



Universitat Autònoma de Barcelona

**ADVERTIMENT.** L'accés als continguts d'aquesta tesi queda condicionat a l'acceptació de les condicions d'ús establertes per la següent llicència Creative Commons:  [http://cat.creativecommons.org/?page\\_id=184](http://cat.creativecommons.org/?page_id=184)

**ADVERTENCIA.** El acceso a los contenidos de esta tesis queda condicionado a la aceptación de las condiciones de uso establecidas por la siguiente licencia Creative Commons:  <http://es.creativecommons.org/blog/licencias/>

**WARNING.** The access to the contents of this doctoral thesis it is limited to the acceptance of the use conditions set by the following Creative Commons license:  <https://creativecommons.org/licenses/?lang=en>

TESIS DOCTORAL  
PROGRAMA DE DOCTORADO EN MEDICINA

DEPARTAMENT DE MEDICINA



Universitat Autònoma  
de Barcelona

# MARCADORES ALTERNATIVOS DE DAÑO RENAL ASOCIADO A LA DIABETES

Sol Otero López

Directores:

*Clara Barrios Barrera*

*Julio Pascual Santos*

Tutor:

*Albert Goday i Arno*

Servei de Nefrologia  
Hospital del Mar  
Institut Mar d'Investigacions Mèdiques  
Barcelona  
2019



*No siempre podemos hacer grandes cosas, pero  
sí podemos hacer cosas pequeñas con gran  
amor.*

Madre Teresa de Calcuta



A mis chicos, Aleix, Àlex y McQueen.  
Con vosotros es siempre todo amor y alegría, us  
estimo.



# 1. AGRADECIMIENTOS

## AGRADECIMIENTOS

## 1. AGRADECIMIENTOS

Hace 6 años, tras una conversación en una sobremesa familiar con mi cuñado Albert, pidiéndole orientación para poder encontrar algún tema interesante que pudiera ser motivo de la realización de mi tesis doctoral, hizo que me topara con el doctor Josep Franch.

Cuando la doctora Clara Barrios, adjunta del servicio de Nefrología del Hospital Parc de Salut Mar, fue a ver al doctor Franch para proponerle un estudio en diabéticos, el destino hizo que Franch recordara que una nefróloga fue a verlo un día preguntándole si tenía alguna línea de investigación acorde con su disciplina. Gràcies Josep.

De esta manera, entré por primera vez en el hospital del Mar, con esas vistas envidiables, y conocí a los doctores Julio Pascual y Clara Barrios. Así, empecé este largo camino de vuestra mano, Clara y Julio, ahora ya mis directores de tesis, gracias por confiar en mí, enseñarme tanto y por transmitirme vuestra pasión y tesón.

También quiero agradecer a todo el servicio de Nefrología del hospital del Mar por haberme acogido entre ellos. Gracias a la doctora Adriana Sierra por la ayuda en la recogida de datos. No quiero olvidarme de agradecer la colaboración inestimable de las enfermeras de la Unitat de suport a la recerca, lideradas por Anna Faura, sin las cuales esta tesis no hubiera podido realizarse. Gràcies Maria Vera, Maria Garrigosa, Núria Cubino y Sara Álvarez, trobo a faltar dinar amb vosaltres.

Gracias a mi tutor, el doctor Albert Goday i Arno por compartir tu experiencia en la nefropatía diabética.

También quiero agradecer la participación voluntaria de los pacientes diabéticos que han sido incluidos en este trabajo, sin ellos no hubiera sido posible esta tesis.

No hubiera llegado hasta aquí, sin haber pasado antes por la etapa de la residencia en el Parc Taulí, durante la que, afortunadamente, encontré a personas maravillosas con las que compartir viajes y confidencias y, en definitiva, vivir la vida. Bruixes (Marta, Sonia, Lluí, M<sup>a</sup> Àngels, Cande i Gemma), aquesta tesi és per vosaltres. En especial, agradecer a Gemma (doctora Llauredó, la Gemma del cole, la meva Gemma) su ayuda a cualquier día y hora, y su eterna paciencia conmigo, sus risas y esos cafés haciendo psicoterapia, aquest treball és, en part, també teu. A la doctora Vanesa de la Fuente, mi amiga, aunque estás un poco lejos, siempre estás presente, te adoro.

No puedo olvidarme de mencionar a la doctora Loreley Betancourt, mi resi mayor, Lore, gracias por estar ahí.

Y a ti Montse, doctora Bosch, gràcies per estimar-me tant.

## AGRADECIMIENTOS

Y gracias a vosotros dos, Eva e Ivo, sin vosotros mi vida no sería lo mismo.

A la doctora Dapena, Fabiola, gracias por tu apoyo incondicional y sacar a relucir lo mejor de mí. Gracias a ti he encontrado mi verdadera pasión en el trabajo.

Gracias a todo el servicio de nefrología del Consorci Sanitari del Garraf, me hacéis sentir como en casa.

Gracias al esfuerzo, la ayuda y al amor incondicional de Jacinto Lapena y Rosalía Estella, mis segundos padres, gracias por hacerme sentir como a una hija, sin vosotros parte de esta tesis no se hubiera podido realizar.

A mis padres, Juan Carlos y Marisol, por darme la vida, por enseñarme que los sueños pueden conseguirse trabajando y por transmitirme el amor por esta, vuestra, nuestra profesión. Papá, espero que estés sonriendo desde las estrellas.

A mis tres hermanos, Joan Carles, Beatriz y Alex, simplemente, os quiero.

A Yolanda, por escucharme y acogerme tanto en los buenos como en los malos momentos.

A Albert y Carol, por ayudarme a crecer y compartir vuestras risas conmigo.

A Iker, Erik y Jordi, por sacar a jugar a la niña que hay en mí.

Esta tesis está dedicada a Àlex, mi amor, mi amigo y compañero de vida, gracias por tenerme presente siempre y apoyarme en todo y no desistir en ello, aunque a veces te lo ponga difícil. Quiero agradecerte el haberme dado a Aleix, mi luz en medio de la oscuridad. Gracias mis chicos.

## **2. ÍNDICE DE ABREVIATURAS**

## ÍNDICE DE ABREVIATURAS

## 2. ÍNDICE DE ABREVIATURAS

AI: angiotensina-I  
 AII: angiotensina-II  
 ADOs: antidiabéticos orales  
 AGEs: productos finales de glucosilación avanzada  
 ALEs: productos avanzados de la lipoxidación  
 ARA2: antagonistas del receptor de la angiotensina 2  
 AT1: receptor tipo 1 de angiotensina  
 AT2: receptor tipo 2 de angiotensina  
 AUC: área bajo la curva  
 BNP: péptido natriurético de tipo B  
 BMP-7: proteína morfogénica ósea renal 7  
 CCR: carcinoma de células renales  
 CV: cardiovascular  
 DM: Diabetes mellitus  
 DRC: dominio de reconocimiento de carbohidratos  
 DT1: Diabetes tipo 1, diabéticos tipo 1  
 DT2: Diabetes tipo 2, diabéticos tipo 2  
 ECA: enzima convertidora de la angiotensina  
 ERC: enfermedad renal crónica  
 ERCA: enfermedad renal crónica avanzada  
 ERCT: enfermedad renal crónica terminal  
 ERD: Enfermedad Renal Diabética  
 ERT: Enfermedad Renal Terminal  
 FGe: filtrado glomerular estimado  
 FRA: fracaso renal agudo  
 G1: grado 1 de enfermedad renal crónica  
 G2: grado 2 de enfermedad renal crónica  
 G3: grado 3 de enfermedad renal crónica  
 G4: grado 4 de enfermedad renal crónica  
 G5: grado 5 de enfermedad renal crónica  
 Gal3: Galectina-3  
 GC-LC/MS: cromatografía de gas y líquida en tándem con espectrometría de masas  
<sup>1</sup>H-RMN: resonancia magnética nuclear de emisión de protones  
 HbA1c: hemoglobina glucosilada  
 HD: hemodiálisis  
 HR: hazard ratio  
 HTA: hipertensión arterial  
 IC: intervalo de confianza  
 IC: insuficiencia cardíaca  
 IECA: inhibidor de la enzima convertidora de angiotensina

## ÍNDICE DE ABREVIATURAS

IFTA: fibrosis intersticial y atrofia tubular  
IGF1: factor de crecimiento de insulina tipo 1  
IL: interleukina  
IMC: índice de masa corporal  
iSGLT2: inhibidor del transportador sodio glucosa tubular tipo 2  
MBG: membrana basal glomerular  
ME: microscopia electrónica  
ND: nefropatía diabética  
NO: óxido nítrico  
OR: odds ratio  
PA: presión arterial  
proBNP-NT: péptido natriurético de tipo pro-B, N-terminal  
RAGE: receptor de los AGE  
RD: retinopatía diabética  
ROS: especies reactivas de oxígeno  
RMN: resonancia magnética nuclear  
RR: riesgo relativo  
SGLT2: transportador sodio glucosa tubular tipo 2  
SRAA: sistema renina-angiotensina-aldosterona  
TNF: factor de necrosis tumoral  
TSR: tratamiento sustitutivo renal  
VEGF: factor de crecimiento endotelial vascular

## 3. ÍNDICE

## ÍNDICE

### 3. ÍNDICE

1. AGRADECIMIENTOS (pág. 7)
2. ÍNDICE DE ABREVIATURAS (pág. 11)
3. ÍNDICE (pág. 15)
4. RESUMEN (pág. 21)
5. ÍNDICE DE TABLAS (pág. 27)
6. ÍNDICE DE FIGURAS (pág. 31)
7. INTRODUCCIÓN (pág. 35)
  - 7.1. Nefropatía diabética (pág. 37)
    - 7.1.1. Definición de nefropatía diabética (pág. 38)
    - 7.1.2. Histopatología de la nefropatía diabética (pág. 39)
    - 7.1.3. Evolución de la nefropatía diabética (pág. 41)
  - 7.2. Fisiopatología de la nefropatía diabética (pág. 44)
    - 7.2.1. Estrés oxidativo (pág. 44)
    - 7.2.2. Productos finales de glucosilación avanzada (AGE) (pág. 44)
    - 7.2.3. Hiperfiltración glomerular (pág. 46)
    - 7.2.4. Factores de crecimiento y otros (pág. 49)
  - 7.3. Factores de riesgo asociados al desarrollo de nefropatía diabética (pág. 50)
    - 7.3.1. Susceptibilidad genética (pág. 50)
    - 7.3.2. Edad (pág. 51)
    - 7.3.3. Presión arterial (pág. 51)
    - 7.3.4. Control glucémico (pág. 51)
    - 7.3.5. Raza (pág. 52)
    - 7.3.6. Otros (pág. 53)
  - 7.4. Marcadores clásicos para el diagnóstico de la nefropatía diabética (pág. 53)
    - 7.4.1. Relación entre nefropatía diabética y retinopatía (pág. 55)
  - 7.5. Bases de datos y cohortes con biobancos (pág. 57)
  - 7.6. Concepto de metabolómica (pág. 57)
    - 7.6.1. Metabolómica y función renal (pág. 58)
  - 7.7. Galectina-3 (pág. 60)
    - 7.7.1. Galectina-3 en insuficiencia cardíaca (pág. 64)
    - 7.7.2. Galectina-3 en otras enfermedades cardiovasculares (pág. 65)
    - 7.7.3. Galectina-3 y cáncer (pág. 66)
    - 7.7.4. Galectina-3 como marcador de daño renal general (pág. 67)
    - 7.7.5. Galectina-3 como marcador de daño renal asociado a la diabetes (pág. 69)
    - 7.7.6. Galectina-3 como diana terapéutica (pág. 72)
8. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS (pág. 75)

- 8.1. Hipótesis (pág. 77)
- 8.2. Objetivos (pág. 78)
- 9. MATERIAL Y MÉTODOS (pág. 79)**
  - 9.1. Metodología de la creación de la cohorte GenoDiabMar (pág. 81)
    - 9.1.1. Diseño del estudio (pág. 81)
    - 9.1.2. Criterios de inclusión (pág. 82)
    - 9.1.3. Historia médica y evaluación de los factores de riesgo cardiovascular (pág. 83)
    - 9.1.4. Medidas antropométricas y evaluación del examen físico (pág. 84)
    - 9.1.5. Datos de laboratorio (pág. 84)
  - 9.2. Características básicas de las cohortes europeas utilizadas en la réplica de resultados de metabolómica (pág. 85)
  - 9.3. Metodología de la detección de los perfiles de los metabolitos (pág. 86)
    - 9.3.1. Metodología de la determinación de Galectina-3 (pág. 87)
- 10. RESULTADOS (pág. 89)**
  - 10.1. Características básicas de los pacientes de la cohorte GenoDiabMar (pág. 91)
    - 10.1.1. Factores de riesgo cardiovascular y eventos cardiovasculares (pág. 91)
    - 10.1.2. Listado de medicación habitual (pág. 92)
    - 10.1.3. Variables analíticas (pág. 93)
  - 10.2. Estudios de asociación sin hipótesis previa. Asociación de perfiles de metabolómica con la función renal (pág. 96)
    - 10.2.1. Estudios de metabolómica en la cohorte GenoDiabMar (pág. 96)
    - 10.2.2. Estudios de metabolómica y su asociación con la función renal. Réplica en 4 cohortes europeas (pág. 99)
  - 10.3. Estudio dirigido de asociación de marcador conocido. Resultados de estudios de asociación de función renal y Galectina-3 (pág. 106)
    - 10.3.1. Análisis transversales de asociación de la función renal y la Galectina-3 (pág. 108)
    - 10.3.2. Análisis longitudinales de asociación de la función renal y la Galectina-3 (pág. 112)
- 11. DISCUSIÓN (pág. 115)**
  - 11.1. Factores de riesgo cardiovascular del registro GenoDiabMar (pág. 117)
  - 11.2. Eventos cardiovasculares del registro GenoDiabMar (pág. 119)
  - 11.3. Retinopatía diabética en el registro GenoDiabMar (pág. 120)
  - 11.4. Estudios de metabolómica (pág. 122)
    - 11.4.a Aminoácidos (pág. 122)
    - 11.4.b Metabolitos relacionados con la energía (pág. 123)
    - 11.4.c Subclases de lipoproteínas y su componente lipídico (pág. 123)

- 11.5. Galectina-3 sérica en la cohorte GenoDiabMar (pág. 125)
- 12. LIMITACIONES DE LOS ESTUDIOS Y PERSPECTIVAS  
FUTURAS (pág. 131)
- 13. CONCLUSIONES (pág. 135)
- 14. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS (pág.141)
- 15. ANEXOS (pág. 163)

## RESUMEN

## 4. RESUMEN

## RESUMEN

## 4. RESUMEN

**HIPÓTESIS:** Existen marcadores de daño renal asociados a la diabetes mellitus tipo 2 (DT2) más sensibles y específicos que los utilizados actualmente. La metabolómica podría ayudar a identificar algunos de ellos y contribuiría a mejorar el entendimiento de su fisiopatología. La Galectina-3 circulante (Gal3) puede elevarse en la nefropatía diabética y asociarse con peor evolución de la función renal. Dada la complejidad de los mecanismos relacionados con el daño renal en la diabetes, un análisis metabolómico aportaría unos resultados más fiables asociados al daño renal tanto diagnósticos como pronósticos.

**OBJETIVOS:** Investigar nuevos marcadores diagnósticos y pronósticos más sensibles y específicos de la enfermedad renal diabética en la DT2 mediante la creación de una cohorte de adultos diabéticos con biobanco (GenoDiabMar). Identificar moléculas pequeñas y perfiles lipídicos asociados con la función renal en cohortes de pacientes DT2 con distintos grados de afectación renal sin hipótesis previa mediante metabolómica de la cohorte GenoDiabMar y asociar estos perfiles con la retinopatía diabética (RD). Replicar y comparar los resultados obtenidos con otras cohortes europeas externas. Aproximación dirigida de marcador conocido (Gal3) analizando su asociación cuantitativa, transversal y longitudinal entre la función renal y los niveles circulantes de Gal3 en la cohorte GenoDiabMar.

**CONCLUSIONES:** La cohorte GenoDiabMar es útil para valorar las complicaciones subyacentes asociadas a la ERD en la DT2. El biobanco hace posible plantear hipótesis en la búsqueda de nuevos biomarcadores, ya que permite contar con análisis de datos *ómicos*. En nuestro análisis metabolómico sin hipótesis previa y no dirigido, encontramos 87 metabolitos significativamente asociados con el filtrado glomerular estimado (FGe). La mayoría mostraron tendencia asociativa con la RD. En la comparación con otras tres cohortes europeas y separando a los participantes según la condición tener o no DT2, encontramos numerosos metabolitos significativamente asociados con la función renal, tanto en poblaciones diabéticas como no diabéticas, con una importante concordancia entre ellos. Encontramos diferencias notables entre las asociaciones de metabolitos con la función renal según la condición diabética. En una subpoblación de la cohorte GenoDiabMar, los niveles circulantes de Gal3 se asociaron negativamente con el FGe independientemente de otros co-factores, observándose un aumento significativo de estos niveles a medida que aumentaba el grado de ERD. El valor de Gal3 de mayor sensibilidad y especificidad para discernir entre tener o no ERD se estimó en 18.8 ng/mL. La combinación de Gal3 con otros factores clínicos como la edad, la hipertensión arterial y la presencia de RD aumenta significativamente la predicción de padecer o no ERD. Los pacientes en los cuartiles más elevados de Gal3 presentaron mayor riesgo de deterioro rápido de la función renal. Cada aumento de una unidad de Gal3, se asoció con una pérdida anual de FGe de 0.23

## RESUMEN

ml/min/1.73m<sup>2</sup>. Nuestros resultados confirman que son numerosas las vías relacionadas con la ERD y probablemente debemos de modificar nuestro acercamiento a su estudio. El cambio de análisis de marcadores simples a valoraciones más complejas nos permite superar el concepto de biomarcador único y detectar paneles de biomarcadores, que nos ayuden a predecir la enfermedad de manera más precoz y puedan aportar un valor pronóstico y evolutivo.

**HYPOTHESIS:** There are markers of diabetic kidney disease (DKD) in type 2 diabetes (T2D) more sensitive and specific than those currently used. Metabolomics may help to identify some of them and improve understanding the underlying pathophysiology. Circulating Galectin-3 (Gal3) may be elevated in DKD and associated with worse evolution of renal function. Given the complexity of the mechanisms related to DKD, a metabolomic analysis would provide more reliable results associated with renal damage, both diagnostic and prognostic.

**OBJECTIVES:** To investigate new diagnostic markers and more sensitive and specific predictions of DKD in T2D by creating a cohort of diabetic adults with a biobank (GenoDiabMar). To identify small molecules and lipid profiles associated with renal function in cohorts of DT2 patients with different degrees of renal involvement without prior hypothesis using the GenoDiabMar cohort and associating these profiles with diabetic retinopathy (DR). Replicate and compare the results obtained with other external European cohorts. Directed approach of known marker (Gal3) analyzing its quantitative, transversal and longitudinal association between renal function and circulating levels of Gal3 in the GenoDiabMar cohort.

**CONCLUSIONS:** The GenoDiabMar cohort is useful to assess the underlying complications associated with DKD in T2D. The biobank makes it possible to raise hypotheses in the search for new biomarkers, since it allows for the analysis of omic data. In our metabolomic analysis without prior and unaddressed hypothesis, we found 87 metabolites significantly associated with the estimated glomerular filtration rate (eGFR). Most showed an associative tendency with the DR. In the comparison with other three European cohorts and separating the participants according to whether or not they had T2D, we found numerous metabolites significantly associated with renal function, both in diabetic and non-diabetic populations, with an important concordance between them. We found notable differences between the associations of metabolites with renal function according to the diabetic condition. In a subpopulation of the GenoDiabMar cohort, the circulating levels of Gal3 were negatively associated with the eGFR regardless of other co-factors, with a significant increase in these levels being observed as the degree of DKD increased. The Gal3 value of greater sensitivity and specificity to discern whether or not to have DKD was estimated at 18.8 ng/mL. The combination of Gal3 with other clinical factors such as age, arterial hypertension and the presence of DR significantly increases the prediction of whether or not to suffer from DKD. Patients in the highest quartiles of Gal3 had a higher risk of rapid deterioration of renal function. Each increase of one unit of Gal3 was associated with an annual loss of eGFR of 0.23 ml/min/1.73m<sup>2</sup>. Our results confirm that there are numerous pathways related to DKD and we should probably modify our approach to its study. The change of analysis from simple markers to more complex valuations allows us to overcome the concept of a unique biomarker and detect biomarker panels, which

## RESUMEN

help us to predict the disease in a more precocious way and can provide a prognostic and evolutionary value.

## 5. ÍNDICE DE TABLAS



## 5. ÍNDICE DE TABLAS

**Tabla 1:** Características clínicas generales de los participantes del registro GenoDiabMar en su visita basal distribuidas según grados de ERC. (pág. 92)

**Tabla 2:** Principales variables analíticas de los participantes del registro GenoDiabMar en su visita basal. (pág. 94)

**Tabla 3:** Características generales de la población del registro GenoDiabMar en su visita basal, distribuida según si presentaban o no enfermedad renal diabética (ERD). (pág. 95)

**Tabla 4:** Asociaciones metabólicas con daño microvascular. (pág. 97)

**Tabla 5:** Características generales de las poblaciones europeas incluidas en los estudios de réplica y comparativa entre diabéticos y no diabéticos. (pág. 102)

**Tabla 6:** Características generales de la sub-población de la cohorte GenoDiabMar en la que se han hecho los estudios de asociación del FGe y los niveles circulantes de Gal3. (pág. 107)

**Tabla 7:** Principales variables analíticas de la sub-población de la cohorte GenoDiabMar en la que se han hecho los estudios de asociación del FGe y los niveles circulantes de Gal3. (pág. 108)

**Tabla 8:** Análisis univariado de variables de la sub-población GenoDiabMar utilizada en el estudio de asociación de Gal3 y FGe. (pág. 109)

**Tabla 9:** Análisis multivariado de regresión logística. (pág. 111)

**Tabla 10:** Características de los parámetros renales en la evolución a 4 años. (pág. 113)

**Tabla 11:** Análisis longitudinal multivariado de asociación Gal3 y evolución de función renal. (pág. 113)



## **6. ÍNDICE DE FIGURAS**

## ÍNDICE DE FIGURAS

## 6. ÍNDICE DE FIGURAS

- Figura 1:** Engrosamiento difuso de la membrana basal glomerular. (pág. 39)
- Figura 2:** Glomérulo de un paciente diabético tipo 1 con lesiones nodulares. (Kimmelstiel-Wilson) (pág. 40)
- Figura 3:** Hialinosis glomerular del polo vascular y un residuo de la lesión de Kimmelstiel-Wilson en el lado opuesto del polo (clase IV). (pág. 40)
- Figura 4:** Formación de productos finales de glucosilación avanzada (AGE). (pág. 45)
- Figura 5:** Efectos renales de la inhibición del SGLT2 y del bloqueo del SRAA. (pág. 48)
- Figura 6:** Metabolómica en la cascada ómica y vías hacia la medicina personalizada en enfermedades renales. (pág. 58)
- Figura 7:** Estructura de las galectinas según la organización de su dominio de reconocimiento de carbohidratos. (pág. 61)
- Figura 8:** Interacciones de Gal3. (pág. 61)
- Figura 9:** Acciones inmuno-moduladoras de la Gal3. (pág. 63)
- Figura 10:** Diagrama de flujo del registro GenoDiabMar. (pág. 82)
- Figura 11:** Medidas metabolómicas asociadas a complicaciones microvasculares de la diabetes. (pág. 99)
- Figura 12:** Comparación de asociaciones metabolómicas con la función renal entre diabéticos tipo 2 y no diabéticos. (pág. 101)
- Figura 13:** Diagrama de flujo que ilustra el esquema de trabajo para identificar los marcadores metabolómicos asociados a enfermedad renal en las poblaciones diabéticas y no diabéticas. (pág. 103)
- Figura 14:** Rasgos metabolómicos asociados con FGe en cohortes diabéticas y no diabéticas. (pág. 104)
- Figura 15:** Clases de lipoproteínas en detalle, asociadas con FGe en cohortes diabéticas y no diabéticas. (pág. 105)
- Figura 16:** Curva ROC de ERD incluyendo los valores de Gal3 circulante. (pág. 110)
- Figura 17:** Curva ROC, tras aplicar el Score con variables clínicas y analíticas incluyendo Gal3. (pág. 112)
- Figura 18:** Odds ratio de progresión rápida del FGe. (pág. 114)



## 7. INTRODUCCIÓN

## INTRODUCCIÓN

## 7. INTRODUCCIÓN

La incidencia y prevalencia de la diabetes mellitus (DM) continúan aumentando en países desarrollados, y sobre todo en los países en vía de desarrollo, donde la obesidad está alcanzando niveles de pandemia. Actualmente, se estima que la DM afecta entorno a un 10% de la población adulta entre 20 y 79 años y se considera un problema de salud pública mundial. La Federación Internacional de Diabetes estimó en el 2015 que uno de cada 11 adultos tiene DM y hasta la mitad de ellos podría desconocerlo (1). En los países desarrollados la DM supone un 12% del gasto global en salud (2).

La prevalencia de DM tipo 1 (DT1) en España se estima en el 0.3% del total de la población, pero la prevalencia de DM tipo 2 (DT2) es mucho mayor. El estudio Di@betes reportó una prevalencia total del 13.8% ajustada por edad y género y casi la mitad, un 6%, desconocía su condición de diabético (3). La distribución de la prevalencia de la DM en España varía en relación a factores como la alimentación y los índices de pobreza: se estima una prevalencia del 2.8% en La Rioja y un 3.4% en Asturias, un 7.3% en Andalucía y un 8.1% en Canarias (4). La importancia de esta entidad radica no solo en el impacto directo en la calidad de vida de los afectados, sino en la asociación de enfermedades micro y macrovasculares. La DM puede producir complicaciones crónicas macrovasculares como la enfermedad cardíaca isquémica, la isquemia cerebral o la vasculopatía periférica, y microvasculares, clásicamente la retinopatía diabética (RD) y la nefropatía diabética (ND).

### 7.1. Nefropatía diabética

Entre un 25 y un 40% de los pacientes diabéticos presentarán algún grado de nefropatía a lo largo de su evolución (5). La presencia de afectación renal asociada a la diabetes, conlleva un mayor daño endotelial en territorios externos al riñón y consecuentemente un mayor aumento del riesgo cardiovascular (6). La prevalencia de las complicaciones asociadas a la DM ha disminuido en la última década, si bien la afectación renal constituye una excepción (7). La afectación renal asociada a la diabetes continúa siendo la principal causa de enfermedad renal terminal (ERT) en los países desarrollados y es necesario mejorar el conocimiento existente en la fisiopatología de la misma, en la detección de marcadores más precoces y eficaces, y en su diagnóstico y monitorización.

### 7.1.1. Definición de nefropatía diabética

En 1936, los patólogos Kimmelstiel y Wilson, basándose en el estudio de 8 necropsias, mostraron el impacto que tiene la DM sobre el riñón describiendo la formación de nódulos hialinos en los glomérulos (8). A dicha lesión se la denominó glomeruloesclerosis nodular. En 1942, Bell E.T. describió la glomeruloesclerosis difusa, diferenciándola de la nodular, y señaló la gran importancia de las lesiones arteriolares en la patogenia de la nefropatía diabética (9). Posteriormente, en 1954, Lunbaek K. propuso el término de microangiopatía diabética basándose en el hallazgo común de enfermedad de pequeños vasos tanto en la retinopatía como en la ND (10). La ND es un término genérico que incluye todas las manifestaciones renales secundarias a la DM, si bien en la práctica está reservado para la afectación glomerular y arteriolar de la DM confirmada mediante biopsia renal.

La enfermedad renal diabética (ERD) se define como aquella afección renal en el paciente diabético, dependiente o no de insulina, que presenta proteinuria igual o superior a 300 mg/día con distintos grados de función renal. Esta definición se establece en ausencia de otra enfermedad renal confirmada, si bien puede coexistir más de una entidad renal en un mismo paciente. Suele acompañarse de hipertensión arterial (HTA) y disminución de la función renal a medida que avanza la enfermedad. La presencia de retinopatía diabética proliferativa es un criterio diagnóstico de soporte de ERD, pero su ausencia no excluye la existencia de esta entidad (11).

En nuestro país, la ND es la causa de la enfermedad renal de hasta un 40% de los pacientes con ERT, si bien estos datos varían según las series y la zona geográfica. Por ejemplo, según el último informe estadístico del registro catalán de enfermos renales de 2016, en los pacientes que iniciaron tratamiento sustitutivo renal (TSR) en Cataluña, la ND fue la primera causa de nuevos casos, suponiendo un 41.7% del total, y se observa sobre todo en pacientes de edad más avanzada (12). Sin embargo, datos recientes del registro de la Sociedad Española de Nefrología y de la Organización Nacional de Trasplante muestran que, si bien la DM sigue siendo la primera causa de ERC que requiere TSR, en los últimos años, se está observando una estabilización en la incidencia de pacientes que requieren TSR y cuya causa primaria de ERC es la DM (13).

La introducción de la biopsia renal percutánea y la disponibilidad del microscopio electrónico han permitido conocer a fondo las características histológicas de la enfermedad. A pesar de estos avances, existen múltiples interrogantes por resolver acerca de su fisiopatología y evolución. Debemos de tener en cuenta que la presencia de ND es, además, un importante predictor de enfermedad cardiovascular y mortalidad asociada, siendo la mortalidad cardiovascular de los

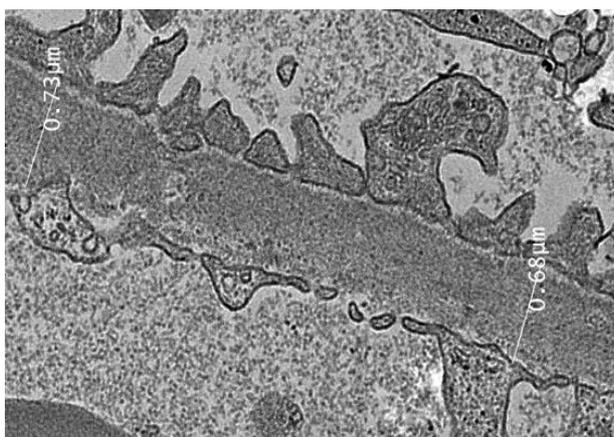
pacientes afectados de ERT asociada a la diabetes hasta 10 veces superior que la que acontece en los individuos de su misma edad (7,14).

### 7.1.2. Histopatología de la nefropatía diabética

Antes de la aparición de alteraciones clínicas o analíticas, ya pueden observarse anomalías histológicas en pacientes con DM. Hay cuatro cambios histológicos principales a nivel glomerular: expansión mesangial, engrosamiento de la membrana basal glomerular (MBG), lesión de podocitos, y esclerosis glomerular (15,16). En grados avanzados, se pueden detectar en el glomérulo lesiones/nódulos de Kimmelstiel-Wilson que, a menudo, se asocian con depósitos hialinos en las arteriolas glomerulares. Estos depósitos reflejan la insinuación de proteínas plasmáticas como la fibrina, albúmina, inmunoglobulinas y el complemento en la pared vascular (17).

La expansión mesangial y la glomerulosclerosis no siempre se desarrollan en paralelo, lo que sugiere que pueden tener una patogénesis subyacente diferente. El comité de investigación de la Renal Pathology Society (17) desarrolló una clasificación de la ND tipo 1 y tipo 2. Se definieron cuatro clases de lesiones glomerulares:

- Clase I: cambios leves o inespecíficos en la microscopía de luz y engrosamiento de la MBG demostrado por microscopía electrónica (ME) (Figura 1). Engrosamiento de la MBG aislada. Las membranas basales tienen más de 430 nm en hombres mayores de 9 años y 395 nm en mujeres. No hay evidencia de expansión mesangial, aumento de la matriz mesangial o glomeruloesclerosis global que involucre más del 50% de los glomérulos.

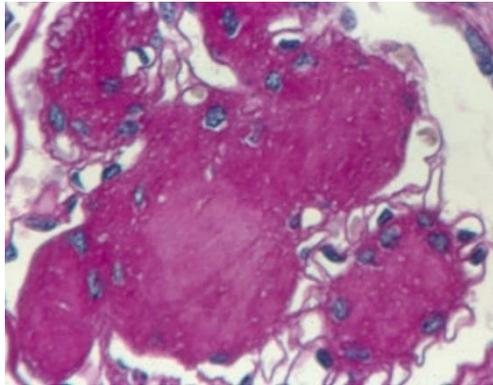


**Figura 1.** Engrosamiento difuso de la membrana basal glomerular (véase el resultado de la medición de su espesor). ME, aumento original, x10.000. Fuente de datos: [www.Kidney pathology.com](http://www.Kidney pathology.com)

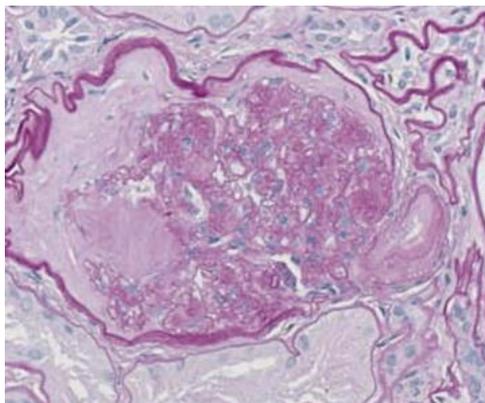
- Clase II: expansión mesangial leve (clase IIa) o severa (clase IIb). Una lesión se considera grave si las áreas de expansión más grandes que el área media de un lumen capilar están presentes en más del 25% del mesangio total.

## INTRODUCCIÓN

- Clase III: al menos una lesión de Kimmelstiel-Wilson (glomeruloesclerosis nodular intercapilar) y hay menos del 50% de glomeruloesclerosis global.
- Clase IV: esclerosis diabética avanzada. Existe más del 50% de glomeruloesclerosis global que se atribuye a la ND. Puede haber lesiones de clase I a III. (Figuras 2 y 3)



**Figura 2. Glomérulo de un paciente diabético tipo 1 con lesiones nodulares (Kimmelstiel-Wilson).** Nótese la palidez nuclear en la periferia de los nódulos, el acúmulo central de matriz y la restricción de los capilares glomerulares (tinción PAS). Fuente de datos: Fioretto y Mauer (18).



**Figura 3. Hialinosis glomerular del polo vascular y un residuo de la lesión de Kimmelstiel-Wilson en el lado opuesto del polo (clase IV).** Fuente de datos: Tervaert (17).

La expansión mesangial se define como un aumento en el material extracelular en el mesangio, de tal manera que, la anchura del área mesangial excede dos núcleos de células mesangiales en al menos dos lóbulos glomerulares. La diferencia entre expansión mesangial leve y severa se basa en si el área mesangial expandida es menor o mayor que el área media de una luz capilar.

A las severidades de las lesiones intersticiales y vasculares también se les asignaron puntuaciones en esta clasificación:

- Puntuación de 0 si el intersticio no tenía áreas de fibrosis intersticial y atrofia tubular (IFTA); puntuaciones de 1, 2 o 3 si las áreas de IFTA eran de <25, de 25 a 50 o de >50%, respectivamente.
- Puntuación de 0 si no había linfocitos T o infiltrado de macrófagos. Puntuaciones de 1 o 2 si el infiltrado se limitaba al área que rodea los túbulos atróficos, o si el infiltrado no estaba limitado, respectivamente.

## INTRODUCCIÓN

- Puntuaciones de 0, 1 o 2 si no había hialinosis arteriolar, una arteriola o más de una arteriola con hialinosis. Además, a la arteriola más gravemente afectada (arteriosclerosis) se le asignó una puntuación de 0, 1 o 2 si no había engrosamiento de la íntima, engrosamiento de la íntima menor del grosor de la media o engrosamiento de la íntima mayor del grosor de la media.

Un estudio piloto en el que cinco patólogos clasificaron de forma independiente 25 biopsias, demostró una buena reproducibilidad entre observadores (coeficiente de correlación intraclase [estadístico kappa] de 0.84). Aunque este esquema de clasificación es útil para los patólogos, su utilidad clínica es desconocida. Si bien las lesiones precoces de enfermedad renal diabética pueden ser reversibles, también se han visto lesiones con grado avanzado con baja repercusión clínica, por lo que el valor pronóstico de esta clasificación continúa sin confirmarse.

Por otro lado, existen diversas causas de glomeruloesclerosis nodular que no son atribuibles a la ND (19). Por ejemplo, puede observarse en otras enfermedades de depósito como las disproteinemias; la amiloidosis y las enfermedades por depósito de inmunoglobulina monoclonal, en su mayoría enfermedad por depósito de cadena ligera kappa; enfermedades de depósito glomerular organizada, glomerulonefritis fibrilar e inmunotactoide, glomerulopatía por fibronectina y glomerulopatía por colágeno III. También se ha descrito en afecciones hipóxicas o isquémicas crónicas, como cardiopatía, arteritis de Takayasu con estenosis de la arteria renal o fibrosis quística (20) o bien en otras entidades como glomerulonefritis membranoproliferativa crónica (tipo I) o la glomeruloesclerosis nodular idiopática, que se asocia frecuentemente con el tabaquismo, la hipertensión y el síndrome metabólico, pero sin diabetes mellitus asociada (21,22). El diagnóstico diferencial de muchas de estas condiciones se basa en datos clínicos y analíticos, así como hallazgos característicos observados mediante inmunofluorescencia o microscopía electrónica de las biopsias renales.

### **7.1.3. Evolución de la nefropatía diabética**

La descripción de la historia natural de la afectación renal en los diabéticos tipo 1 (DT1), es más precisa que en la DT2, entre otras cosas porque se conoce exactamente el inicio de la enfermedad renal diabética en estos individuos. Podemos estimar que después de una duración media de la diabetes de 15 años, alrededor del 20 al 30% de pacientes presentarán microalbuminuria (cociente albúmina/creatinina en orina entre 30-300 mg/g) (23,24). Aquellos pacientes que no tienen proteinuria después de 20 a 25 años tienen un riesgo de desarrollar una enfermedad renal manifiesta de solo alrededor del 1% por año, al menos entre los caucásicos (25). Menos de la mitad de estos pacientes progresarán a nefropatía manifiesta (definida en este estudio como, excreción de albúmina en orina >300 mg/día). La microalbuminuria puede remitir o permanecer estable en una

proporción sustancial de pacientes, probablemente gracias al control glucémico y de la presión arterial con fármacos dirigidos a disminuir la presión de filtrado glomerular (FG) como los inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina (IECA) y antagonistas del receptor de la angiotensina 2 (ARA2). Si no hay un buen control glucémico y de presión arterial principalmente con el uso de estos fármacos, estas poblaciones presentan una alta incidencia de desarrollar nefropatía manifiesta (25-45%) y ERT, de hasta el 17% a 20 años del diagnóstico de DT1 (23,26–31). Además, después del desarrollo de macroalbuminuria (>300 mg de albúmina/orina/día), la mayoría de los pacientes progresaba a la ERT.

Con la mejoría del control glucémico y el uso de IECA y ARA2 para controlar la presión arterial, los pacientes con DT1 actualmente presentan unas tasas más bajas de nefropatía manifiesta y ERT. Un estudio sueco observó una reducción en la ND clínicamente evidente a 8.9% a los 25 años, como potencial reflejo de un mejor control glucémico (32). La concentración de hemoglobina glucosilada (HbA1c) en la última parte de este período de seguimiento fue de promedio de un 7.0%; los pacientes sin macroalbuminuria tenían una concentración de HbA1c más baja que aquellos con proteinuria (7.1% versus 8.1%). En otro estudio en el que no se consiguió este grado de control glucémico, no se observó una disminución similar en la incidencia de ND (33). Un estudio finlandés evaluó los resultados a largo plazo de más de 20.000 pacientes durante un período de 34 años (34). Durante el seguimiento, la progresión a ERT ocurrió en solo 632 pacientes, con una incidencia acumulada de 2.2% y 7.8% a los 20 y 30 años, respectivamente. Así mismo, en la cohorte de DT1 DCCT/EDIC, menos del 2% (10 de 711) de los pacientes tratados intensivamente desarrollaron insuficiencia renal (definida como creatinina sérica >2.0 mg/dl o tratamiento sustitutivo renal) durante un promedio de 30 años de duración de la diabetes (35). Por otro lado, la macroalbuminuria ya no representa una progresión inexorable a la ERT. La albuminuria puede retroceder, y las tasas de ERT pueden ser menores al 20% a los 10 años, como se muestra en el Estudio de Control y Complicaciones de la Diabetes (DCCT)/Epidemiología de las Intervenciones y Complicaciones de la Diabetes (EDIC) para la DT1 (35). Un buen control de la HbA1c y la presión arterial se asociaron con una mayor frecuencia de regresión de albuminuria y una menor incidencia de descenso de FGe y ERT.

Estudios clásicos han sugerido que en los pacientes con DT2 de origen caucásico, la prevalencia de la enfermedad renal progresiva ha sido generalmente más baja que en la DT1 (36). Sin embargo, esta observación puede ser debido a una aparición más tardía de la enfermedad y a una "exposición" de duración más corta en la DT2 que en la DT1, y puede que no se aplique a todos los grupos con DT2, algunos de los cuales han tenido un pronóstico renal más ominoso. Por ejemplo, en estudios realizados en poblaciones de alto riesgo como los indios Pima diabéticos, la nefropatía se desarrolló en hasta el 50% a los 20 años, llegando un

## INTRODUCCIÓN

15% de ellos a ERT (37). Sin embargo, la implantación de un mejor control glucémico y de fármacos básicos como IECAs/ARA2, demostró una reducción de estas cifras. Otro estudio posterior, observó que la incidencia de ERT diabética había disminuido significativamente desde el período 1991-1994 hasta el período 1999-2002 (32 a 15 casos por 1000 pacientes-año, respectivamente) (38).

