroxihipurato	0,8	0,0114	0,0166	35527		
octanoilcarnitina	1,03	0,0188	0,0247	33936	C02838	00791
miristato (14:0)	1,12	0,0001	0,0004	1365	C06424	00806
1,7-dimetilurato	1,09	0,0235	0,03	34400	C16356	11103
1-metilurato	0,93	0,2911	0,2129	34395		03099
nicotinamida	1,06	0,1676	0,147	594	C00153	01406
1-palmitoleoilglicerofosfoetanolamina	1,33	0,0119	0,0171	34565		
glicerofosforilcolina (GPC)	0,91	0,0008	0,0018	15990	C00670	00086
quinurenina	1,06	0,0021	0,0041	15140	C00328	00684
1-linoleoilglicerofosfoetanolamina	0,94	0,025	0,0317	32635		11507

(continuación)

Biomarcador	Factor de cambio en la progresión/no progresión a T2D en 5 años	valor de p	valor de q	Comp. ID	KEGG ID	HMDB ID
12-HETE	1,14	0,105	0,102	37536		06111
glicoursodesoxicolato	0,91	0,3843	0,2476	39379		00708

Ejemplo 3: Biomarcadores prioritarios seleccionados

- 5 Se seleccionaron los biomarcadores para la progresión a una enfermedad cardiolmetabólica, tal como la diabetes de tipo 2 (T2D), el infarto de miocardio (MI) o el ictus, basándose en los siguientes criterios: (a) biomarcadores predictivos de la progresión a T2D con un >10% de cambio en número de veces observado en ambos intervalos de tiempo hasta T2D de 3 años y 5 años y que tienen $p<0,05$; (b) biomarcadores predictivos de la progresión a T2D con un >15% de cambio en número de veces en al menos un intervalo de tiempo hasta T2D (3 años o 5 años) y con tendencia estadística ($p<0,1$) en otro intervalo de tiempo hasta T2D (por ejemplo, alfa-hidroxiisovalerato) o un biomarcador que presenta características fisiológicas pertinentes a dicha enfermedad (por ejemplo, eritrosa); (c) biomarcadores predictivos de la progresión a T2D con un >20% de cambio en número de veces en un intervalo de tiempo hasta T2D (3 años o 5 años, por ejemplo, trehalosa, oleato de n-butilo); (d) otras mediciones estadísticas a partir de la selección metabolómica y los datos pertinentes que indican la importancia del biomarcador (por ejemplo, glicerol-3-fosfato); (e) biomarcadores predictivos de MI o ictus con un >15% de cambio en número de veces observado en niveles de analitos, comparado con los "progresores" de dicha enfermedad frente a los "no progresores". Los biomarcadores prioritarios seleccionados tienen $p<0,05$, $q<0,1$ y se clasificaron entre los 50 mejores biomarcadores candidatos en gráficas de importancia RF. Estos biomarcadores se miden en muestras de plasma procedentes de sujetos y los valores obtenidos a partir de estas mediciones se emplean en un modelo matemático (por ejemplo, una regresión logística) para determinar o ayudar a determinar la progresión de la resistencia a la insulina o la prediabetes hasta los trastornos asociados de diabetes de tipo 2 o enfermedad cardiovascular (por ejemplo, infarto de miocardio o ictus) y/o la susceptibilidad del sujeto para desarrollar estas enfermedades cardiolmetabólicas.

3A. Biomarcadores seleccionados para el desarrollo o la progresión a T2D

- 25 Los biomarcadores son: 3-fenilpropionato (hidrocinamato), 3-(4-hidroxifenil)lactato, indol-lactato, 5-oxoprolina, bradiquinina-hidroxi-pro(3), manosa, 7-alfa-hidroxi-3-oxo-4-colestenoato (7-Hoca), hemo, adrenato, alfa-hidroxiisovalerato, glutamina, glicina, tirosina, desoxicolato, cinamoilglicina, sulfato de deshidroisoandrosterona (DHEA-S), disulfato de 5alfa-androstan-3beta,17alfa-diol, urato, eritrosa, glicerol-3-fosfato, isoleucina, valina.