El tiempo hasta la proteinuria desde el inicio de la diabetes y el tiempo hasta la ERT desde el inicio de la proteinuria parecen similares en ambos tipos de DM (39,40). Algunos de los datos más sólidos relacionados con el desarrollo de la ND en una población amplia de pacientes predominantemente blancos con DT2 se objetivaron en el Estudio del Reino Unido sobre Diabetes (UKPDS) (41). Dicho estudio se diseñó para comparar la eficacia de diferentes regímenes de tratamiento (dieta, hipoglucemiantes orales, insulina, agentes antihipertensivos, diferentes objetivos de presión arterial y otras intervenciones) en el control glucémico y las complicaciones de la diabetes (incluida la enfermedad renal) en pacientes con diagnóstico reciente de DT2. A los 10 años del diagnóstico, la prevalencia de microalbuminuria, macroalbuminuria y una concentración plasmática elevada de creatinina (definida como 2.0 mg/dl) o el requerimiento de TSR fue respectivamente de un 25%, 5%, y 0.8% de la población estudiada, y las tasas anuales de aparición o progresión fueron de 2.0, 2.8 y 2.3% respectivamente. La estimación de la mediana del tiempo transcurrido en cada etapa sin progresión a otra etapa de nefropatía fue de 19, 11 y 10 años para las personas sin nefropatía, microalbuminuria y macroalbuminuria, respectivamente. Entre aquellos con una concentración plasmática de creatinina elevada ( $\geq 2.0$  mg/dl) se requirió TSR después de un período promedio de solo 2.5 años. Esta tasa de progresión es mayor que la observada en otros estudios, probablemente debido a que no se aplicaron tratamientos intensos con IECAs/ARA2 y control estricto de la presión arterial. Todo además en el contexto de una población con insuficiencia renal más avanzada, definida por una concentración sérica de creatinina  $\geq 2.0$  mg/dl.

Al igual que con la DT1, algunos pacientes con microalbuminuria debido a la DT2, particularmente aquellos con buen control glucémico, experimentan regresión de la microalbuminuria (42). Se estima que tras 10 años después del diagnóstico de DT2, alrededor de un 25% de los pacientes desarrollan algún grado de ND (41). Por lo tanto, las medidas que se aplican en la década de los noventa de mejor control glucémico y control presión arterial mediante bloqueo del sistema renina-angiotensina-aldosterona (SRAA), mejoran la prevalencia de la complicación renal. No obstante, su descenso es muy inferior al observado en otras complicaciones micro y macrovasculares de la DM (43) y la nefropatía continúa siendo la principal causa de enfermedad renal crónica avanzada (ERCA) en los países occidentales (44) y supone el 25-30% de los pacientes con ERT en nuestro país, según las series (3). En los últimos años y con la aparición de nuevos fármacos como los análogos de la incretina y los inhibidores del transportador sodio-glucosa tubular tipo 2,

parece que estamos atendiendo por primera vez en décadas, a una disminución de la prevalencia de ERC secundaria a DM.

Dentro de las causas de la dificultad en el descenso de la afectación renal en la diabetes, están las numerosas vías fisiopatológicas que se relacionan y que se repasan a continuación. Uno de los factores que más preocupa es la falta de marcadores, diagnósticos y pronósticos, más sensibles y específicos, sobre todo en grados precoces de la afectación renal.

## **7.2. Fisiopatología de la nefropatía diabética**

Los mecanismos patogénicos que contribuyen a la aparición y progresión de la ND en individuos susceptibles son diversos: la hiperfiltración glomerular, la hiperglucemia y el aumento de la producción de productos finales de glucosilación avanzada (AGE), la hipoxia, la inflamación y la activación de las citoquinas, entre otros. No solo intervienen alteraciones metabólicas, hormonales y hemodinámicas favorecidas por la hiperglucemia, sino que parecen existir condicionantes genéticos que explicarían la mayor predisposición de algunos diabéticos respecto a otros a desarrollar ND. Un porcentaje significativo de diabéticos desarrolla daño renal a pesar del control glucémico relativamente efectivo y a la inversa, algunos pacientes con una larga historia de diabetes no muestran compromiso renal. La gravedad del daño renal puede variar desde una ligera alteración de los marcadores séricos o urinarios hasta el fenotipo extremo de la enfermedad renal llegando a etapa terminal. Existen numerosas vías por las que puede producirse el daño renal asociado a la diabetes. A pesar de la prevalencia elevada de la ERD, los factores fisiopatológicos asociados a la misma no están completamente claros.

### **7.2.1 Estrés oxidativo**

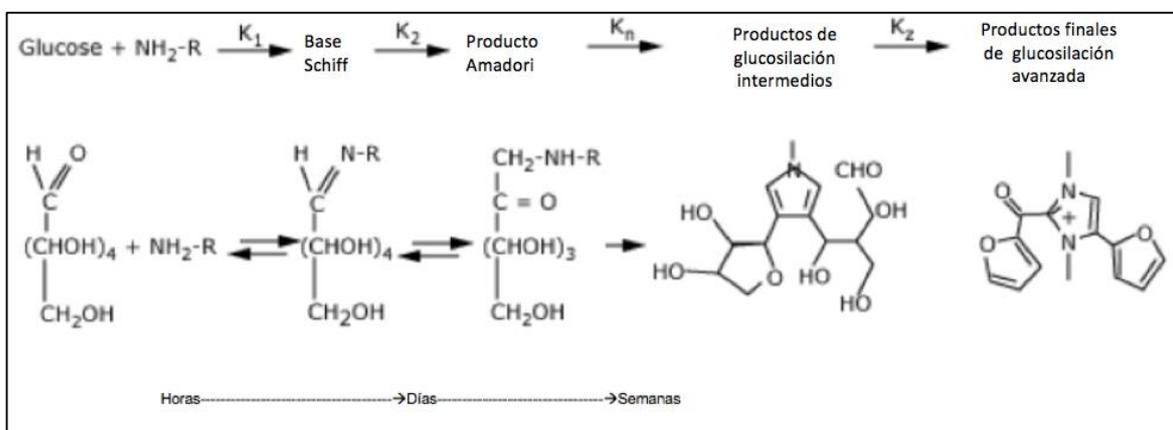
La hiperglucemia aumenta el estrés oxidativo (especies reactivas de oxígeno: ROS), que conducirá a alteraciones como el acúmulo de productos de glucosilación avanzada, activación de proteína quinasa C, activación de la vía de poliol que favorece el depósito de sorbitol y, finalmente, la activación de las hexosaminas. Las ROS incluyen iones de oxígeno, radicales libres y peróxidos. Las células mesangiales del glomérulo y epiteliales tubulares en respuesta a un estado hiperglucémico inducen la aparición de ROS (45,46). Activarán señales de transducción y factores de transcripción que favorecerán la expansión glomerular mesangial y la fibrosis intersticial.

### **7.2.2. Productos finales de glucosilación avanzada (AGE)**

## INTRODUCCIÓN

La ND se caracteriza por el acúmulo de la matriz extracelular que provoca una expansión del mesangio y una fibrosis tubulointersticial. La hiperglucemia es el principal determinante en el inicio y la progresión de las complicaciones microvasculares de la DM. Puede inducir directamente la expansión y lesión mesangial, a través de un aumento de la producción de matriz o la glucosilación de proteínas de la matriz. Estudios *in vitro* han demostrado que la hiperglucemia estimula la producción de matriz de células mesangiales (47) y la apoptosis de células mesangiales (48). La expansión de las células mesangiales parece estar mediada por un aumento en la concentración de glucosa de las células mesangiales, ya que se pueden inducir cambios similares en la función mesangial en un medio de glucosa normal mediante sobreexpresión de los transportadores de glucosa, lo que mejora la entrada de glucosa en las células (49).

La glucosilación de proteínas tisulares también puede contribuir al desarrollo de ND y otras complicaciones microvasculares. En la hiperglucemia crónica, parte del exceso de glucosa se combina con aminoácidos libres en proteínas circulantes o tisulares. Este proceso no enzimático forma inicialmente productos reversibles de glucosilación temprana (productos Amadori) como puede ser la hemoglobina glucosilada (HbA1c) y posteriormente AGEs (Figura 4).



**Figura 4. Formación de productos finales de glucosilación avanzada (AGEs).** Fuente: adaptado de Bucala y col. (50).

Los niveles circulantes de AGEs aumentan en los diabéticos, particularmente en aquellos con insuficiencia renal, ya que los AGEs normalmente se excretan en la orina (51). El efecto neto es la acumulación tisular de AGEs, en parte por la reticulación con colágeno, que puede contribuir a las complicaciones renales y microvasculares asociadas (52). Así mismo, los AGEs aumentan la rigidez de las proteínas, estimulan a los macrófagos para liberar factor de necrosis tumoral (TNF) e interleukina 1 (IL-1), aumentan la formación de radicales libres y disminuyen las cargas negativas de la membrana basal glomerular uniéndose al heparán sulfato.

Otros mecanismos propuestos por los que la hiperglucemia podría promover el desarrollo de ND por estas vías, incluyen la activación de la proteína quinasa C (53) y la sobreexpresión de heparanasa produciendo una disminución de heparán sulfato en la célula superficial pudiendo contribuir a la mayor permeabilidad de albúmina en la membrana basal glomerular (54,55).

### 7.2.3. Hiperfiltración glomerular

El rol de la hipertensión glomerular e hiperfiltración en la ND está reforzado por los beneficios aparentes del bloqueo del SRAA. El SRAA está implicado en el origen y mantenimiento del daño vascular y renal del paciente diabético (56). La angiotensina II (AII) actúa en los receptores AT1 y a través de la aldosterona, produce vasoconstricción sobre las arteriolas eferentes del glomérulo, produciendo un aumento de la presión glomerular y consecuentemente una mayor ultrafiltración de proteínas plasmáticas que contribuirá a la proteinuria. La AII también aumenta la reabsorción tubular de sodio y el estrés oxidativo, promoviendo secreción de citoquinas a nivel cardiovascular y renal favoreciendo el crecimiento celular, la inflamación y la fibrosis, entre otros efectos. Así mismo, la AII estimula la proliferación mesangial y la síntesis de componentes de la matriz extracelular como: fibronectina, laminina, colágenos I y IV, promoviendo la fibrosis glomerular y túbulointersticial (57).

En la DM existe un aumento de la activación del SRAA tisular renal (58–60). La producción y activación de los componentes del SRAA empieza con la producción de la renina a nivel yuxtglomerular (vía clásica), que actúa sobre el angiotensinógeno, produciendo angiotensina I (AI). Ésta tiene poco efecto sobre la presión arterial; a nivel pulmonar se convierte en AII a través de la enzima convertidora de la angiotensina (ECA). La AII a nivel cardiaco y renal se une a la proteína G, que está en los receptores tipo 1 (AT1) y tipo 2 (AT2). La activación del AT1 estimula los efectos dañinos de la AII, que son la vasoconstricción y la hipertrofia vascular y cardiaca, además de los eventos inflamatorios, proliferativos y fibróticos. Se estipula que este sistema se autorregula y está en equilibrio entre otros factores mediante la activación de otra vía interna catalizada por una segunda forma de la ECA, la ECA2, la cual ejerce sobre la AI la producción de la forma inactiva angiotensina 1-9, que, a su vez, mediante la acción de la ECA, se convierte en angiotensina 1-7, molécula vasodilatadora y antiproliferativa, sobretudo en condiciones donde el SRAA está más activado (61,62). La angiotensina II en su acción no paracrina, es capaz de inducir la secreción de aldosterona en la glándula suprarrenal, uno de los más importantes reguladores del balance de sodio y potasio corporales. La aldosterona ejerce efectos inflamatorios, promueve el estrés oxidativo y la fibrosis, independientemente de sus acciones prohipertensivas. En modelos experimentales, la aldosterona aumenta la síntesis de la proteína quimio-atrayente de monocitos (MCP-1), del factor de crecimiento transformante beta1

## INTRODUCCIÓN

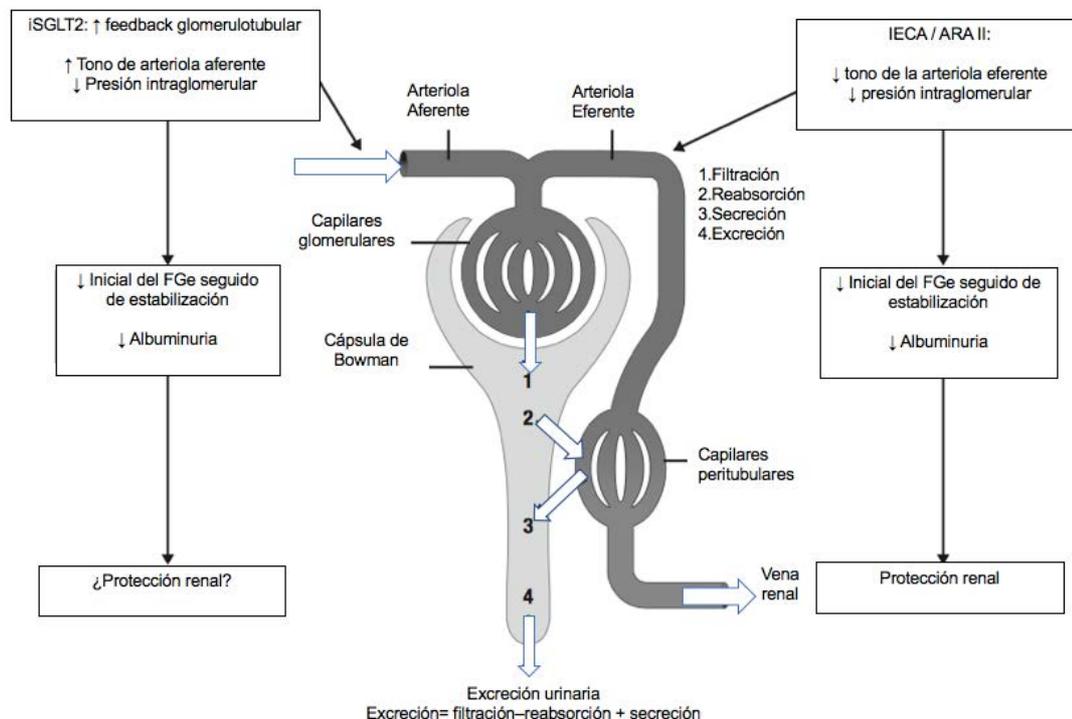
(TGF- $\beta$ 1) y del inhibidor del activador del plasminógeno tipo 1 y de la uroquinasa (PAI-1). Estas moléculas, promueven la infiltración renal por macrófagos CD68, empeoran la proteinuria y aceleran la fibrosis. Los antagonistas de la aldosterona no solo disminuyen la proteinuria, sino que también potencian el efecto de los inhibidores de la enzima convertidora y los antagonistas de los receptores AT1 de la angiotensina (63).

En los pacientes con DM puede existir un aumento del 25 al 50% del FGe al comienzo del curso de la enfermedad (64). La hipertrofia glomerular y el aumento del tamaño renal suelen acompañar el aumento del FGe. En general, el FGe aumenta en un 27% y 16% en pacientes recientemente diagnosticados con DT1 y DT2, respectivamente (65). Este aumento del FGe, asociado al aumento de presión e hiperfiltración glomerular, ocurre durante años antes del inicio de la pérdida de la función renal, su persistencia suele ir acompañada del inicio de la albuminuria, si bien como sabemos, ésta no siempre estará presente. Aproximadamente la mitad de los pacientes con DT1 de menos de cinco años de duración tienen un FG elevado (64). Los pacientes con hiperfiltración glomerular parecen tener un mayor riesgo de enfermedad renal diabética (66,67). Los hallazgos en la DT2 son algo diferentes. Hasta el 45% de los pacientes afectados inicialmente ya presentan un FGe que es más de 2 desviaciones estándar por encima de los controles no diabéticos y obesos de la misma edad (68–70). Sin embargo, el grado de hiperfiltración es menor que el observado en los DT1 (71).

Por lo tanto, la hiperfiltración es una característica típica y común en los diabéticos tanto tipo 1 como 2. Aunque la hiperglucemia está involucrada en esta anomalía hemodinámica, otros factores como la obesidad, la resistencia a la insulina y otros factores metabólicos asociados con el síndrome metabólico pueden contribuir tanto a la hiperfiltración como a la nefromegalia. Varios estudios clínicos han sugerido un posible papel de la hiperfiltración como un factor causante en la progresión de la enfermedad renal, aunque se necesitan más análisis para evaluar si la hiperfiltración glomerular puede ser un objetivo específico en la intervención renoprotectora (72). Estos pacientes con hiperfiltración, en los que ya se están empezando a producir daños renales, pasan con frecuencia desapercibidos en la consulta médica (73) y se retrasa el diagnóstico de ERD.

Existen algunos mecanismos que pueden estar relacionados con la hiperfiltración. Por ejemplo, la dilatación de la arteriola glomerular aferente (precapilar) juega un papel relevante. Los factores que pueden contribuir a la dilatación de la arteriola aferente incluyen el factor de crecimiento de insulina tipo 1 (IGF1), el péptido natriurético atrial, las hormonas sexuales (74,75), el sorbitol intracelular, los productos de glucosilación temprana o la reabsorción tubular de sodio en el túbulo proximal. En la ND existe un aumento de la reabsorción de sodio y retroalimentación túbulo-glomerular. Así, la reabsorción tubular de sodio, a través

del aumento del cotransporte de sodio-glucosa, lleva a la expansión del volumen del líquido extracelular, lo que puede ser un factor adicional que contribuye al aumento del FGe (76). La hiperinsulinemia (debido a la administración subcutánea) y la hiperglucemia leve también pueden estimular la reabsorción de sodio, esta última, a través del aumento del cotransporte sodio-glucosa en el túbulo proximal (76,77). El aumento de la reabsorción proximal inicialmente disminuye el suministro de volumen distal, que, al activar el mecanismo de retroalimentación túbulo-glomerular en la mácula densa, puede elevar el FGe a través de la dilatación de la arteriola aferente (78,79). Actualmente, el grupo de fármacos dirigidos a bloquear el transportador sodio glucosa tubular tipo 2 (SGLT2) ha cobrado especial importancia en el manejo del tratamiento de la enfermedad renal diabética (78,80). Así, la inhibición de SGLT2 en el túbulo proximal aumenta el suministro de sodio a la mácula densa, normalizando así el FGe y restaurando la retroalimentación túbulo-glomerular, lo que conduce a una disminución de la hiperfiltración (76,81,82). Si bien los efectos de la inhibición de SGLT2 son similares a los observados con los IECA y los ARA, estos fármacos pueden ser complementarios, ya que el efecto primario de la inhibición de SGLT2 es contrarrestar la dilatación de la arteriola aferente, mientras que los IECA y los ARA contrarrestan principalmente los efectos vasoconstrictores de la angiotensina 2 en la arteriola eferente (83–85). (Figura 5).



**Figura 5. Efectos renales de la inhibición del SGLT2 y del bloqueo del SRAA.**

Adaptado de Perkovic y col. 2015 (86).

*iSGLT2*: inhibidor del transportador sodio glucosa tubular tipo 2; *FGe*: filtrado glomerular estimado; *IECA*: inhibidor de enzima convertidora de angiotensina; *ARAII*: antagonista del receptor de angiotensina 2.

### 7.2.4. Factores de crecimiento y otros

La activación de las citoquinas, los elementos profibróticos, la inflamación y los factores de crecimiento vascular (factor de crecimiento endotelial vascular, VEGF) también pueden estar involucrados en la acumulación de la matriz en la ND (87–89). La hiperglucemia estimula el aumento de la expresión de **VEGF**, un mediador de la lesión endotelial en la diabetes (88). Un papel potencialmente patógeno del VEGF en la ND está respaldado por la observación de que el bloqueo de VEGF mejora la albuminuria en un modelo experimental de ND (89,90). En un modelo de ratón con diabetes inducida con estreptozotocina, una disminución en la **proteína C activada** inducida por la hiperglucemia contribuye a la lesión estructural de la ND y empeora la proteinuria (91). El papel de la proteína C activada en la ND no es del todo conocida.

La hiperglucemia también aumenta la expresión del **factor de crecimiento transformante  $\beta$**  (TGF- $\beta$ ) en los glomérulos y de las proteínas de la matriz específicamente estimuladas por esta citoquina (87,92). Además, la DM está asociada con una disminución en la expresión de la **proteína morfogénica ósea renal 7** (BMP-7), que parece contrarrestar las acciones profibrogénicas de TGF- $\beta$  (93). Algunos trabajos han demostrado, que la combinación de un anticuerpo anti-TGF- $\beta$  más un IECA puede normalizar la proteinuria en ratas con ND, sin embargo, esta mejora fue parcial si solo se administraba IECA (94). Así mismo, se ha comprobado que la administración del factor de crecimiento de hepatocitos, que bloquea específicamente las acciones profibróticas de TGF- $\beta$ , mejora la ND en ratones (95).

La hiperglucemia aumenta la producción de **óxido nítrico** (NO), que causa vasodilatación arteriolar postglomerular. El NO es uno de los responsables de la hiperfiltración de la ND (96). Su inhibición elimina la hiperfiltración y facilita la acción del factor de relajación endotelial.

La **nefrina** es una proteína transmembrana expresada por los podocitos. La expresión renal de nefrina puede verse afectada en la ND y se han descrito mutaciones congénitas de la misma asociada a síndrome nefrótico infantil (97). Varios estudios tanto en animales de experimentación como en humanos, han demostrado que la expresión de nefrina renal está disminuida en la enfermedad renal diabética, hecho que se relacionó con cambios estructurales en la barrera podocitaria glomerular (98–100).

Los **defectos en la señalización de la insulina específica de los podocitos** pueden contribuir a la ND. Se han generado modelos de ratón en los que el gen que codifica el receptor de insulina se elimina de una manera específica en los

podocitos. Aún en ausencia de hiperglucemia y solo con esta modificación local podocitaria, se observó que los ratones transgénicos desarrollaron albuminuria, alteraciones estructurales podocitarias, apoptosis, engrosamiento de la membrana basal glomerular, acumulación de matriz mesangial y glomeruloesclerosis, lo cual mimetiza una situación renal con daños similares a los observados en la ND (101). La activación del receptor de insulina parece desencadenar la remodelación del citoesqueleto de actina a través de las vías de señalización de la proteína quinasa 42/44 y fosfatidilinositol 3 quinasa activada por mitógenos, lo que sugiere un posible mecanismo de proteinuria (102,103).

### **7.3. Factores de riesgo asociados al desarrollo de nefropatía diabética**

Al igual que las vías fisiopatológicas asociadas al daño renal en la DM, existen también diversos factores de riesgo asociados con el inicio y la progresión de la ND. Estos incluyen entre otros: factores genéticos, raza, hipertensión arterial, evidencia de hiperfiltración temprana en el curso de la enfermedad, pobre control glucémico, tabaquismo, posiblemente uso de anticonceptivos orales, la obesidad y la edad avanzada, entre otros.

#### **7.3.1. Susceptibilidad genética**

La susceptibilidad genética puede ser un determinante importante tanto de la incidencia como de la gravedad de la ND (16,104). El riesgo de desarrollar ND se incrementa hasta tres veces en pacientes con un familiar de primer grado afectado, estas observaciones se han realizado tanto en la DT1 como en la DT2 (105–107). La probabilidad de que la descendencia desarrolle proteinuria manifiesta es del 14% si ninguno de los padres tiene proteinuria, del 23% si uno de los padres tiene proteinuria y del 46% si ambos padres tienen proteinuria (108). Más aún, si los padres del paciente diabético presentan hipertensión arterial, es más probable que se desarrolle ND, indicando que los genes que confieren riesgo de hipertensión en la población general predisponen a la afectación renal en la DM (109). Estas evidencias destacan el papel potencial de la genética en estos fenotipos renales, y numerosos estudios han implicado una serie de variantes genéticas que pueden afectar el riesgo de nefropatía entre los pacientes diabéticos (110–113). Hasta la fecha, los estudios no han identificado variantes sólidamente asociadas que confieren susceptibilidad en la población caucásica (114). Se han sugerido distintos *loci* en el genoma donde pueden existir variaciones genéticas que predispongan a esta entidad. Algunos de estos son compartidos con la susceptibilidad a la obesidad, a la hipertensión o a la resistencia a la insulina. No obstante, aunque la genómica ha sugerido múltiples asociaciones genéticas, estos *loci* representan en

## INTRODUCCIÓN

conjunto solo el 1.5% de la variación del FGe (115), lo que sugiere que factores epigenéticos o post-transcripcionales juegan un papel muy importante en “la cascada ómica” dentro de la ERD.

### 7.3.2. Edad

El impacto de la edad al inicio de la DM en el riesgo de aparición de nefropatía y ERT no está claro. Como ejemplo, en un estudio australiano, entre los pacientes con DT2, el aumento de la edad, junto con el aumento de la duración de la diabetes, se ha asociado con un mayor riesgo de desarrollar albuminuria (116). Por el contrario, en un estudio que analizó a 1856 indios pima con DT2, los pacientes que desarrollaron diabetes antes de los 20 años tenían un mayor riesgo de progresar a una ERT (25 versus 5 por 1000 pacientes años en riesgo) (117). En el caso de la DT1, el riesgo de desarrollar ERT es muy bajo para los pacientes diagnosticados antes de los 5 años, en edades más avanzadas, la relación entre la edad y la progresión a la ERT es incierta (118).

### 7.3.3. Presión arterial

La hipertensión es un problema común tanto en pacientes con DT1 como DT2 pero el curso temporal en relación con la duración de la diabetes es diferente (26,119,120). Entre las personas con DT1, la prevalencia de hipertensión es del 5% a los 10 años, 33% a los 20 años y 70% a los 40 años (119). Además, existe una estrecha relación entre la HTA y el aumento de albuminuria. La presión arterial generalmente comienza a elevarse años después del aumento moderado de la albuminuria (120) y aumenta progresivamente a medida que avanza la enfermedad renal en DT1, con una prevalencia del 19% de los normoalbuminúricos, 30% de microalbuminúricos y 65% de los macroalbuminúricos (26). El riesgo de HTA y nefropatía no se distribuye igual entre las razas, siendo la raza negra la de mayor riesgo a padecer esta combinación de entidades. Los hallazgos son diferentes en pacientes con DT2. En una serie de más de 3500 pacientes recién diagnosticados, el 39% ya era hipertenso. En aproximadamente la mitad de estos pacientes, la elevación de la presión arterial se produjo antes de la aparición de microalbuminuria. La hipertensión estaba fuertemente asociada con la obesidad y, como era de esperar, los pacientes hipertenso tenían un mayor riesgo de morbilidad y mortalidad cardiovascular (121,122).

### 7.3.4. Control glucémico

La hiperglucemia es un factor de riesgo importante para el desarrollo de la enfermedad microvascular en pacientes con DM (123,124). Es más probable que se desarrolle ND en pacientes con peor control glucémico (niveles más altos de

HbA1c). La importancia del control glucémico estricto para la protección contra las enfermedades microvasculares y cardiovasculares en la diabetes se estableció en el Estudio DCCT/EDIC para la DT1 (125). Aunque el papel del control glucémico en la enfermedad microvascular en la DT2 parece mejor documentada, su papel en la reducción del riesgo cardiovascular no se ha establecido tan claramente. Esto podría estar relacionado con la asociación entre el infarto de miocardio y la muerte súbita en relación a la presencia de hipoglicemias tanto clínicas como asintomáticas (126).

Además, la mejora del control glucémico mejora las complicaciones microvasculares. Un metanálisis de ensayos aleatorizados que incluyó a 27049 participantes, objetivó una reducción en el riesgo de complicaciones microvasculares en el grupo de control glucémico intensivo en comparación con el grupo de control glucémico estándar (127). Otro metanálisis que incluyó a más de 28000 adultos evaluó los beneficios del control glucémico intensivo versus el control glucémico convencional específicamente en los resultados renales y observó una reducción en el riesgo de microalbuminuria y macroalbuminuria en pacientes asignados al control glucémico intensivo. Sin embargo, la reducción en el riesgo de desarrollar ERT no alcanzó significación estadística (128). Cabe destacar que la mayoría de los ensayos, en los metanálisis, no tuvieron la duración suficiente para mostrar un efecto beneficioso del control glucémico sobre el riesgo de desarrollar ERT, que generalmente se manifiesta después de 10 a 20 años de duración de la DM (129). Sin embargo, el estudio UKPDS, con un seguimiento de 22 años, mostró un efecto beneficioso de la terapia intensiva en el desarrollo de resultados clínicos más avanzados, incluida la enfermedad renal (130). A pesar de estas evidencias, la asociación entre control estricto de glucemia y mejoría de factores cardiovasculares se ha puesto en duda, y se ha ido incrementando el nivel objetivo de control de la HbA1c, dadas las asociaciones observadas entre las hipoglucemias y el riesgo de infarto y muerte súbita. De esta manera, las guías actuales han modificado este concepto “endocrinocéntrico” del control de la DM y se han modificado las pautas de monitorización y tratamientos en base a la presencia o no de daño cardiovascular asociado, incluido entre estos obviamente, el daño renal (131).

### **7.3.5. Raza**

La incidencia y la gravedad de la ND varía según las razas, siendo más agresiva y prevalente en la raza negra (3 a 6 veces en comparación con los caucásicos), los latinoamericanos y los indios pima (37,132,133). Si bien se asocian factores de susceptibilidad genética dentro de cada raza, esta observación en poblaciones genéticamente dispares también podría estar relacionada con el papel principal de factores socioeconómicos como la dieta, el control deficiente de la hiperglucemia, la hipertensión y la obesidad (134). Además, parece haber una asociación

importante entre la prevalencia de HTA y la progresión de la enfermedad en pacientes negros con DT2. Incluso cuando se realizan ajustes para el aumento de la incidencia de hipertensión y un estado socioeconómico más bajo en los negros, todavía parece haber un aumento de 4.8 veces en el riesgo de desarrollar ERT debido a la ND (132). Factores genéticos asociados a la protección frente a enfermedades como la malaria, hacen que la raza negra tenga mayor susceptibilidad tanto a HTA como al potencial daño que esta asocia en el desarrollo de ERD (135).

Los indios pima, por otro lado, presentan mayor susceptibilidad de desarrollar ERD, y hay trabajos que detectan presencia de aumento de albuminuria a tan solo 3 años del diagnóstico de la DM. Esta raza tiene glomérulos más grandes que los caucásicos, lo que podría conducir a una mayor susceptibilidad a la lesión glomerular inducida por la diabetes (37,136).

### 7.3.6. Otros

La **obesidad** y el elevado índice de masa corporal se han asociado con un mayor riesgo de ERD en pacientes con DM (116,137,138). Contrariamente, la pérdida de peso puede reducir la albuminuria y mejorar la función renal en estos pacientes (139,140). Además, el hábito de **fumar** está asociado con una variedad de efectos adversos en pacientes con DM. Esto incluye evidencias de aumento en la albuminuria y el riesgo de ERT y de disminución de la supervivencia una vez que se inicia la diálisis (141). Otro factor de riesgo asociado es el uso de **anticonceptivos orales** y algunos estudios han sugerido una relación entre el uso de estos fármacos y el riesgo de daño renal asociado a la diabetes (142).

## 7.4. Marcadores clásicos para el diagnóstico de la nefropatía diabética

La ERD se define por los cambios estructurales y funcionales característicos ya comentados. Los cambios estructurales predominantes incluyen la expansión mesangial, el engrosamiento de la membrana basal glomerular, la lesión de podocitos y, en última instancia, la esclerosis glomerular que hemos comentado previamente (17,143–145).

Los marcadores clásicos utilizados para estimar el FG y diagnosticar la ERD tienen limitaciones y pueden no ayudar en la detección precoz del daño renal. El metabolito más utilizado como marcador de función renal es la creatinina sérica, que presenta importantes limitaciones. Por ejemplo, solo se eleva cuando se ha perdido aproximadamente la mitad de la función renal, por lo que no es un buen

estimador de FG en grados precoces de afectación renal. Además, su concentración depende de la edad, el sexo, la raza y la masa muscular (146,147). Las principales manifestaciones clínicas de la ND son la albuminuria, la hematuria (con menos frecuencia y probablemente en relación con lesiones de esclerosis asociadas debido a la persistencia de la hiperfiltración glomerular) y en muchos pacientes, la enfermedad renal crónica progresiva, que puede revertirse o estabilizarse con las terapias óptimas.

El aumento de la excreción urinaria de albúmina se utiliza ampliamente como marcador diagnóstico de la ERD y se sugiere que su presencia precede a la alteración de la función renal (148). No obstante, también presenta limitaciones. Algunos estudios han demostrado que el deterioro de la función renal puede no acompañarse de aumento de proteinuria y que la disminución temprana del FGe incluso puede preceder a la aparición de microalbuminuria y su progresión (149,150). Por otro lado, la albuminuria no es específica del daño renal asociado a la diabetes y está presente en otras enfermedades renales. Por razones no conocidas, el grado de albuminuria no está necesariamente vinculado a la progresión de la enfermedad en pacientes con ND, tanto en la DT1 como en la DT2, como se ha descrito en distintos trabajos (149,151,152). Por ejemplo, un estudio realizado con 79 pacientes con DT1 seguidos durante una media de 12 años, observó que 23 de los pacientes descendieron el FGe  $<60$  ml/min/1.73m<sup>2</sup>. Entre estos pacientes, 11 tenían microalbuminuria estable o regresión a la albuminuria normal. Los otros 12 pacientes desarrollaron proteinuria que, generalmente acompañaba, pero no precedía, a la disminución del FGe. La pérdida de FGe fue menor en pacientes con regresión a albuminuria normal en comparación con pacientes con microalbuminuria estable o macroalbuminuria y los seis pacientes que desarrollaron ERT habían progresado a macroalbuminuria (149,153).

Se desconocen los factores responsables de la disminución progresiva del FGe en la ND no albuminúrica. Una posibilidad es la co-existencia de enfermedad vascular intrarrenal. Sin embargo, en un estudio de pacientes con DT2 y un FGe por debajo de 60 ml/min, la resistencia vascular intrarrenal en la exploración doppler renal se elevó a un grado similar en pacientes con y sin proteinuria (152). Además, la progresión no albuminúrica ocurre también en la DT1, una población que generalmente es mucho más joven que aquellos con DT2 y es menos probable que tenga una enfermedad vascular intrarrenal. Así mismo, los fenotipos no albuminúricos podrían estar asociados a factores de diferencia de sexo, siendo más frecuente la evolución a daño renal en mujeres que no manifiestan proteinuria, si bien es necesario ampliar esta observación.

El sedimento de orina en la ND suele ser inactivo, pero puede aparecer una hematuria microscópica, lo cual obliga a descartar la coexistencia de otras enfermedades asociadas. Nuestro grupo, por ejemplo, tras revisar 110 pacientes

diabéticos biopsiados, observó, como era de esperar, que la microhematuria fue mayor en el grupo de nefropatía no diabética en comparación con el grupo afecto de ND y se detectó ND aislada en 38 de los pacientes. El diagnóstico más frecuente de nefropatía no diabética fue nefropatía Ig A, seguida de nefroangiosclerosis benigna (154).

La ecografía renal es una prueba de imagen necesaria en los pacientes diabéticos con enfermedad renal y/o proteinuria. En la fase inicial de ND el FG y el volumen renal aumentan, mientras que el volumen renal se reduce progresivamente en la fase crónica. A diferencia de otras entidades como la nefroangioesclerosis muchos pacientes presentan un grosor cortical normal incluso en grados avanzados de ERC, lo que ayuda a sospechar la etiología de la enfermedad renal secundaria a la diabetes.

### **7.4.1. Relación entre nefropatía diabética y retinopatía**

La RD es una complicación microvascular frecuente en la DM, afectando a dos tercios de los pacientes con DT1 y a un 25% de los DT2 (155). Los pacientes con nefropatía y DT1 con frecuencia tienen otros signos de enfermedad microvascular diabética, como retinopatía y neuropatía (156,157). Dadas las características fisiopatológicas similares en ND y RD, no es sorprendente que investigaciones de hace unos años hayan establecido una relación entre la albuminuria y la RD en la diabetes (158,159). En un estudio transversal en el que se realizó fundoscopia a 590 pacientes con DT2, la prevalencia global de retinopatía fue del 39.3%, siendo el 5.4% proliferativa. La prevalencia de microalbuminuria fue del 25.9%, mientras que el 14.5% de los pacientes presentó macroalbuminuria. Como se esperaba, la RD y la afectación renal estaban altamente correlacionadas positivamente (160). Sin embargo, estudios más recientes sugieren que en ausencia de albuminuria puede existir riesgo de progresión de la RD, al igual que lo comentado en relación con la asociación de albuminuria y ND. En un estudio realizado en 263 pacientes DT2 caucásicos, se observó RD en 140 pacientes y edema macular diabético en 61; los niveles más bajos de FGe se asociaron con la presencia y la gravedad de RD. Estos hallazgos sugieren que los pacientes con FGe bajo también pueden estar en riesgo de progresión de la RD a pesar de la ausencia de albuminuria, por lo tanto, se debe enfatizar la detección de la enfermedad ocular diabética en todos los pacientes con insuficiencia renal y DM independientemente de la albuminuria (161).

Por otra parte, el bloqueo del SRAA disminuye la tasa de progresión de la ND y puede tener un beneficio similar en la RD. Un metanálisis, que incluyó 13823 pacientes, mostró que la inhibición del SRAA reduce el riesgo de RD y aumenta la posibilidad de su regresión. Los IECA podrían ser mejores que los ARA2 para el tratamiento de la RD y podrían ejercer un efecto más beneficioso sobre la RD (162).

Se considera que la presentación típica de la ERD incluye una larga duración de la DM, RD, albuminuria sin hematuria y pérdida progresiva de FGe. Sin embargo, los signos de ERC pueden estar presentes en el momento del diagnóstico o sin retinopatía en la DT2 y se ha reportado frecuentemente una reducción de la tasa de crecimiento sin albuminuria en la DT1 y DT2 y se está volviendo más común a medida que aumenta la prevalencia de la DM (163–165). En el caso de la DT2, si bien se usa como elemento de soporte, la presencia de RD es un factor diagnóstico poco sensible y específico al daño renal (166). Esta asociación entre RD y ND, si bien es poco específica, se utiliza como soporte diagnóstico, de manera que incluso se incluye dentro de los criterios de suposición diagnóstica sin confirmación de biopsia renal. De igual manera, la presencia o no de RD se utiliza como factor a la hora de ampliar estudios mediante la biopsia renal.

Generalmente, el diagnóstico de ND se hace en base a los datos analíticos y clínicos, pero existen situaciones en las que estaría indicado realizar una biopsia renal a un paciente diabético para esclarecer el diagnóstico. Los criterios más aceptados son:

- Proteinuria > 1 gramo con DT1 de menos de 5 años de evolución sin RD.
- Disminución rápida del FG en paciente sin RD.
- Aparición brusca de síndrome nefrótico o aumento rápido de la proteinuria.
- Actividad en el sedimento (micro/macrohematuria) no asociada a proceso infeccioso urinario o cólico nefrítico.
- Signos o síntomas de otra enfermedad sistémica.
- Síndrome nefrótico en paciente con DT2 y duda razonable de otra nefropatía.
- Insuficiencia renal aguda.

Teniendo en cuenta que la ERC es una condición clínica cada vez más prevalente y que se asocia a enfermedad cardiovascular y a otras complicaciones graves, son necesarios mejores métodos clínicos para detectar antes a aquellos pacientes con mal pronóstico renal y cardiovascular. Para ello, es preciso la detección de nuevos biomarcadores más sensibles y específicos para el diagnóstico precoz y la evaluación de la naturaleza, la gravedad y la velocidad de progresión de la enfermedad renal, especialmente en la ERD. Para poder alcanzar tal finalidad, es indispensable poder disponer de cohortes de pacientes diabéticos bien caracterizados y que dispongan de biobancos para la búsqueda de nuevos biomarcadores de la ERD.

### 7.5. Bases de datos y cohortes con biobancos

Los biobancos son bancos de almacenamiento de muestras de origen humano, para su utilización en investigaciones nacionales o internacionales, dentro del campo de la biomedicina (167). Su principal característica, respecto al concepto clásico de colección de muestras y datos asociados (colección de un grupo de investigación, colección institucional o colección privada), es su compromiso con la cesión de las muestras y la información asociada a las mismas a los grupos de investigación de una forma abierta, transparente y generosa, en beneficio de la ciencia y, por encima de todo, del paciente (168).

La creación de biobancos deriva de una serie de situaciones:

- Actualmente, es de vital importancia disponer de grandes cantidades de muestras biológicas representativas de tejidos, tumores, células, proteínas, ADN y distintos fluidos vitales (sangre, suero, orina, etc.) para el éxito y el desarrollo de estudios de investigación biomédica.
- Los avances en las técnicas denominadas «ómicas» (genómica, proteómica, etc.) permiten la obtención de un gran número de datos, y para ello se necesita disponer no únicamente de gran cantidad de muestras, sino que las mismas sean de calidad, estén preservadas en excelentes condiciones y se encuentren fácilmente disponibles.
- Cada vez es más abundante y estrecha la colaboración entre diferentes laboratorios situados dentro y fuera de los distintos países, lo que hace que el envío de muestras de unos a otros sea cada vez más frecuente y haga necesario un completo control sobre el tránsito de material biológico humano.

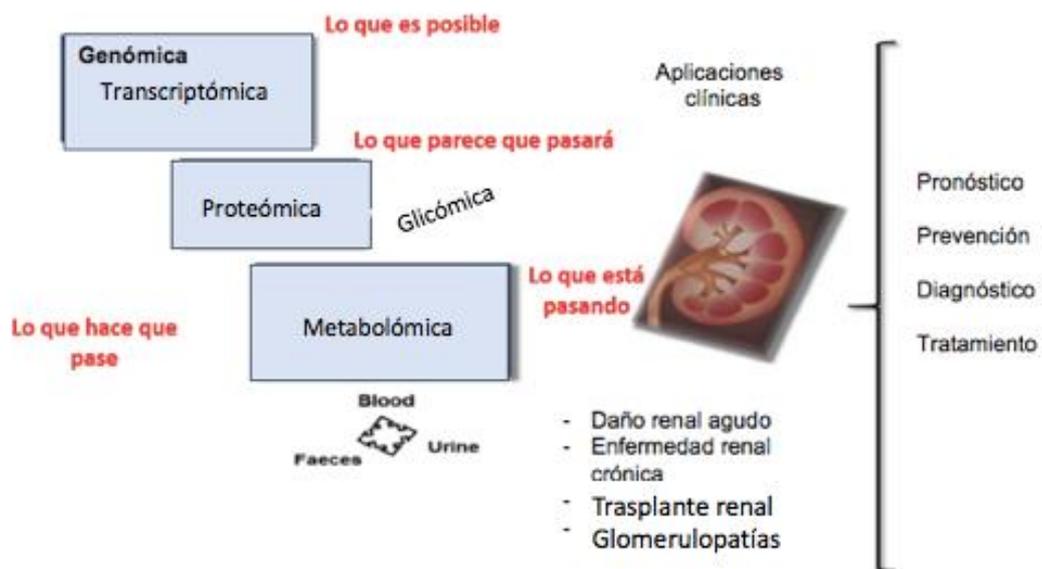
En las complicaciones asociadas a la DT2 están implicadas numerosas vías fisiopatológicas que merecen un abordaje holístico y el esfuerzo multicéntrico para la creación de cohortes amplias que dispongan de muestras biológicas. Las tecnologías de alto rendimiento son una excelente herramienta para profundizar en el entendimiento de estas vías y para la búsqueda de nuevos biomarcadores asociados con la enfermedad.

### 7.6. Concepto de metabolómica

El metaboloma es la colección de metabolitos de moléculas pequeñas endógenas, químicamente diversas (<1500 Da) dentro de un sistema biológico. Incluye lípidos, esteroides, carbohidratos, nucleótidos, aminoácidos y ácidos orgánicos. La

metabolómica cataloga y cuantifica a las moléculas pequeñas que se encuentran en los sistemas biológicos. Las estimaciones actuales sugieren que el metaboloma humano comprende miles de moléculas pequeñas, tanto confirmadas como estimadas y muchas de ellas no se han identificado. Los metabolitos varían en polaridad, tamaño y concentración (por ejemplo, mmol/l, nmol/l, pmol/l), desde metabolitos polares hidrófilos con un bajo peso molecular (por ejemplo, aminoácidos) hasta hidrófobos no polares de alto peso molecular (por ejemplo, los lípidos). Esta diversidad supone que el método de detección, identificación y cuantificación de todo el metaboloma es técnicamente difícil usando una única plataforma de análisis ya que ninguna plataforma única puede medir todos los metabolitos. Los análisis se generan principalmente a través de la espectroscopia de resonancia magnética nuclear de protones ( $^1\text{HRMN}$ ) y la espectrometría de masas (MS) junto con técnicas de separación tales como cromatografía de gases (GC) o la electroforesis capilar (CE). Si bien, ninguna metodología única proporciona una medición precisa de todo el metaboloma (169–171). Los metabolitos varían ampliamente en concentración y pueden verse afectados por factores intrínsecos (como genéticos) o extrínsecos como alimentos, infecciones o medicamentos. Tienen una naturaleza dinámica y son las moléculas más cercanas al fenotipo dentro de la cascada ómica (figura 6) (172).

**Figura 6. Metabolómica en la cascada ómica y vías hacia la medicina personalizada en enfermedades renales.** Adaptado de Barrios y col. (172).



### 7.6.1. Metabolómica y función renal

## INTRODUCCIÓN

En los últimos años, distintos estudios han investigado perfiles metabólicos asociados a la función renal en población general y DT1. Sin embargo, hay falta de información en la DT2, con estudios limitados en el tamaño y la réplica de resultados.

Recientemente, varios estudios han aplicado la metabolómica al estudio de la función renal (172,173). En 2016 se realizó el primer estudio a gran escala de metabolómica y función renal en población general (174) en el que, mediante técnicas de cromatografía de gas y líquida en tándem con espectrometría de masas (GC-LC/MS), se identificaron numerosos metabolitos pertenecientes a distintas vías metabólicas asociados con la función renal en un análisis sin hipótesis previa. De los 493 metabolitos analizados, 54 mostraron asociación significativa con el FGe en las dos poblaciones estudiadas (registro alemán; KORA, con 1735 individuos y registro inglés; TwinsUK con 1164 individuos). Entre ellos, se identificaron 6 metabolitos que presentaron mayor correlación con la función renal: N-acetilalanina, mio-inositol, N-acetilcarnosina y formas glucosiladas del mannosiltriptófano y la pseudouridina. Estos dos últimos, junto con Sulfo-L-tirosina mostraron además relación con la incidencia de ERC de nueva aparición en el seguimiento y no mostraron dependencia con la edad y el sexo. Este y otros estudios más modestos ponen de manifiesto que en el daño renal están implicadas diferentes vías fisiopatológicas. A destacar, por ejemplo, las vías del metabolismo del triptófano y la tirosina, cuyos metabolitos están relacionados con la digestión proteica intestinal. Estas son vías de estudio emergente, por las potenciales implicaciones no solo diagnósticas sino terapéuticas sobre la manipulación de la flora intestinal y la función renal (175). Estos estudios no aportan cuantificación absoluta de estos marcadores y son necesarios análisis cuantitativos para verificar las asociaciones encontradas y establecer rangos de referencia. Por otro lado, el porcentaje de diabéticos de estas cohortes es inferior al 5%, y menos del 10% presentaban insuficiencia renal, definida por un FGe inferior a 60 ml/min. No obstante, es muy interesante observar alteraciones en distintos perfiles metabólicos, mucho antes que el FGe medido por creatinina se vea afectado, por lo que estas aproximaciones de análisis basados en estudios de metabolómica pueden ser relevantes en la búsqueda de marcadores precoces del daño renal.

En los últimos años, se han realizado diez estudios que analizan asociaciones entre metabolitos circulantes y la función renal en pacientes con diabetes. El de mayor tamaño incluyó 325 pacientes con DT1 con y sin afectación renal, definida por la presencia de albuminuria (176). Este grupo analizó, mediante <sup>1</sup>HMRN, moléculas de bajo peso, así como lípidos y subclases de lipoproteínas relacionadas con la peor evolución de la proteinuria en el seguimiento a 8 años. Entre otros hallazgos, cabe destacar que la progresión de la albuminuria se relacionó con un aumento de ácidos grasos saturados, subclases de lípidos de densidad baja o intermedia y metabolitos relacionados con la inflamación. Los hallazgos en los perfiles

lipidómicos encontrados en este y otros estudios más pequeños, son especialmente interesantes. El daño renal resulta en profundos cambios en el metabolismo lipo-proteico que pueden contribuir a la progresión de la ERC (177). Una limitación relevante es que estos autores no realizan réplica de los hallazgos en otras poblaciones. Así mismo, hay muy poca información en poblaciones con DT2, la cual sabemos, presenta un perfil metabólico distinto a las poblaciones con DT1.

En el daño renal asociado a la diabetes están implicadas distintas vías como la proliferación celular, la fibrosis, la inflamación, la inmunomodulación o la glucosilación de las proteínas y los lípidos. Las tecnologías de alto rendimiento permiten identificar nuevos marcadores que mejoran el conocimiento en la fisiopatología de esta entidad. Sin embargo, son necesarios estudios cuantitativos y que aseguren réplica en más de una población antes de aplicar estos hallazgos a la práctica clínica. Los estudios longitudinales permitirán una visión más correcta de los hallazgos para la monitorización y el pronóstico, y ayudarán a discernir entre la causalidad y la mera asociación. En este sentido, es necesario desarrollar enfoques basados en la biología y la medicina de sistemas para descifrar las redes funcionales y de regulación que subyacen en la ERD (169,178,179).

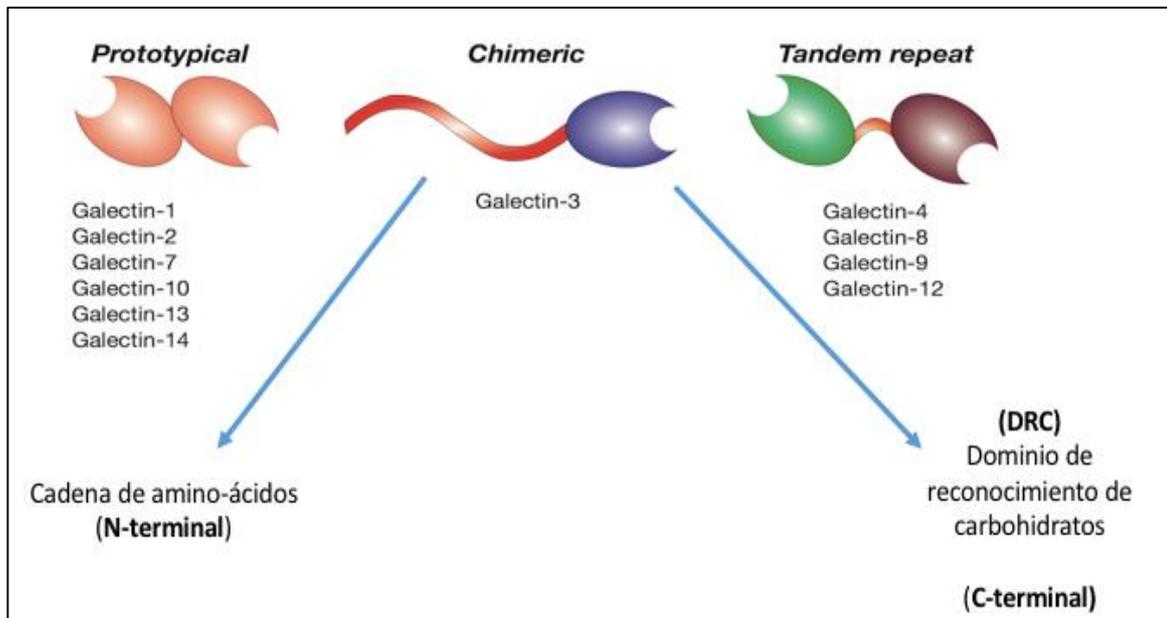
La integración de la metabolómica permitirá analizar sus dependencias multivariadas y, por lo tanto, diferenciar las correlaciones espurias que puedan encontrarse en un análisis por separado. De esta manera, las tecnologías de alto rendimiento han encontrado nuevos biomarcadores de disfunción renal precoz, así como proporcionado una información valiosa de rutas metabólicas relacionadas en la fisiopatología de la ERD y otras complicaciones microvasculares.

### **7.7. Galectina-3**

La galectina-3 (Gal3) pertenece a la familia de las galectinas, que son lectinas  $\beta$ -galactósidas de unión con uno o más dominios de reconocimiento de carbohidratos (DRC). Se une a las proteínas de una manera dependiente e independiente de los carbohidratos. Dentro de los procesos de glucosilación de proteínas, la galectina-3 juega un papel crucial. Se han identificado 15 galectinas en mamíferos, que pueden dividirse en tres tipos según la organización del DRC: a) galectinas prototipo con un solo DRC; b) galectinas de repetición en tándem con dos DRC; c) galectinas de tipo quimérico con un solo DRC conectado a un dominio N-terminal largo y flexible. La Gal3 es la única galectina de tipo quimérico (180) (Figura 7).

**Figura 7. Estructura de las galectinas según la organización de su dominio de reconocimiento de carbohidratos.**

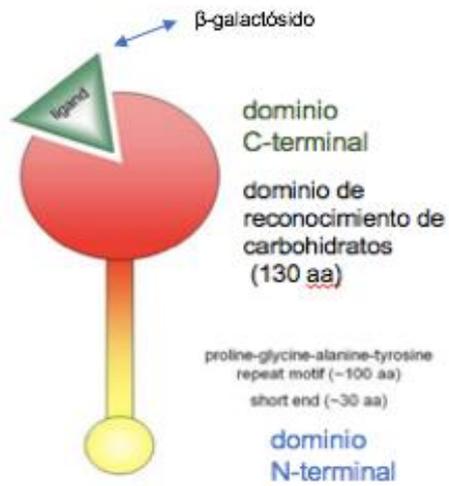
Fuente: Richard D. Cummings y col. Essentials of Glycobiology. 2nd edition. Chapter 33. Galectins.(180)



La Gal3 es una proteína de 35 kDa que está codificada por un solo gen, el LGALS3, localizado en el cromosoma 14. Su representación extracelular interactúa a través de su dominio de reconocimiento de carbohidratos C-terminal con los residuos  $\beta$ -galactósidos de la matriz extracelular y las glicoproteínas de la superficie celular, mientras que la interacción de la Gal3 intracelular se produce a través de asociaciones péptido-péptido mediadas por su dominio N-terminal. (Figura 8)



## INTRODUCCIÓN



**Figura 8. Interacciones de Gal3.** La Gal3 interactúa a través su dominio de reconocimiento de carbohidratos C-terminal (rojo) con los residuos  $\beta$ -galactósidos de la matriz extracelular y las glicoproteínas de la superficie celular, mientras que la interacción de la Gal3 intracelular se produce a través de asociaciones péptido-péptido mediadas por su dominio N-terminal (amarillo). Adaptado de Pugliese y col. *Glycobiology*, 2015 (181)

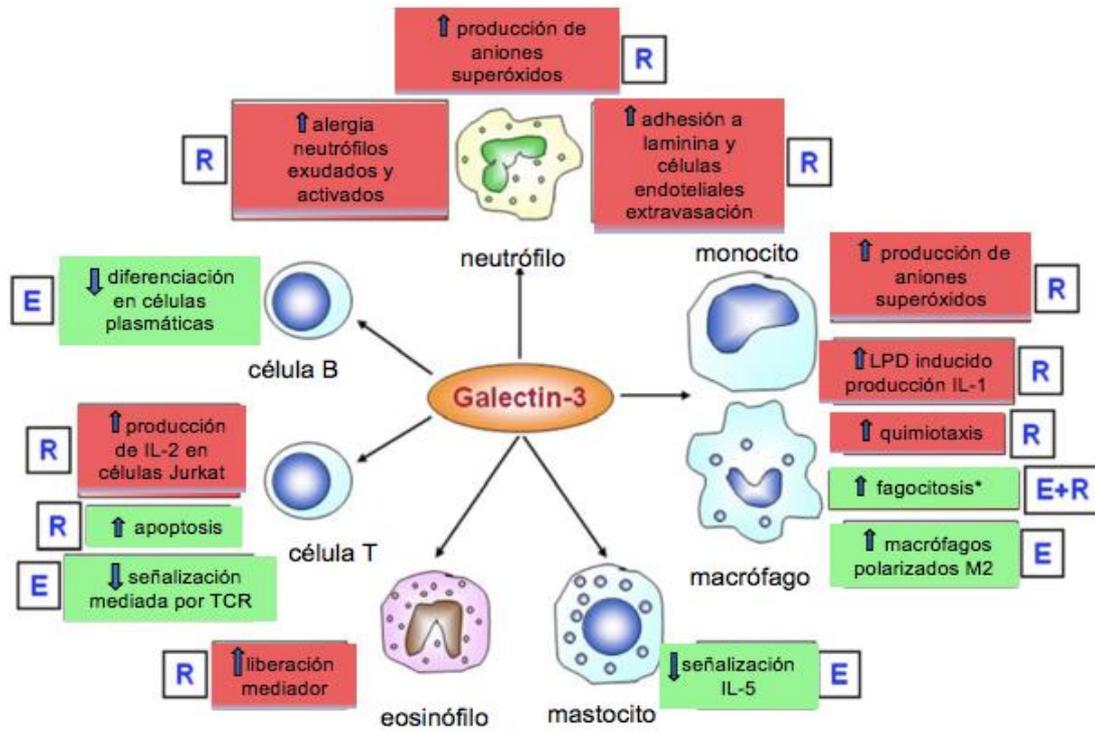
## INTRODUCCIÓN

El dominio N-terminal de Gal3 es esencial para su multimerización, sensible a la proteólisis por las metaloproteinasas de la matriz y puede participar en la interacción con otras proteínas intracelulares (182). Además, los primeros 12 aminoácidos de Gal3 son necesarios para su secreción y translocación nuclear (183,184). El DRC C-terminal de galectina es responsable de su interacción con los glucoconjugados que contienen N-acetil-lactosamina. Por lo tanto, la Gal3 se une a las proteínas de una manera dependiente e independiente de los carbohidratos. La expresión de Gal3 en los tejidos está regulada en el desarrollo; es más abundante durante la embriogénesis y el desarrollo que en la vida adulta (185). La Gal3 se localiza predominantemente en el citoplasma; sin embargo, se transporta al núcleo y se secreta en la superficie celular y en los líquidos biológicos, incluido el suero y la orina. Tiene una distribución ubicua en el organismo. Se encuentra en las células epiteliales, en cartílagos, huesos y en células inflamatorias (constitutivamente o de forma inducible ante un estímulo).

Cumple funciones importantes en numerosas actividades biológicas, como el crecimiento celular, la apoptosis, el empalme (*splicing*) previo al ARNm, la diferenciación, la transformación, la angiogénesis, la inflamación, la fibrosis y la respuesta inmunomoduladora (186). Se ha observado que la galectina-3 está involucrada en la patogénesis de la remodelación cardiovascular, así como en varios procesos autoinmunes e inflamatorios (187–193).

La figura 9 (adaptada de Pugliese G y cols, 173) representa un resumen de las acciones inmunomoduladoras, proinflamatoria (rojo) o anti-inflamatorias (en verde) de la Gal3, que van a depender de múltiples factores, como el tipo de inflamación (crónica/aguda) y la célula o tejido objetivo. Además, como se observa, sus acciones pueden ser opuestas.

**Figura 9. Acciones immuno-moduladoras de la Gal3.** Adaptada de Pugliese G y col (173).



\*Fagocitosis de cuerpos apoptóticos y detritus celulares, puede ser antiinflamatorio evitando la "necrosis secundaria". E: Gal3 endógena; R: Gal3 recombinante; LPS: lipopolisacárido; IL: interleukina. TCR: receptores células T.

Los niveles medios de Gal3 circulante en una población de referencia fueron de 27.5 ng/ml, de acuerdo con la prueba de detección ARCHITECT Galectin-3 ([www.abbottdiagnostics.com](http://www.abbottdiagnostics.com)). Tanto el aumento como la disminución de los niveles de expresión de Gal3 se observan en varios tipos de enfermedades, incluyendo enfermedades cardíacas (insuficiencia cardíaca, cardiopatía isquémica, fibrilación auricular, remodelado del ventrículo izquierdo en pacientes hipertensos, cardiomiopatía hipertrófica, trasplantes cardíacos), renales, hepáticas, cáncer e infecciosas. Además, la Gal3 es un biomarcador estable y no está asociada con la edad, el índice de masa corporal o el sexo (194,195). Tampoco tiene variación circadiana y aumenta marginalmente después del ejercicio, volviendo a los niveles normales después de 1-3 horas (196).

Dadas sus características, numerosos estudios previos han indicado que esta galectina puede usarse como un biomarcador de diagnóstico o pronóstico para ciertos tipos de enfermedad cardíaca, enfermedad renal y cáncer. Así mismo, también se ha postulado como potencial objetivo terapéutico para tratar distintas entidades (197).

### 7.7.1. Galectina-3 en insuficiencia cardiaca

En la última década, se han publicado numerosos artículos que relacionan la Gal3 como un biomarcador de daño cardiaco asociándola con mayor riesgo de fallo cardiaco crónico y agudo y con mortalidad cardiovascular.

Aunque diversos estudios muestran que niveles aumentados de expresión de Gal3 están asociados con la mortalidad en la insuficiencia cardiaca (IC) aguda y crónica (195,198), otros indican que la Gal3 es ineficaz para predecir la mortalidad cardiovascular (CV), lo que sugiere que los resultados deberían ajustarse por otros factores clínicos como la función renal (199). Así, trabajos en los que realizaron ajustes clínicos extensos que incluyeron edad, sexo, diabetes mellitus, fracción de eyección del ventrículo izquierdo, función renal, medicación y proBNP-NT, sí han demostrado que niveles elevados de Gal3 se asociaron con un aumento significativo de la hospitalización y la mortalidad por IC (200). La función renal no siempre se incluye en estos estudios y actualmente se desconocen los ajustes necesarios a realizar en base a la función renal de los individuos. Por ejemplo, en un estudio realizado en pacientes ambulatorios con IC aguda, el aumento de los niveles séricos de Gal3 reflejó un aumento de la actividad neurohumoral y una reducción de la tasa de FGe, sin embargo, no se asociaba con los análisis sobre la función miocárdica (201). Otro trabajo en pacientes ambulatorios con IC crónica, demostró que los niveles séricos de Gal3 se asociaron de forma significativa e independiente con la microalbuminuria (202). Sin embargo, en otro estudio en pacientes hospitalizados con IC, la Gal3 solo predijo la mortalidad asociada con la función renal en los que tenían un FGe  $>60$  ml/min/1.73m<sup>2</sup> (203).

La Gal3 se ha asociado con la severidad del fallo cardiaco, el aumento de mortalidad y de reingresos hospitalarios (204–206), así como con el desarrollo de vasculopatía del injerto cardiaco tras un trasplante cardiaco, por lo que podría ser un marcador coadyuvante de rechazo en estos pacientes (207). Existe controversia sobre si los fármacos utilizados en el manejo de la IC, sobretudo los diuréticos y los IECAs/ARA2, pueden afectar a los niveles circulantes de Gal3, dato que sería relevante tanto en la interpretación de los resultados, como en el ajuste por la toma de este tipo de fármacos. Diversos estudios sostienen que el valor pronóstico de la Gal3 no se ve afectado por las estrategias terapéuticas del fallo cardiaco (208,209) ni por la edad (210). Otros ensayos más dirigidos a valorar la potencial influencia de los ARA2 sobre la Gal3 circulante y su asociación con eventos cardiacos, han mostrado que pacientes con IC en tratamiento con valsartan, por cada aumento de 1 µg/l en galectina-3, hubo un mayor riesgo asociado de mortalidad, eventos mórbidos primarios y también hospitalización por IC, independientemente de la presencia del fármaco (211). Trabajos recientes en población norteamericana que incluyen más de una cohorte, no han detectado diferencias significativas en los

niveles de Gal3 en relación a eventos CV o evolución de la función renal con el uso de inhibidores del SRAA (212). Si bien, por lo tanto, no parece que los niveles de esta lectina estén influenciados por estos fármacos, hay que destacar que la mayoría de los trabajos no estaban dirigidos al análisis concreto de este efecto dentro de sus variables finales.

De igual manera, distintos estudios ponen en duda la utilidad de su monitorización clínica existiendo controversia respecto a si puede proporcionar o no un beneficio pronóstico adicional en pacientes con IC (213,214). El valor pronóstico de la Gal3 en el fallo cardíaco puede diferir según las razas. En pacientes blancos se asoció de forma independiente con el compuesto IC/ mortalidad, en cambio, en los de raza negra no se demostró esta asociación, por lo que se postula si la Gal3 puede tener una utilidad pronóstica limitada para predecir la IC y la mortalidad en pacientes de raza negra (215). De momento, no se recomienda el uso de Gal3 como biomarcador de pronóstico único para pacientes con IC, aunque sí se recomienda en combinación con otros biomarcadores establecidos (199). Su valor pronóstico se ha comparado con el de otros biomarcadores de IC disponibles (como la supresión soluble de tumorigenicidad 2 (sST2), la troponina I y el péptido natriurético de tipo B (proBNP-NT) (212,216–218). La Gal3 se podría utilizar para el diagnóstico de la IC, como han demostrado algunos estudios piloto midiendo sus niveles séricos y salivales (219,220). Si bien, es probable que su eficacia como marcador mejore si se combina con otros y se utiliza en forma de “paneles diagnósticos” y no como marcador único. Por otra parte, son necesarios más estudios en este campo donde se incluyan además ajustes por distintos grados de enfermedad renal.

### **7.7.2. Galectina-3 en otras enfermedades cardiovasculares**

La Gal3 se ha estudiado en otras enfermedades cardíacas como en la estenosis aórtica, en la enfermedad coronaria crónica y en otras enfermedades vasculares.

En pacientes con estenosis valvular aórtica, se ha visto que la Gal3 en células intersticiales valvulares obtenidas de la estenosis aórtica podría tener implicación en la calcificación valvular aórtica, ya que indujo la expresión de marcadores inflamatorios y fibróticos (221). No obstante, otros estudios muestran resultados contradictorios, en los que la Gal3 no estaba asociada con la gravedad de la estenosis aórtica (222).

En pacientes con enfermedad coronaria crónica, se ha asociado el aumento de niveles séricos de Gal3 con una mayor incidencia de eventos cardiovasculares, incluida la mortalidad cardiovascular (223,224), la gravedad de la enfermedad arterial coronaria, el número de vasos enfermos (225) y el grado de fibrosis miocárdica (226,227). En cambio, en otro estudio la Gal3 no pudo predecir los eventos cardiovasculares recurrentes (228). Algunos estudios han asociado también niveles más elevados de Gal3 con re-infartos de miocardio (229,230),

## INTRODUCCIÓN

mientras que los niveles de expresión de Gal3 no cambiaron durante el infarto agudo miocárdico y no hubo asociación entre los niveles de Gal3 y la lesión miocárdica isquémica aguda en otro análisis (231).

En pacientes con fibrilación auricular se han visto niveles de expresión de Gal3 aumentados (232) y la Gal3 se ha asociado de forma independiente con la fibrilación auricular de nueva aparición (233). En pacientes hipertensos, la Gal3 se ha asociado con la remodelación cardíaca (234). De tal manera que algunos trabajos han mostrado que en la miocardiopatía hipertrófica, los niveles de Gal3 aumentaron y estaban asociados con un mayor grado de hipertrofia ventricular izquierda. No obstante, no pudieron relacionarlo con otros parámetros de función miocárdica como la disminución de la función diastólica o sistólica del ventrículo izquierdo (235).

La Gal3 puede servir como un biomarcador para los resultados post-trasplante cardíaco. Algunos estudios han observado fluctuaciones de niveles de Gal3 en pacientes trasplantados cardíacos con un seguimiento de 12 meses, indicando un nuevo episodio de fallo cardíaco cuando la Gal3 aumentó el doble o disminuyó a la mitad en comparación con el nivel de referencia (236). Estudios posteriores, mostraron que el nivel de Gal3 está persistentemente aumentado después del trasplante y se asocia con la función renal de los individuos. No obstante, no lo relacionaron con la presencia de fibrosis intersticial cardíaca postrasplante, lo que indicaría una peor evolución del injerto (237).

Su aplicación como potencial herramienta diagnóstica se ha planteado en otras entidades de enfermedad vascular. Se ha observado aumento de sus niveles en pacientes con enfermedad arterial periférica, hemorragia intracerebral, y disminución de los mismos en estenosis carotídea de alto grado (238–240).

### **7.7.3. Galectina-3 y cáncer**

Los niveles de Gal3 séricos y en tejidos de órganos afectados por neoplasias se han estudiado como posibles marcadores diagnósticos y/o pronósticos de distintos tipos de enfermedades tumorales, con resultados contradictorios. El valor de la Gal3 como marcador proangiogénico en el cáncer de tiroides se ha estudiado ampliamente. Un metanálisis indicó que la Gal3 podría ser un inmunomarcador potencialmente útil para distinguir entre pacientes con carcinoma papilar de tiroides y pacientes sin él (241). Sin embargo, existen resultados controvertidos con respecto a otros tipos de carcinoma de tiroides (242). Modelos experimentales han demostrado que la galectina-3 puede promover la progresión del carcinoma hepatocelular (243). El déficit de Gal3 puede reducir la proliferación celular y aumentar la apoptosis de las células del hepatoma (244). Estos hallazgos se han confirmado en estudios in vivo (245). Sin embargo, parece que la Gal3 puede usarse para el pronóstico, pero no para el diagnóstico de pacientes con

hepatocarcinoma celular, ya que no hay diferencias significativas en sus niveles séricos entre pacientes cirróticos y pacientes con hepatocarcinoma (246). En pacientes con adenocarcinoma gástrico, algunos estudios han encontrado aumento en los niveles séricos de la lectina en comparación con pacientes sanos (247), sin embargo, otro grupo demostró que no había diferencias significativas entre pacientes con cáncer gástrico y controles sanos (248). Estudios in vitro han relacionado que niveles reducidos de Gal3 se asocian con metástasis a distancia en pacientes con este tipo de neoplasia (249).

En la actualidad, los resultados sobre los niveles circulantes y la expresión tisular de Gal3 en pacientes con cáncer son controvertidos. En el cáncer de próstata se han visto niveles más altos de Gal3 en comparación con controles sanos (250), sin embargo, otro estudio determinó niveles más bajos en el adenocarcinoma (251). En un estudio en pacientes con carcinoma de células renales (CCR) se vieron niveles de Gal3 aumentados en los tejidos séricos y tumorales (252) y los hombres se asociaron significativamente con un aumento de los niveles de expresión de ARNm de galectina-1 y Gal3 en CCR de células claras, lo que indica que las galectinas pueden estar involucradas en la patogenia de la mayor prevalencia en hombres de CCR. Además, el uso combinado de galectina-1 y Gal3 para el diagnóstico de CCR demostró especificidad y sensibilidad de 98 y 47%, respectivamente (253). Se han visto niveles elevados de Gal3 en el carcinoma pancreático, pero la Gal3 no se ha asociado con el antígeno carcinoembrionario y CA19-9; sin embargo, una combinación de estos tres marcadores puede aumentar la sensibilidad diagnóstica del diagnóstico de carcinoma pancreático hasta un 97.5% (254). También se asocian niveles elevados de Gal3, en neoplasias hematológicas como leucemia promielocítica (255) y linfoma no Hodgkin (256); y Gal3 elevada, sobre todo cuando existen metástasis, en cáncer colorrectal (257), cáncer de vejiga (258) y en cáncer de mama (259), sin embargo, en este último existen trabajos que han relacionado niveles bajos de Gal3 con mayor agresividad y, por tanto, menor supervivencia (260).

En resumen, estos estudios revelan que la Gal3 se expresa de manera anormal en muchos tipos de cáncer, lo que indica que no es un biomarcador específico de tumores y hoy por hoy únicamente se plantea como marcador diagnóstico efectivo en combinación con biomarcadores específicos.

#### **7.7.4. Galectina-3 como marcador de daño renal general**

Niveles elevados de Gal3 se han relacionado con mayor morbimortalidad cardiovascular y menor FG, en cohortes no diabéticas. En los últimos años se ha estudiado de manera más exhaustiva el papel de la Gal3 en el daño renal y su asociación con la función renal. Su expresión renal es compleja y parece depender del contexto estudiado. Por ejemplo, el aumento de su expresión se ha relacionado

## INTRODUCCIÓN

con la aparición de fibrosis renal, pero también con la atenuación de la fibrosis a través de la remodelación de la matriz (261–263).

En un modelo animal de **isquemia/reperfusión** e inducción de fracaso renal agudo (FRA) se observó, que los niveles de expresión de ARNm de Gal3 comenzaron a aumentar 2 horas después de la lesión y se asociaron de forma inversa con los niveles de creatinina que se aumentaron 48h después de la lesión. Esta lectina, se localizó inicialmente en los túbulos y posteriormente en los macrófagos durante las etapas de regeneración. Estos resultados sugieren que la Gal3 puede ser importante en la lesión tubular aguda y en la etapa posterior de regeneración (264).

Aparte de su potencial uso como marcador de FRA, varios trabajos han analizado su potencial uso en el diagnóstico de la **ERC**. Por ejemplo, se ha observado que en una cohorte de 200 pacientes asiáticos con distintos grados de ERC mostraron una reducción del FGe y una mayor expresión de Gal3 sérica, exhibiendo un área bajo la curva (AUC) de 0.89 cuando se incluía esta lectina en el modelo para discernir entre tener o no ERC, lo que indica su potencial papel en el diagnóstico de esta. No obstante, esta AUC no presentaba diferencias significativas con las dadas con el uso aislado de creatinina o cistatina, mejorando sustancialmente cuando se utilizaba combinación de los tres marcadores (AUC: 0.96). Además, en este estudio se observó que las tasas de supervivencia renal a seis años entre los individuos con valores de Gal3 bajo ( $\leq 6$  ng/ml) y alto ( $> 6$  ng/ml) fueron de 47.3 y 22.8%, respectivamente. Los participantes del grupo alto de Gal3 ( $> 6$  ng/ml), en el momento basal, presentaron un riesgo relativo de más del doble de padecer ERC (HR 2.66 [1.68-4.23]) en el seguimiento, valor mucho más discreto cuando el marcador utilizado fue cistatina (HR 1.61 [1.03-2.52]) o creatinina (HR 1.56 [0.99-2.47]), que si bien es el marcador más utilizado en clínica, ni siquiera mostró significancia estadística como predictor futuro de desarrollo de ERC (265).

En el estudio de Framingham Offspring que incluyó 2450 participantes, el aumento de los niveles circulantes de Gal3 al inicio del estudio se asoció con un mayor riesgo de descenso rápido del FGe y de la incidencia de ERC, si bien no se observó asociación con la proteinuria (266). Sus resultados indican que la Gal3 puede predecir el daño relacionado con la fibrosis tubulointersticial, pero no la lesión glomerular. Sin embargo, en el análisis de una cohorte multicéntrica realizada en individuos de la comunidad (cohorte CHS), 2763 adultos sin antecedentes de insuficiencia cardíaca, se observó que el aumento de los niveles séricos de Gal3 no se asoció con una disminución del FGe o el de la incidencia de ERC tras los ajustes por posibles factores de confusión y otros biomarcadores cardíacos (267). La asociación de los niveles circulantes de Gal3 con la proteinuria sí pudo mostrarse en otro tipo de entidades como la amiloidosis secundaria asociada a fiebre mediterránea familiar, donde se postula que podría conducir a una detección más temprana del daño renal y la proteinuria en estas poblaciones (268).

Diversos estudios en pacientes bajo tratamiento de **hemodiálisis** muestran que la Gal3 es un factor independiente de hipertrofia ventricular, disfunción diastólica y mortalidad en esta población (269–271). Se ha sugerido un valor de corte de esta lectina >23.73 ng/ml como predictor independiente de mortalidad (272).

En pacientes sometidos a **denervación renal**, se objetivó que los niveles de galectina en suero podían ser un predictor de la respuesta terapéutica. En los pacientes con hipertensión resistente que experimentaron una reducción simpática renal, los niveles séricos basales de galectina aumentaron significativamente en los respondedores, en comparación con los no respondedores y no se observaron cambios significativos en los niveles de Gal3 durante el período de seguimiento. Estos resultados sugieren que la Gal3 podría ayudar a identificar pacientes adecuados para la denervación renal (273).

Dentro de su asociación con otras entidades renales, se ha visto que la Gal3 puede estar involucrada en la patogenia de la **poliquistosis** renal autosómica recesiva (274). Posiblemente, bloquea la expansión de los quistes renales, confirmada por una mayor expansión de los quistes en presencia de anticuerpos contra la Gal3 (275).

Además, se asocia con la expansión mesangial y enfermedades renales **glomerulares no diabéticas**. Así, se han visto niveles más elevados de Gal3 en pacientes no respondedores a esteroides con síndrome nefrótico debido a glomerulonefritis proliferativa mesangial difusa, focal y segmentaria y en la enfermedad por cambios mínimos (276). La expresión de la Gal3 también se ha investigado en pacientes con nefritis por **lupus** eritematoso sistémico en comparación con controles, viendo que los afectados por nefritis lúpica tenían niveles séricos de Gal3 significativamente más altos que los controles (277).

En el **trasplante renal**, la Gal3 se ha asociado con la nefropatía crónica del injerto debido al papel que juega esta lectina en el inicio de la fibrosis renal (278). Un estudio mostró concentraciones significativamente elevadas de Gal3 antes del trasplante, las cuales se redujeron significativamente tres meses después del trasplante en relación a la recuperación de la función renal (279). En base a estas asociaciones y a factores como que su aclaramiento es principalmente hepático, la Gal3 podría ser útil para la identificación de individuos en riesgo de desarrollar ERC años antes del inicio clínico y de la detección de la elevación de la creatinina.

#### 7.7.5. Galectina-3 como marcador de daño renal asociado a la diabetes

La Gal3 es un importante modulador de varias funciones biológicas mediante la interacción con varias moléculas dentro y fuera de la célula. Está ampliamente

## INTRODUCCIÓN

estudiado su papel en el daño cardiaco y como marcador de riesgo cardiovascular, y se postula como una molécula emergente a valorar dentro de la fisiopatología del daño renal asociado a la diabetes (280,281). Entre otros mecanismos, a nivel renal, participa en la patogénesis de complicaciones diabéticas, a través de su función sobre el receptor de productos avanzados de glucosilación (AGEs) y los productos avanzados de la lipoxidación (ALEs).

Estudios experimentales muestran que AGE/ALEs se producen en mayor medida en los órganos diana de la diabetes, como el riñón (282) y se ha observado en modelos murinos de experimentación, que la Gal3 podría proporcionar protección frente al daño tisular inducido por los AGEs/ALEs favoreciendo su eliminación. De esta manera, se postula que su sobreexpresión a nivel tisular renal en el ambiente diabético, podría tener un papel protector mediante este mecanismo. Así, por ejemplo, modelos animales de experimentación han mostrado que la delección genética de la Gal3 se relacionó con una glomerulopatía diabética acelerada con aumento de proteinuria (283,284). En un estudio se analizó el papel de la Gal3 como receptor de AGE y su contribución al desarrollo de la enfermedad glomerular diabética, utilizando un modelo de ratón knockout. Los ratones knockout para Gal3 obtenidos por ablación génica y los ratones de tipo salvaje convertidos en diabéticos con estreptozotocina se sacrificaron 4 meses después, junto con controles no diabéticos de la misma edad. A pesar de un grado comparable de trastorno metabólico, se observó que los ratones deficientes en Gal3 desarrollaron glomerulopatía acelerada en comparación con los controles salvajes, con un aumento más pronunciado de la proteinuria, la matriz extracelular y la expansión mesangial. Esto se asoció con una acumulación de AGE renal/glomerular más marcada, lo que indica que era atribuible a la falta de función del receptor de AGE de Gal3. Así, parece que la Gal3 actúa como un receptor de aclaramiento para AGEs y los ratones con déficit de esta lectina tienen aumentos marcados en la deposición renal de AGEs. Concluyeron que estos resultados muestran que la vía del receptor de AGE regulada por Gal3 está operando in vivo y protege contra la lesión tisular inducida por AGEs (283). Por el contrario, en modelos experimentales de inflamación aguda y fibrosis, la eliminación del gen *Lgals3* dio lugar a la prevención o atenuación de la lesión tisular diana (285), lo que sugiere que el papel de la lectina en el daño renal, varía en función del tipo de lesión.

En humanos, varios estudios han demostrado un aumento de Gal3 sérica circulante asociado con la pérdida de la función renal y la mortalidad cardiovascular (181). No hay prácticamente trabajos, que valoren su papel directo sobre el deterioro de la función renal mediante análisis longitudinales que diferencien si su elevación es causa o consecuencia de la disminución del FGe. Faltan además datos concluyentes en estudios enfocados directamente en poblaciones diabéticas. Si bien varios estudios no han encontrado relación entre los niveles séricos de Gal3 y la proteinuria en pacientes diabéticos, otros sí sugieren su relación con las

complicaciones microvasculares de la misma así como mayor riesgo de los diferentes endpoints cardiovasculares valorados (181,191,280–282).

El grupo de O'Seaghda y col., valoró los endpoints renales de 2450 participantes de la cohorte de Framingham Offspring. En el seguimiento de estos individuos se observó una disminución rápida del FGe, definida como pérdida de  $\geq 3$  ml/min/1.73m<sup>2</sup>/año, en 241 (9.2%) de los participantes, la incidencia ERC, definida como FGe < 60 ml/min/1.73m<sup>2</sup> de *novo*, en 277 (11.3%) y la microalbuminuria incidente en 194 (10.1%). En esta población, se ha observado que los niveles plasmáticos más altos de Gal3 se asociaron con un rápido descenso en el FGe y un nivel más alto del riesgo de incidencia de ERC (OR, 1.47 [1.27 a 1.71]), pero no con el riesgo de incidencia de microalbuminuria en el modelo ajustado. Por lo que concluyen que, los niveles elevados de Gal3 en plasma se asocian con un aumento de los riesgos de la disminución rápida de FGe y de la ERC incidente. A destacar que esta cohorte presenta una baja prevalencia de diabéticos <10% (266). Sin embargo, años posteriores el grupo de Bansal N y col. no pudo corroborar estos datos de asociación de Gal3 con mayor declive de la función renal. Analizaron 2763 individuos de la comunidad (Cardiovascular Health Study (CHS)), la mayoría mujeres (63%), con un FGe medio al inicio de  $74 \pm 17$  ml/min durante un periodo medio de tiempo de 6 años. Observaron que el 8.9% (240 participantes) presentaron un declive rápido de función renal, definida en esta ocasión como pérdida del 30% del FGe. Entre ellos, no hubo diferencias en los distintos cuartiles de Gal3 y el deterioro renal más rápido en ninguno de los modelos ajustados. Sí que se destaca en esta población que aquellos pacientes con peor función renal basal y de mayor edad, tenían los niveles de Gal3 más elevados en el análisis trasversal (267).