3B. Biomarcadores seleccionados para el desarrollo o la progresión a ictus/MI

- 30 Los biomarcadores son: 3-indoxilsulfato, propionilcarnitina, 3-deshidrocarnitina, acetilcarnitina, oleoilcarnitina, mioinositol, disulfato de 5alfa-pregnano-3beta,20alpha-diol, disulfato de 5alfa-pregnano-3alpha,20beta-diol, xantina, trigonelina (N'-metilnicotinato), 2-hidroxihipurato (salicilurato), piperina, 1-metilurato, 1,3-dimetilurato, 1,7-dimetilurato, 1,3,7-trimetilurato, quinurenina.

3C. Biomarcadores seleccionados para el desarrollo o la progresión a enfermedad cardiovascular, IR/IGT, T2D

- 40 Los biomarcadores son: adrenato, alfa-hidroxiisovalerato, glutamina, glicina, tirosina, desoxicolato, cinamoilglicina, sulfato de deshidroisoandrosterona (DHEA-S), disulfato de 5alfa-androstan-3beta,17alfa-diol, urato.

Ejemplo 4: Comparación de biomarcadores y algoritmos con los ensayos clínicos actuales para la predicción de la progresión a diabetes de tipo 2 y la enfermedad cardiovascular

- 45 La actuación del modelo de biomarcadores de IR se comparó con los resultados de los ensayos OGTT y FPG en una cohorte de 401 sujetos. El modelo de biomarcadores de IR tiene mejor sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y valor predictivo negativo que el ensayo de tolerancia a la glucosa oral (OGTT) o de la glucosa en plasma en ayunas (FPG), dos ensayos clínicos ampliamente utilizados en la actualidad. Los resultados de la comparación de los biomarcadores de IR con estos ensayos clínicos que se emplean en la actualidad para medir la resistencia a la insulina y la diabetes de tipo 2 se resumen en la Tabla 6.

Tabla 6. Comparación de los biomarcadores de IR de la presente solicitud con ensayos clínicos que se emplean en la actualidad para medir la resistencia a la insulina y la diabetes de tipo 2

ENSAYO	Sensibilidad (%)	Especificidad (%)	PPV (%)	NPV (%)
Modelo de biomarcadores de IR (AHB, LGPC, oleato, BMI, insulina)	62,2	93,8	83,2	83,3
OGTT	46,2	92,5	75,3	77,6
FPG	33,6	85,5	56,1	50,0

Se evaluaron muestras de plasma de un subconjunto de los 401 sujetos en la cohorte para los que había datos disponibles para la insulina, la eliminación de la glucosa (R_d), la adiponectina y los resultados de los ensayos de OGTT y HOMA-IR, para la correlación con R_d , la medición de la tasa de eliminación de glucosa obtenida a partir de un pinzamiento HI. Se analizó un total de 369 muestras de plasma procedentes de los 369 sujetos para los cuales estos datos estaban disponibles. Los sujetos para los cuales no se conocían los valores no se incluyeron: 14 sujetos no presentaron valores de insulina en ayunas, y 2 sujetos más no presentaron valores para la adiponectina. Estos resultados y el resultado obtenido con los mismos 369 sujetos con el modelo de IR: $SQRT{R_d} \sim BMI + 2\text{-hidroxibutirato} + \text{linoleato (x)} + \text{linolil_GPC} + \text{decanoilcarnitina}$ se muestran en la Tabla 14. El modelo de IR se correlacionó significativamente (valor de $p = 2,01E-54$) con R_d y mostró un valor de R mejor que ningún otro de los marcadores o modelos. El modelo de IR también presenta una mejor actuación de diagnóstico, basándose en el AUC, la sensibilidad, la especificidad, el valor predictivo negativo y el valor predictivo positivo, que ningún otro ensayo. Además, los biomarcadores y modelos proporcionados en el presente documento demuestran una correlación similar con la eliminación de la glucosa que el pinzamiento HI.