Más recientemente, otro grupo analizó los datos de 9148 participantes del Estudio de Riesgo de Aterosclerosis en Comunidades (ARIC). Los participantes no tenían inicialmente enfermedad renal ni insuficiencia cardiaca. Identificaron 1983 casos incidentes de ERC durante una mediana de seguimiento de 16 años. Al inicio del estudio, la Gal3 se asoció de forma significativa, en el análisis trasversal con el FGe, como habían mostrado otros grupos, y en este caso también con la ratio albúmina/creatinina en orina. Los resultados se ajustaron en distintos modelos, por edad, sexo, nivel de educación, actividad física, estado de fumador, IMC, presión arterial, uso de medicamentos antihipertensivos, antecedentes de enfermedad cardiovascular, diabetes, glucemia en ayunas y *rs4644* (polimorfismo de un solo nucleótido de Gal3). Hubo una asociación positiva entre la Gal3 y la incidencia de ERC (RR entre el cuarto y el primer cuartil de 2.22 [1.89,2.60]). La asociación se atenuó, pero siguió siendo significativa al incluir el FGe, la albúmina/creatinina en orina, la troponina T y el péptido natriurético proBNP en el modelo (RR entre cuartil 4 y primero: 1.75 [1.49,2.06]). Observaron además que este riesgo era superior en aquellos con diagnóstico inicial de hipertensión. Por lo tanto, en esta población,

## INTRODUCCIÓN

basada en la comunidad, los niveles más altos de Gal3 circulante en plasma se asociaron con un riesgo mayor de desarrollar ERC a largo plazo, particularmente entre aquellos con hipertensión (286). El mismo año el grupo de Alam ML y col. analiza dos cohortes norteamericanas, mayoritariamente de raza caucásica, que incluían un total de 841 pacientes con FGe basal de  $51 \pm 27 \text{ mL/min/1.73m}^2$ . En el seguimiento medio de sólo tres años, encontraron que cada duplicación de Gal3 se asoció con un riesgo del 38% (HR 1.35) de pérdida de  $>15 \text{ mL/min}$  de FGe. Si bien en este estudio el porcentaje de participantes diabéticos fue superior, 42%, los análisis se hicieron todos juntos sin discernir la condición diabética que no nos permite tener una visión separada del efecto de esta condición (212).

Por lo tanto, a pesar de estas asociaciones descritas, su relación o asociación entre sus niveles circulantes y el daño renal asociado a la diabetes debe de ser más estudiada, ya que el porcentaje de diabéticos en estas poblaciones bien era bajo, o bien no fue considerado en el análisis. Recientemente, se han publicado algunos trabajos en este campo, que ayudarán junto con el nuestro, a establecer valores cuantitativos, puntos de corte y el papel diagnóstico y pronóstico de esta lectina en la ERD. Como hemos comentado, se ha descrito aumentada en relación con la edad, la obesidad y la diabetes *per se*, por lo que es importante definir sus valores relacionada con la función renal separando a los individuos con y sin diabetes. Por ejemplo, un grupo de Hong Kong determinó en poblaciones de origen asiático, los cambios en los niveles séricos de Gal3 en individuos con DT2 y con función renal normal en comparación con un grupo control no diabético. Observaron que la Gal3 sérica está asociada de manera independiente con la duplicación de la creatinina en la valoración longitudinal, así como en la incidencia de macroalbuminuria en los participantes con DT2. Es destacable que la población analizada era relativamente joven respecto a estudios previos con una edad media de  $52.2 \pm 4$  años y bajo IMC  $25 \pm 3.5 \text{ Kg/m}^2$ , como corresponde a la raza analizada (287).

Otros trabajos más modestos realizados en poblaciones con distintos grados de ND, corroboran que los niveles de Gal3 aumentan en los grupos con peor función renal. Si bien los modelos y análisis no estaban ajustados, de manera general encuentran una correlación negativa entre Gal3 y FGe de ( $r = -0.5$   $p < 0.001$ ) (288).

### 7.7.6. Galectina-3 como diana terapéutica

Como se ha demostrado que la Gal3 desempeña numerosas funciones en la patogenia de diversas enfermedades y se está investigando en su potencial objetivo terapéutico para estas patologías, sus posibles aplicaciones clínicas se han evaluado utilizando modelos celulares y animales. Por ejemplo, el uso de la pectina cítrica modificada (un inhibidor de galectina) en un modelo experimental de ratas hipertensas, bloquea la fibrosis renal y cardíaca inducida por aldosterona y en este modelo de hiperaldosteronismo mejora la disfunción cardiorenal (289). Además,

en ratones con insuficiencia cardíaca e hiperaldosteronismo, este inhibidor de la galectina previno la disfunción y la fibrosis ventricular inducidas por isoproterenol, inhibió el tejido adiposo en la inflamación y disminuyó el grado de diferenciación de adipocitos en ratones obesos (290), además de reducir la progresión de la placa en un modelo de ratón con aterosclerosis (291). Además, la N-acetil-lactosamina, un inhibidor de la Gal3, redujo la proteinuria, mejoró la función renal y disminuyó el daño renal en ratones con nefropatía hipertensiva y fallo cardíaco (291).

Es necesario que se desarrollen métodos de detección de Gal3 para mejorar la sensibilidad, la precisión y el consenso entre los diferentes laboratorios, y para brindar apoyo a su utilidad clínica. Además, es necesario establecer rangos de referencia de normalidad, ajustados por función renal y teniendo en cuenta las peculiaridades clínicas, sobre todo cardíacas, de los pacientes.

Existen muy pocos ensayos clínicos que estén estudiando la implicación de la Gal3 en la ERC. Se está realizando un ensayo clínico cuyo objetivo principal es comparar el cambio en el FGe desde el inicio hasta la semana 8 entre el tratamiento con placebo y GCS-100, un antagonista de Gal3. La GCS-100 es un azúcar complejo bien caracterizado derivado de la pectina que se une y neutraliza la Gal3, que se ha demostrado que reduce la fibrosis preclínicamente. Basándose en el papel de la Gal3 y la fibrosis en la enfermedad renal, los promotores de este ensayo creen que la GCS-100 puede ser eficaz en el tratamiento de pacientes con ERC. Además de determinar la seguridad y la tolerabilidad de GCS-100 administrado durante 8 semanas en relación con el placebo, el estudio medirá el efecto de este antagonista sobre los niveles de Gal3 circulante y otros marcadores de actividad de enfermedad renal (292).

Las crecientes evidencias sugieren un papel de la Gal3 en la diabetes, así como en sus complicaciones asociadas. La Gal3 puede influir en el sistema cardiovascular mediante la modulación del eje renina-angiotensina-aldosterona, la aterogénesis, la trombosis, la inflamación o la fibrosis. Por lo tanto, esta lectina se postula como un vínculo atractivo entre las enfermedades renales, metabólicas y cardiovasculares que modulan varias respuestas adaptativas, causas o consecuencias del daño renal. Estos hallazgos sugieren una utilidad clínica de apuntar a los ligandos de Gal-3 como un nuevo enfoque terapéutico, especialmente contra la fibrosis renal, independientemente de su etiología.



## **8. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS**

## HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

## 8. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

### 8.1 Hipótesis

Existen marcadores de daño renal asociados a la diabetes mellitus más sensibles y específicos que los marcadores clásicos utilizados actualmente.

Un análisis de metabolitos circulantes podría ayudar a identificar posibles nuevos marcadores de daño renal asociados a la diabetes y nos podría ayudar en el entendimiento de las vías fisiopatológicas implicadas en esta entidad.

Además, niveles circulantes de Galectina-3 pueden mostrarse elevados en la nefropatía diabética y asociarse con peor evolución de la función renal.

Dada la complejidad de los mecanismos relacionados con el daño renal en la diabetes, un análisis integrador entre pequeñas moléculas, perfiles lipidómicos y de glucosilación de proteínas, aportaría unos resultados más fiables asociados al daño renal tanto diagnósticos como pronósticos.

## 8.2 Objetivos

### Objetivo principal

Investigar nuevos marcadores potencialmente diagnósticos y pronósticos más sensibles y específicos del daño renal asociado a la diabetes mellitus tipo 2.

### Objetivos secundarios

1- Crear una cohorte de adultos diabéticos tipo 2 con registro de variables clínicas y analíticas, así como obtención de muestras sanguíneas y urinarias para biobanco.

2- Abordaje del objetivo principal en dos pasos:

A) Aproximación sin hipótesis previa. Identificar moléculas pequeñas y perfiles lipídicos asociados con la función renal en cohortes de pacientes diabéticos tipo 2 con distintos grados de afectación renal.

A.1) Análisis de la huella metabolómica asociada a la función renal de individuos de la cohorte GenoDiabMar.

A.2) Asociación de estos perfiles metabolómicos con la retinopatía diabética como otra complicación microvascular de la DM.

A.3) Replicar y comparar los resultados obtenidos con otras cohortes europeas externas.

B) Aproximación dirigida de marcador conocido (Galectina-3)

B.1) Analizar la asociación cuantitativa y transversal entre la función renal y los niveles circulantes de Galectina-3 en la cohorte GenoDiabMar.

B.2) Analizar la asociación cuantitativa y longitudinal entre la evolución de la función renal y los niveles circulantes de Galectina-3 en la cohorte GenoDiabMar.

## **9. MATERIAL Y MÉTODOS**

## MATERIAL Y MÉTODOS

## 9. MATERIAL Y MÉTODOS

El registro de adultos con DT2 del área de salud Litoral-Mar de Barcelona GenoDiabMar se creó para investigar las complicaciones vasculares asociadas a esta entidad. Se han registrado características demográficas, variables clínicas, con especial registro de factores de riesgo cardiovasculares y antecedentes de enfermedad cardiovascular, estudio oftalmológico y datos analíticos de sangre y orina. Es un registro activo que actualmente sigue completándose, ya que contempla datos no solo de la visita basal, sino también de seguimiento longitudinal durante 5 años de media. La cohorte además cuenta con biobanco de suero, sangre total y orina, recogidos en la visita basal y en las visitas a 5 años que se están produciendo en la actualidad. Este biobanco permitirá ampliar el conocimiento sobre las diferentes rutas fisiopatológicas relacionadas con el daño microvascular de la diabetes tipo 2 y el potencial hallazgo de más biomarcadores relacionados con la ERD.

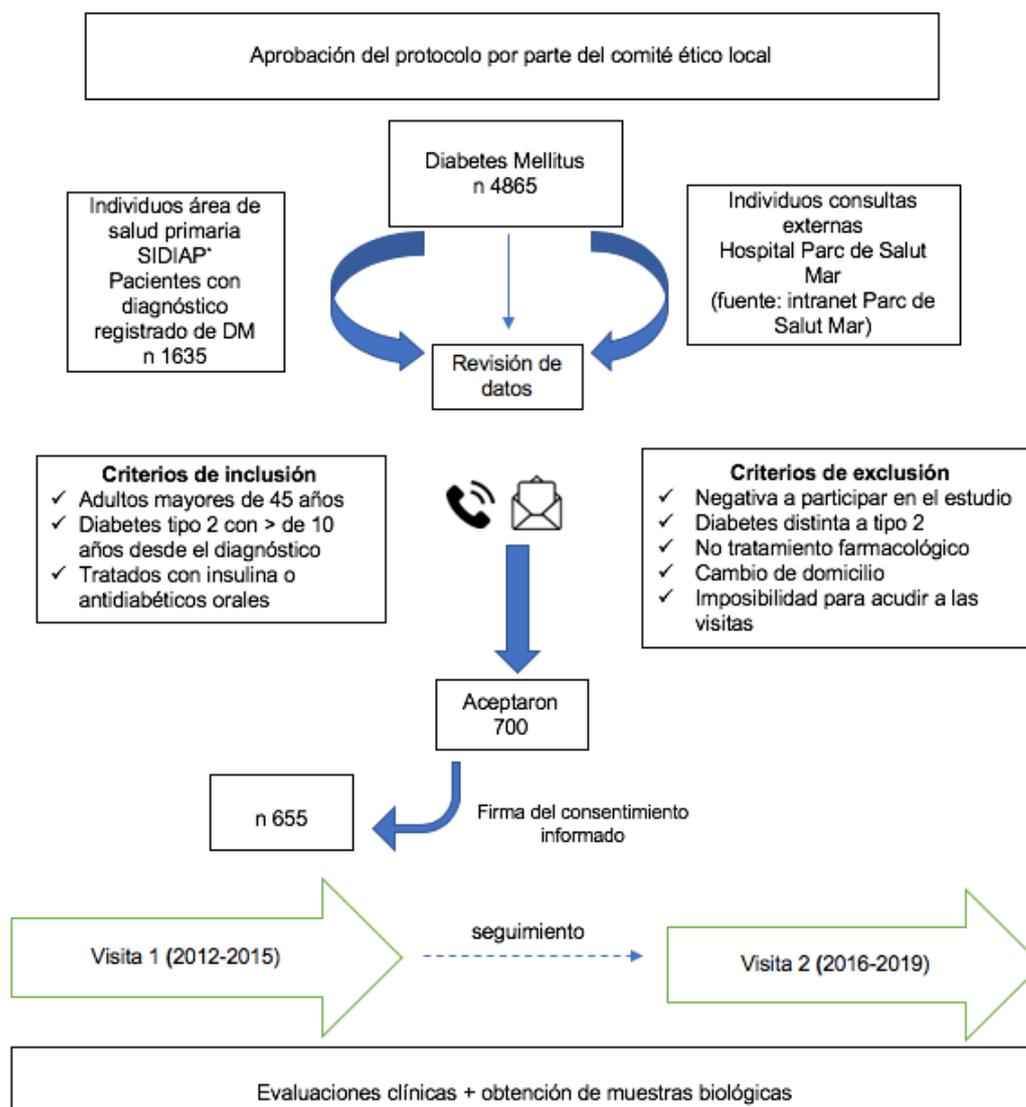
### 9.1. Metodología de la creación de la cohorte GenoDiabMar

#### 9.1.1 Diseño del estudio

La cohorte GenoDiabMar incluye 655 individuos adultos voluntarios con DT2 del área de salud Litoral-Mar de Barcelona. Los pacientes fueron reclutados entre febrero de 2012 y julio de 2015. Mediante revisión de la historia clínica informatizada, seleccionamos pacientes de las consultas externas del servicio de Nefrología del Hospital del Mar. Además, reclutamos pacientes de 6 centros de atención primaria pertenecientes a dicha área de salud.

Para detectar a estos pacientes DT2 en los centros de atención primaria utilizamos el programa informático *Sistema d'Informació pel Desenvolupament de la Investigació en Atenció Primària* (SIDIAP), herramienta que recoge los datos del 75% de la población catalana en atención primaria (293). Una vez contactados los directores médicos de cada centro y sus médicos de familia, y aprobado el proyecto por el comité ético del Parc de Salut Mar y del Institut Mar d'Investigacions Mèdiques de Barcelona (IMIM) con el número 2016/6766/I, contactamos con los pacientes, vía carta y posterior llamada de teléfono para proponerles participar en el estudio y programar la primera visita para la recolección de datos y obtención de muestras analíticas (Figura 10).

**Figura 10. Diagrama de flujo del registro GenoDiabMar.**



\*Sistema d'Informació pel Desenvolupament de la Investigació en Atenció Primària.

### 9.1.2. Criterios de inclusión

Se incluyeron adultos mayores de 45 años, diagnosticados de DT2 de más de 10 años de evolución y que estuvieran bajo tratamiento farmacológico con insulina o con antidiabéticos orales (ADOs). De esta manera se aseguró el diagnóstico de DT2 y se evitaron pacientes con diagnóstico dudoso o con hiperglicemias basales aún sin tratamiento. Este estudio fue aprobado por el comité ético del Hospital Parc de Salut Mar y del Institut Mar d'Investigacions Mèdiques de Barcelona (IMIM). Todos los participantes fueron informados y firmaron un consentimiento con la

explicación del proyecto y de obtención y almacenamiento de muestras biológicas y registro de datos clínicos y analíticos.

Entre febrero de 2012 y julio de 2015, 655 pacientes diabéticos tipo 2 acudieron a la visita basal (visita 1) realizada por un nefrólogo. Se registraron los datos clínicos y las medidas del examen físico y se obtuvieron muestras de sangre total, muestras de suero y de orina.

### **9.1.3. Historia médica y evaluación de factores de riesgo cardiovascular**

Se incluyó antecedente en la familia de DM, así como el tipo de relación parental con los familiares afectos de DM (padres, hermanos, hijos o combinaciones). La historia de tabaquismo se registró como fumador activo, exfumador o no fumador. La hipertensión arterial (HTA) se definió como: la determinación en la visita 1 de una presión arterial sistólica media de  $\geq 140$  mmHg y/o una presión arterial diastólica  $\geq 90$  mmHg; diagnóstico conocido de HTA previo etiquetado por su médico de atención primaria o por un nefrólogo, o que el paciente estuviera en tratamiento con medicación hipotensora. Aparte del valor absoluto de los perfiles lipídicos en los datos analíticos, se consideró como variable cualitativa la dislipemia si determinación en la analítica de un colesterol total  $>250$  mg/dl, colesterol LDL  $>130$  mg/dl, colesterol HDL  $<35/45$  mg/dl (hombres/mujeres respectivamente), triglicéridos  $>200$  mg/dl; o diagnóstico conocido de dislipemia o uso de medicación hipolipemiente.

La historia de eventos cardiovasculares se registró como cardiopatía isquémica (infarto agudo de miocardio, angina, revascularización cardiaca o antecedente registrado por un cardiólogo); enfermedad cerebrovascular (accidente vascular cerebral o accidente isquémico transitorio) y enfermedad vascular periférica (claudicación intermitente, úlceras vasculares isquémicas o revascularización quirúrgica).

La presencia o ausencia de retinopatía diabética (RD) fue diagnosticada mediante fondo de ojo realizado por un oftalmólogo. Se catalogó de retinopatía desconocida en caso de falta de realización de fondo de ojo. Además, se registró la presencia de cataratas diagnosticada en la revisión oftalmológica.

Registramos la medicación en uso del paciente en la visita médica incluyendo: a) tratamiento antihipertensivo distinguiendo IECA, ARAI, calcioantagonistas, betabloqueantes, diuréticos y combinaciones u otros; b) tratamiento hipolipemiente (estatinas, fibratos u otros como omega3, ezetimibe); c) tratamiento antidiabético (insulina, antidiabéticos orales o ambos). No está registrado en la primera visita el

uso de ISGLT2 o análogos de la incretina, si bien su uso entre el 2012-2015 era muy limitado y poco frecuente en este tipo de pacientes.

### **9.1.4. Medidas antropométricas y evaluación del examen físico**

El registro de la edad de los pacientes se realizó en años, calculado desde la fecha de nacimiento hasta la fecha de la visita 1. El género, según hombre o mujer; la altura se midió en centímetros (cm); el peso en kilogramos (Kg) y el índice de masa corporal (IMC) se calculó según el peso/talla<sup>2</sup> (Kg/m<sup>2</sup>). La medida de la presión arterial se hizo con un esfigmomanómetro automático calibrado siguiendo un protocolo estandarizado, registrando la media de tres mediciones separadas por 3 minutos entre ellas.

### **9.1.5. Datos de laboratorio**

Durante la primera visita se obtuvieron muestras de sangre mediante punción venosa periférica por parte de la enfermera en la consulta médica, los pacientes aportaban además muestras de orina.

Se obtuvo una muestra de sangre en ayunas de 20 ml de EDTA (Ethylene diamine tetra acetic) de todos los participantes. Las muestras se centrifugaron (2500 rpm, 10 min) y se almacenaron a -80°C hasta su uso. En los participantes en tratamiento sustitutivo renal mediante hemodiálisis (n = 49), se tomaron muestras en ayunas antes del procedimiento del tratamiento dialítico a mitad de semana. Las muestras de suero, orina y sangre total se almacenan en nuestros congeladores del grupo de investigación de nefropatías (GREN) del Institut Mar d'Investigacions Mèdiques (IMIM). Todas las muestras para análisis se centralizaron en un único laboratorio (Laboratorio de referencia de Cataluña (LRC)). Las variables principales se resumen en las tablas de resultados.

La función renal se calculó con la creatinina sérica y el filtrado glomerular estimado (FGe) según la ecuación CKD-EPI (Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration) (294). La microalbuminuria se definió como el cociente albúmina-creatinina urinaria  $\geq 30$  mg/g y la macroalbuminuria como el cociente albúmina-creatinina urinaria  $\geq 300$  mg/g. Los pacientes fueron divididos en dos grupos según se consideraba si tenían enfermedad renal diabética (ERD) o no. La ERD la definimos si: FGe < 60 ml/min/1.73m<sup>2</sup> y albuminuria > 300mg/g o albuminuria 30-299 mg/g y retinopatía diabética, independientemente del FGe.

Los pacientes se clasificaron según el grado de enfermedad renal crónica según las guías KDIGO: grado 1-2 si FGe > 90-60 ml/min/1.73m<sup>2</sup>, grado 3 si FGe > 59-30 ml/min/1.73m<sup>2</sup>, grado 4 si FGe > 29-15 ml/min/1.73m<sup>2</sup> y grado 5 si FGe < 15 ml/min/1.73m<sup>2</sup> (295).

Se trata de un registro activo con seguimiento longitudinal tanto clínico como analítico con dos visitas presenciales para poder obtener muestras para biobanco, en la visita 1 (V1) y al final del cuarto año de seguimiento (V2).

## 9.2. Características básicas de las cohortes europeas utilizadas en la réplica de resultados de metabolómica

Para poder replicar nuestros resultados de metabolómica se utilizaron las cohortes europeas TwinsUK, KORA y YoungFinns, cuyas características se resumen a continuación.

El **TwinsUK** es un registro nacional de gemelos reclutados a través de campañas mediáticas y representativo de la población general en términos de parámetros de estilo de vida (296). Todos los participantes son invitados regularmente a las visitas en el Hospital St. Thomas, Londres, Reino Unido, para la evaluación clínica y la recolección de muestras. Las muestras de sangre en ayunas se recolectaron durante las visitas, se dividieron en alícuotas y se almacenaron a  $-80^{\circ}\text{C}$  hasta el análisis. Para este estudio, se incluyeron 1279 individuos (111 con DT2) con datos metabolómicos y creatinina sérica disponible. Además, hubo medidas longitudinales de creatinina y metabolómica disponibles para 740 individuos, 363 de ellos examinados en tres puntos temporales, con un tiempo de seguimiento promedio de  $11.8 \pm 4.7$  años. Nightingale Inc. midió la metabolómica en dos lotes. El estudio fue aprobado por el comité de ética del Hospital St. Thomas, Londres, Reino Unido.

El estudio Cooperative Health Research en la región de Augsburg (**KORA**) es un grupo de cohortes de población con sede en el sur de Alemania (297). Para la cohorte se han realizado distintas visitas. La visita S4 comprende 4261 individuos que se reclutaron inicialmente en 1999 y 3080 de ellos se valoraron de nuevo entre 2006 y 2009 para el seguimiento; la visita llamada F4 con 2279 reevaluados por segunda vez en 2014 para el seguimiento, y visita llamada FF4, en la que se incluyeron 1784 participantes (160 con DT2) de la visita F4 de los que se disponía de mediciones metabolómicas y de creatinina. Las mediciones de seguimiento de la creatinina estuvieron disponibles en el registro de FF4 para un subconjunto de 1185 individuos, 7 años después de la visita de referencia. Las muestras de sangre se extrajeron tras al menos 10 horas de ayuno nocturno y se mantuvieron a  $-80^{\circ}\text{C}$  hasta su posterior análisis. Todas las muestras se enviaron a Nightingale Inc (plataforma de análisis de datos metabolómicos utilizado en este trabajo) para análisis metabolómicos en un solo lote. El estudio fue aprobado por el Comité de Ética de la Asociación Médica Bávara.

Además, se analizaron los datos de 2046 individuos de la cohorte de **YoungFinns**. El estudio "Riesgo cardiovascular en jóvenes finlandeses" comenzó como piloto en 1978, incorporando a 3596 niños de 3 a 18 años, en 1980. Después de eso, se realizaron seguimientos aproximadamente cada tres años (298). Se extrajeron muestras de sangre en el centro de estudio después de un ayuno nocturno. Analizamos los datos de las visitas de seguimiento de 21, 27 y 30 años, de los que se disponía de datos de metabolómica sanguínea. Las mediciones longitudinales de creatinina y metabolómica en los tres puntos temporales estuvieron disponibles para 1770 de los 2046 individuos. La recopilación de datos del estudio la aprobó el comité de ética del distrito hospitalario del suroeste de Finlandia.

### 9.3. Metodología de la detección de los perfiles de los metabolitos

Para caracterizar el fenotipo metabolómico, se utilizó un método de alto rendimiento basado en resonancia magnética nuclear (RMN) de emisión de protones (299). Este método combina dos ventanas moleculares que contienen la mayor parte de la información metabólica disponible por RMN en suero humano. Estas dos ventanas son conocidas como LIPO; analiza el espectro de la RMN libre de agua, lo que permite determinar numerosos perfiles lipídicos y subclases de lipoproteínas y la ventana LMWM que detecta moléculas de bajo peso molecular. La RMN ofrece una alta reproducibilidad y aporta valores cuantitativos. Por otro lado, dentro de las distintas plataformas de medición de metabolitos, esta técnica es la más indicada para el análisis lipidómico. De esta manera, se obtienen resultados de 227 metabolitos, 147 metabolitos séricos divididos en pequeñas moléculas, como aminoácidos, cuerpos cetónicos, moléculas relacionadas con la glicolisis, el balance hídrico o la inflamación y perfiles lipídicos entre los que se diferencia ácidos grasos, fosfolípidos, apolipoproteínas y 14 subclases de lipoproteínas. Estos análisis se realizaron usando la plataforma Nightingale health Ltd del grupo del Dr Pasi Soininen del laboratorio de metabolómica y química del Departamento de Biociencias en la Universidad de Kuopio, Kuopio, Finlandia (299).

Las muestras se mezclan con tampón de fosfato de sodio y posteriormente se transfieren a los tubos SampleJet RMN (Bruker, Billerica, MA, EE. UU.) utilizando un manipulador JANUS de Perkin Elmer (Waltham, MA, EE. UU.). Las muestras se analizan en un espectrómetro de 500 MHz Bruker AVANCE III (Bruker, Billerica, MA, EE. UU.) durante 5 minutos. Para el control de calidad, a cada placa de 96 pocillos se le añaden dos muestras de control, una muestra de plasma y una mezcla de dos metabolitos de bajo peso molecular.

El procesamiento inicial de los datos, incluidas las transformaciones de Fourier a los espectros de RMN y las fases automáticas, se realiza utilizando las computadoras que controlan los espectrómetros; luego, los espectros se transfieren

automáticamente a un servidor centralizado, que realiza varios pasos adicionales de procesamiento espectral automatizado, incluida la verificación general de la señal para detectar picos pérdidas/extras, control de fondo, eliminación de línea de base y alineamientos de señal específicos del área espectral. La información espectral de la muestra real también experimenta varias comparaciones con los espectros de las 2 muestras de control de calidad; para los que los datos también se siguen y se comparan de manera consecutiva. Para aquellas áreas espectrales que pasan todos los pasos de control de calidad, se realiza un modelo de regresión para producir los datos moleculares cuantificados.

Se utiliza un algoritmo bayesiano patentado (176) para cuantificar las concentraciones absolutas de un conjunto predefinido de rasgos metabólicos, incluidas 98 medidas de constituyentes lipídicos de 14 subclases de lipoproteínas y 9 aminoácidos, del espectro de RMN. Además, el algoritmo proporciona el promedio de las medidas de tamaño de partículas como lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL), lipoproteínas de baja densidad (LDL), lipoproteínas de densidad intermedia (IDL) y lipoproteínas de alta densidad (HDL), así como una semi-medida cuantitativa de la concentración de albúmina. Además, se analizaron 80 proporciones de medidas metabólicas que describen la composición de las partículas de lipoproteínas, totalizando 227 rasgos metabólicos (300,301).

Estudiamos la asociación del filtrado glomerular estimado (FGe) (fórmula CKD-EPI) con 227 perfiles de metabolitos en la cohorte GenoDiabMar y posteriormente en el conjunto de las distintas cohortes descritas divididas por grupos con o sin diabetes. El listado completo de metabolitos estudiados está disponible en el trabajo de Soininen P y Makinen VP y col (299,300) y en las tablas del anexo.

Todas las medidas metabólicas fueron transformadas logarítmicamente. Todas las mediciones se redujeron a la media cero y se ajustaron a la desviación estándar de 1 (puntuaciones z) para facilitar posibles futuras comparaciones entre cohortes.

Para el análisis estadístico de estos estudios utilizamos modelos de regresión lineal ajustados por edad, sexo, IMC y duración de la diabetes. Se consideraron significativos los resultados que tras meta-analizarse en población externa mediante varianza inversa de efecto fijo, pasaron el umbral de significación del test de comparaciones múltiples o test de corrección de Bonferroni, asumiendo 50 test independientes como sugieren Li and Ji (302) (sólo la  $p < 0.001$  fue considerada como significativa para estos análisis de datos metabólicos).

### **9.3.1. Metodología de la determinación de Galectina-3**

En el registro GenoDiabMar y en las muestras de suero de la primera visita, se midieron los niveles absolutos de Galectina-3 sérica circulante (Gal3) en 369

## MATERIAL Y MÉTODOS

pacientes mediante técnica de ELISA convencional, realizada en el centro de biología molecular Severo Ochoa (CSIC y UAM), en Madrid, bajo la dirección del Dr. Pedro Bonay Miarons.

Los datos cuantitativos se expresan como porcentaje o media (valor  $\pm$  desviación estandar) para las variables con distribución normal y como medianas (con rango intercuartil) para las variables que no siguen una distribución normal. Las variables cualitativas se dan con frecuencias absolutas y relativas. El test de ANOVA se aplicó para buscar diferencias significativas entre grupos. Para comparar grupos que mostraron una dispersión no paramétrica se utilizó el test U de Mann-Whitney y para variables paramétricas el test de T de Student. Para reconocer la asociación entre variables categóricas se utilizó el test de  $\text{Chi}^2$ . El análisis transversal de los datos se obtuvo mediante el modelo de regresión logística para las aproximaciones de modelos multivariados (OR – IC 95%) y las curvas ROC para encontrar puntos de mayor sensibilidad y especificidad para discernir la condición ND. El análisis longitudinal se hizo mediante el modelo multivariado de ecuación de estimación generalizada. La significación estadística se definió en cada caso por un valor p inferior a 0.05.

## 10. RESULTADOS

## RESULTADOS

## 10. RESULTADOS

### 10.1. Características básicas de los pacientes de la cohorte GenoDiabMar

En la visita basal, realizada entre los años 2012 y 2015, se incluyeron 655 individuos del registro GenoDiabMar (400 hombres y 255 mujeres). Las características generales de la población se detallan en las **tablas 1-3**. La edad media de los participantes en esta primera visita fue de  $69.7 \pm 9.3$  años, con un tiempo de evolución de la DT2 de 15 [11-21] años. La distribución según el grado de enfermedad renal crónica fue; G2 50.1%, G3 30.9%, G4 10.9% y G5 7.9%. Atendiendo a la presencia o no de enfermedad renal diabética (ERD) definida en este trabajo como  $\text{FGe} < 60 \text{ ml/min/1.73m}^2$  y albuminuria  $> 300 \text{ mg/g}$  o albuminuria 30-299 mg/g y tener retinopatía diabética, independientemente del FGe, el 57% de la población tenía ERD. Como era de esperar, la presencia de retinopatía diabética (RD) fue significativamente superior a medida que empeoraba el FGe y estaba presente en casi un 40% de los individuos con ERD.

#### 10.1.1 Factores de riesgo cardiovascular y de eventos cardiovasculares

La media del índice de masa corporal (IMC) fue de  $30.26 (\pm 5.18) \text{ Kg/m}^2$  en todos los participantes no siendo significativamente mayor en aquellos con ERD ( $29.5$  vs  $30.3 \text{ Kg/m}^2$ ). Entre los participantes, 310 (47.2%) tenían antecedentes de historia familiar asociada de DM. El 17% de los pacientes eran fumadores activos, mientras que el 38% eran exfumadores. A medida que empeora el grado de ERC se encontró un porcentaje significativamente menor de fumadores. La prevalencia de la hipertensión arterial fue del 90% de la población, 83% de los grupos sin ERD y del 97.2% en los participantes con ERD. El 77% de la población era dislipémica. Respecto a la historia de eventos cardiovasculares previos, separados en cardiopatía isquémica conocida, enfermedad isquémica cerebro-vascular y vasculopatía periférica, un 20% tenía historia de cardiopatía isquémica, con un pico de prevalencia superior en los individuos en grado 4 de ERC. La prevalencia fue el doble en los pacientes del grupo con ERD. Un 10% tenían antecedentes de enfermedad cerebrovascular y un 21% enfermedad vascular periférica, ambas entidades de nuevo, con mayor prevalencia en los grados 4 de ERC.

**Tabla 1. Características clínicas generales de los participantes del registro GenoDiabMar en su visita basal distribuidas según grados de ERC.**

Grado de ERC	1-2	3	4	5	p
<b>N</b>	329	202	72	52	
<b>Edad (años)</b>	66.3(8.3)	73.5(9.0)	75.2(8.0)	68(9.0)	<0.0001
<b>Tiempo de diabetes (años)</b>	14.9(7.7)	17.7 (8.8)	19.4(9.6)	19.7(8.3)	<0.0001
<b>Género (H:M) %</b>	61.7:38.3	61.5:38.4	56.3:43.6	62.0:38.0	0.859
<b>IMC (Kg/m<sup>2</sup>)</b>	30.2(5.0)	30.8(5.1)	30.2(4.8)	28.8(4.8)	0.166
<b>Fumadores %</b>	23.1	16.2	2.8	6	<0.0001
<b>HTA %</b>	83.8	97.5	95.7	100	<0.0001
<b>Terapia antihipertensiva (% IECA/ARA)</b>	75.3	84.2	54.9	40	<0.0001
<b>Historia de eventos cardiovasculares (%)</b>					
<b>Cardiopatía isquémica</b>	12.8	23.7	35.7	28.0	<0.0001
<b>Enfermedad cerebrovascular</b>	9.4	11.3	12.8	10.0	<0.0001
<b>Vasculopatía periférica</b>	14.3	24.7	27.1	24.0	<0.0001
<b>Retinopatía diabética %</b>	16.2	27.1	35.2	64.0	<0.0001
<b>Terapia hipolipemiente (estatinas %)</b>	67.4	77.8	83.1	74.0	0.002
<b>Terapia antidiabética % Agentes orales/Insulina</b>	59.7/40.2	42.2/57.7	22.5/77.4	8.5/91.4	<0.0001

La edad y el IMC se expresan en media  $\pm$  desviación estándar. H: Hombre, M: Mujer. IMC: índice de masa corporal; HTA: hipertensión arterial; IECA: inhibidor del enzima convertidor de la angiotensina; ARA: antagonista del receptor de la Angiotensina II. Los grados de ERC se estratifican según las recomendaciones de las guías KDIGO como G2 60-89, G3 59-30, G4 29-15 y G5 <15 mL/min/1.73m<sup>2</sup>. Los valores de las variables categóricas se expresan como n y porcentajes.

### 10.1.2. Listado de medicación habitual

Se registró la medicación antihipertensiva, hipolipemiente y antidiabética habitual de los participantes en su visita basal. En cuanto al tratamiento antihipertensivo, un 30% tomaban IECA, un 41% ARAII y un 3% la combinación de IECA y ARAII. Como se detalla en las tablas, a medida que disminuye el FG, el uso de inhibidores del SRAA es menor, con un descenso significativo del mismo en los grados 4 y 5 de ERC. Además, un 65% de los participantes tomaban antagonistas del calcio, betabloqueantes o diuréticos. Un 72% utilizaban estatinas con mayor prevalencia en el grado 4 de ERC y en el grupo con ERD respecto a aquellos sin ERD (76.4 vs 65.7%). En cuanto a la medicación antidiabética, un 24.5% de los participantes

tomaban antidiabéticos orales (ADOs), un 46.1% insulina y un 28.5% de los participantes combinaban ambos tratamientos (ADOs e insulina). Como se detalla en las tablas, el uso de ADOs disminuye significativamente a medida que empeora el FGe, con un claro aumento del uso de insulina siendo el tratamiento elegido en el 91.4% de los pacientes con ERC grado 5.

### 10.1.3. Variables analíticas

Las variables analíticas registradas se resumen en las **tablas 2 y 3**. Como se esperaba, el FGe de los individuos sin ERD fue superior y su albuminuria inferior, respecto a los participantes definidos como ERD (FGe 82.9 vs 41.9 mL/min/1.73m y Alb/Cr orina 6.8 vs 186.3 mg/g). La mediana de hemoglobina glucosilada fue de 7.5% [1<sup>er</sup>, 3<sup>er</sup> cuartil: 6.8, 8.4 %], sin diferencias significativas entre los grupos con y sin ERD. La media de ácido úrico fue de 6.11 ( $\pm$ 1.69) mg/dl con peor control en los grados 4 de ERC y en el grupo ERD. Respecto al perfil lipídico, la media de colesterol total fue de 171.2 ( $\pm$ 37.7) mg/dl, la mediana de colesterol-LDL fue de 45 mg/dl [1<sup>er</sup>, 3<sup>er</sup> cuartil: 38, 54.3 mg/dl], de colesterol-HDL 93 mg/dl [1<sup>er</sup>, 3<sup>er</sup> cuartil: 73.2, 115.2 mg/dl] y la mediana de triglicéridos fue de 133 mg/dl [1<sup>er</sup>, 3<sup>er</sup> cuartil: 99, 190 mg/dl]. Respecto a las características del perfil lipídico, como se muestra, la mayoría de los participantes presentan un LDL inferior a 100 mg/dl independientemente del grado de afectación renal, cumpliéndose los perfiles observados en otras poblaciones donde se observa un descenso del colesterol total y LDL en grados avanzados de la ERC. La media de hemoglobina fue de 13 ( $\pm$ 1.6) mg/dl sin diferencias entre los grupos con o sin ERD y dentro de las recomendaciones por el grado de ERC.

**Tabla 2. Principales variables analíticas de los participantes del registro GenoDiabMar en su visita basal.**

Grado de ERC	1-2	3	4	5	p
FGe (ml/min/1.73m <sup>2</sup> )	82.0[70.6-94.5]	43.8[37.0-50.2]	23.5[19.4-26.7]	9[10-x]	<0.0001
Proteinuria (mg/g)	10.3[1.08-806.9]	89.5[1.2-2200]	520[5-3778]	943[554-2738.9]	<0.0001
HbA1c (%)	7.6(1.2)	7.7(1.3)	7.6(1.3)	7(1.0)	<0.0001
Colesterol Total (mg/dl)	177.5(36.6)	167.8(34.0)	168(42.3)	146.2(40.3)	0.429
Colesterol LDL (mg/dl)	101.4(31.5)	92(27.4)	97.1(36.5)	72.3(31.7)	0.708
Colesterol HDL (mg/dl)	47.9(13.7)	46.5(13.4)	46.4(14.5)	46.5(15.0)	0.870
Triglicéridos (mg/dl)	146.1(70.5)	164(91.1)	153.8(73.5)	146.7(93.4)	0.252
Ácido Úrico(mg/dl)	5.5(1.3)	6.7(1.6)	7.0(1.8)	5.3(1.7)	0.014
Hemoglobina (mg/dl)	13.7(1.4)	12.5(1.4)	11.4(1.1)	12.0(1.3)	0.392

*HbA1c: Hemoglobina glucosilada; Colesterol-LDL: lipoproteína de baja densidad; Colesterol-HDL: lipoproteína de alta densidad; FGe: filtrado glomerular estimado (fórmula CKD-EPI). Los grados de ERC se estratifican según las recomendaciones de las guías KDIGO como G2 89-60, G3 59-30, G4 29-15 y G5 <15 mL/min/1.73m<sup>2</sup>. Los valores de las variables categóricas se expresan como n y porcentajes y las variables continuas como media y desviación estándar o como mediana y rango intercuartil cuando procede.*

**Tabla 3. Características generales de la población del registro GenoDiabMar en su visita basal, distribuida según si presentaban o no enfermedad renal diabética (ERD).**

Características de la población	No ERD (n= 282)	ERD (n= 373)	P
Género (hombre) (%)	60.3	61.5	0.752
Edad (años)	66 [61-71]	74 [67-80]	<0.0001
Tiempo de Dx de DM (años)	12 [10-20]	15 [12-21]	<0.0001
Retinopatía diabética (%)	7.2	39.5	<0.0001
FGe (ml/min/1.73m <sup>2</sup> )	82.9 [72.7-94.5]	41.98 [30.9-53.8]	<0.0001
Mau/Cr (mg/g)	6.84 [2.9-27]	186.36 [36.4-646.7]	<0.0001
IMC (Kg/m <sup>2</sup> )	29.57 [26.4-33]	30.37 [27-33.9]	0.208
Enfermedad CV (%)	28.4	47.5	<0.0001
Cardiopatía isquémica (%)	13.3	26.3	<0.0001
HTA (%)	83	97.3	<0.0001
Fumadores (activos/ex) (%)	23.4 / 35.1	13.5 / 39.6	0.004
Antecedentes familiares de DM (%)	59.3	39	<0.0001
Toma de inhibidores del SRAA (%)	73.7	72.2	0.21
Otros tratamientos HTA (%)	62.8	88.7	<0.0001
Tratamiento con estatinas (%)	65.7	76.4	0.01
Tratamiento de DM (insulina) (%)	5.3	39	<0.0001
HbA1c (%)	7.5 [6.8-8.2]	7.6 [6.8-8.6]	0.71
Ácido úrico (mg/dl)	5.3 [4.7-6.4]	6.6 [5.6-7.6]	<0.0001
Colesterol total (mg/dl)	173 [150.2-204]	166 [147-191]	0.001
LDL (mg/dl)	98 [78.8-119.8]	92.75 [75.2-115]	0.001
HDL (mg/dl)	45.5 [40-55.8]	44 [35-53]	0.023
Triglicéridos (mg/dl)	124.5 [94-181.8]	144 [102.5-197.7]	0.015
Hemoglobina (g/dl)	13.76 (1.398)	12.45 (1.5)	0.358

La separación por grupos respecto a si presentan o no ERD se define si: FGe <60 ml/min/1.73m<sup>2</sup> y albuminuria >300mg/g o albuminuria 30-299 mg/g y presencia de retinopatía diabética. Los valores de las variables categóricas se expresan como n y porcentajes y las variables continuas como media y desviación estándar o mediana y rango intercuartil cuando procede.

## 10.2. Estudios de asociación sin hipótesis previa. Asociación de perfiles de metabolómica con la función renal

### 10.2.1. Estudios de metabolómica en la cohorte GenoDiabMar

Mediante el uso de una plataforma de espectroscopia de resonancia magnética nuclear (RMN) se identificaron 227 metabolitos pertenecientes a diferentes grupos repartidos en: pequeñas moléculas relacionadas como aminoácidos, metabolitos relacionados con la glicólisis, la inflamación y cuerpos cetónicos, así como subclases de lipoproteínas y sus componentes lipídicos. El listado completo de estos 227 metabolitos se detalla en **la tabla 1 del anexo**.

De los 227 metabolitos identificados por la plataforma en la cohorte GenoDiabMar, 87 de ellos tuvieron una asociación significativa, tras aplicar el test de Bonferroni, con el filtrado glomerular (FGe) en los estudios de regresión ajustado por las co-variables. Como se observa, 21 metabolitos mostraron una asociación negativa con el FGe y 66 una asociación positiva (**Tabla 4**).

Para explorar más a fondo la relación de los perfiles metabólicos con otras complicaciones microvasculares de la diabetes, calculamos las asociaciones transversales de estos perfiles con la albuminuria (independientemente del FGe), así como las odds-ratios transversales para rasgos como tener o no nefropatía diabética (ERD) y tener o no retinopatía diabética (RD) en la cohorte GenoDiabMar. En la tabla se resaltan en color verde aquellas asociaciones que fueron significativas una vez aplicado el test de Bonferroni.

Como se observa, entre otros, la glicina y la fenilalanina fueron factores de riesgo comunes no solo para la ERD sino también para la RD y la albuminuria (**Tabla 4 y Figura 11**). El glicerol, el citrato y el piruvato mostraron una concordancia, aunque no una asociación significativa, con el daño microvascular retiniano. Además, los contenidos de triglicéridos en IDL, LDL grande y mediano y VLDL pequeño se asociaron de manera consistente con la disminución del FGe, así como con un mayor riesgo de ERD y RD. En contraste, muchas otras subclases de lipoproteínas, incluyendo la mayoría de las HDL, no parecían estar asociadas con la afectación renal en la diabetes ( $p > 0.05$ ). La albúmina sérica se encontró fuertemente asociada con una mejor función renal.

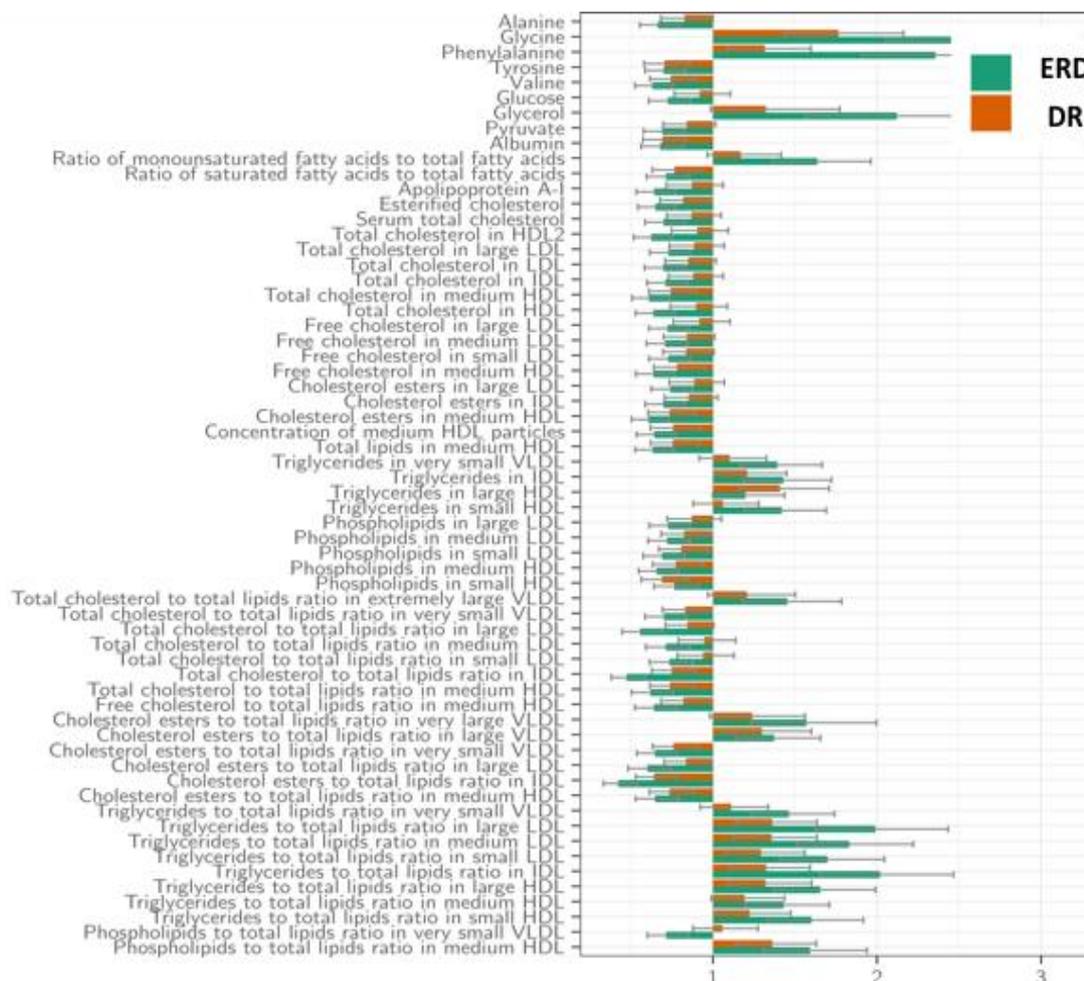
**Tabla 4.** Asociaciones metabólicas con daño microvascular. La tabla muestra el listado de los 87 metabolitos asociados significativamente con el FGe y la microalbuminuria en la visita basal de la cohorte GenoDiabMar y las Odds ratios en sus asociaciones con la retinopatía diabética. En verde se resalta aquellas asociaciones que resultaron significativas tras aplicar el ajuste de Bonferroni.

Metabolito	FGe			Microalbuminuria			Nefropatía diabética			Retinopatía diabética		
	n	beta [95%CI]	p	n	beta [95%CI]	p	n	OR [95%CI]	p	n	OR [95%CI]	p
Alanina	655	7.14 [5.11;9.17]	1,2254E-11	457	-0.10 [-0.36;0.16]	0,44520801	654	0.66 [0.55;0.79]	7,7676E-06	643	0.83 [0.68;1.00]	0,050712
Glutamina	125	-7.87 [-12.31;-3.43]	0,00071543	52	0.24 [-0.52;1.00]	0,5355137	125	1.31 [0.79;2.19]	0,29695859	121	1.23 [0.81;1.88]	0,32359449
Glicina	649	-12.25 [-14.10;-10.41]	1,4141E-34	456	0.64 [0.36;0.92]	8,4542E-06	648	2.55 [2.05;3.17]	2,3137E-17	637	1.76 [1.44;2.16]	4,2653E-08
Leucina	655	5.37 [3.34;7.41]	3,0414E-07	457	-0.02 [-0.28;0.25]	0,9083932	654	0.80 [0.67;0.95]	0,00973141	643	0.76 [0.63;0.91]	0,00350167
Fenilalanina	646	-11.70 [-13.54;-9.86]	4,3859E-32	457	0.44 [0.18;0.71]	0,00128974	645	2.36 [1.91;2.90]	1,028E-15	634	1.32 [1.08;1.60]	0,00533775
Tirosina	654	5.72 [3.70;7.75]	4,4209E-08	457	-0.37 [-0.62;-0.11]	0,00522252	653	0.70 [0.59;0.83]	6,6298E-05	642	0.71 [0.58;0.86]	0,0004686
Valina	655	8.79 [6.83;10.75]	1,2263E-17	457	-0.15 [-0.44;0.14]	0,30472506	654	0.63 [0.52;0.76]	8,7413E-07	643	0.74 [0.62;0.89]	0,00156866
Citrato	655	-4.97 [-7.01;-2.93]	2,1628E-06	457	-0.12 [-0.37;0.14]	0,36301583	654	1.21 [1.02;1.43]	0,03149496	643	1.14 [0.95;1.38]	0,15852589
Glucosa	654	5.16 [3.15;7.17]	6,3563E-07	457	-0.00 [-0.26;0.26]	0,99406234	653	0.73 [0.61;0.87]	0,00034799	642	0.92 [0.76;1.11]	0,37319203
Glicerol	301	-11.03 [-13.96;-8.10]	1,7314E-12	205	0.00 [-0.43;0.43]	0,99773592	300	2.12 [1.56;2.88]	1,4689E-06	296	1.32 [0.99;1.77]	0,06131896
Piruvato	650	4.82 [2.76;6.88]	5,4595E-06	453	-0.35 [-0.60;-0.09]	0,00847011	649	0.69 [0.58;0.83]	5,5761E-05	638	0.84 [0.70;1.02]	0,07326452
Albúmina (log)	655	6.57 [4.55;8.58]	3,2745E-10	457	-0.67 [-0.95;-0.40]	2,5437E-06	654	0.68 [0.56;0.82]	4,9981E-05	643	0.69 [0.57;0.84]	0,00013524
Acetil-glicoproteínas	655	-3.63 [-5.72;-1.53]	0,00073576	457	0.15 [-0.10;0.41]	0,2432579	654	1.35 [1.13;1.61]	0,00113034	643	0.88 [0.73;1.07]	0,21027133
Ratio de ácidos grasos monoinsaturados con el total de ácidos grasos	650	-5.72 [-7.73;-3.70]	3,9924E-08	457	0.48 [0.23;0.73]	0,00022178	649	1.64 [1.36;1.96]	1,1471E-07	638	1.17 [0.97;1.42]	0,10855858
Ratio de ácidos grasos saturados con el total de ácidos grasos	650	4.57 [2.55;6.59]	1,1357E-05	457	-0.25 [-0.50;-0.00]	0,04679235	649	0.71 [0.60;0.86]	0,00027281	638	0.77 [0.63;0.93]	0,00767561
Apolipoproteína A-I	655	5.69 [3.58;7.79]	1,6414E-07	457	-0.42 [-0.67;-0.16]	0,00144774	654	0.64 [0.53;0.77]	3,0732E-06	643	0.87 [0.72;1.06]	0,1752818
Colesterol esterificado	651	7.35 [5.35;9.34]	1,4614E-12	457	-0.29 [-0.55;-0.02]	0,03375911	650	0.65 [0.54;0.78]	2,6321E-06	639	0.82 [0.68;0.99]	0,03700523
Colesterol sérico total	655	6.36 [4.33;8.39]	1,4095E-09	457	-0.24 [-0.50;0.02]	0,072781	654	0.70 [0.59;0.83]	6,3047E-05	643	0.87 [0.72;1.05]	0,14684176
Total colesterol in HDL2	653	5.71 [3.64;7.78]	8,9113E-08	455	-0.47 [-0.74;-0.20]	0,0006219	652	0.62 [0.52;0.75]	9,9125E-07	641	0.90 [0.75;1.09]	0,29946038
Colesterol total en LDL grande	655	6.33 [4.33;8.33]	9,8981E-10	457	-0.18 [-0.43;0.08]	0,17789288	654	0.73 [0.61;0.86]	0,00027213	643	0.89 [0.73;1.07]	0,20662863
Colesterol total en LDL mediano	655	5.56 [3.55;7.57]	8,3657E-08	457	-0.11 [-0.36;0.14]	0,39163502	654	0.77 [0.65;0.91]	0,00238622	643	0.92 [0.76;1.11]	0,39158795
Colesterol total en LDL pequeño	655	5.59 [3.58;7.60]	7,3234E-08	457	-0.12 [-0.37;0.14]	0,37048069	654	0.77 [0.65;0.91]	0,00199451	643	0.93 [0.77;1.12]	0,42009085
Colesterol total en LDL	655	6.72 [4.73;8.70]	7,4739E-11	457	-0.17 [-0.44;0.10]	0,21589282	654	0.70 [0.58;0.83]	7,7302E-05	643	0.85 [0.71;1.02]	0,07843386
Colesterol total en IDL	655	6.55 [4.55;8.55]	2,7938E-10	457	-0.23 [-0.49;0.02]	0,07104785	654	0.71 [0.60;0.85]	0,00010374	643	0.88 [0.73;1.06]	0,18418846
Colesterol total en HDL muy grande	655	4.18 [2.10;6.26]	9,0234E-05	457	-0.25 [-0.51;0.00]	0,05431031	654	0.75 [0.63;0.89]	0,00107801	643	1.04 [0.86;1.26]	0,67779166
Colesterol total en HDL mediana	655	5.92 [3.86;7.98]	2,5041E-08	457	-0.51 [-0.76;-0.26]	8,6193E-05	654	0.61 [0.51;0.73]	1,803E-07	643	0.74 [0.61;0.90]	0,00265174
Colesterol total en HDL pequeño	655	3.82 [1.78;5.87]	0,00025983	457	-0.07 [-0.33;0.19]	0,59899786	654	0.81 [0.68;0.95]	0,0124485	643	0.86 [0.71;1.04]	0,11745471
Total colesterol in HDL	655	5.29 [3.21;7.38]	7,9876E-07	457	-0.44 [-0.70;-0.19]	0,00080075	654	0.64 [0.53;0.77]	1,7763E-06	643	0.90 [0.74;1.09]	0,26972561
Colesterol libre en LDL grande	655	6.34 [4.34;8.34]	9,191E-10	457	-0.19 [-0.44;0.07]	0,14789277	654	0.72 [0.61;0.86]	0,00019539	643	0.92 [0.76;1.10]	0,35826379
Colesterol libre en LDL mediana	655	7.09 [5.11;9.08]	6,2601E-12	457	-0.12 [-0.38;0.15]	0,39597348	654	0.71 [0.59;0.84]	0,00011953	643	0.84 [0.70;1.01]	0,06564998
Colesterol libre en LDL pequeña	655	6.77 [4.78;8.76]	6,0587E-11	457	-0.11 [-0.37;0.16]	0,43169049	654	0.73 [0.61;0.87]	0,00037042	643	0.84 [0.70;1.01]	0,05806849
Colesterol libre en IDL	655	5.14 [3.11;7.17]	8,5129E-07	457	-0.17 [-0.42;0.08]	0,17793435	654	0.77 [0.65;0.91]	0,00254925	643	0.98 [0.82;1.19]	0,86990019
Colesterol libre en HDL muy grande	655	3.60 [1.50;5.70]	0,00083358	457	-0.28 [-0.53;-0.03]	0,0269861	654	0.75 [0.63;0.90]	0,00169304	643	1.06 [0.87;1.28]	0,58533236
Colesterol libre en HDL mediana	655	5.59 [3.51;7.66]	1,7901E-07	457	-0.45 [-0.71;-0.20]	0,00050903	654	0.64 [0.53;0.77]	1,4553E-06	643	0.78 [0.64;0.95]	0,01493569
Ésteres de colesterol en LDL grande	655	6.15 [4.14;8.15]	3,0215E-09	457	-0.17 [-0.42;0.09]	0,19787138	654	0.74 [0.62;0.88]	0,00047116	643	0.89 [0.73;1.07]	0,20894032
Ésteres de colesterol en LDL mediana	655	5.00 [2.98;7.02]	1,5219E-06	457	-0.11 [-0.36;0.14]	0,40049838	654	0.79 [0.67;0.94]	0,00653512	643	0.95 [0.79;1.15]	0,60628702
Ésteres de colesterol en LDL pequeña	655	5.09 [3.07;7.11]	1,0105E-06	457	-0.12 [-0.37;0.13]	0,36642187	654	0.78 [0.66;0.93]	0,00436229	643	0.96 [0.79;1.16]	0,65558631
Ésteres de colesterol en IDL	655	6.90 [4.90;8.89]	2,8605E-11	457	-0.25 [-0.51;0.00]	0,05271144	654	0.70 [0.59;0.83]	4,4385E-05	643	0.85 [0.70;1.03]	0,09690494
Ésteres de colesterol en HDL muy grande	655	4.22 [2.15;6.30]	7,4094E-05	457	-0.23 [-0.49;0.02]	0,07491966	654	0.75 [0.63;0.90]	0,00136341	643	1.04 [0.86;1.26]	0,69010867
Ésteres de colesterol en HDL mediana	655	5.96 [3.90;8.01]	1,9552E-08	457	-0.51 [-0.76;-0.26]	6,8366E-05	654	0.61 [0.50;0.73]	1,4019E-07	643	0.74 [0.61;0.89]	0,00202685
Concentración de partículas LDL grandes	655	5.21 [3.19;7.24]	5,8536E-07	457	-0.08 [-0.33;0.17]	0,51747639	654	0.80 [0.67;0.94]	0,00744122	643	0.94 [0.78;1.13]	0,49095237
Concentración de partículas de LDL medianas	655	4.92 [2.89;6.94]	2,3771E-06	457	-0.04 [-0.29;0.22]	0,77031478	654	0.81 [0.69;0.96]	0,01485688	643	0.93 [0.78;1.14]	0,52778006

RESULTADOS

Metabolito	FGe			Microalbuminuria			Nefropatía diabética			Retinopatía diabética		
	n	beta [95%CI]	p	n	beta [95%CI]	p	n	OR [95%CI]	p	n	OR [95%CI]	p
Concentración de partículas LDL pequeñas	655	5.24 [3.22:7.27]	5.0132E-07	457	-0.05 [-0.31:0.20]	0.67751379	654	0.79 [0.67:0.94]	0.00653896	643	0.92 [0.77:1.11]	0.40861749
Concentración de partículas de IDL	655	5.25 [3.22:7.28]	5.1677E-07	457	-0.10 [-0.35:0.16]	0.46349466	654	0.79 [0.66:0.93]	0.00563019	643	0.91 [0.76:1.10]	0.34878477
Concentración de partículas de HDL medianas	655	5.37 [3.28:7.46]	6.2738E-07	457	-0.43 [-0.68:-0.18]	0.00093925	654	0.64 [0.53:0.77]	2.4929E-06	643	0.76 [0.62:0.93]	0.00682719
Concentración de partículas HDL pequeñas	655	3.68 [1.61:5.75]	0.0005336	457	-0.11 [-0.38:0.16]	0.42062306	654	0.81 [0.68:0.96]	0.01429698	643	0.75 [0.61:0.91]	0.00336997
Lípidos totales en LDL grande	655	5.92 [3.91:7.93]	1.1934E-08	457	-0.12 [-0.38:0.14]	0.35779895	654	0.76 [0.64:0.90]	0.00129832	643	0.90 [0.74:1.08]	0.25435687
Lípidos totales en LDL mediana	655	5.55 [3.54:7.56]	9.2569E-08	457	-0.06 [-0.32:0.19]	0.6294911	654	0.78 [0.66:0.92]	0.00371936	643	0.91 [0.75:1.09]	0.30917135
Lípidos totales en LDL pequeña	655	5.73 [3.72:7.75]	3.5712E-08	457	-0.08 [-0.34:0.18]	0.56651167	654	0.76 [0.64:0.91]	0.00207341	643	0.90 [0.75:1.08]	0.27069725
Lípidos totales en IDL	655	5.70 [3.68:7.72]	4.4977E-08	457	-0.14 [-0.39:0.12]	0.29616728	654	0.76 [0.64:0.90]	0.00157864	643	0.90 [0.74:1.08]	0.25547253
Lípidos totales en HDL mediana	655	5.42 [3.34:7.50]	4.4368E-07	457	-0.45 [-0.70:-0.20]	0.00053895	654	0.63 [0.53:0.76]	1.32E-06	643	0.75 [0.62:0.92]	0.00488737
Lípidos totales en HDL pequeña	655	3.83 [1.77:5.90]	0.00030028	457	-0.12 [-0.39:0.15]	0.37137294	654	0.80 [0.67:0.95]	0.01010501	643	0.75 [0.61:0.91]	0.00312259
Triglicéridos en HDL grande	655	-3.64 [-5.79:-1.49]	0.00097047	457	-0.08 [-0.35:0.19]	0.54863357	654	1.20 [1.00:1.44]	0.05172908	643	1.41 [1.16:1.71]	0.00051228
Triglicéridos en HDL pequeño	655	-3.73 [-5.78:-1.67]	0.00039839	457	0.46 [0.22:0.70]	0.00021942	654	1.42 [1.19:1.69]	8.0571E-05	643	1.06 [0.88:1.28]	0.53393306
Triglicéridos en HDL	655	-3.66 [-5.78:-1.55]	0.00072419	457	0.16 [-0.09:0.41]	0.20687638	654	1.28 [1.07:1.53]	0.00625124	643	1.18 [0.97:1.43]	0.09352167
Fosfolípidos en LDL grande	655	6.48 [4.47:8.48]	4.4433E-10	457	-0.17 [-0.42:0.09]	0.1955628	654	0.73 [0.61:0.86]	0.00025369	643	0.87 [0.72:1.05]	0.15339168
Fosfolípidos en LDL mediano	655	6.74 [4.74:8.74]	8.3257E-11	457	-0.09 [-0.35:0.18]	0.51188022	654	0.72 [0.60:0.86]	0.00027794	643	0.82 [0.68:0.99]	0.04162743
Fosfolípidos en LDL pequeño	655	7.12 [5.12:9.12]	7.4852E-12	457	-0.11 [-0.39:0.16]	0.41996833	654	0.69 [0.58:0.83]	6.4756E-05	643	0.81 [0.67:0.97]	0.02245587
Fosfolípidos en IDL	655	5.35 [3.33:7.38]	2.8255E-07	457	-0.12 [-0.38:0.13]	0.33713165	654	0.78 [0.66:0.92]	0.00393283	643	0.94 [0.78:1.13]	0.49879957
Fosfolípidos en HDL mediano	655	5.09 [2.99:7.19]	2.4453E-06	457	-0.39 [-0.64:-0.13]	0.00278064	654	0.66 [0.55:0.79]	6.5375E-06	643	0.77 [0.63:0.94]	0.0116475
Fosfolípidos en HDL pequeño	654	4.27 [2.19:6.34]	6.1334E-05	456	-0.27 [-0.53:0.00]	0.05165195	653	0.77 [0.64:0.91]	0.00309291	642	0.69 [0.56:0.84]	0.00029516
Ratio de colesterol total con el total de lípidos en quilomicrones y VLDL extremadamente grande	507	-5.33 [-7.59:-3.07]	4.8651E-06	358	0.12 [-0.14:0.39]	0.36946411	506	1.45 [1.18:1.78]	0.00036016	496	1.21 [0.97:1.50]	0.09062368
Ratio de colesterol total con el total de lípidos en VLDL muy pequeño	651	5.30 [3.28:7.31]	3.3209E-07	457	-0.64 [-0.88:-0.39]	4.295E-07	650	0.70 [0.59:0.84]	0.0001056	639	0.83 [0.69:0.99]	0.04380327
Ratio de colesterol total con el total de lípidos en LDL grande	652	7.73 [5.77:9.69]	3.9983E-14	456	-0.50 [-0.80:-0.21]	0.0008526	651	0.56 [0.45:0.69]	2.134E-07	640	0.84 [0.71:1.00]	0.0562516
Ratio de colesterol total con el total de lípidos en LDL mediana	647	5.09 [3.09:7.10]	7.992E-07	455	-0.29 [-0.56:-0.02]	0.03577008	646	0.71 [0.59:0.86]	0.00043736	635	0.95 [0.79:1.14]	0.56532598
Ratio de colesterol total con el total de lípidos en LDL pequeña	647	5.18 [3.17:7.18]	5.4962E-07	455	-0.22 [-0.49:0.05]	0.11265937	646	0.74 [0.61:0.88]	0.00082307	635	0.94 [0.78:1.13]	0.51081098
Ratio de colesterol total con el total de lípidos en IDL	651	8.96 [7.04:10.89]	9.1279E-19	456	-0.66 [-0.93:-0.39]	2.2574E-06	650	0.47 [0.38:0.59]	2.6738E-11	639	0.75 [0.63:0.89]	0.00142791
Ratio de colesterol total con el total de lípidos en HDL mediana	652	5.44 [3.41:7.47]	2.0098E-07	455	-0.62 [-0.87:-0.36]	3.0165E-06	651	0.62 [0.50:0.76]	4.3284E-06	640	0.74 [0.62:0.88]	0.00103193
Ratio de colesterol libre con el total de lípidos en HDL mediana	652	5.84 [3.80:7.87]	2.8009E-08	455	-0.49 [-0.77:-0.22]	0.00039616	651	0.64 [0.52:0.78]	9.8859E-06	640	0.82 [0.68:0.98]	0.03235713
Ratio de ésteres de colesterol con el total de lípidos en VLDL muy grande	495	-4.57 [-6.92:-2.22]	0.00015693	351	0.18 [-0.10:0.45]	0.21019214	494	1.57 [1.23:2.00]	0.0002543	485	1.24 [0.98:1.56]	0.07021997
Ratio de ésteres de colesterol con el total de lípidos en VLDL muy pequeña	651	6.15 [4.16:8.15]	2.49E-09	457	-0.70 [-0.95:-0.46]	3.9726E-08	650	0.65 [0.54:0.78]	5.4077E-06	639	0.76 [0.63:0.91]	0.0028202
Ratio de ésteres de colesterol con el total de lípidos en LDL grande	652	7.11 [5.14:9.09]	4.2114E-12	456	-0.42 [-0.72:-0.12]	0.00683842	651	0.60 [0.48:0.75]	4.2578E-06	640	0.84 [0.70:0.99]	0.04068533
Ratio de ésteres de colesterol con el total de lípidos en LDL mediana	643	3.49 [1.48:5.51]	0.00072351	454	-0.21 [-0.46:0.05]	0.11384607	642	0.80 [0.66:0.96]	0.01581603	631	0.97 [0.81:1.17]	0.75842258
Ratio de ésteres de colesterol con el total de lípidos en small LDL	645	3.44 [1.42:5.46]	0.00089674	455	-0.17 [-0.43:0.08]	0.183682	644	0.78 [0.65:0.94]	0.0106199	633	1.01 [0.84:1.21]	0.95115529
Ratio de ésteres de colesterol con el total de lípidos en IDL	652	9.23 [7.31:11.15]	7.6231E-20	457	-0.69 [-0.94:-0.43]	1.5531E-07	651	0.42 [0.33:0.54]	4.2531E-12	640	0.64 [0.53:0.78]	6.5597E-06
Ratio de ésteres de colesterol con el total de lípidos en HDL mediana	652	4.90 [2.85:6.94]	3.2999E-06	455	-0.58 [-0.83:-0.32]	1.0414E-05	651	0.65 [0.53:0.79]	2.0844E-05	640	0.74 [0.61:0.88]	0.00091205
Ratio de triglicéridos con el total de lípidos en VLDL muy pequeña	653	-5.83 [-7.83:-3.83]	1.7216E-08	457	0.54 [0.30:0.79]	1.9241E-05	652	1.46 [1.23:1.74]	1.9047E-05	641	1.11 [0.92:1.34]	0.2667048
Ratio de triglicéridos con el total de lípidos en LDL grande	654	-9.26 [-11.19:-7.33]	8.8664E-20	457	0.68 [0.42:0.94]	4.9935E-07	653	1.99 [1.63:2.43]	2.2188E-11	642	1.36 [1.13:1.63]	0.00091274
Ratio de triglicéridos con el total de lípidos en LDL mediana	648	-8.87 [-10.81:-6.93]	3.6579E-18	455	0.64 [0.38:0.90]	2.1687E-06	647	1.83 [1.51:2.22]	8.5116E-10	636	1.36 [1.13:1.64]	0.00129477
Ratio de triglicéridos con el total de lípidos en LDL pequeña	647	-8.13 [-10.10:-6.17]	2.4734E-15	455	0.57 [0.30:0.83]	2.773E-05	646	1.70 [1.41:2.05]	2.6578E-08	635	1.29 [1.07:1.56]	0.00702655
Ratio de triglicéridos con el total de lípidos en IDL	654	-9.26 [-11.18:-7.34]	6.2386E-20	457	0.74 [0.48:0.99]	3.3514E-08	653	2.02 [1.65:2.47]	7.6908E-12	642	1.32 [1.10:1.59]	0.00278092
Ratio de triglicéridos con el total de lípidos en HDL grande	639	-6.58 [-8.60:-4.56]	3.5839E-10	448	0.23 [-0.02:0.48]	0.06887875	638	1.65 [1.37:1.99]	1.091E-07	627	1.32 [1.09:1.60]	0.00451152
Ratio de triglicéridos con el total de lípidos en HDL mediana	653	-4.75 [-6.80:-2.71]	6.1695E-06	455	0.44 [0.18:0.70]	0.00101664	652	1.43 [1.20:1.71]	8.3127E-05	641	1.19 [0.99:1.44]	0.06290099
Ratio de triglicéridos con el total de lípidos en HDL pequeña	655	-5.59 [-7.61:-3.57]	8.5819E-08	457	0.51 [0.26:0.75]	5.0575E-05	654	1.60 [1.34:1.92]	3.4084E-07	643	1.22 [1.02:1.47]	0.03367124
Ratio de fosfolípidos con el total de lípidos en VLDL muy pequeña	653	4.40 [2.37:6.42]	2.4194E-05	457	-0.14 [-0.39:0.12]	0.29584857	652	0.71 [0.60:0.85]	0.00016249	641	1.06 [0.88:1.27]	0.54953148
Ratio de fosfolípidos con el total de lípidos en LDL grande	654	-3.58 [-5.61:-1.55]	0.00058603	457	-0.03 [-0.30:0.23]	0.80762422	653	1.16 [0.98:1.37]	0.09235882	642	1.01 [0.84:1.22]	0.92123231
Ratio de fosfolípidos con el total de lípidos en HDL mediana	654	-5.05 [-7.08:-3.02]	1.349E-06	456	0.63 [0.37:0.88]	1.9531E-06	653	1.59 [1.31:1.94]	3.9136E-06	642	1.36 [1.14:1.63]	0.00078744

**Figura 11. Medidas metabólicas asociadas a complicaciones microvasculares de la diabetes.** Las barras representan las Odds ratios de las respectivas medidas metabólicas para la ERD (en verde) y la retinopatía diabética (en naranja). Los intervalos de confianza del 95% se muestran en gris. Figura adaptada de Barrios C y col (303).



### 10.2.2. Estudios de metabolómica y su asociación con función renal. Réplica en 4 cohortes europeas

Para validar los resultados obtenidos en la cohorte GenoDiabMar, respecto a los estudios de asociación entre los metabolitos y el FGe, buscamos la replicación de estos en diferentes cohortes europeas, que contaban con información del FGe y hubieran utilizado la misma plataforma de análisis de metabolómica. De esta manera, pudimos disponer de los datos de pacientes diabéticos de otras dos cohortes europeas (111 pacientes diabéticos de la cohorte TwinsUK y 160 pacientes diabéticos de la cohorte KORA) para poder comparar los resultados.

Además, pudimos comparar dichos resultados con cohortes europeas no diabéticas (YoungFinns y pacientes no diabéticos del TwinsUK y del KORA). Analizamos las poblaciones según tuvieran o no DT2 siguiendo el esquema que se explica en la **Figura 13**. Las características básicas de las poblaciones estudiadas se detallan en la **tabla 5**. El listado completo de los metabolitos se detalla en la **tabla 1 del anexo**. Las asociaciones de los metabolitos en las distintas cohortes se ilustran en las **figuras 12, 14 y 15**.

### **a) Marcadores metabolómicos asociados con función renal en ambas poblaciones, diabéticos y no diabéticos.**

Las asociaciones más fuertes encontradas con el FGe en ambos grupos de poblaciones (diabéticos y no diabéticos) fueron, la fenilalanina, la glicina, el citrato y el glicerol, los cuales se relacionaron con niveles más bajos de FGe.

Los niveles de triglicéridos en diferentes tamaños de partículas de lipoproteínas de densidad intermedia y baja (IDL y LDL, respectivamente) se asociaron de manera inversa con el FGe, mientras que varias subclases de lipoproteínas de alta densidad (HDL) de diferentes tamaños ricas en lípidos, el colesterol, los ésteres de colesterol, los fosfolípidos y la apolipoproteína-A1 (Apo-A1) se asociaron de manera positiva con el FGe (**Tabla 1 del anexo y figuras 12, 14 y 15**).

### **b) Marcadores metabolómicos asociados con la función renal solo en poblaciones diabéticas.**

De los 87 metabolitos identificados en la cohorte GenoDiabMar, 59 de ellos se asociaron de manera consistente con el FGe después del metanálisis entre las tres cohortes diabéticas. De ellos, 30 rasgos se asociaron con el FGe solo en diabéticos, sin evidencia de asociación en no diabéticos (**Tabla 1 del anexo**). Seis metabolitos fueron concentraciones de ésteres de colesterol en las subclases LDL e IDL, cuatro fosfolípidos en LDL e IDL y 14 concentraciones de colesterol y lípidos en LDL e IDL que siguieron una asociación positiva con el FGe en diabéticos. Además, el colesterol esterificado (EC) ( $\beta = 4.35$  [2.96: 5.74],  $p = 9.3 \times 10^{-10}$ ) y el colesterol total ( $\beta = 3.68$  [2.29: 5.07],  $p = 2.0 \times 10^{-7}$ ) se asociaron positivamente con el FGe en diabéticos solamente.

### **c) Marcadores metabolómicos asociados con la función renal solo en poblaciones no diabéticas.**

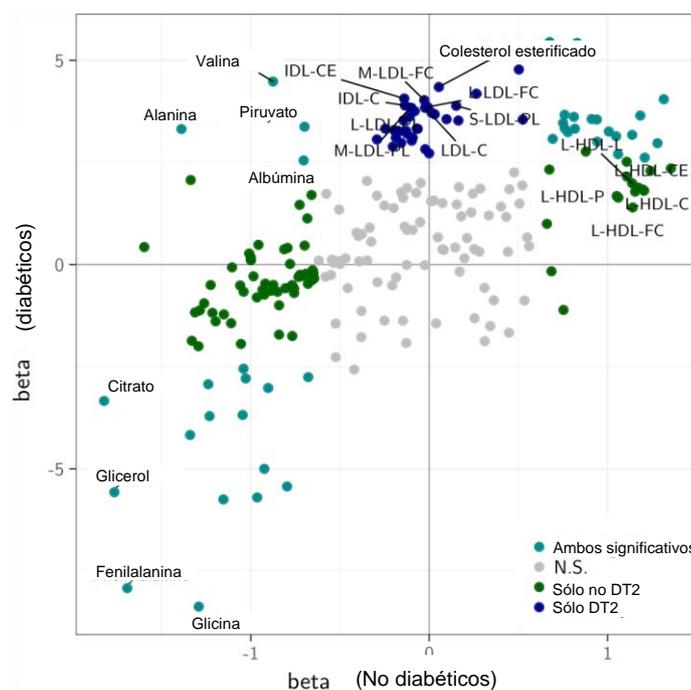
En las tres cohortes no diabéticas, 109 medidas metabólicas se asociaron consistentemente con el FGe. 29 de ellas se asociaron con la función renal solo en pacientes no diabéticos, sin evidencia de correlación en ninguna de las cohortes

diabéticas. Los niveles de colesterol y triglicéridos en partículas de VLDL de todos los tamaños se asociaron negativamente con el FGe. En contraste, el fosfolípido en HDL grande se asoció positivamente con la función renal en poblaciones no diabéticas en el corte transversal (ratio de fosfolípidos y lípidos totales en el HDL de mayor tamaño:  $\beta = 0.69$  [0.32: 1.06],  $p = 2.8 \times 10^{-4}$ ) (Tabla 1 del anexo y figuras 12-15).

**d) Medidas metabolómicas discordantes entre diabéticos y no diabéticos.**

Cuatro metabolitos se asociaron positivamente con el FGe en diabéticos, mientras que se asociaron negativamente en los individuos no diabéticos. Estos incluyen los aminoácidos alanina (DT2:  $\beta = 3.32$  [1.92: 4.72], no-DT2: -1.39 [-1.75: -1.03]), valina (DT2: 4.48 [3.08: 5.88], no-DT2: -0.88 [-1.27: -0.48]), el ácido pirúvico producto de la glucólisis (DT2: 3.37 [1.93: 4.82], no-DT2: -0.70 [-1.06: -0.34]), y albúmina (DT2: 2.55 [1.16: 3.93], no-DT2: -0.70 [-1.06: -0.35]). Además, hubo una tendencia hacia un aumento de partículas LDL pequeñas, medianas y grandes ricas en fosfolípidos y colesterol con un mejor FGe en DT2, que siguió una asociación opuesta, aunque no significativa en las poblaciones no diabéticas (Tabla 1 anexo y figuras 12-15).

**Figura 12. Comparación de asociaciones metabolómicas con la función renal entre diabéticos tipo 2 y no diabéticos.** La figura muestra los tamaños del efecto por concentración de metabolito tras realizar los metanálisis entre poblaciones. Los colores representan la asociación significativa entre los diabéticos (azul oscuro), los no diabéticos (verde) y ambos (azul claro). Los puntos grises son las asociaciones no significativas.



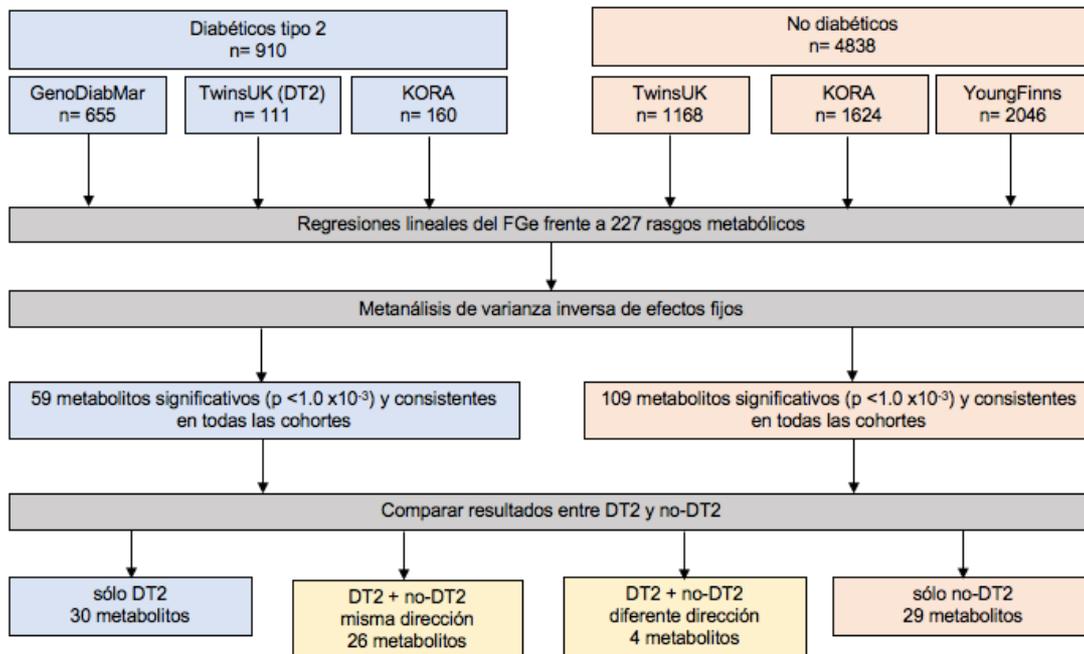
Adaptado de Barrios y col. (303) NS: asociación no significativa

**Tabla 5. Características generales de las poblaciones europeas incluidas en los estudios de réplica y comparativa entre diabéticos y no diabéticos.**

	Cohortes Diabéticas			Cohortes no-diabéticas		
	GenoDiabMar	TwinsUK	Kora	TwinsUK	Kora	YoungFinns
<b>n</b>	655	111	160	1168	1624	2046
<b>Edad (años)</b>	69.70±9.3	68.64±8.38	66.74±7.44	64.83±7.91	60.30±8.83	41.88±5.00
<b>Género (femenino)</b>	256 (39.1%)	105 (94.6 %)	71 (44.4 %)	1118 (95.7 %)	845 (52.0 %)	1115 (54.5 %)
<b>IMC (kg/m<sup>2</sup>)</b>	30.32±5.05	29.33±5.55	31.48±5.53	26.05±4.61	27.82±4.58	26.54±5.05
<b>FGe (mL/min/1.73m<sup>2</sup>)</b>	58.64±28.83	75.80±17.64	76.59±18.15	79.87 ±14.53	87.80 ±15.38	94.75±12.53
<b>Creatinina (mg/dL)</b>	1.26±0.62	0.84±0.24	0.96±0.48	0.80±0.16	0.83±0.23	0.87±0.15
<b>ERC (n) (grados 1/2/3/4/5)</b>	116/213/202/72/52	20/76/12/3/0	39/95/24/1/1	322/726/118/2/0	795/752/73/2/2	1339/699/7/1/0

*IMC: índice de masa corporal. FGe, filtrado glomerular estimado (fórmula CKD-EPI). Los grados de ERC se estratifican según las recomendaciones de las guías KDIGO como G2 89-60, G3 59-30, G4 29-15 y G5 <15 mL/min/1.73m<sup>2</sup>. Los valores de las variables categóricas se expresan como n y porcentajes y las variables continuas como media y desviación estándar.*

**Figura 13.** Diagrama de flujo que ilustra el esquema de trabajo para identificar los marcadores metabólicos asociados a enfermedad renal en las poblaciones diabéticas y no diabéticas.