Tabla 7. Comparación del modelo de IR con otros ensayos que se emplean habitualmente, algoritmos y biomarcadores para determinar la sensibilidad a la insulina en un sujeto

Ensayo Dx	N	R	valor de p	AUC	Sensibilidad	Especificidad	NPV	PPV
Modelo de IR	369	0,71	2,01E-54	74,8	59,5	90,1	75,8	81,1
OGTT	369	ND	ND	68,0	19,8	92,2	74,3	75,9
FPG	369	-0,16	0,002072	58,7	31,8	85,6	53,3	70,8
HOMA-IR	369	-0,56	1,44E-31	70,0	50,8	89,3	71,1	77,8
Adiponectina	369	0,31	7,44E-10	57,6	35,0	80,3	47,8	70,4

Se evaluó la capacidad de los biomarcadores para predecir los individuos que progresarán a diabetes de tipo 2 (T2D), el infarto de miocardio (MI) o el ictus empleando un análisis de regresión de bosque aleatoria para clasificar a los sujetos como "no progresores" o "progresores" basándose en los valores medidos en la línea de base de los biomarcadores y/o los valores medidos de los parámetros clínicos de sexo, edad, índice de masa corporal (BMI), glucosa en plasma en ayunas (FPG), e insulina en ayunas. Estos parámetros clínicos son empleados en la actualidad por los médicos para evaluar el riesgo de que un sujeto desarrolle T2D, MI o ictus. Se realizaron análisis de bosque aleatorios para cada resultado (T2D, MI, ictus) empleando 1) solo los factores clínicos, 2) todos los biomarcadores de las Tablas 1, 2, 3, 4 y 5 solo, 3) solo el subconjunto seleccionado de los biomarcadores, o 4) el subconjunto seleccionado de biomarcadores más los factores clínicos. La cohorte se describe en el ejemplo 2. Los resultados de los análisis se presentan en las Tablas 8, 9 y 10. En la Tabla 8 se presentan los resultados de la clasificación de los 131 sujetos que progresaron a T2D y los 262 sujetos que no progresaron (no progresores). En la Tabla 9 se presentan los resultados de la clasificación de los 105 sujetos que progresaron a MI y los 262 sujetos que no progresaron (no progresores). En la Tabla 10 se presentan los resultados de la clasificación de los 45 sujetos que progresaron a ictus y los 262 sujetos que no progresaron (no progresores). En cada análisis, los biomarcadores clasificaron correctamente a los sujetos como "progresores" o "no progresores" con mejor precisión predictiva que la lograda empleando solo los parámetros clínicos. Si se emplean los biomarcadores seleccionados en combinación con los factores clínicos se mejora la precisión predictiva. Los parámetros de diagnóstico de sensibilidad, especificidad y la precisión de la predicción se presentan en las tablas.

Tabla 8. Resumen del análisis de RF de T2D

Ensayo	Sensibilidad	Especificidad	Precisión (error)
Solo factores clínicos	63,3 %	59,7 %	61,1 % (39,9)
Todos los biomarcadores solo	70 %	66,3 %	66,7 % (33,3)
Biomarcadores seleccionados	76 %	67 %	67,9 % (32,1)
Factores clínicos + biomarcadores seleccionados	71,4 %	70,1 %	70,7 % (29,7)

Tabla 9. Resumen del análisis de RF de MI

Ensayo	Sensibilidad	Especificidad	Precisión (error)
Solo factores clínicos	64,2 %	63 %	63,3 % (36,7)
Todos los biomarcadores solo	64 %	65,6 %	65,2 % (34,8)
Biomarcadores seleccionados	62,4 %	61,4 %	61,7 % (38,3)
Factores clínicos + biomarcadores seleccionados	63,4 %	65,6 %	65,1 % (34,9)