Se observa el número de participantes de cada cohorte y el número de metabolitos encontrados significativamente asociados al FGe después de meta-analizar las poblaciones, las cuales se dividieron según si eran o no diabéticas. DT2: diabetes tipo2, no-DT2: no diabéticos.

RESULTADOS

**Figura 14. Rasgos metabólicos asociados con FGe en cohortes diabéticas y no diabéticas.** Adaptado de Barrios y col. (303)

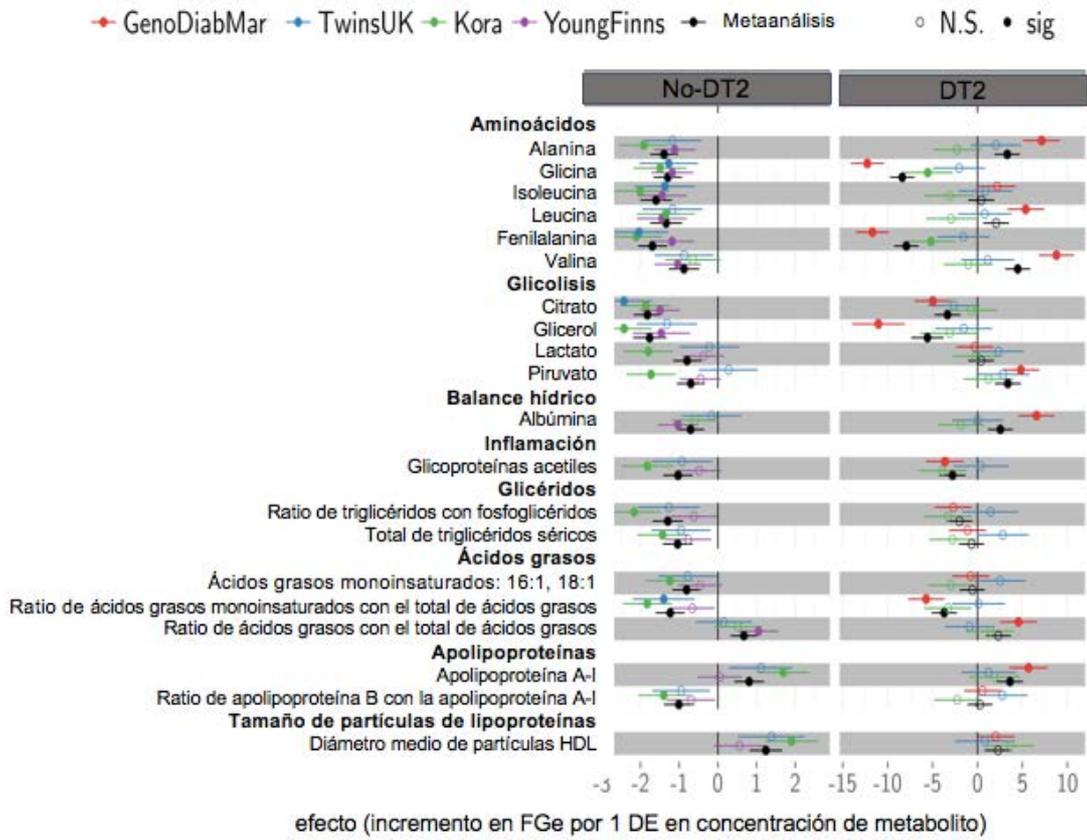
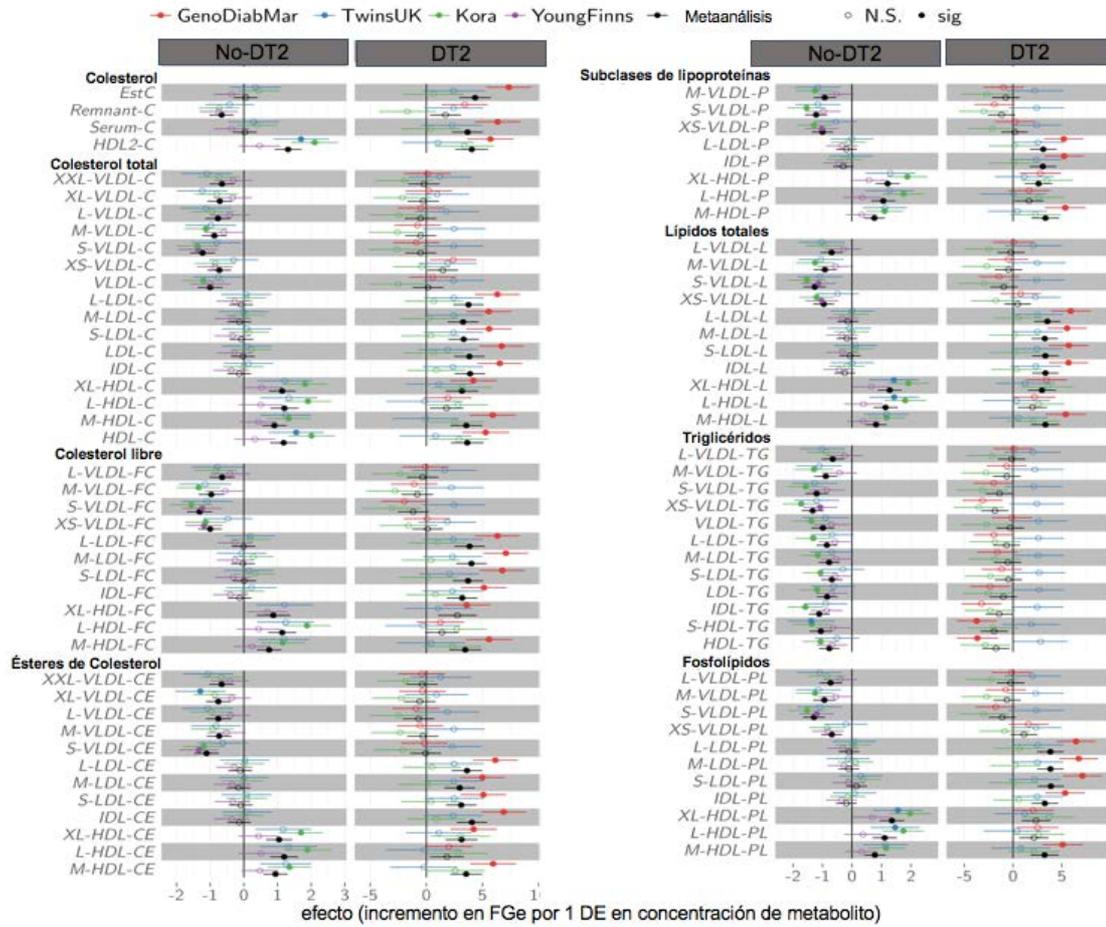


Figura 15. Clases de lipoproteínas en detalle, asociadas con FGe en cohortes diabéticas y no diabéticas.



Adaptado de Barrios y col. (303). Los tamaños del efecto sobre el FGe por 1-desviación estándar en la concentración de metabolitos y los respectivos intervalos de confianza del 95% se muestran para cada cohorte individualmente y combinados (en negro tras el metaanálisis). Los puntos sólidos muestran asociaciones significativas.

### 10.3. Estudio dirigido de asociación de marcador conocido. Resultados de estudios de asociación de función renal y Galectina 3

De los 655 participantes de la cohorte GenoDiabMar, pudimos realizar análisis de los niveles circulantes de Galectina 3 (Gal3), en una subpoblación de 369 individuos. La edad media de los participantes fue de  $70.2 \pm 9.5$  años, 60% hombres y 40% mujeres, con un tiempo de evolución de la DT2 de  $17.6 \pm 8.5$  años. La distribución de los participantes, según el grado de enfermedad renal crónica fue; G1-2 42.8%, G3 34.1%, G4 14.9%, G5 8.1%. La **tabla 6** muestra las características generales de esta sub-población. Al igual que en la población completa de la cohorte GenoDiabMar, la prevalencia de la hipertensión arterial fue elevada en todos los grados, el porcentaje de fumadores disminuyó a medida que empeora el grado de ERC con un nuevo aumento en grado 5 de ERC. Como se muestra, el uso de IECAs o ARA2 se redujo significativamente a medida que avanzaba el grado de ERC. Respecto a las complicaciones cardiovasculares asociadas, no observamos diferencias significativas entre ellas, incluido el antecedente de cardiopatía isquémica. Como era de esperar, el porcentaje de pacientes afectados de retinopatía diabética (RD) fue mayor a medida que disminuyó el FGe, siendo claramente superior en aquellos afectados de ERD (7% vs 43%). En cuanto a la medicación antidiabética, el uso de ADOs disminuyó significativamente a medida que empeoró el FGe con un claro aumento del uso de insulina, siendo el tratamiento elegido en el 79.3% de los pacientes con ERC grado 5.

Las principales variables analíticas de esta sub-población de la cohorte GenoDiabMar en la que se han hecho los estudios de asociación del FGe y los niveles circulantes de Gal3 se muestran en la **tabla 7**. Como se esperaba, los niveles de albuminuria aumentaron significativamente en relación al empeoramiento de la función renal. De manera similar a la cohorte general, el perfil lipídico de esta sub-población muestra un grado de control de colesterol LDL inferior a 100 mg/dL, siendo el nivel más bajo en los grados 5 de ERC. A destacar que, en esta primera valoración descriptiva observamos un aumento significativo del valor medio de la Gal3 circulante a medida que aumenta el grado de ERC: G1-2:  $25.7 \pm 16.8$ , G3:  $33.9 \pm 24.1$ , G4:  $42.7 \pm 24.7$  y G5:  $49 \pm 44.9$  ng/ml. Los niveles circulantes de Gal3 se correlacionaron negativamente con el FGe ( $r = -0.3$ ,  $p < 0.001$ ).

**Tabla 6. Características generales de la sub-población de la cohorte GenoDiabMar en la que se han hecho los estudios de asociación del FGe y los niveles circulantes de Gal3. Se muestran las principales variables clínicas según el grado de ERC.**

<b>Grados ERC</b>	<b>1-2 n 158</b>	<b>3 n 126</b>	<b>4 n 55</b>	<b>5 n 30</b>	<b>p</b>
<b>Edad (años)</b>	66.7±9.0	72.7±9.6	75.1±7.7	70.5±9.1	<0.001
<b>Género (H:M) %</b>	61.4:38.6	58.7:41.3	56.4:43.6	53.3:46.7	NS
<b>Tiempo DM (años)</b>	16.4±7.4	17.8±9.0	19.9±9.8	20.1±9.4	NS
<b>IMC (Kg/m<sup>2</sup>)</b>	30.3±5.2	31.1±5.1	30.5±4.8	30.2±5.2	NS
<b>Tabaco (% fumadores)</b>	20.4	11.9	3.7	10.3	NS
<b>HTA (%)</b>	86.1	99.2	100	100	<0.001
<b>IECA/ARA (%)</b>	76.6	86.5	55.6	34.5	<0.001
<b>Complicaciones CV(%)</b>	20.6	23	31	23.3	NS
<b>Cardiopatía isquémica</b>	8.9	11.1	12.7	6.7	NS
<b>AVC</b>	16.5	23.8	29.1	26.7	NS
<b>Vasculopatía periférica</b>					
<b>Retinopatía (%)</b>	19.4	31.1	37.3	81.5	<0.001
<b>Estatinas (%)</b>	69	80.2	81.8	63.3	NS
<b>Tratamiento DM (%) (ADOs/insulina)</b>	54.2/46.8	39.7/59.5	22.2/77.8	10.3/79.3	<0.001

*H: hombres; M: mujeres; DM: diabetes mellitus; IMC: índice de masa corporal; HTA: hipertensión arterial; IECA: inhibidor del enzima convertidor de la angiotensina; ARA: antagonista del receptor de la Angiotensina II; AVC: accidente cerebro vascular; ADO: antidiabéticos orales. Los grados de ERC se estratifican según las recomendaciones de las guías KDIGO como G2 89-60, G3 59-30, G4 15-29 y G5 <15 mL/min/1.73m<sup>2</sup>. Los valores de las variables categóricas se expresan como n y porcentajes y las variables continuas como media y desviación estándar.*

**Tabla 7. Principales variables analíticas de la sub-población de la cohorte GenoDiabMar en la que se han hecho los estudios de asociación del FGe y los niveles circulantes de Gal3. Los datos se muestran según el grado de ERC.**

Grados ERC	1-2	3	4	5	p
<b>FGe</b> ml/min/1.73m <sup>2</sup>	83.9 [72.3-96.4]	42.4 [37.0-50.1]	24.2 [19.0-26.8]	9 [9-x]	<0.001
<b>Albuminuria</b> (mg/g)	12.0 [4.2-82.8]	209.5 [33.4-645.2]	520.7 [56.7-1687]	607 [509.2-4423]	<0.001
<b>HbA1c (%)</b>	7.8±1.2	7.7±1.3	7.8±1.4	6.8± 1.0	0.004
<b>Col total (mg/dl)</b>	175.7±36.8	167.5±34.7	168.7±43.7	151.5± 42.2	0.014
<b>Col LDL (mg/dl)</b>	101.5±30.7	91.7±27.5	99.5± 38.0	72.2±33.3	<0.001
<b>Col HDL (mg/dl)</b>	47.9±11.8	45.9±14.7	46.4± 14.5	49.4± 15.4	NS
<b>TG (mg/dl)</b>	138.9± 66.8	169.7±103.4	150.4±59.4	142.1±86.3	0.021
<b>Ác úrico (mg/dl)</b>	5.5±1.4	6.8±1.8	7.3±1.8	5.4±1.8	<0.001
<b>Hemoglobina</b> (gr/dl)	13.7±1.4	12.3±1.4	11.5±1.2	12.3±1.2	<0.001
<b>Gal3 (ng/ml)</b>	25.7±16.8	33.9±24.1	42.7±24.7	49±44.9	<0.001

*FGe: filtrado glomerular estimado (fórmula CKD-EPI); HbA1c: hemoglobina glucosilada; Colesterol-LDL: lipoproteína de baja densidad; Colesterol-HDL: lipoproteína de alta densidad; TG: triglicéridos; Gal3: Galectina 3. NS: Asociación no significativa. Los valores de las variables categóricas se expresan como n y porcentajes y las variables continuas como media y desviación estándar.*

### 10.3.1. Análisis transversales de asociación de la función renal y la Galectina 3

Separamos a la población en dos grupos, según tuvieran o no nefropatía diabética, la cual definimos como: la condición tener o no nefropatía diabética: definida si FGe  $\leq 60$  ml/min/1.73m<sup>2</sup> y/o albuminuria  $\geq 300$  mg/g o Albuminuria 30-299 mg/g y retinopatía diabética.

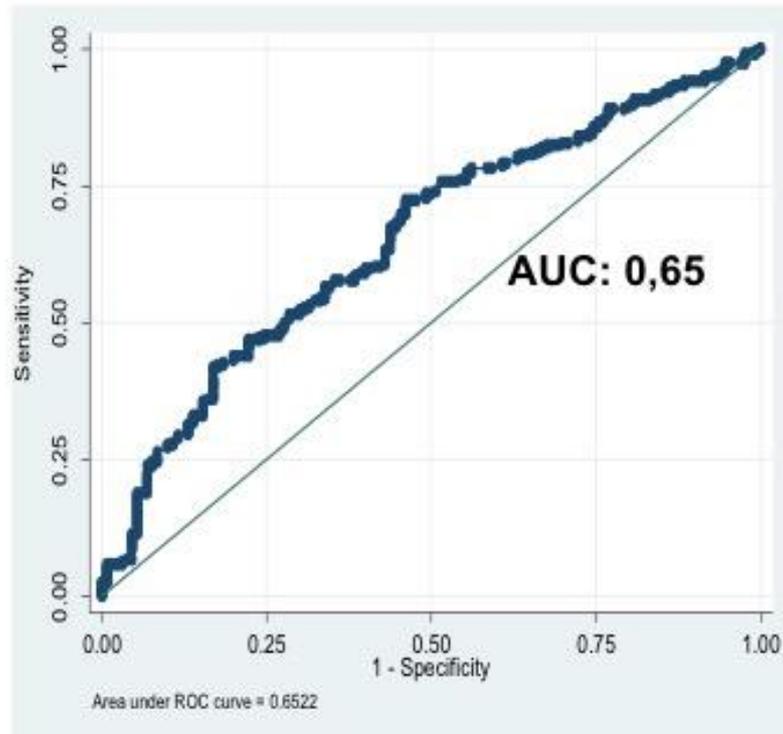
En el análisis univariado, observamos diferencias significativas en la distribución en estos dos grupos de algunas variables. Como se muestra en la **tabla 8**, estas diferencias fueron entre la edad, el tiempo de evolución de la diabetes, mayor prevalencia de HTA y retinopatía en el grupo de nefropatía diabética. Como es obvio por las características de la división de los grupos, el grupo con ERD mostró menor FGe y mayor albuminuria. Como se observa, en este análisis univariado, no ajustado, los niveles circulantes de Gal3 fueron significativamente mayores en el grupo con ERD respecto al grupo sin ERD.

**Tabla 8. Análisis univariado de variables de la sub-población GenoDiabMar utilizada en el estudio de asociación de Gal3 y FGe.** Los resultados muestran la distribución de las variables según grupos de población sin ERD y con ERD.

	<b>No ERD n 130</b>	<b>ERD n 239</b>	<b>p</b>
<b>Edad (años)</b>	66.5±8.8	72.3±9.3	<0.001
<b>Género (H:M) %</b>	63:37	57:43	NS
<b>Tiempo de DM (años)</b>	15.8±7.3	18.6±9.0	<0.05
<b>IMC (Kg/m<sup>2</sup>)</b>	30.7±5.3	30.9±5.0	NS
<b>HTA %</b>	85	98.7	<0.001
<b>Retinopatía %</b>	7	43	<0.001
<b>C. isquémica %</b>	18.4	24.2	NS
<b>FGe ml/min/1.73m<sup>2</sup></b>	85.6±14.7	38.8±21.0	<0.001
<b>Galectina3 (ng/ml)</b>	<b>25.5±16.8</b>	<b>36.9±27.6</b>	<b>&lt;0.001</b>
<b>Albuminuria (mg/g)</b>	35.9[36-314]	651[559-817]	<0.001

*ERD: Enfermedad renal diabética, H: hombres; M: mujeres; DM: diabetes mellitus; IMC: índice de masa corporal; HTA: hipertensión arterial; C. isquémica: cardiopatía isquémica; FGe: filtrado glomerular estimado (fórmula CKD-EPI). NS: Asociación no significativa. Los valores de las variables categóricas se expresan como n y porcentajes y las variables continuas como media y desviación estándar.*

Para calcular el valor de Gal3 que nos discierne con mayor sensibilidad y especificidad combinada la probabilidad de tener o no nefropatía diabética, realizamos un análisis del índice de Youden, el cual resultó en un valor de 18.8 ng/mL. Este valor nos permite discernir la ERD con una sensibilidad del 0.72 y una especificidad del 0.54 (mayor sensibilidad y especificidad combinada del modelo). Al introducir los valores de Gal3 en el modelo de la curva ROC, obtuvimos un área bajo la curva (AUC) discreta de 0.65[0.58-0.68] (**Figura 16**).

**Figura 16. Curva ROC de ERD incluyendo los valores de Gal3 circulante.**

Con las variables que resultaron significativas en el modelo univariado, realizamos un modelo ajustado de regresión logística donde se incluyeron como co-factores: la edad, el sexo, los niveles circulantes de Gal3, el IMC, la cardiopatía isquémica, el tiempo de evolución de la DM, la presencia de HTA y la retinopatía. Como se ilustra en la **tabla 9**, observamos que, a parte de la edad, la HTA y la presencia de retinopatía diabética, la Gal3 fue un factor independiente de riesgo de afectación renal. Si bien la cardiopatía isquémica no presentó diferencias significativas en su distribución entre los dos grupos (ERD sí o no) en el análisis univariado, dada su asociación e implicación en estudios previos, que la relacionan con mayores niveles de Gal3, quisimos forzar su entrada en el modelo multivariado. Esto refuerza nuestros resultados ya que como se observa, la presencia de cardiopatía isquémica, no modificó la significación de la Gal3.

**Tabla 9. Análisis multivariado de regresión logística.** Se muestran las Odds ratio de padecer o no ERD de los cofactores incluidos en el modelo.

	<b>Odds Ratio</b>	<b>95% IC</b>	<b>p</b>
<b>Edad (años)</b>	1.07	[1.03-1.10]	<0.001
<b>Género</b>	1.12	[0.65-2.00]	NS
<b>Gal3 (ng/ml)</b>	1.02	[1.01-1.04]	0.007
<b>IMC (Kg/m<sup>2</sup>)</b>	1.02	[0.97-1.08]	NS
<b>Cardiopatía isquémica</b>	0.83	[0.42-1.66]	NS
<b>Tiempo de DM (años)</b>	0.99	[0.96-1.03]	NS
<b>HTA</b>	8.75	[2.18-35.15]	0.002
<b>Retinopatía</b>	10.10	[4.71-22.95]	<0.001

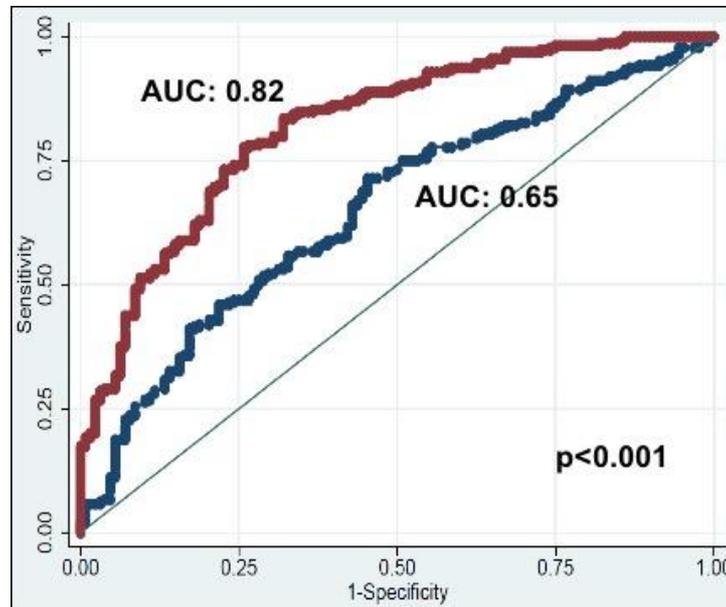
*IMC: índice de masa corporal; DM: diabetes mellitus; IC: intervalo de confianza. NS: asociación no significativa.*

En base a los coeficientes obtenidos en el modelo multivariado, creamos un score que incluye estas variables significativas, incluida la galectina-3:

$$\text{Score} = -6.961 + 0.061 * \text{Edad} + 2.214 * \text{HTA} + 2.324 * \text{RD} + 0.196 * \text{Gal3}$$

Donde -6.961 es el coeficiente del modelo y el resto es el coeficiente de cada variable en el modelo multivariado. Incluyendo los valores de este score, que contempla tanto estas variables clínicas, como los valores de Gal3, observamos una clara mejoría del área bajo la curva ROC para poder discernir a los pacientes con o sin ERD. AUC solo incluyendo Gal3 0.65 vs AUC del score 0.82 ( $p < 0.001$ ). (Figura 17).

**Figura 17. Curva ROC, tras aplicar el Score con variables clínicas y analíticas incluyendo Gal3.**  $\text{Score} = -6.961 + 0.061 \cdot \text{Edad} + 2.214 \cdot \text{HTA} + 2.324 \cdot \text{RD} + 0.196 \cdot \text{Gal3}$ , se observa una clara mejoría del AUC (línea roja) respecto al modelo que solo incluyó Gal3 (línea azul) para discernir a los pacientes con ERD.



### 10.3.2. Análisis longitudinales de asociación de la función renal y la Gal3

De los 369 participantes, teníamos datos del FGe en el seguimiento a los tres años de 225, pero sólo de 85 de ellos a los 4 años. Esta pérdida en el momento del análisis tuvo un porcentaje mayor respecto a los datos de la albuminuria, ya que sólo estaban disponibles en un 11% de los participantes, respecto a la visita basal. En la tabla 10 se detallan las características básicas en la evolución a los 4 años de seguimiento de estos parámetros.

**Tabla 10. Características de los parámetros renales en la evolución a 4 años.**

	Visita Basal	Visita 1 <sup>er</sup> año	Visita 2 <sup>o</sup> año	Visita 3 <sup>o</sup> año	Visita 4 <sup>o</sup> año
<b>n</b>	369	340	297	225	85
<b>Edad (años)</b>	70.3±9.58	71.3±9.58	72.3±9.5	73.3±9.6	74.3±9.6
<b>FGe mL/min/1.73m</b>	55.1±29.3	51.9±28.7	49.5±29	47.4±29.7	30.58±24.9
<b>Albuminuria (mg/g)*</b>	417.72 [6.5-474]	479.34[13.5-633.1]	434.83[8.5-511.5]	451.26[8-537]	650.32[26.5-847.1]

*\*El porcentaje de pérdida de valores de albuminuria fue del 60% y del 80% al tercer y al cuarto año de seguimiento respectivamente respecto a los datos basales.*

Realizamos análisis longitudinales de asociación de los niveles basales de Gal3 con la evolución de la función renal en el periodo de seguimiento.

Utilizando el modelo de ecuación de estimación generalizada (EEG), el análisis multivariado, mostró que, de promedio, por cada aumento de una unidad de Gal3, se asoció una pérdida de 0.23 ml/min/1.73m<sup>2</sup> del FGe anual. (**Tabla 11**)

**Tabla 11. Análisis longitudinal multivariado de asociación Gal3 y evolución de función renal.** Análisis multivariado usando el modelo de ecuación de estimación generalizada: de promedio, por cada aumento de unidad de Galectina3, se asocia una pérdida de 0.23 del FGe anual.

<b>FGe</b>	<b>Coef</b>	<b>95% IC</b>	<b>p</b>
<b>Edad</b>	-1.021	[-1.277 -0.765]	<0.001
<b>Gal3</b>	-0.231	[-2.874 -2.228]	<0.001
<b>Retinopatía diabética</b>	-14.45	[-19.75 -9.14]	<0.001
<b>HTA</b>	-27.18	[-37.03 -17.34]	<0.001

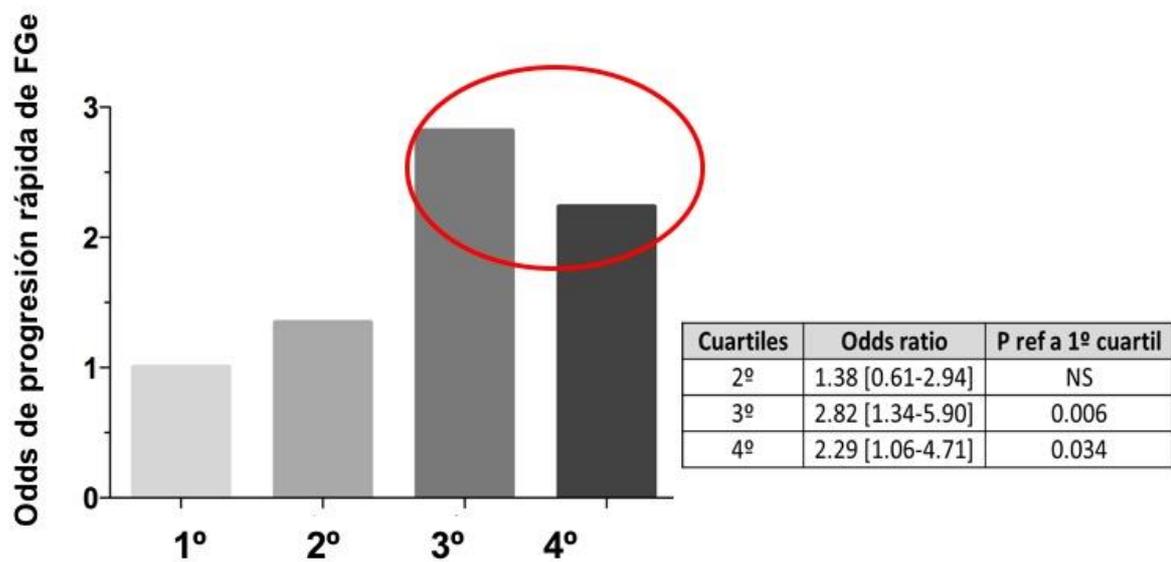
*FGe: filtrado glomerular estimado, Coef: coeficiente, IC: intervalo de confianza, Gal3: galectina-3, HTA: hipertensión arterial.*

Utilizamos el score previamente descrito, como potencial predictor para identificar pacientes con rápido deterioro de función renal, los cuales consideramos en esta población como aquellos con un declive de la función renal >15 ml/min en el

## RESULTADOS

seguimiento. Para esto, dividimos los valores del score por cuartiles y observamos que los pacientes con un valor de score más elevado (**Figura 18**), presentaron un mayor riesgo significativo de ser progresadores rápidos de deterioro de la función renal.

**Figura 18. Odds ratio de progresión rápida del FGe.** Los pacientes con un valor de Score más elevado (cuartiles tercero y cuarto) presentan un mayor riesgo significativo (mayor Odds ratio) de ser progresadores rápidos (pérdida del FGe  $>15\text{mL}/\text{min}/1.73\text{m}^2$  a los 4 años) de deterioro de la función renal.



## **11. DISCUSIÓN**

## DISCUSIÓN

## 11. DISCUSIÓN

La DT2 y la hipertensión arterial son las principales causas de enfermedad renal crónica (ERC), entidad que afecta al 10% de la población occidental (44,304). En España, los datos del estudio EPIRCE en 2010 mostraron que más del 20% de los mayores de 60 años tienen ERC (305). Más recientemente, la información proporcionada por el estudio ENRICA-Renal ha situado la prevalencia de ERC en nuestro país en el 15.1% (306).

La presencia de ERD produce un mayor daño endotelial en territorios extrarrenales y conlleva, en consecuencia, un mayor aumento de riesgo cardiovascular (6). Además, la ERD comporta mayores complicaciones cardiovasculares en comparación a la ERC por otras etiologías y la diabetes por sí solas (172,174,176,300,301,307,308). Una de las causas de la alta prevalencia de esta entidad es el retraso en el diagnóstico, dado que los marcadores utilizados más frecuentemente como la creatinina o la albuminuria, se elevan cuando el daño renal ya se ha establecido, y como se ha comentado son poco sensibles y específicos de la ERD.

Con el objetivo de investigar e identificar marcadores de daño renal relacionados con la DT2 que fueran más sensibles y específicos que los marcadores clásicos utilizados hasta el momento, se creó el registro GenoDiabMar. Este tipo de registro dinámico y en constante alimentación, se presenta como una plataforma de estudio ideal para cubrir nuestros objetivos al contemplar no solo variables clínicas y analíticas convencionales como las que hemos descrito, sino que cuenta con un biobanco donde hemos ido analizando distintos tipos de moléculas como las que se han ido detallando en este trabajo de tesis.

### 11.1. Factores de riesgo cardiovascular del registro GenoDiabMar

En nuestra cohorte, más de la mitad de los 655 participantes incluidos tenía antecedentes de **tabaquismo** (el 17% eran fumadores activos y el 38% exfumadores). Este dato es semejante a los resultados observados en el estudio EPIRCE (305) y también parecidos al del SHARP, que incluye un 48% de individuos con historia de tabaquismo (13% fumadores) (309). Numerosos estudios han evidenciado que el tabaco promueve la progresión de todos los estadios de ND, aumenta el riesgo de desarrollar microalbuminuria, acelera la progresión hacia la macroalbuminuria e incrementa la progresión a la ERC terminal (310). En nuestro trabajo, a medida que empeora el grado de ERC el porcentaje de fumadores es significativamente menor. Quizá este resultado se pueda explicar porque los

## DISCUSIÓN

pacientes fumadores tienen mayor riesgo CV inherente en comparación con los que nunca han fumado. Además, teniendo en cuenta que la ERD aumenta el riesgo CV, en nuestro estudio probablemente los fumadores no han alcanzado un mayor grado de ERC porque simplemente han fallecido antes por una causa cardiovascular, como ya se ha demostrado en otros estudios. Otro factor podría ser una mayor sensibilización por parte de los pacientes que abandonan el hábito del tabaco a medida que se agrava su enfermedad. Sabemos que los pacientes con ERC suelen fallecer predominantemente de enfermedad CV no por alcanzar la ERCT (311).

En pacientes con ERC grado 3 el riesgo de muerte es 10 veces mayor que el riesgo de progresar a ERC terminal (312). En un estudio prospectivo de 147 pacientes con ERC grado 3, se observó que la exposición acumulada al tabaquismo está asociada de manera muy significativa con accidentes cardiovasculares fatales. Esto fue confirmado por datos recientes del Estudio de Salud Cardiovascular, que investigó a 5808 pacientes que tenían 65 años de edad y tenían ERC (313). En dicho estudio, los factores de riesgo tradicionales, incluido el tabaquismo, se asociaron con los mayores aumentos absolutos de los riesgos de muerte cardiovascular entre los pacientes con ERC. En el caso de los fumadores actuales, hubo 20 muertes adicionales por cada 1000 pacientes-año.

En nuestro estudio, la prevalencia de **hipertensión arterial** fue elevada, alrededor del 90%. Esta prevalencia elevada se observó tanto en los grupos sin ERD como en los participantes con ERD. Se han observado resultados similares en otros trabajos, por ejemplo, en uno en el que se incluyeron 773 pacientes DT2 a los que se les practicó biopsia renal y según los hallazgos histológicos fueron clasificados en tres grupos: ND aislada, no ND aislada y combinación de ND-No ND. Los pacientes del grupo ND eran más hipertensos de forma significativa que los no ND (96.8% vs 85.1%) (314). En el Framingham Heart study la DM y la HTA se superponen entre el 67 y el 90% de los individuos.

El 77% de nuestra población era dislipémica. La **dislipemia** comúnmente se asocia con enfermedad renal. La hiperglucemia y la resistencia a la insulina agravan aún más la dislipemia (315). El espectro de anomalías lipídicas en pacientes con ERC parece estar relacionado con el grado de disfunción renal y con el grado de proteinuria (316). Se considera que la dislipemia es un factor que contribuye a la alta mortalidad y morbilidad cardiovascular observada en la enfermedad renal (317), y también puede promover una mayor disminución de la función renal, lo que lleva a la progresión de la ERC (318,319). Sin embargo, el papel directo de la dislipemia en la progresión de la disminución de la función renal sigue siendo controvertido. Los perfiles lipídicos que son clásicamente utilizados en la práctica clínica no han podido demostrar una clara asociación con esta alta prevalencia de enfermedad CV que tiene la población con ERC. Esta falta de asociación es más evidente en grados avanzados de ERC, precisamente cuando la mortalidad es más

alta, y es muy probable que análisis lipídicos con información más detallada de los perfiles lipídicos puedan discernir factores asociados a los perfiles lipídicos que estén implicados en estos fenómenos de riesgo CV.

Los perfiles analíticos y clínicos valorados en nuestra cohorte fueron similares a los de otras cohortes de nuestro entorno, como puede ser la cohorte española del proyecto NEFRONA. En la cohorte GenoDiabMar los participantes tienen mayor edad, mayor IMC y observamos un mayor uso de fármacos hipolipemiantes, respecto al registro multicéntrico español. Estas diferencias son esperables teniendo en cuenta que, todos los participantes de nuestra cohorte son diabéticos mientras que, en la cohorte NEFRONA sólo padecían diabetes el 25% de los participantes y como criterios de inclusión los pacientes no debían de tener antecedentes de enfermedad cardiovascular en su historial (320,321).

## 11.2. Eventos cardiovasculares del registro GenoDiabMar

En nuestro estudio, recogimos la historia de eventos cardiovasculares previos, incluyendo cardiopatía isquémica conocida, enfermedad isquémica cerebrovascular y vasculopatía periférica. Un 20% de la población tenía historia de **cardiopatía isquémica**, con un pico de prevalencia superior en los individuos en grado 4 de ERC, siendo el doble este antecedente en los pacientes del grupo con ERD en relación a los no ERD. Estos resultados se han observado en trabajos previos. Es bien conocido que el riesgo cardiovascular aumenta con el grado de deterioro de la función renal (322), y los pacientes con ND tienen un elevado riesgo de enfermedad CV en comparación con pacientes diabéticos que no tienen enfermedad renal (323). Por ejemplo, en el estudio VALIANT (324) realizado en pacientes con disfunción ventricular o insuficiencia cardíaca tras haber sufrido un infarto de miocardio, se refleja la importancia de la función renal sobre el pronóstico de estos pacientes. El FGe medio era de  $70.2 \pm 21.3$  ml/min/1.73 m<sup>2</sup>, pero un 22.2% lo tenía entre 45-59.9 ml/min/1.73m<sup>2</sup>, y un 11.3% inferior a 45 ml/min/1.73 m<sup>2</sup>. En este último grupo, que incluía 1644 pacientes, un 38% tenían historia previa de cardiopatía isquémica y un 33.6% eran diabéticos.

En nuestra cohorte, un 10% de los pacientes tenían antecedentes de enfermedad **cerebrovascular** y un 21% enfermedad **vascular periférica**, ambas entidades de nuevo, con mayor prevalencia en los grados 4 de ERC. En el estudio VALIANT, todos los eventos cardiovasculares importantes, como la mortalidad cardiovascular total, el reinfarto, la insuficiencia cardíaca y el accidente cerebrovascular, estuvieron en estrecha relación con el FGe, de tal forma que su incidencia se duplicó o triplicó en pacientes con FGe <45 ml/min/1.73 m<sup>2</sup> respecto a los que la tenían >75 ml/min/1.73 m<sup>2</sup>. Se ha observado que en la diabetes por cada aumento del 1% de

## DISCUSIÓN

la hemoglobina glucosilada se produce un incremento del 25% en el riesgo de enfermedad arterial periférica (325), aunque como hemos comentado su control estricto está en controversia, dada su asociación con eventos isquémicos cardiacos y muerte súbita. En nuestra población, los niveles de hemoglobina glucosilada estaban en los límites elevados, con medias de 7.5% tanto en los pacientes con ERD como sin ERD. Probablemente esta “no optimización” del control glucémico está en relación con las características de la población, más frágil y de edad avanzada.

Existen diferentes estudios que han mostrado que la afectación multisistémica de la enfermedad vascular es frecuente. Hasta un 50% de los pacientes con vasculopatía periférica presenta signos de enfermedad cerebrovascular o cardiológica (326). En el estudio PARTNERS (327), en el 32% de los pacientes coexistía bien enfermedad coronaria, bien enfermedad cerebrovascular, y un 24% tenía afectación de los 3 territorios.

Juntas, la diabetes y la ERC, específicamente en la mayoría de los casos de nefropatía diabética, conducen a un aumento sustancial de la morbilidad y la mortalidad por enfermedad cardiovascular. Alrededor del 40% de los pacientes diabéticos (conocidos y no diagnosticados) en los Estados Unidos tienen ERC (328). Y la ERC duplica el riesgo de eventos de enfermedad CV y muerte en pacientes con DT2 (329). De hecho, algunos datos recientes sugieren que gran parte del aumento del riesgo CV con diabetes se debe a los pacientes con ERC (330–332). Será necesario esperar a los resultados longitudinales y a la recogida de datos hasta la segunda visita de la cohorte GenoDiabMar para valorar las tasas de mortalidad y la incidencia de los distintos nuevos eventos CV que se hayan producido en estos años de seguimiento.

### **11.3. Retinopatía diabética en el registro GenoDiabMar**

En nuestro estudio, la presencia de retinopatía diabética (RD) fue significativamente superior a medida que empeoraba el FGe y estaba presente en casi un 40% de los individuos con ERD. Tal y como hemos comentado anteriormente, la RD suele estar presente en el 25% de los pacientes con DT2 (155), si bien estudios más recientes suben este porcentaje al 40% (160). En los pacientes DT2 con enfermedad renal, la presencia de RD proliferativa apunta fuertemente a la nefropatía diabética como se ha observado en repetidos trabajos aislados y en metanálisis (161,333). En algunos trabajos se ha estudiado la asociación entre la retinopatía y la ERC en diabéticos. Por ejemplo, en el estudio CRIC (Chronic Renal Insufficiency Cohort) (334) se había demostrado que al menos la mitad de los pacientes con ERC, fueran DM o no, tenían alteraciones retinianas relacionadas con los factores de riesgo de la ERC. En este estudio se intentó determinar si los cambios en la retina podían

estar relacionados con alteraciones en el riñón. Incluyeron 2605 individuos en una subcohorte, el estudio RCRIC (Retinopathy in Chronic Renal Insufficiency Cohort), para analizar la asociación entre la retinopatía y la ERC. Realizaron fondo de ojo a 1936 individuos y observaron que los diferentes grados de severidad de la retinopatía se asociaron con descensos en las tasas de FGe ( $p < 0.001$ ), tras ajustarlos por factores de riesgo tradicionales y no tradicionales de la ERC. Señalaron que los individuos sin retinopatía tenían unas tasas de FGe más altas que los que tenían retinopatía proliferativa. En este sentido, a medida que la retinopatía empeoraba, también lo hacía la función renal independientemente de los factores de riesgo de ERC. El 49% de los diabéticos estudiados presentaban retinopatía, comparado con solo el 11% de los no diabéticos ( $p < 0.001$ ); sin embargo, la presencia de DM no significó mayor asociación entre retinopatía y la disminución de la función renal. En nuestra cohorte sí se verifica esta mayor asociación entre la presencia de RD y el deterioro de la función renal, estando presente la retinopatía en el 64% de los participantes en grado 5 de ERC vs solo el 16% en grados 1-2. Además, como se ha comentado, la presencia de la afectación microvascular de la retina, si bien no es específica de afectación renal, puede apoyar el diagnóstico. Nosotros la incluimos como variable para catalogar a los pacientes con ERD, ante presencia de microalbuminuria.

Poder acceder a este tipo de registro con un biobanco y compartirlo con otros grupos es importante para continuar investigando biomarcadores distintos a los establecidos actualmente en la práctica clínica habitual. Estos biomarcadores pueden ser más específicos y sensibles, así como de detección más precoz del daño renal relacionado con las complicaciones microvasculares renales que puede causar la diabetes. De esta manera, el grupo de investigación del Servicio de Nefrología del Hospital del Mar, ha continuado aumentando los datos longitudinales de la población, añadiendo análisis de nuevas moléculas como la glucosilación de la Inmunoglobulina G, los niveles de succinato o el genotipado de la población, con la intención de seguir participando en colaboración con otros grupos nacionales e internacionales en el entendimiento de las vías fisiopatológicas asociadas al daño renal en la diabetes y en esta búsqueda de nuevos biomarcadores de diagnóstico precoz. Recientemente la cohorte GenoDiabMar se ha unido a un consorcio multinacional Consortium of METAabolomics Studies (COMETs) (335) con cuyos miembros precisamente compartimos los mismos objetivos.

Además, en este trabajo hemos mostrado ejemplos de colaboración entre grupos con el uso de la cohorte GenoDiabMar y otras cohortes europeas que nos permiten ampliar la muestra estudiada y sobretodo replicar y comparar resultados como se ha mostrado en los estudios de metabolómica que discutimos a continuación.

## 11.4. Estudios de metabolómica

En este trabajo establecimos dos tipos de análisis, un análisis de metabolómica, sin hipótesis previa y un análisis dirigido de un metabolito conocido como la Gal3. Realizamos los estudios de datos metabolómicos mediante la técnica de RNM, con el objetivo de estudiar distintos metabolitos que se pudieran asociar con el FGe. Como hemos descrito, encontramos numerosos metabolitos significativamente asociados con la función renal, tanto en poblaciones diabéticas como no diabéticas, con una importante concordancia entre ellas. Sin embargo, queremos resaltar algunas diferencias notables. Por ejemplo, los fosfolípidos y los ésteres de colesterol en IDL y LDL se correlacionaron positivamente con el FGe solo en individuos diabéticos, mientras que el contenido de fosfolípidos en HDL se asoció positivamente con el FGe solo en pacientes no diabéticos. Además, identificamos cuatro metabolitos, la valina, la alanina, el piruvato y la albúmina que se asociaron negativamente con el FGe en los no diabéticos y positivamente en los diabéticos; sobre todo la albúmina, en la cohorte GenoDiabMar, que presenta una población con más enfermedad renal comparado con los participantes diabéticos del TwinsUK o el KORA.

Los rasgos metabolómicos encontrados podemos dividirlos en tres categorías: aminoácidos, metabolitos relacionados con la energía y partículas de lipoproteínas y su composición de lípidos.

### 11.4.a Aminoácidos

La fenilalanina, sirve como precursor de la tirosina en el hígado y los riñones (336). Este aminoácido se ha asociado previamente con resistencia a la insulina, mayor riesgo de DT2 (337–340) y predicción de eventos CV (341). Además, se ha observado una disminución en la conversión de fenilalanina a tirosina en la ERC (342,343), lo que lleva a una disminución de los niveles circulantes de tirosina y un aumento de los niveles de fenilalanina ante deterioro de función renal. Encontramos que, si bien la fenilalanina aumentó con la disminución del FGe tanto en diabéticos como en no diabéticos, esta asociación negativa con el FGe fue más fuerte en la cohorte GenoDiabMar:  $\beta$  -11,70 [-13,54: -9,86]. La fenilalanina elevada podría ser por tanto consecuencia de la disfunción renal, o un marcador más general de envejecimiento biológico o de daño vascular. De hecho, la fenilalanina también se asoció con la retinopatía diabética y la albuminuria, lo que sugiere una asociación con daño microvascular endotelial.

Del mismo modo, la glicina se convierte en serina en los riñones (344,345). Por lo tanto, el deterioro de la función renal conduce a la acumulación de glicina, la cual observamos tanto en diabéticos como en no diabéticos. La glicina también se

correlacionó con albuminuria y RD en nuestro estudio. Estudios previos informaron que la glicina se asoció negativamente con los factores de riesgo CV incluido la presencia de DT2 (340), lo cual iría aparentemente en contra de nuestro resultado donde observamos que la glicina se asocia negativamente con el FGe. No obstante, en estos estudios no incluyeron la función renal como covariable. Además, hay que tener en cuenta que en estadios iniciales de la diabetes existe un aumento del FGe (hiperfiltración) antes de que se produzca una reducción de la función renal. Por lo tanto, las asociaciones observadas con el riesgo de DT2 podrían verse confundidas por la función renal. De esta manera, nuestros resultados resaltan la importancia de incluir la función renal como cofactor cuando se estudia la diabetes y están en línea con los estudios experimentales con modelos animales en DT2, que revelaron una menor excreción de glicina en la orina y la acumulación de este metabolito en los tejidos renales diabéticos (346).

#### **11.4.b Metabolitos relacionados con la energía**

La alanina es un importante precursor de la gluconeogénesis hepática y renal, así como de la glucólisis a través de las vías de piruvato. Junto con el glicerol, que también se asoció negativamente con el FGe y la glutamina, constituyen el 90% de los sustratos de la gluconeogénesis. La acidosis metabólica inducida por la ERC conduce a una mayor abundancia de alanina circulante, glutamina y glutamato (345). Sin embargo, en el entorno diabético, el metabolismo de la glucosa está muy alterado con un aumento de la tasa de gluconeogénesis (347). En consecuencia, la disminución de la función renal tiene un impacto diferente en la gluconeogénesis en los diabéticos, como lo demuestran las diferentes direcciones de las asociaciones para la alanina y el piruvato en este estudio.

El citrato es un importante sustrato metabólico en el riñón que representa hasta el 10% de la producción de energía que contrarresta la acidosis metabólica (348). En concordancia con nuestros resultados, trabajos previos ya habían descrito una mayor concentración de este metabolito con la disminución del FGe (346,349,350).

#### **11.4.c Subclases de lipoproteínas y su componente lipídico**

Las anomalías del perfil lipídico no están siempre presentes en los sujetos con ERC cuando usamos medidas clínicas convencionales (351,352). En particular, el colesterol total y LDL son generalmente normales e incluso bajos en la ERC avanzada (353–356). Como se observa en nuestra cohorte, el colesterol total, el LDL o los triglicéridos no están en general lejos de las recomendaciones de las guías, aún menos en los pacientes con ERC avanzada. No obstante, sabemos que esta población presenta un altísimo riesgo CV. El perfil lipídico inducido por la ERC

## DISCUSIÓN

tiene características específicas distintas de la población general. Además de los cambios cuantitativos, los pacientes renales tienen varias alteraciones cualitativas de los lípidos (6,357) que no pueden detectarse mediante determinaciones rutinarias y algunas alteraciones de la composición y tamaño de las lipoproteínas pueden contribuir a las complicaciones CV observadas en estos pacientes. Algunos estudios epidemiológicos revelaron resultados controvertidos con respecto a la terapia hipolipemiente y la reducción de la mortalidad cardiovascular en la ERC (358–360) y enfatizan la necesidad de estudios adicionales como por ejemplo el presente análisis de esta tesis. En nuestro estudio, el contenido de lípidos en las diferentes partículas de lipoproteínas mostró diferencias considerables, lo que resalta la importancia potencial de realizar análisis lipídicos más detallados, que pueden revelar diferentes patrones de riesgo que de lo contrario pasan desapercibidos en estas poblaciones con ERC.

Algunas de las principales diferencias encontradas con la función renal entre los diabéticos y los no diabéticos fueron las asociaciones negativas de las subclases VLDL y LDL desde pequeñas a grandes y sus respectivos contenidos de colesterol y triglicéridos observados solo en los no diabéticos. Además, las asociaciones positivas con el FGe de las subclases IDL y LDL desde pequeñas a grandes y su contenido de colesterol, EC y fosfolípidos que se observan solo en los diabéticos. La asociación positiva de las LDL e IDL moléculas pro-aterogénicas con el FGe observada en este estudio, probablemente no refleja un efecto positivo de estas lipoproteínas sobre la función renal, sino un mejor estado nutricional en sujetos con mejor función renal. La mayor prevalencia de individuos con peor función renal en las cohortes DT2 es la causa probable de estas asociaciones contra-intuitivas (361).

El contenido de fosfolípidos de estas partículas de lipoproteínas puede estar relacionado con una mayor actividad de las proteínas de transferencia de lípidos (LTP) (CETP y PLTP) presente en los sujetos diabéticos (362). Por el contrario, una menor actividad de las LTP se asocia con un menor riesgo CV (363), que podría estar relacionado con las asociaciones negativas de las subclases de LDL con la función renal en sujetos no diabéticos. Curiosamente, las proporciones de triglicéridos en LDL e IDL se asociaron negativamente con la función renal de forma consistente entre diabéticos y no diabéticos. Además, los ratios triglicéridos/lípidos totales mostraron una asociación más fuerte en la diabetes en comparación con la no diabetes. Hasta donde sabemos, ningún estudio ha investigado la actividad de la LTP y su asociación con el daño renal y si esto podría utilizarse como diana terapéutica.

Aunque muchos de nuestros hallazgos son compartidos con estudios previos realizados en poblaciones con Diabetes tipo 1 (DT1) (176,300), encontramos algunas diferencias. Por ejemplo, no encontramos ninguna asociación del FGe con

la esfingomielina o con los ácidos grasos totales que fueron marcadores de lesión renal y mortalidad en la DT1. Esto puede sugerir diferencias entre los perfiles metabólicos entre estos dos tipos de diabetes y refuerza la importancia de analizar ambas condiciones individualmente.

Para investigar nuevos marcadores que pudieran estar relacionados con la ERD, de una forma más dirigida nos hemos centrado en la galectina-3 (Gal3), por su relación previamente conocida con el riesgo cardiovascular y su potencial papel en la fisiopatología de la ERD.

### **11.5. Galectina-3 sérica en la cohorte GenoDiabMar**

En nuestro estudio, determinamos los niveles séricos de Gal3 en 369 individuos y los distribuimos según el grado de afectación de ERC. Al igual que en la población completa de la cohorte GenoDiabMar, la prevalencia de hipertensión arterial fue elevada en todos los grados, llegando a ser del 100% en el grado 5 de ERC. Sin embargo, en otros trabajos esta prevalencia no ha sido tan elevada. Por ejemplo, en un estudio en el que se determinaron los niveles de Gal3 en pacientes sanos y en DT2 (288), dividieron a los pacientes en subgrupos según el estadio de ND según la clasificación de Mogensen, y observaron que si bien a medida que aumentaba el grado de ND la prevalencia de hipertensión era mayor, en el grado 5, solo el 53% de los pacientes eran hipertensos.

En la sub-cohorte en la que determinamos la Gal3, el porcentaje de fumadores disminuyó a medida que empeoraba el grado de ERC, pero, curiosamente, aumentó en el grado 5 de ERC. La prevalencia de tabaquismo actual reportada en las poblaciones con ERC varía entre el 10 y el 15% (313,364,365); y hasta el 56% de las personas con ERC leve a moderada informaron exposición durante su vida. En cuanto al tratamiento antihipertensivo con inhibidores del SRAA, el uso de IECAs o ARA2 se redujo significativamente a medida que avanzaba el grado de ERC, al igual que en la cohorte completa.

En cuanto a las complicaciones cardiovasculares asociadas, no observamos diferencias significativas entre ellas, incluido el antecedente de cardiopatía isquémica. Esto, junto con el hecho de haber incluido esta variable en nuestro modelo de análisis multivariado, nos permite llegar a conclusiones más robustas respecto a las diferencias encontradas entre la Gal3 circulante y el deterioro de la función renal. Tanto nuestro trabajo como otros previos, confirman la importancia de añadir la función renal como co-variable a la hora de interpretar los resultados de la Gal3 circulante.

## DISCUSIÓN

Como era de esperar, el porcentaje de pacientes afectados de retinopatía diabética fue también mayor a medida que disminuyó el FGe, siendo claramente superior en aquellos afectados de ERD (43% vs 7%). En el trabajo de Tan KCB y col. (287), en el que incluyeron a 1320 participantes con DT2 con un FGe  $\geq 30$  ml/min/1.73m<sup>2</sup>, dividieron a los pacientes en dos grupos en función de si durante el seguimiento doblaron o no los niveles de creatinina sérica. En el grupo que la dobló había más prevalencia de RD. En ese mismo trabajo, se clasificaron a los pacientes diabéticos según si desarrollaron macroalbuminuria o no, observándose nuevamente, que en el grupo que tenía macroalbuminuria incidente había más RD. Como hemos ido comentando a lo largo de esta tesis, está claro que los mecanismos asociados al daño microvascular retiniano pueden ser compartidos por aquéllos que envuelven la afectación renal.

En nuestro estudio, el uso de ADOs disminuyó significativamente a medida que empeoró el FGe, con un claro aumento del uso de insulina, elegida en el 79.3% de los pacientes con ERC grado 5. El grupo de Song G y col. (288), que determinaron los niveles de Gal3 sérica en 30 pacientes con DT2 sin ND, 120 con ND y 30 controles sanos, observaron también que a medida que aumentaba el grado de ND, iba disminuyendo el uso de ADOs, especialmente la metformina. Sin embargo, el uso de insulina ya consta prácticamente en el mismo porcentaje incluso en los grados inferiores de ND, probablemente porque los pacientes en grado 1-2 de ND de ese trabajo tenían un peor control metabólico que en nuestra cohorte (HbA1c 9% vs 7.8%). En cualquier caso, este aumento de insulina en detrimento del uso de la mayoría de los ADOs está dentro de la práctica habitual de la mayoría de los grupos. No hay evidencias de que el uso de insulina pueda afectar a los niveles circulantes de Gal3, contribuyendo al aumento que observamos de esta lectina en las poblaciones con mayor grado de ERC. Solamente algunos trabajos de experimentación han asociado el uso de metformina con una disminución de los niveles de Gal3 en cultivos de células de tejido adiposo (366). Así mismo, estudios dirigidos a evaluar los efectos de distintas drogas hipolipemiantes e hipotensoras, con escaso número de pacientes, no encontraron que estas afectaran a los niveles circulantes de Gal3 (367). Esto, junto con lo observado en grandes estudios poblacionales (212), hace que la artefacción de los resultados relacionada con estos fármacos no parece plausible y nosotros no incluimos su uso como co-variables en nuestro estudio para valorar los niveles de Gal3. Se tendrán que realizar, no obstante, trabajos futuros para valorar el papel directo de los fármacos sobre los niveles de esta lectina.

En nuestra subpoblación, los análisis fueron ajustados por las variables: edad, género, IMC, cardiopatía isquémica, tiempo de evolución de la DM, HTA y retinopatía; la ERD se asoció de forma significativa con la Gal3, la edad, la retinopatía y la hipertensión. En otros trabajos, en el modelo ajustado, utilizaron casi las mismas variables que nosotros como posibles factores de confusión, pero

añadieron otras como la albuminuria, la HbA1c, el tabaquismo y el tratamiento con IECAs/ARA2 (212,287).

Si bien la cardiopatía isquémica no presentó diferencias significativas en su distribución entre los dos grupos (ND sí o no) en el análisis univariado, dada su asociación e implicación en estudios previos, que la relacionan con mayores niveles de galectina-3 (223–227,229,230,368), quisimos forzar su entrada en el modelo multivariado, lo cual refuerza nuestros resultados, ya que como se observa la presencia de cardiopatía isquémica, no modificó la significación de la Gal3.

En nuestro estudio, los niveles de Gal3 séricos se correlacionaron de forma negativa con el FGe. Como hemos detallado, la asociación de Gal3 con la función renal se ha investigado previamente en cohortes de pacientes con distintos grados de afectación renal (265–267,280,286), con resultados parecidos a los que hemos visto en nuestro estudio. Como ejemplos de ellos, el subestudio 4D del German Diabetes Mellitus Dialysis study, en el que se incluyeron 1168 pacientes con DT2 con un seguimiento a 4 años, y el estudio LURIC (Ludwigshafen Risk and Cardiovascular Health study) con 2579 pacientes con angiografías coronarias y un seguimiento a 10 años. Los pacientes fueron divididos en tres grupos en base al grado de afectación renal. Si bien el estudio estaba dirigido principalmente a valorar eventos cardiovasculares, observaron que los niveles basales de Gal3 aumentaron a medida que empeoraba la función renal, y fueron asociados de forma independiente con los *endpoints* clínicos cardiovasculares, infecciones y todas las causas de mortalidad en los pacientes con peor función renal; estos resultados no se observaron en los pacientes con la función renal normal (280). Quizás esto podría explicar por qué el grupo de Bansal y col. (267), no encontró asociación con los niveles de Gal3 circulante y la evolución de la función renal; la función renal basal de los participantes era mayoritariamente normal con un FGe medio de  $74 \pm 17$  mL/min, y solo el 8.9% de los participantes llegaron al *endpoint* renal definido (en este caso pérdida del 30% del FGe), a pesar de un seguimiento superior al de nuestro trabajo de 6 años de media.

En el trabajo reciente de Alam y col. con 841 participantes, en el que el FGe se acerca más al de nuestra población, sí observaron que cada duplicación de Gal3 suponía para los participantes un 38% más de riesgo de ser progresador rápido de deterioro renal (212). En este caso, la definición de progresador rápido -pérdida de 15 mL/min al final del seguimiento- también se asemeja más a la nuestra. Cabe destacar que el porcentaje de diabéticos incluidos en este trabajo fue del 42%, pero el grupo no hace diferencia entre tener o no esta condición, por lo que no podemos sacar conclusiones respecto a cómo influye esta condición por separado sobre los niveles de Gal3 y la función renal.

La asociación entre la Gal3 y la aparición de albuminuria no queda tan clara en algunos trabajos como por ejemplo los estudios de O'Seaghdha y col. (266) y en el

## DISCUSIÓN

de Alam y col. (212). En nuestro caso, el porcentaje de pérdida de datos de albuminuria en el seguimiento en el momento en el que se han hecho estos análisis fue elevado, por lo que no pudimos llegar a conclusiones a este respecto en esta sub-población de la cohorte GenoDiabMar. Será necesario esperar a completar los datos de seguimiento de la cohorte para poder llegar a conclusiones valorables. El grupo de Hong Kong, que estudia población asiática con DT2 durante un seguimiento superior a 9 años, sí encuentra asociación entre los niveles de Gal3 sérica y la incidencia *de novo* de macroalbuminuria, ajustando los resultados por los factores de riesgo tradicionales, el FGe basal y el grado de albuminuria basal de los participantes. Es probable que aumentando el porcentaje de participantes con datos de albuminuria y de participantes en el seguimiento, lleguemos a las mismas conclusiones en nuestra población diabética una vez se finalice el seguimiento completo de la cohorte GenoDiabMar.

En nuestros resultados, encontramos que aquellos pacientes con una progresión más rápida de la función renal estaban en los cuartiles más elevados de Gal3. De igual manera, la pérdida de la función renal en nuestro análisis longitudinal pudo ser cuantificada en relación con el aumento de unidades de Gal3, lo que da una visión novedosa al uso como herramienta pronóstica de esta lectina. Al igual que en el trabajo de Tan y col. en su cohorte diabética de asiáticos, nosotros también observamos un mayor riesgo de progresión rápida de función renal, en los individuos con los cuartiles más elevados de Gal3. No obstante, como se detalla en los resultados (figura 18), estos resultados no fueron observados únicamente teniendo en cuenta el cuartil aislado de galectina, sino que los valores de ésta fueron incluidos dentro del score. Nosotros no encontramos una clara diferencia teniendo solo en cuenta el valor de la Gal3 en el punto de la progresión de la función renal. Es probable que esta diferencia respecto al trabajo de Tan y col. pueda estar relacionada con el hecho de que su población parte de FGe medios superiores a la nuestra, en la que hay un mayor porcentaje de pacientes con ERC, y otros factores en la pérdida de función renal puedan estar jugando un papel más importante. Además, nuestro periodo de seguimiento es inferior, por lo que no podemos extrapolar el valor de Gal3 basal de nuestra población con la evolución de la función renal a más largo plazo. Es importante además tener en cuenta la diferencia racial entre los estudios; nuestra cohorte es mayoritariamente de raza caucásica.

En nuestro trabajo, encontramos que el punto de corte con mayor sensibilidad y especificidad para discernir entre tener o no tener nefropatía diabética fue 18.85 ng/ml. Hay pocos trabajos que hayan dado un posible punto de corte diagnóstico en los niveles de Gal3 en pacientes renales. Un estudio de 88 pacientes en hemodiálisis con un periodo de seguimiento de  $22.2 \pm 4.7$  meses, el modelo multivariado de riesgos proporcionales de Cox mostró que un punto de corte de Gal3 en plasma de 23.73 ng/ml fue un predictor independiente de todas las causas

de mortalidad (272). Al incluir una población con función renal ya terminal, no ofrece datos sobre valores de corte y afectación renal.

El estudio de Bansal y col. (267), que si bien no encuentra significación en la asociación de los niveles de Gal3 y mayor progresión de función renal, sí confirma que los valores más altos de Gal3 basal se asociaron con peor función renal. Valores de 19.18 ng/mL en el cuartil 4 de Gal3 se asocian a peor función renal. Estos valores son más similares a los encontrados en nuestra cohorte y a los estudios de cohortes norteamericanas realizados por el grupo de Alam (212) con valores en tercer y cuarto cuartil de Gal3 de 12.6-16.6 y >16.7 ng/mL respectivamente. Estos datos cuantitativos contrastan con los valores mucho más bajos del grupo de Ji y col. (265) (6ng/mL) como diferenciador de peor evolución renal en la Gal sérica. Desconocemos si existe un factor asociado a la raza, al menor porcentaje de obesos o si se trata de diferencias asociadas al tipo de técnica empleada en la determinación de la Gal3. Un trabajo reciente realizado en más de 700 donantes de sangre sanos ha valorado los niveles de Gal3 sérica en la población general. Los niveles de Gal eran de 31.5 (26.2-51.4) y 21.8 (21-26.1) ng/mL, según el límite de edad de 45 años (369). Es probable que, dadas las diferencias en las técnicas utilizadas por distintos laboratorios, hasta que estas no se homogenicen, los valores de Gal3 sean más útiles en la monitorización del seguimiento de la enfermedad que como valor diagnóstico inicial, al menos en la interpretación entre distintos grupos de distintos centros.

Por otra parte, pudimos contar con datos de evolución en el tiempo de la función renal a cuatro años en esta sub-cohorte de GenoDiabMar, lo que nos permitió comprobar además el valor pronóstico de este marcador. De esta manera observamos que el riesgo de rápida progresión de la función renal (considerado como la disminución de la función renal  $>15\text{mL}/\text{min}/1.73\text{m}^2$  en el seguimiento) aumentó por cuartiles de galectina-3 (2º cuartil (OR: 1.38 [0.61-2.94]), 3º cuartil (OR: 2.82 [1.34-5.90]), 4º cuartil (OR: 2.29 [1.06-4.71])). En el estudio de Tan y col., también observaron que aquellos pacientes con niveles de Gal3 en el cuartil más alto tuvieron un riesgo de pérdida de función renal cuatro veces mayor y un riesgo de desarrollar macroalbuminuria incidente 3 veces superior (287).

En nuestro trabajo, la ecuación de estimación generalizada, que nos permite realizar asociaciones de riesgo de variables longitudinales, ajustada por las covariables clínicas mencionadas en el trabajo, mostró que, de media, el aumento en una unidad de galectina-3 se asoció con una disminución del FGe de 0.23 ml/min [-0.33- -0.13] en el seguimiento.

Diversos factores dificultan la interpretación de los resultados por falta de homogeneidad de los trabajos. Por ejemplo, la aplicación de diferentes criterios diagnósticos a la hora de definir progresión rápida o no de función renal. Varios

## DISCUSIÓN

estudios están realizados en cohortes basadas en la comunidad registradas con objetivos diferentes, mientras que otros son cohortes recogidas con el objetivo de valorar la asociación de este marcador con la función renal, como en nuestro caso. Así mismo debemos de considerar que los estudios presentan distintas edades medias, razas y proporción de hombres:mujeres, niveles de FGe, porcentaje de participantes con ERC y porcentaje de enfermedades cardiovasculares. La influencia del estado de diabetes no está además suficientemente estudiada. Son necesarios en definitiva más estudios dirigidos a la traslación clínica de este marcador.

## **12. LIMITACIONES DE LOS ESTUDIOS Y PERSPECTIVAS FUTURAS**

## LIMITACIONES DE LOS ESTUDIOS Y PERSPECTIVAS FUTURAS

## 12. LIMITACIONES DE LOS ESTUDIOS Y PERSPECTIVAS FUTURAS

Una de las principales limitaciones de los estudios presentados en este trabajo de tesis es que atribuimos la condición enfermedad renal diabética a individuos sin biopsia renal. El diagnóstico se hace en base a valoraciones clínicas y analíticas y se refuerza con las pruebas de imagen por ecografía y la valoración oftalmológica, además de la consistencia que supone que la clasificación de tener o no ERD fue realizada al menos por dos nefrólogos. Sin embargo, no tenemos confirmación histológica, y se conoce que no todos los pacientes diabéticos tienen enfermedad renal debido a su DM (370): hasta un 10% de las biopsias realizadas en pacientes con diabetes presentaban otra enfermedad renal asociada (371), por lo que podría haber errores de inclusión en la cohorte y de clasificación por grupos. Debido a que no existen marcadores fiables no invasivos, no podemos superar esta limitación en este tipo de estudios poblacionales.

Por otro lado, la cohorte GenoDiabMar fue reclutada de consultas médicas, mientras que las otras cohortes europeas con las que se comparó en los estudios de metabolómica, representan individuos de la población general. Por lo tanto, la presencia de otras complicaciones médicas, así como diferentes grados de afección renal pueden ser factores de confusión. Sin embargo, mediante el metanálisis de los resultados en las cohortes de diabéticos, controlamos los efectos específicos de la población.

Además, el uso de drogas puede tener un impacto importante en los perfiles metabólicos y deben hacerse análisis adicionales que aborden específicamente los efectos de diferentes medicamentos y otras afecciones médicas.

Así mismo, el diseño transversal de algunas de las comparaciones no nos permite hacer asociación causal. Es necesario realizar en pasos futuros análisis con los valores absolutos de estos metabolitos intentando definir valores cuantitativos que puedan reflejar la presencia de daño renal y realizar con un kit que contemple el grupo de metabolitos definido, ensayos clínicos con carácter longitudinal para confirmar la aplicabilidad real clínica de los hallazgos de nuestros y otros estudios similares.

Los análisis realizados para el estudio de asociación de la función renal y el metabolito Gal3, sí contaban con datos longitudinales, pero somos conscientes de distintas limitaciones. Entre ellas, el proyecto GenoDiabMar es un proceso activo actualmente en fase de alimentación de datos y en el momento en el que se realizaron estos análisis faltaba un porcentaje elevado de datos por obtener, sobre todo de los parámetros urinarios. Por otro lado, los resultados no se han replicado

## LIMITACIONES DE LOS ESTUDIOS Y PERSPECTIVAS FUTURAS

en nuevas poblaciones con características similares. No obstante, tal y como hemos resaltado en la discusión, nuestros resultados van en concordancia con los encontrados en otras cohortes y faltaría encontrar puntos de corte comunes para discernir entre potencial daño renal o no, así como comparar poblaciones diabéticas y no diabéticas en un mismo estudio.

## **13. CONCLUSIONES**

## CONCLUSIONES

## 13. CONCLUSIONES

### Conclusiones de los hallazgos generales de la cohorte GenoDiabMar

1.- La cohorte GenoDiabMar y su registro asociado a biobanco hace posible plantear hipótesis en la búsqueda de nuevos biomarcadores de daño renal asociado a la DT2, ya que permite contar con análisis de datos *ómicos* para dilucidar más la fisiopatología de la enfermedad generando nuevas hipótesis y potenciar trabajos colaborativos con otras cohortes y grupos nacionales e internacionales.

### Conclusiones de los análisis de datos de metabolómica

2.- En nuestro análisis metabolómico sin hipótesis previa y no dirigido, encontramos 87 metabolitos significativamente asociados con el FGe, 21 de forma negativa y 66 de forma positiva. La mayoría mostraron tendencia asociativa con la RD. Estos metabolitos fueron pequeñas moléculas como aminoácidos, metabolitos relacionados con la glicolisis, la inflamación y cuerpos cetónicos, así como subclases de lipoproteínas y sus componentes lipídicos.

3.- Encontramos diferencias notables entre las asociaciones de metabolitos con la función renal según la condición diabética. Las asociaciones más fuertes en ambos grupos fueron la fenilalanina, la glicina, el citrato y el glicerol, los cuales se relacionaron con peor función renal. Los niveles de triglicéridos en diferentes tamaños de partículas de lipoproteínas IDL y LDL, se asociaron de manera inversa con el FGe, mientras que varias subclases de lipoproteínas HDL, los ésteres de colesterol, los fosfolípidos y la apolipoproteína-A1 se asociaron de manera positiva con el FGe. Los fosfolípidos y los ésteres de colesterol en IDL y LDL se correlacionaron positivamente con el FGe solo en diabéticos, mientras que el contenido de fosfolípidos en HDL se asoció positivamente con el FGe en no diabéticos. Identificamos cuatro metabolitos, la valina, la alanina, el piruvato y la albúmina, que se asociaron con el FGe, negativamente en los no diabéticos y positivamente en los diabéticos.

### Conclusiones de los análisis de galectina-3

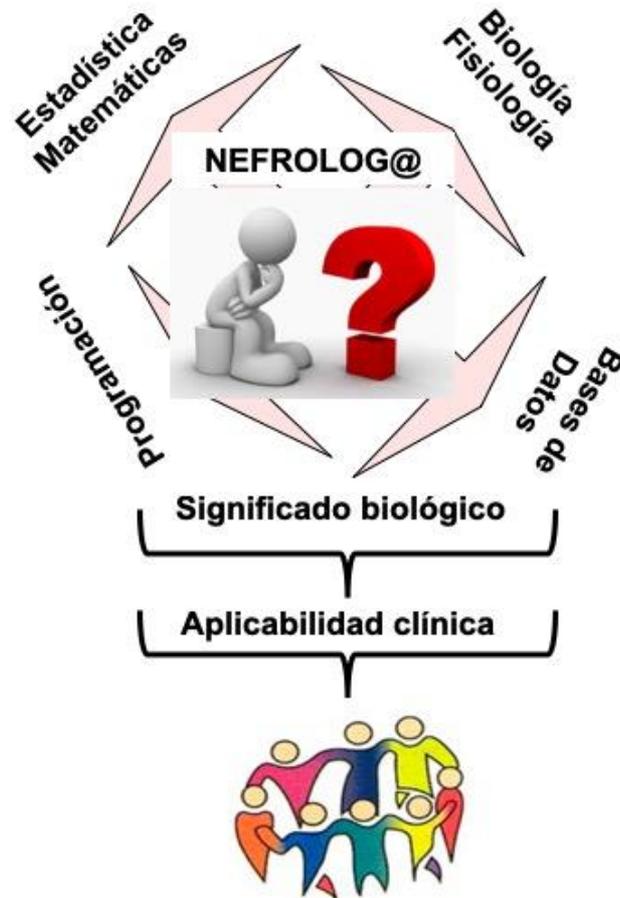
4.- En una subpoblación de la cohorte GenoDiabMar, los niveles circulantes de Gal3 se asociaron negativamente con el FGe independientemente de otros co-factores, observándose un aumento significativo de estos niveles a medida que aumentaba el grado de ERD.

5.- El valor de Gal3 de mayor sensibilidad y especificidad para discernir entre tener o no ERD se estimó en 18.8 ng/mL. La combinación de Gal3 con otros factores clínicos como la edad, la hipertensión arterial y la presencia de RD aumenta significativamente la predicción de padecer o no ERD. Los pacientes en los cuartiles más elevados de Gal3 presentaron mayor riesgo de deterioro rápido de la función renal. Cada aumento de una unidad de Gal3, se asoció con una pérdida anual de FGe de 0.23 ml/min/1.73m<sup>2</sup>.

### Conclusiones finales

6.- Nuestros resultados confirman que son numerosas las vías relacionadas con la ERD y probablemente debemos de modificar nuestro acercamiento a su estudio. El cambio de análisis de marcadores simples a valoraciones más complejas nos permite superar el concepto de biomarcador único y detectar paneles de biomarcadores, que nos ayuden a predecir la enfermedad de manera más precoz y puedan aportar un valor pronóstico y evolutivo.

Reflexión: Es necesario que la figura del nefrólogo actúe como puente y coordinador entre técnicos y estadísticos, para aportar significado biológico a los resultados de análisis de estudios complejos y poder, en definitiva, trasladarlos a la práctica clínica.



## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

## **14. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

## 14. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Nam Han Cho (chair), David Whiting (deputy chair), Nita Forouhi, Leonor Guariguata, Ian Hambleton, Rui Li, Azeem Majeed, Jean Claude Mbanya, Pablo Aschner Montoya, Ayesha Motala, K.M. Venkat Narayan, Ambady Ramachandran, Wolfgang Rathmann, Gojka Roglic, J PZ. IDF DIABETES ATLAS. International Diabetes Federation. 2015. 144 p.
2. Chen L, Magliano DJ, Zimmet PZ. The worldwide epidemiology of type 2 diabetes mellitus - Present and future perspectives. *Nat Rev Endocrinol*. 2012;8(4):228–36.
3. Soriguer F, Goday A, Bosch-Comas A, Bordiu E, Calle-Pascual A, Carmena R, et al. Prevalence of diabetes mellitus and impaired glucose regulation in Spain: The Di@bet.es Study. *Diabetologia*. 2012;55(1):88–93.
4. Valdés S, Rojo-Martínez G, Soriguer F. Evolución de la prevalencia de la diabetes tipo 2 en población adulta Española. *Med Clin (Barc)*. 2007;129(9):352–5.
5. Martínez-Castelao A, De Alvaro F, Gorriz JL. Epidemiology of diabetic nephropathy in Spain. *Kidney Int Suppl*. 2005 Dec;(99):S20-4.
6. Barrios C, Pascual J, Otero S, Soler MJ, Rodríguez E, Collado S, et al. Diabetic nephropathy is an independent factor associated to severe subclinical atheromatous disease. *Atherosclerosis*. 2015;242(1):37–44.
7. Gregg EW, Li Y, Wang J, Burrows NR, Ali MK, Rolka D, et al. Changes in diabetes-related complications in the United States, 1990-2010. *N Engl J Med*. 2014 Apr;370(16):1514–23.
8. Kimmelstiel P, Wilson C. Inter-capillary Lesions in the Glomeruli of the Kidney. *Am J Pathol*. 1936 Jan;12(1):83–98.7.
9. Bell ET. Renal lesions in diabetes mellitus. *Am J Pathol*. 1942;18:744–5.
10. LUNDBAEK K. Diabetic angiopathy: a specific vascular disease. *Lancet (London, England)*. 1954 Feb;266(6808):377–9.
11. Zhang J, Wang Y, Li L, Zhang R, Guo R, Li H, et al. Diabetic retinopathy may predict the renal outcomes of patients with diabetic nephropathy. *Ren Fail*. 2018 Nov;40(1):243–51.
12. Departament de Salut de la Generalitat de la Catalunya. Registre de malalts renals de Catalunya. *Inf estadístic 2016*. 2016;29:1–170.
13. Martínez-Castelao A, Górriz JL, Ortiz A, Navarro-González JF. ERBP guideline on management of patients with diabetes and chronic kidney disease stage 3B or higher. Metformin for all? *Nefrología*. 2017;37(6):567–71.
14. Orchard TJ, Secrest AM, Miller RG, Costacou T. In the absence of renal disease, 20 year mortality risk in type 1 diabetes is comparable to that of the general population: A report from the Pittsburgh Epidemiology of Diabetes Complications Study. *Diabetologia*. 2010;53(11):2312–9.
15. Fioretto P, Steffes MW, Brown DM, Mauer SM. An Overview of Renal Pathology in Insulin-Dependent Diabetes Mellitus in Relationship to Altered Glomerular Hemodynamics. *Am J Kidney Dis*. 1992 Dec 1;20(6):549–58.
16. Adler S. Diabetic nephropathy: Linking histology, cell biology, and genetics. *Kidney Int*. 2004;66(5):2095–106.
17. Tervaert TWC, Mooyaart AL, Amann K, Cohen AH, Cook HT, Drachenberg CB, et al. Pathologic classification of diabetic nephropathy. *J Am Soc Nephrol*. 2010 Apr;21(4):556–63.
18. Fioretto P, Mauer M. Histopathology of diabetic nephropathy. *Semin Nephrol*. 2007 Mar;27(2):195–207.
19. Nasr SH, D'Agati VD. Nodular glomerulosclerosis in the nondiabetic smoker. *J Am Soc Nephrol*. 2007 Jul;18(7):2032–6.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

20. Westall GP, Binder J, Kotsimbos T, Topliss D, Thomson N, Dowling J, et al. Nodular glomerulosclerosis in cystic fibrosis mimics diabetic nephropathy. *Nephron Clin Pract.* 2004;96(3):c70-5.
21. Souraty P, Nast CC, Mehrotra R, Barba L, Martina J, Adler SG. Nodular glomerulosclerosis in a patient with metabolic syndrome without diabetes. *Nat Clin Pract Nephrol.* 2008 Nov;4(11):639–42.
22. Suneja M, Khan A, Katz DA, Kalil R, Nair R. Nodular glomerulosclerosis in a kidney transplant recipient who smokes. *Am J Kidney Dis.* 2007 Nov;50(5):830–3.
23. Orchard TJ, Dorman JS, Maser RE, Becker DJ, Drash AL, Ellis D, et al. Prevalence of complications in IDDM by sex and duration. Pittsburgh Epidemiology of Diabetes Complications Study II. *Diabetes.* 1990;39(9):1116–24.
24. Newman DJ, Mattock MB, Dawney ABS, Kerry S, McGuire A, Yaqoob M, et al. Systematic review on urine albumin testing for early detection of diabetic complications. *Health Technol Assess (Rockv).* 2005;9(30):iii-vi, xiii-163.
25. Costacou T, Ellis D, Fried L, Orchard TJ. Sequence of Progression of Albuminuria and Decreased GFR in Persons With Type 1 Diabetes: A Cohort Study. *Am J Kidney Dis.* 2007;50(5):721–32.
26. Parving HH, Hommel E, Mathiesen E, Skott P, Edsberg B, Bahnsen M, et al. Prevalence of microalbuminuria, arterial hypertension, retinopathy and neuropathy in patients with insulin dependent diabetes. *Br Med J (Clin Res Ed).* 1988 Jan;296(6616):156–60.
27. Ismail N, Becker B, Strzelczyk P, Ritz E. Renal disease and hypertension in non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Kidney Int.* 1999;55(1):1–28.
28. de Boer IH, Afkarian M, Rue TC, Cleary PA, Lachin JM, Molitch ME, et al. Renal Outcomes in Patients with Type 1 Diabetes and Macroalbuminuria. *J Am Soc Nephrol.* 2014;25(10):2342–50.
29. Krolewski AS, Warram JH, Christlieb AR, Busick EJ, Kahn CR. The changing natural history of nephropathy in type I Diabetes. *Am J Med.* 1985;78(5):785–94.
30. Matsushima M, Tajima N, LaPorte RE, Orchard TJ, Tull ES, Gower IF, et al. Markedly increased renal disease mortality and incidence of renal replacement therapy among IDDM patients in Japan in contrast to Allegheny County, Pennsylvania, USA. *Diabetologia.* 1995; Feb;38(2):236-43.
31. Krolewski M, Eggers PW, Warram JH. Magnitude of end-stage renal disease in IDDM: A 35 year follow-up study. *Kidney Int.* 1996; Dec;50(6):2041-6.
32. Bojestig M, Arnqvist H, Hermansson G, Karlberg B, J L. Declining Incidence of Nephropathy in insulin-dependent diabetes mellitus. *N Engl J Med.* 1994;331(2):134–5.
33. Rossing P, Rossing K, Jacobsen P, Parving H. Unchanged Incidence of Diabetic Nephropathy in IDDM Patients. 1995;44(JULY):23–7.
34. Finne P, Reunanen A, Stenman S, Groop P-H, Gronhagen-Riska C. Incidence of end-stage renal disease in patients with type 1 diabetes. *JAMA.* 2005 Oct;294(14):1782–7.
35. Nathan DM, Bayless M, Cleary P, Genuth S, Gubitosi-Klug R, Lachin JM, et al. Diabetes control and complications trial/epidemiology of diabetes interventions and complications study at 30 years: advances and contributions. *Diabetes.* 2013 Dec;62(12):3976–86.
36. Cowie C. F. Disparities in incidence of diabetic end-stage renal disease according to race and type of diabetes. *N Engl J Med.* 1989;319(21):1374–8.
37. Nelson RG, Knowler WC, Pettitt DJ, Saad MF, Bennett PH. Diabetic kidney disease in Pima Indians. *Diabetes Care.* 1993 Jan;16(1):335–41.
38. Pavkov ME, Knowler WC, Bennett PH, Looker HC, Krakoff J, Nelson RG. Increasing incidence of proteinuria and declining incidence of end-stage renal disease in diabetic Pima Indians. *Kidney Int.* 2006;70(10):1840–6.
39. Ritz E, Orth SR. Nephropathy in Patients with Type 2 Diabetes Mellitus. *N Engl J*