Tabla 10. Resumen del análisis de RF de ictus

Ensayo	Sensibilidad	Especificidad	Precisión (error)
Solo factores clínicos	61,4 %	56,8 %	57,3 % (42,7)
Todos los biomarcadores solo	70 %	67,8 %	68 % (32)
Biomarcadores seleccionados	63,8 %	64 %	64 % (36)
Factores clínicos + biomarcadores seleccionados	68,4 %	65,3 %	65,6 % (34,4)

REIVINDICACIONES

1. Un método para determinar la probabilidad de que un sujeto desarrolle diabetes de tipo 2, comprendiendo dicho método:

5 analizar una muestra de plasma procedente de un sujeto para determinar el nivel de cinamoilglicina
opcionalmente analizar uno o más biomarcadores adicionales seleccionados del grupo que consiste en 7-alfa-hidroxi-3-oxo-4-colestenoato (7-Hoca), 3-hidroxipropanoato, 3-hidroxi-2-oxovalerato, beta-hidroxipiruvato, palmitoil esfingomielina, oleoilcamitina, 1-metilurato, 1,3-dimetilurato, 1,7-dimetilurato, 1,3,7-trimetilurato, disulfato de 5alfa-androstan-3beta,17alfa-diol, disulfato de 5alfa-pregnan-3beta,20alfa-diol, 2-metilbutrilcamitina, 3-deshidrocamicina, 3-fenilpropionato (hidrocinamato), adrenato, sulfato de catecol, alfa-hidroxisovalerato, glutamina, glicina, tirosina, desoxicolato, 3-(4-hidroxifenil)lactato, indol-lactato, 5-oxoprolina, bradiquinina- hidroxi-pro(3), manosa, sulfato de deshidroisoandrosterona (DHEA-S), urato, 3-indoxilsulfato, propionilcarnitina, acetilcarnitina, mioinositol, xantina, trigonelina (N'-metilnicotinato), 2-hidroxihipurato (salicilurato), piperina, quinurenina, 3-hidroxibutirato, eritrosa, glicerol-3-fosfato, hexanoilcamitina, hipurato, margarato, quinato, hemo, valina e isoleucina en la muestra de plasma midiendo directamente el nivel o niveles de cinamoilglicina y opcionalmente dichos uno o más biomarcadores adicionales en la muestra; y

20 analizar el nivel o niveles de cinamoilglicina y, opcionalmente, de dichos uno o más biomarcadores adicionales, en la muestra mediante un análisis estadístico para determinar la probabilidad de que el sujeto desarrolle diabetes de tipo 2, en el que el nivel de cinamoilglicina disminuye (es más bajo) en los sujetos que se predice que desarrollarán diabetes de tipo 2.

25 2. El método de la reivindicación 1, en el que la etapa de análisis comprende generar una curva de probabilidad empleando un modelo de regresión de múltiples variables basándose en el nivel o niveles medidos de cinamoilglicina y, opcionalmente, de dichos uno o más biomarcadores adicionales.

30 3. El método de la reivindicación 2, en el que la curva de probabilidad se genera empleando un modelo de regresión de múltiples variables utilizando el nivel o niveles medidos de cinamoilglicina y, opcionalmente, dichos uno o más biomarcadores adicionales.

4. El método de la reivindicación 1, en el que el análisis estadístico comprende un modelo de regresión logística.

35 5. El método de la reivindicación 1, en el que uno o más biomarcadores adicionales opcionales se seleccionan del grupo que consiste en disulfato de 5alfa-androstan-3beta,17alfa-diol, 7-Hoca, adrenato, 3-fenilpropionato (hidrocinamato), 3-(4-hidroxifenil)lactato, indol-lactato, 5-oxoprolina, bradiquinina-hidroxi-pro(3), manosa, hemo, alfa-hidroxisovalerato, glutamina, glicina, tirosina, desoxicolato, sulfato de deshidroisoandrosterona (DHEA-S), urato, eritrosa, glicerol-3-fosfato, isoleucina y valina.

40 6. El método de la reivindicación 1, en el que la etapa de análisis comprende generar una puntuación de riesgo de enfermedad para el sujeto para determinar la probabilidad de que el sujeto desarrolle diabetes de tipo 2.

7. Un método para controlar la progresión o la regresión de la diabetes de tipo 2 en un sujeto, comprendiendo dicho método:

45 (i) analizar una muestra de plasma procedente de un sujeto para determinar el nivel de cinamoilglicina; opcionalmente analizar la muestra para determinar el nivel o niveles de uno o más biomarcadores adicionales seleccionados del grupo que consiste en 7-Hoca, 3-hidroxipropanoato, 3-hidroxi-2-oxovalerato, beta-hidroxipiruvato, palmitoil esfingomielina, oleoilcamitina, 1-metilurato, 1,3-dimetilurato, 1,7-dimetilurato, 1,3,7-trimetilurato, disulfato de 5alfa-androstan-3beta,17alfa-diol, disulfato de 5alfa-pregnan-3beta,20alfa-diol, 2-metilbutrilcamitina, 3-deshidrocamicina, 3-fenilpropionato (hidrocinamato), adrenato, sulfato de catecol, alfa-hidroxisovalerato, glutamina, glicina, tirosina, desoxicolato, 3-(4-hidroxifenil)lactato, indol-lactato, 5-oxoprolina, bradiquinina-hidroxi-pro(3), manosa, sulfato de deshidroisoandrosterona (DHEA-S), urato, 3-indoxilsulfato, propionilcarnitina, acetilcarnitina, mioinositol, xantina, trigonelina (N'-metilnicotinato), 2-hidroxihipurato (salicilurato), piperina, quinurenina, 3-hidroxibutirato, eritrosa, glicerol-3-fosfato, hexanoilcamitina, hipurato, margarato, quinato, hemo, valina e isoleucina; y
(ii) comparar el nivel o niveles de cinamoilglicina y, opcionalmente, de dichos uno o más biomarcadores adicionales en la muestra con los niveles de referencia de progresión y regresión de la diabetes de tipo 2 de la cinamoilglicina y, opcionalmente, de dichos uno o más biomarcadores adicionales para controlar la progresión o la regresión de la diabetes de tipo 2 en el sujeto, en el que el nivel de cinamoilglicina disminuye (es más bajo) en los sujetos en los que la diabetes de tipo 2 está progresando.

65 8. El método de la reivindicación 7, en el que los niveles de referencia de progresión y regresión de la diabetes de tipo 2 son los niveles de referencia obtenidos a partir de la determinación del nivel o niveles de cinamoilglicina y dichos uno o más biomarcadores adicionales opcionales a partir de una muestra de plasma obtenida en un momento anterior al de la muestra de plasma de la etapa (i).

9. El método de la reivindicación 7, en el que el sujeto se selecciona del grupo que consiste en un sujeto que se está tratando con una composición farmacéutica, un sujeto que se ha sometido a cirugía bariátrica, un sujeto que está sometido a una modificación en el ejercicio y un sujeto que está sometido a una modificación en la dieta.
- 5 10. El método de la reivindicación 7, en el que la etapa de comparación comprende generar una puntuación de riesgo de enfermedad para el sujeto para controlar la progresión de la diabetes de tipo 2.
- 10 11. El método de la reivindicación 10, en el que dichos uno o más biomarcadores opcionales se seleccionan del grupo que consiste en disulfato de 5alfa-androstan-3beta,17alfa-diol, 7-Hoca, adrenato, 3-fenilpropionato (hidrocinamato), 3-(4-hidroxifenil)lactato, indol-lactato, 5-oxoprolina, bradiquinina-hidroxi-pro(3), manosa, hemo, alfa-hidroxiisovalerato, glutamina, glicina, tirosina, desoxicolato, sulfato de deshidroisoandrosterona (DHEA-S), urato, eritrosa, glicerol-3-fosfato, valina e isoleucina.