- Med. 1999 Oct 7;341(15):1127-33.
40. Ritz E, Stefanski A. Diabetic nephropathy in type II diabetes. *Am J Kidney Dis.* 1996 Feb 1;27(2):167–94.
  41. Adler AI, Stevens RJ, Manley SE, Bilous RW, Cull CA, Holman RR. Development and progression of nephropathy in type 2 diabetes: the United Kingdom Prospective Diabetes Study (UKPDS 64). *Kidney Int.* 2003 Jan;63(1):225–32.
  42. Araki SI, Haneda M, Sugimoto T, Isono M, Isshiki K, Kashiwagi A, et al. Factors associated with frequent remission of microalbuminuria in patients with type 2 diabetes. *Diabetes.* 2005;54(10):2983–7.
  43. Gregg EW, Li Y, Wang J, Rios Burrows N, Ali MK, Rolka D, et al. Changes in Diabetes-Related Complications in the United States, 1990–2010. *N Engl J Med.* 2014;370(16):1514–23.
  44. Jha V, Garcia-Garcia G, Iseki K, Li Z, Naicker S, Plattner B, et al. Chronic kidney disease: Global dimension and perspectives. *Lancet.* 2013;382(9888):260–72.
  45. Giacco F, Brownlee M. Oxidative stress and diabetic complications. *Circ Res.* 2010;107(9):1058–70.
  46. Miranda-Díaz AG, Pazarín-Villaseñor L, Yanowsky-Escatell FG, Andrade-Sierra J. Oxidative Stress in Diabetic Nephropathy with Early Chronic Kidney Disease. *J Diabetes Res.* 2016;2016:7047238.
  47. Hu C, Sun L, Xiao L, Han Y, Fu X, Xiong X, et al. Insights into the Mechanisms Involved in the Expression and Regulation of Extracellular Matrix Proteins in Diabetic Nephropathy. *Curr Med Chem.* 2015;22(24):2858–70.
  48. Fakhruddin S, Alanazi W, Jackson KE. Diabetes-Induced Reactive Oxygen Species: Mechanism of Their Generation and Role in Renal Injury. *J Diabetes Res.* 2017;2017:8379327.
  49. Heilig CW, Kreisberg JI, Freytag S, Murakami T, Ebina Y, Guo L, et al. Antisense GLUT-1 protects mesangial cells from glucose induction of GLUT-1 and fibronectin expression. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2001 Apr;280(4):F657-66.
  50. Bucala R, Vlassara H. Advanced glycosylation end products in diabetic renal and vascular disease. Vol. 26, *American Journal of Kidney Diseases.* 1995. p. 875–88.
  51. Makita Z, Radoff S, Rayfield EJ, Yang Z, Skolnik E, Delaney V, et al. Advanced glycosylation end products in patients with diabetic nephropathy. *N Engl J Med.* 1991 Sep;325(12):836–42.
  52. Singh AK, Mo W, Dunea G, Arruda JAL. Effect of glycated proteins on the matrix of glomerular epithelial cells. *J Am Soc Nephrol.* 1998;9:802–10.
  53. Noh H, King GL. The role of protein kinase C activation in diabetic nephropathy. *Kidney Int Suppl.* 2007 Aug;(106):S49-53.
  54. Maxhimer JB, Somenek M, Rao G, Pesce CE, Baldwin D, Gattuso P, et al. Heparanase-1 gene expression and regulation by high glucose in renal epithelial cells: A potential role in the pathogenesis of proteinuria in diabetic patients. *Diabetes.* 2005;54(7):2172–8.
  55. Van Den Hoven MJ, Rops AL, Bakker MA, Aten J, Rutjes N, Roestenberg P, et al. Increased expression of heparanase in overt diabetic nephropathy. *Kidney Int.* 2006;70(12):2100–8.
  56. Remuzzi G, Perico N, Macia M, Ruggenenti P. The role of renin-angiotensin-aldosterone system in the progression of chronic kidney disease. *Kidney Int Suppl.* 2005;68:S57-65.
  57. Vukelic S, Griendling KK. Angiotensin II, from vasoconstrictor to growth factor: a paradigm shift. *Circ Res.* 2014 Feb;114(5):754–7.
  58. Muñoz-Durango N, Fuentes CA, Castillo AE, González-Gómez LM, Vecchiola A, Fardella CE, et al. Role of the renin-angiotensin-aldosterone system beyond blood pressure regulation: Molecular and cellular mechanisms involved in end-organ damage during arterial hypertension. *Int J Mol Sci.* 2016;17(7):1–17.
  59. Alderman MH, Cohen HW, Sealey JE, Laragh JH. Plasma renin activity levels in

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- hypertensive persons: their wide range and lack of suppression in diabetic and in most elderly patients. *Am J Hypertens*. 2004 Jan;17(1):1–7.
60. Mizuiri S, Hemmi H, Arita M, Ohashi Y, Tanaka Y, Miyagi M, et al. Expression of ACE and ACE2 in Individuals With Diabetic Kidney Disease and Healthy Controls. *Am J Kidney Dis*. 2008;51(4):613–23.
  61. Li N, Zimpelmann J, Cheng K, Wilkins JA, Burns KD. The role of angiotensin converting enzyme 2 in the generation of angiotensin 1–7 by rat proximal tubules. *Am J Physiol Physiol*. 2005;288(2):F353–62.
  62. Tikellis C, Brown R, Head GA, Cooper ME, Thomas MC. Angiotensin-converting enzyme 2 mediates hyperfiltration associated with diabetes. *Am J Physiol Physiol*. 2014;306(7):F773–80.
  63. Epstein M. Aldosterone Blockade: An Emerging Strategy for Abrogating Progressive Renal Disease. *Am J Med*. 2006;119(11):912–9.
  64. Tonneijck L, Muskiet MHA, Smits MM, van Bommel EJ, Heerspink HJL, van Raalte DH, et al. Glomerular Hyperfiltration in Diabetes: Mechanisms, Clinical Significance, and Treatment. *J Am Soc Nephrol*. 2017 Apr;28(4):1023–39.
  65. Pollak MR, Quaggin SE, Hoenig MP, Dworkin LD. The glomerulus: the sphere of influence. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2014 Aug;9(8):1461–9.
  66. Mogensen CE. Prediction of clinical diabetic nephropathy in IDDM patients. Alternatives to microalbuminuria? *Diabetes*. 1990;39(7):761–7.
  67. Rudberg S, Persson B, Dahlquist G. Increased glomerular filtration rate as a predictor of diabetic nephropathy — An 8-year prospective study. *Kidney Int*. 1992;41(4):822–8.
  68. Vora JP, Dolben J, Dean JD, Thomas D, Williams JD, Owens DR, et al. Renal hemodynamics in newly presenting non-insulin dependent diabetes mellitus. *Kidney Int*. 1992;41(4):829–35.
  69. Nowack R, Raum E, Blum W, Ritz E. Renal Hemodynamics in Recent-Onset Type II Diabetes. *Am J Kidney Dis*. 1992 Oct 1;20(4):342–7.
  70. Helal I, Fick-Brosnahan GM, Reed-Gitomer B, Schrier RW. Glomerular hyperfiltration: definitions, mechanisms and clinical implications. Vol. 8, *Nature reviews. Nephrology*. England; 2012. p. 293–300.
  71. Lovshin J, Skrtic M, Bjornstad P, Moineddin R, Daneman D, Dunger D, et al. Hyperfiltration, urinary albumin excretion, and ambulatory blood pressure in adolescents with Type 1 diabetes mellitus. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2018 Apr 1;314(4):F667–F674.
  72. Trevisan R, Dodesini AR. The Hyperfiltering Kidney in Diabetes. *Nephron*. 2017;136(4):277–80.
  73. Ruggenti P, Porrini EL, Gaspari F, Motterlini N, Cannata A, Carrara F, et al. Glomerular hyperfiltration and renal disease progression in type 2 diabetes. *Diabetes Care*. 2012;35(10):2061–8.
  74. Cherney DZI, Sochett EB, Miller JA. Gender differences in renal responses to hyperglycemia and angiotensin-converting enzyme inhibition in diabetes. *Kidney Int*. 2005;68(4):1722–8.
  75. Clotet S, Riera M, Pascual J, Soler MJ. RAS and sex differences in diabetic nephropathy. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2016 May;310(10):F945–57.
  76. Vallon V, Richter K, Blantz RC, Thomson S, Osswald H. Glomerular hyperfiltration in experimental diabetes mellitus: potential role of tubular reabsorption. *J Am Soc Nephrol*. 1999;10(12):2569–76.
  77. Hannedouche TP, Delgado AG, Gnionsahe DA, Boitard C, Lacour B, Grünfeld JP. Renal hemodynamics and segmental tubular reabsorption in early type 1 diabetes. *Kidney Int*. 1990;37(4):1126–33.
  78. Cherney DZI, Perkins BA, Soleymanlou N, Maione M, Lai V, Lee A, et al. Renal hemodynamic effect of sodium-glucose cotransporter 2 inhibition in patients with type 1 diabetes mellitus. *Circulation*. 2014;129(5):587–97.

79. Thomas MC. Renal effects of dapagliflozin in patients with type 2 diabetes. *Ther Adv Endocrinol Metab.* 2014;5(3):53–61.
80. Heerspink HJL, Perkins BA, Fitchett DH, Husain M, Cherney DZI. Sodium Glucose Cotransporter 2 Inhibitors in the Treatment of Diabetes Mellitus: Cardiovascular and Kidney Effects, Potential Mechanisms, and Clinical Applications. *Circulation.* 2016;134(10):752–72.
81. Kojima N, Williams JM, Slaughter TN, Kato S, Takahashi T, Miyata N, et al. Renoprotective effects of combined SGLT2 and ACE inhibitor therapy in diabetic Dahl S rats. *Physiol Rep.* 2015 Jul;3(7).
82. Thomson SC, Rieg T, Miracle C, Mansoury H, Whaley J, Vallon V, et al. Acute and chronic effects of SGLT2 blockade on glomerular and tubular function in the early diabetic rat. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2012 Jan;302(1):R75-83.
83. Abdul-Ghani MA, Norton L, Defronzo RA. Role of sodium-glucose cotransporter 2 (SGLT 2) inhibitors in the treatment of type 2 diabetes. *Endocr Rev.* 2011 Aug;32(4):515–31.
84. Brown NJ, Vaughan DE. Angiotensin-converting enzyme inhibitors. *Circulation.* 1998 Apr;97(14):1411–20.
85. Alicic RZ, Neumiller JJ, Johnson EJ, Dieter B, Tuttle KR. Sodium–Glucose Cotransporter 2 Inhibition and Diabetic Kidney Disease. *Diabetes.* 2019;68(2):248–57.
86. Kalra S, Singh V, Nagrale D. Sodium-Glucose Cotransporter-2 Inhibition and the Glomerulus: A Review. *Adv Ther.* 2016;33(9):1502–18.
87. Wolf G, Ziyadeh FN. Molecular mechanisms of diabetic renal hypertrophy. *Kidney Int.* 1999;56(2):393–405.
88. Hohenstein B, Hausknecht B, Boehmer K, Riess R, Brekken RA, Hugo CPM. Local VEGF activity but not VEGF expression is tightly regulated during diabetic nephropathy in man. *Kidney Int.* 2006;69(9):1654–61.
89. S de Vriese A, Tilton R, Elger M, Stephan CC, Kriz W, Lameire NH. Antibodies against vascular endothelial growth factor improve early renal dysfunction in experimental diabetes. *J Am Soc Nephrol.* 2001;12(5):993–1000.
90. Sung SH, Ziyadeh FN, Wang A, Pyagay PE, Kanwar YS, Chen S. Blockade of Vascular Endothelial Growth Factor Signaling Ameliorates Diabetic Albuminuria in Mice. *J Am Soc Nephrol.* 2006;17(11):3093–104.
91. Isermann B, Vinnikov IA, Madhusudhan T, Herzog S, Kashif M, Blautzik J, et al. Activated protein C protects against diabetic nephropathy by inhibiting endothelial and podocyte apoptosis. *Nat Med.* 2007 Nov 4;13:1349-1358.
92. Sharma K, Ziyadeh FN. Hyperglycemia and diabetic kidney disease. The case for transforming growth factor-beta as a key mediator. *Diabetes.* 1995 Oct;44(10):1139–46.
93. Wang S. Renal Bone Morphogenetic Protein-7 Protects against Diabetic Nephropathy. *J Am Soc Nephrol.* 2006;17(9):2504–12.
94. Benigni A, Zoja C, Corna D, Zatelli C, Conti S, Campana M, et al. Add-on anti-TGF- $\beta$  antibody to ACE inhibitor arrests progressive diabetic nephropathy in the rat. *J Am Soc Nephrol.* 2003;14(7):1816–24.
95. Dai C, Yang J, Bastacky S, Xia J, Li Y, Liu Y. Intravenous administration of hepatocyte growth factor gene ameliorates diabetic nephropathy in mice. *J Am Soc Nephrol.* 2004;15(10):2637–47.
96. Komers R, Allen TJ, Cooper ME. Role of Endothelium-Derived Nitric Oxide in the Pathogenesis of the Renal Hemodynamic Changes of Experimental Diabetes. *Diabetes.* 1994 Oct 1;43(10):1190 LP-1197.
97. Schoeb DS, Chernin G, Heeringa SF, Matejas V, Held S, Vega-Warner V, et al. Nineteen novel NPHS1 mutations in a worldwide cohort of patients with congenital nephrotic syndrome (CNS). *Nephrol Dial Transplant.* 2010 Sep;25(9):2970–6.
98. Benigni A, Gagliardini E, Tomasoni S, Abbate M, Ruggenenti P, Kalluri R, et al.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Selective impairment of gene expression and assembly of nephrin in human diabetic nephropathy. *Kidney Int.* 2004;65(6):2193–200.
99. Langham R, Kelly D, Cox A, Thomson N, Holthöfer H, Zaoui P, et al. Proteinuria and the expression of the podocyte slit diaphragm protein, nephrin, in diabetic nephropathy: Effects of angiotensin converting enzyme inhibition. *Diabetologia.* 2002;45(11):1572–6.
  100. Doublie S, Salvidio G, Lupia E, Ruotsalainen V, Verzola D, Deferrari G, et al. Nephrin expression is reduced in human diabetic nephropathy: Evidence for a distinct role for glycated albumin and angiotensin II. *Diabetes.* 2003;52(4):1023–30.
  101. Welsh GI, Hale LJ, Eremina V, Jeansson M, Maezawa Y, Lennon R, et al. Insulin signaling to the glomerular podocyte is critical for normal kidney function. *Cell Metab.* 2010;12(4):329–40.
  102. Fornoni A. Proteinuria, the Podocyte, and Insulin Resistance. *N Engl J Med.* 2010 Nov 17;363(21):2068–9.
  103. Gurley SB, Coffman TM. An IRKO in the Podo: impaired insulin signaling in podocytes and the pathogenesis of diabetic nephropathy. *Cell Metab.* 2010 Oct;12(4):311–2.
  104. Brennan E, McEvoy C, Sadlier D, Godson C, Martin F. The genetics of diabetic nephropathy. *Genes (Basel).* 2013 Nov 5;4(4):596–619.
  105. Shahbazian H, Rezaii I. Diabetic kidney disease; review of the current knowledge. *J Ren Inj Prev.* 2013;2(2):73–80.
  106. Pettersson-Fernholm K, Fröjdö S, Fagerudd J, Thomas MC, Forsblom C, Wessman M, et al. The AT2 gene may have a gender-specific effect on kidney function and pulse pressure in type I diabetic patients. *Kidney Int.* 2006 May 2;69(10):1880–4.
  107. Wei L, Xiao Y, Li L, Xiong X, Han Y, Zhu X, et al. The Susceptibility Genes in Diabetic Nephropathy. *Kidney Dis.* 2018;4(4):226–37.
  108. Pettitt DJ, Saad MF, Bennett PH, Nelson RG, Knowler WC. Familial predisposition to renal disease in two generations of Pima Indians with type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus. *Diabetologia.* 1990 Jul;33(7):438–43.
  109. Seaquist ER, Goetz FC, Rich S, Barbosa J. Familial clustering of diabetic kidney disease. Evidence for genetic susceptibility to diabetic nephropathy. *N Engl J Med.* 1989 May;320(18):1161–5.
  110. Genetic Variation at the ACE Gene Is Associated With Persistent Microalbuminuria and Severe Nephropathy in Type 1 Diabetes: The DCCT/EDIC Genetics Study. *Diabetologia.* 2005;48(12):1238–1244.
  111. Hadjadj S, Tarnow L, Forsblom C, Kazeem G, Marre M, Groop P-H, et al. Association between Angiotensin-Converting Enzyme Gene Polymorphisms and Diabetic Nephropathy: Case-Control, Haplotype, and Family-Based Study in Three European Populations. *J Am Soc Nephrol.* 2007;18(4):1284–91.
  112. Trevisan R, Viberti G. Genetic factors in the development of diabetic nephropathy. *J Lab Clin Med.* 1995 Oct;126(4):342–9.
  113. Ma RCW, Tam CHT, Wang Y, Luk AO, Hu C, Yang X, et al. Genetic variants of the protein kinase C-beta 1 gene and development of end-stage renal disease in patients with type 2 diabetes. *JAMA.* 2010 Aug;304(8):881–9.
  114. Sandholm N, Van Zuydam N, Ahlqvist E, Juliusdottir T, Deshmukh HA, Rayner NW, et al. The Genetic Landscape of Renal Complications in Type 1 Diabetes. *J Am Soc Nephrol.* 2017;28(2):557–74.
  115. Kottgen A, Glazer NL, Dehghan A, Hwang S-J, Katz R, Li M, et al. Multiple loci associated with indices of renal function and chronic kidney disease. *Nat Genet.* 2009 Jun;41(6):712–7.
  116. Tapp RJ, Shaw JE, Zimmet PZ, Balkau B, Chadban SJ, Tonkin AM, et al. Albuminuria is evident in the early stages of diabetes onset: Results from the Australian diabetes, obesity, and lifestyle study (AusDiab). *Am J Kidney Dis.* 2004 Nov 1;44(5):792–8.
  117. Pavkov ME, Bennett PH, Knowler WC, Krakoff J, Sievers MI, Nelson RG. Effect of

- youth-onset type 2 diabetes mellitus on incidence of end-stage renal disease and mortality in young and middle-aged pima indians. *JAMA*. 2006 Jul 26;296(4):421–6.
118. Svensson M, Nystrom L, Schon S, Dahlquist G. Age at onset of childhood-onset type 1 diabetes and the development of end-stage renal disease: a nationwide population-based study. *Diabetes Care*. 2006 Mar;29(3):538–42.
  119. Epstein M, Sowers JR. Diabetes mellitus and hypertension. *Hypertens (Dallas, Tex 1979)*. 1992 May;19(5):403–18.
  120. Chapter 1: Definition and classification of CKD. *Kidney Int Suppl*. 2013 Jan;3(1):19–62.
  121. Hypertension in Diabetes Study (HDS): I. Prevalence of hypertension in newly presenting type 2 diabetic patients and the association with risk factors for cardiovascular and diabetic complications. *J Hypertens*. 1993 Mar;11(3):309–17.
  122. Van Buren PN, Toto R. Hypertension in diabetic nephropathy: epidemiology, mechanisms, and management. *Adv Chronic Kidney Dis*. 2011 Jan;18(1):28–41.
  123. Klein R, Klein BE, Moss SE, Cruickshanks KJ. Relationship of hyperglycemia to the long-term incidence and progression of diabetic retinopathy. *Arch Intern Med*. 1994 Oct 10;154(19):2169–78.
  124. Bash LD, Selvin E, Steffes M, Coresh J, Astor BC. Poor Glycemic Control in Diabetes and The Risk of Incident Chronic Kidney Disease Even in The Absence of Albuminuria and Retinopathy: The Atherosclerosis Risk in Communities (Aric) Study. *Arch Intern Med*. 2008 Dec 8;168(22):2440–7.
  125. Nathan DM, Cleary PA, Backlund J-YC, Genuth SM, Lachin JM, Orchard TJ, et al. Intensive diabetes treatment and cardiovascular disease in patients with type 1 diabetes. *N Engl J Med*. 2005 Dec;353(25):2643–53.
  126. Desouza C V., Bolli GB, Fonseca V. Hypoglycemia, diabetes, and cardiovascular events. *Diabetes Care*. 2010;33(6):1389–94.
  127. Zoungas S, Arima H, Gerstein HC, Holman RR, Woodward M, Reaven P, et al. Effects of intensive glucose control on microvascular outcomes in patients with type 2 diabetes: a meta-analysis of individual participant data from randomised controlled trials. *Lancet Diabetes Endocrinol*. 2017 Jun;5(6):431-437.
  128. Coca SG, Ismail-Beigi F, Haq N, Krumholz HM, Parikh CR. Role of intensive glucose control in development of renal end points in type 2 diabetes mellitus: systematic review and meta-analysis intensive glucose control in type 2 diabetes. *Arch Intern Med*. 2012 May 28;172(10):761–9.
  129. Nathan DM. Understanding the long-term benefits and dangers of intensive therapy of diabetes. *Arch Intern Med*. 2012 May;172(10):769–70.
  130. Holman RR, Paul SK, Bethel MA, Matthews DR, Neil HAW. 10-year follow-up of intensive glucose control in type 2 diabetes. *N Engl J Med*. 2008 Oct;359(15):1577–89.
  131. Davies MJ, D'Alessio DA, Fradkin J, Kernan WN, Mathieu C, Mingrone G, et al. Management of hyperglycaemia in type 2 diabetes, 2018. A consensus report by the American Diabetes Association (ADA) and the European Association for the Study of Diabetes (EASD). *Diabetologia*. 2018 Dec;61(12):2461–98.
  132. Brancati FL, Whittle JC, Whelton PK, Seidler AJ, Klag MJ. The excess incidence of diabetic end-stage renal disease among blacks. A population-based study of potential explanatory factors. *JAMA*. 1992 Dec;268(21):3079–84.
  133. Smith SR, Svetkey LP, Dennis VW. Racial differences in the incidence and progression of renal diseases. Vol. 40, *Kidney international*. United States; 1991. p. 815–22.
  134. Kohler KA, McClellan WM, Ziemer DC, Kleinbaum DG, Boring JR. Risk factors for microalbuminuria in black americans with newly diagnosed type 2 diabetes. *Am J Kidney Dis*. 2000 Nov;36(5):903–13.
  135. Gallego-Delgado J, Rodriguez A. Malaria and hypertension. Another co-evolutionary adaptation? *Front Cell Infect Microbiol*. 2014 Sep 3;4:121.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

136. Myers BD, Nelson RG, Williams GW, Bennett PH, Hardy SA, Berg RL, et al. Glomerular function in Pima Indians with noninsulin-dependent diabetes mellitus of recent onset. *J Clin Invest.* 1991 Aug;88(2):524–30.
137. Gelber RP, Kurth T, Kausz AT, Manson JE, Buring JE, Levey AS, et al. Association between body mass index and CKD in apparently healthy men. *Am J Kidney Dis.* 2005 Nov;46(5):871–80.
138. Ejerblad E, Fored CM, Lindblad P, Fryzek J, McLaughlin JK, Nyren O. Obesity and risk for chronic renal failure. *J Am Soc Nephrol.* 2006 Jun;17(6):1695–702.
139. Morales E, Valero MA, Leon M, Hernandez E, Praga M. Beneficial effects of weight loss in overweight patients with chronic proteinuric nephropathies. *Am J Kidney Dis.* 2003 Feb;41(2):319–27.
140. Saiki A, Nagayama D, Ohhira M, Endoh K, Ohtsuka M, Koide N, et al. Effect of weight loss using formula diet on renal function in obese patients with diabetic nephropathy. *Int J Obes (Lond).* 2005 Sep;29(9):1115–20.
141. Orth SR. Effects of smoking on systemic and intrarenal hemodynamics: influence on renal function. *J Am Soc Nephrol.* 2004 Jan;15 Suppl 1:S58-63.
142. Ahmed SB, Hovind P, Parving H-H, Rossing P, Price DA, Laffel LM, et al. Oral contraceptives, angiotensin-dependent renal vasoconstriction, and risk of diabetic nephropathy. *Diabetes Care.* 2005 Aug;28(8):1988–94.
143. Piwkowska A. Role of Protein Kinase G and Reactive Oxygen Species in the Regulation of Podocyte Function in Health and Disease. *J Cell Physiol.* 2017 Apr;232(4):691–7.
144. Gnudi L, Coward RJM, Long DA. Diabetic Nephropathy: Perspective on Novel Molecular Mechanisms. *Trends Endocrinol Metab.* 2016 Nov;27(11):820–30.
145. Haraldsson B, Nystrom J. The glomerular endothelium: new insights on function and structure. *Curr Opin Nephrol Hypertens.* 2012 May;21(3):258–63.
146. Stevens LA, Coresh J, Greene T, Levey AS. Assessing Kidney Function — Measured and Estimated Glomerular Filtration Rate. *N Engl J Med.* 2006;354(23):2473–83.
147. Inker LA, Schmid CH, Tighiouart H, Eckfeldt JH, Feldman HI, Greene T, et al. Estimating glomerular filtration rate from serum creatinine and cystatin C. *N Engl J Med.* 2012 Jul;367(1):20–9.
148. Jha JC, Jandeleit-Dahm KAM, Cooper ME. New insights into the use of biomarkers of diabetic nephropathy. *Adv Chronic Kidney Dis.* 2014 May;21(3):318–26.
149. Perkins BA, Ficociello LH, Roshan B, Warram JH, Krolewski AS. In patients with type 1 diabetes and new-onset microalbuminuria the development of advanced chronic kidney disease may not require progression to proteinuria. *Kidney Int.* 2010 Jan;77(1):57–64.
150. Krolewski AS, Niewczas MA, Skupien J, Gohda T, Smiles A, Eckfeldt JH, et al. Early progressive renal decline precedes the onset of microalbuminuria and its progression to macroalbuminuria. *Diabetes Care.* 2014;37(1):226–34.
151. Caramori ML, Fioretto P, Mauer M. Low glomerular filtration rate in normoalbuminuric type 1 diabetic patients: an indicator of more advanced glomerular lesions. *Diabetes.* 2003 Apr;52(4):1036–40.
152. MacIsaac RJ, Panagiotopoulos S, McNeil KJ, Smith TJ, Tsalamandris C, Hao H, et al. Is nonalbuminuric renal insufficiency in type 2 diabetes related to an increase in intrarenal vascular disease? *Diabetes Care.* 2006 Jul;29(7):1560–6.
153. Perkins BA, Ficociello LH, Ostrander BE, Silva KH, Weinberg J, Warram JH, et al. Microalbuminuria and the risk for early progressive renal function decline in type 1 diabetes. *J Am Soc Nephrol.* 2007 Apr;18(4):1353–61.
154. Bermejo S, Soler MJ, Gimeno J, Barrios C, Rodríguez E, Mojal S, et al. Factores predictivos de nefropatía no diabética en pacientes diabéticos. Utilidad de la biopsia renal. *Nefrología.* 2016;36(5):535–44.
155. Yau JWY, Rogers SL, Kawasaki R, Lamoureux EL, Kowalski JW, Bek T, et al. Global

- prevalence and major risk factors of diabetic retinopathy. *Diabetes Care*. 2012;35(3):556–64.
156. Michael J. Fowler. Microvascular and Macrovascular Complications of Diabetes. *Clin Diabetes*. 2008;26(2):77–82.
  157. Bjerg L, Hulman A, Carstensen B, Charles M, Jorgensen ME, Witte DR. Development of Microvascular Complications and Effect of Concurrent Risk Factors in Type 1 Diabetes: A Multistate Model From an Observational Clinical Cohort Study. *Diabetes Care*. 2018 Nov;41(11):2297–305.
  158. Cruickshanks KJ, Ritter LL, Klein R, Moss SE. The association of microalbuminuria with diabetic retinopathy. The Wisconsin Epidemiologic Study of Diabetic Retinopathy. *Ophthalmology*. 1993 Jun;100(6):862–7.
  159. Chen H, Zheng Z, Huang Y, Guo K, Lu J, Zhang L, et al. A Microalbuminuria Threshold to Predict the Risk for the Development of Diabetic Retinopathy in Type 2 Diabetes Mellitus Patients. *PLoS One*. 2012 May 10;7(5):e36718.
  160. Manaviat MR, Afkhami M, Shoja MR. Retinopathy and microalbuminuria in type II diabetic patients. *BMC Ophthalmol*. 2004;4:1–4.
  161. Man REK, Sasongko MB, Wang JJ, Macisaac R, Wong TY, Sabanayagam C, et al. The association of estimated glomerular filtration rate with diabetic retinopathy and macular edema. *Investig Ophthalmol Vis Sci*. 2015;56(8):4810–6.
  162. Wang B, Wang F, Zhang Y, Zhao SH, Zhao WJ, Yan SL, et al. Effects of RAS inhibitors on diabetic retinopathy: A systematic review and meta-analysis. *Lancet Diabetes Endocrinol*. 2015;3(4):263–74.
  163. Afkarian M, Zelnick LR, Hall YN, Heagerty PJ, Tuttle K, Weiss NS, et al. Clinical Manifestations of Kidney Disease Among US Adults With Diabetes, 1988-2014. *Jama*. 2016;316(6):602.
  164. de Boer IH, Rue TC, Hall YN, Heagerty PJ, Weiss NS, Himmelfarb J. Temporal trends in the prevalence of diabetic kidney disease in the United States. *JAMA*. 2011 Jun;305(24):2532–9.
  165. Kramer HJ, Nguyen QD, Curhan G, Hsu C-Y. Renal insufficiency in the absence of albuminuria and retinopathy among adults with type 2 diabetes mellitus. *JAMA*. 2003 Jun;289(24):3273–7.
  166. Standard of medical care in diabetes\_2019. *Diabetes Care*. 2019;Jan; 42((Suppl 1)):124–38.
  167. Riegman PHJ, Morente MM, Betsou F, de Blasio P, Geary P. Biobanking for better healthcare. *Mol Oncol*. 2008 Oct;2(3):213–22.
  168. Doménech García N, Cal Purriños N. Biobancos y su importancia en el ámbito clínico y científico en relación con la investigación biomédica en España. Vol. 10, *Reumatología Clínica*. Elsevier; 2014. p. 304–8.
  169. Harder JL, Hodgins JB, Kretzler M. Integrative Biology of Diabetic Kidney Disease. *Kidney Dis (Basel, Switzerland)*. 2015 Dec;1(3):194–203.
  170. Psychogios N, Hau DD, Peng J, Guo AC, Mandal R, Bouatra S, et al. The human serum metabolome. *PLoS One*. 2011 Feb;6(2):e16957.
  171. Wishart DS, Jewison T, Guo AC, Wilson M, Knox C, Liu Y, et al. HMDB 3.0--The Human Metabolome Database in 2013. *Nucleic Acids Res*. 2013 Jan;41(Database issue):D801-7.
  172. Barrios C, Spector TD, Menni C. Blood, urine and faecal metabolite profiles in the study of adult renal disease. *Arch Biochem Biophys*. 2016;589:81–92.
  173. Zhang Y, Zhang S, Wang G. Metabolomic biomarkers in diabetic kidney diseases—A systematic review. *J Diabetes Complications*. 2015;29(8):1345–51.
  174. Sekula P, Goek O-N, Quaye L, Barrios C, Levey AS, Romisch-Margl W, et al. A Metabolome-Wide Association Study of Kidney Function and Disease in the General Population. *J Am Soc Nephrol*. 2016 Apr;27(4):1175–88.
  175. Barrios C, Beaumont M, Pallister T, Villar J, Goodrich JK, Clark A, et al. Gut-Microbiota-Metabolite Axis in Early Renal Function Decline. *PLoS One*.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 2015;10(8):e0134311.
176. Makinen V-P, Tynkkynen T, Soininen P, Peltola T, Kangas AJ, Forsblom C, et al. Metabolic diversity of progressive kidney disease in 325 patients with type 1 diabetes (the FinnDiane Study). *J Proteome Res.* 2012 Mar;11(3):1782–90.
  177. de Boer IH, Astor BC, Kramer H, Palmas W, Seliger SL, Shlipak MG, et al. Lipoprotein abnormalities associated with mild impairment of kidney function in the multi-ethnic study of atherosclerosis. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2008 Jan;3(1):125–32.
  178. Atzler D, Schwedhelm E, Zeller T. Integrated genomics and metabolomics in nephrology. *Nephrol Dial Transplant.* 2014 Aug;29(8):1467–74.
  179. He JC, Chuang PY, Ma'ayan A, Iyengar R. Systems biology of kidney diseases. *Kidney Int.* 2012 Jan;81(1):22–39.
  180. RD C, FT L. Galectins. In: Varki A, Cummings RD, Esko JD, et al. E, editor. *Essentials of Glycobiology.* 2nd editio. New York, NY: Cold Spring Harbor (NY): Cold Spring Harbor Laboratory Press; 2009; 2009.
  181. Pugliese G, Iacobini C, Pesce CM, Menini S. Galectin-3: an emerging all-out player in metabolic disorders and their complications. *Glycobiology.* 2015 Feb;25(2):136–50.
  182. Newlaczyl AU, Yu L-G. Galectin-3--a jack-of-all-trades in cancer. *Cancer Lett.* 2011 Dec;313(2):123–8.
  183. Gong HC, Honjo Y, Nangia-Makker P, Hogan V, Mazurak N, Bresalier RS, et al. The NH2 terminus of galectin-3 governs cellular compartmentalization and functions in cancer cells. *Cancer Res.* 1999 Dec;59(24):6239–45.
  184. Menon RP, Hughes RC. Determinants in the N-terminal domains of galectin-3 for secretion by a novel pathway circumventing the endoplasmic reticulum-Golgi complex. *Eur J Biochem.* 1999 Sep;264(2):569–76.
  185. Pugliese G, Iacobini C, Ricci C, Blasetti Fantauzzi C, Menini S. Galectin-3 in diabetic patients. *Clin Chem Lab Med.* 2014 Oct;52(10):1413–23.
  186. Barondes SH, Cooper DN, Gitt MA, Leffler H. Galectins. Structure and function of a large family of animal lectins. *J Biol Chem.* 1994 Aug;269(33):20807–10.
  187. Ruvolo PP. Galectin 3 as a guardian of the tumor microenvironment. *Biochim Biophys Acta.* 2016 Mar;1863(3):427–37.
  188. Meijers WC, Lopez-Andres N, de Boer RA. Galectin-3, Cardiac Function, and Fibrosis. Vol. 186, *The American journal of pathology.* United States; 2016. p. 2232–4.
  189. Hu Y, Yelehe-Okouma M, Ea H-K, Jouzeau J-Y, Reboul P. Galectin-3: A key player in arthritis. *Joint Bone Spine.* 2017 Jan;84(1):15–20.
  190. Meijers WC, van der Velde AR, Pascual-Figal DA, de Boer RA. Galectin-3 and post-myocardial infarction cardiac remodeling. *Eur J Pharmacol.* 2015 Sep;763(Pt A):115–21.
  191. Lala RI, Puschita M, Darabantiu D, Pilat L. Galectin-3 in heart failure pathology--"another brick in the wall"? *Acta Cardiol.* 2015 Jun;70(3):323–31.
  192. Funasaka T, Raz A, Nangia-Makker P. Galectin-3 in angiogenesis and metastasis. *Glycobiology.* 2014 Oct;24(10):886–91.
  193. Shin T. The pleiotropic effects of galectin-3 in neuroinflammation: a review. *Acta Histochem.* 2013 Jun;115(5):407–11.
  194. Meeusen JW, Johnson JN, Gray A, Wendt P, Jefferies JL, Jaffe AS, et al. Soluble ST2 and galectin-3 in pediatric patients without heart failure. *Clin Biochem.* 2015 Dec;48(18):1337–40.
  195. Schindler EI, Szymanski JJ, Hock KG, Geltman EM, Scott MG. Short- and Long-term Biologic Variability of Galectin-3 and Other Cardiac Biomarkers in Patients with Stable Heart Failure and Healthy Adults. *Clin Chem.* 2016 Feb;62(2):360–6.
  196. Issa SF, Christensen AF, Lottenburger T, Junker K, Lindegaard H, Horslev-Petersen K, et al. Within-day variation and influence of physical exercise on circulating Galectin-3 in patients with rheumatoid arthritis and healthy individuals. *Scand J*

- Immunol. 2015 Jul;82(1):70–5.
197. Dong R, Zhang M, Hu Q, Zheng S, Soh A, Zheng Y, et al. Galectin-3 as a novel biomarker for disease diagnosis and a target for therapy (Review). *Int J Mol Med*. 2018 Feb;41(2):599–614.
  198. Chen A, Hou W, Zhang Y, Chen Y, He B. Prognostic value of serum galectin-3 in patients with heart failure: a meta-analysis. *Int J Cardiol*. 2015 Mar;182:168–70.
  199. Srivatsan V, George M, Shanmugam E. Utility of galectin-3 as a prognostic biomarker in heart failure: where do we stand? *Eur J Prev Cardiol*. 2015 Sep;22(9):1096–110.
  200. van der Velde AR, Gullestad L, Ueland T, Aukrust P, Guo Y, Adourian A, et al. Prognostic value of changes in galectin-3 levels over time in patients with heart failure: data from CORONA and COACH. *Circ Heart Fail*. 2013 Mar;6(2):219–26.
  201. Stoltze Gaborit F, Bosselmann H, Kistorp C, Iversen K, Kumler T, Gustafsson F, et al. Galectin 3: association to neurohumoral activity, echocardiographic parameters and renal function in outpatients with heart failure. *BMC Cardiovasc Disord*. 2016 May;16:117.
  202. Iacoviello M, Aspromonte N, Leone M, Paradies V, Antoncicchi V, Valle R, et al. Galectin-3 Serum Levels Are Independently Associated With Microalbuminuria in Chronic Heart Failure Outpatients. *Res Cardiovasc Med*. 2016 Feb;5(1):e28952.
  203. Zhang R, Zhang Y, An T, Guo X, Yin S, Wang Y, et al. Prognostic value of sST2 and galectin-3 for death relative to renal function in patients hospitalized for heart failure. *Biomark Med*. 2015;9(5):433–41.
  204. Medvedeva EA, Berezin II, Surkova EA, Yaranov DM, Shchukin Y V. Galectin-3 in patients with chronic heart failure: association with oxidative stress, inflammation, renal dysfunction and prognosis. *Minerva Cardioangiol*. 2016 Dec;64(6):595–602.
  205. Yu X, Sun Y, Zhao Y, Zhang W, Yang Z, Gao Y, et al. Prognostic value of plasma galectin-3 levels in patients with coronary heart disease and chronic heart failure. *Int Heart J*. 2015 May;56(3):314–8.
  206. Meijers WC, Januzzi JL, deFilippi C, Adourian AS, Shah SJ, van Veldhuisen DJ, et al. Elevated plasma galectin-3 is associated with near-term rehospitalization in heart failure: a pooled analysis of 3 clinical trials. *Am Heart J*. 2014 Jun;167(6):853–60.e4.
  207. Coromilas E, Que-Xu E-C, Moore D, Kato TS, Wu C, Ji R, et al. Dynamics and prognostic role of galectin-3 in patients with advanced heart failure, during left ventricular assist device support and following heart transplantation. *BMC Cardiovasc Disord*. 2016 Jun;16:138.
  208. Koukoui F, Desmoulin F, Galinier M, Barutaut M, Caubere C, Evaristi MF, et al. The prognostic value of plasma galectin-3 in chronic heart failure patients is maintained when treated with mineralocorticoid receptor antagonists. *PLoS One*. 2015;10(3):e0119160.
  209. Motiwala SR, Szymonifka J, Belcher A, Weiner RB, Baggish AL, Sluss P, et al. Serial measurement of galectin-3 in patients with chronic heart failure: results from the ProBNP Outpatient Tailored Chronic Heart Failure Therapy (PROTECT) study. *Eur J Heart Fail*. 2013 Oct;15(10):1157–63.
  210. Teixeira A, Arrigo M, Vergaro G, Cohen-Solal A, Mebazaa A. Clinical benefits of natriuretic peptides and galectin-3 are maintained in old dyspnoeic patients. *Arch Gerontol Geriatr*. 2017 Jan;68:33–8.
  211. Anand IS, Rector TS, Kuskowski M, Adourian A, Muntendam P, Cohn JN. Baseline and serial measurements of galectin-3 in patients with heart failure: relationship to prognosis and effect of treatment with valsartan in the Val-HeFT. *Eur J Heart Fail*. 2013 May;15(5):511–8.
  212. Alam ML, Katz R, Bellovich KA, Bhat ZY, Brosius FC, de Boer IH, et al. Soluble ST2 and Galectin-3 and Progression of CKD. *Kidney Int Reports*. 2018;4(1):103–11.
  213. Piper SE, de Courcey J, Sherwood RA, Amin-Youssef GF, McDonagh TA. Serial galectin-3 for the monitoring of optimally treated stable chronic heart failure: A pilot study. Vol. 207, *International journal of cardiology*. Netherlands; 2016. p. 279–81.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

214. Miller WL, Saenger AK, Grill DE, Slusser JP, Bayes-Genis A, Jaffe AS. Prognostic Value of Serial Measurements of Soluble Suppression of Tumorigenicity 2 and Galectin-3 in Ambulatory Patients With Chronic Heart Failure. *J Card Fail.* 2016 Apr;22(4):249–55.
215. McEvoy JW, Chen Y, Halushka MK, Christenson E, Ballantyne CM, Blumenthal RS, et al. Galectin-3 and Risk of Heart Failure and Death in Blacks and Whites. *J Am Heart Assoc.* 2016 May;5(5).
216. French B, Wang L, Ky B, Brandimarto J, Basuray A, Fang JC, et al. Prognostic Value of Galectin-3 for Adverse Outcomes in Chronic Heart Failure. *J Card Fail.* 2016 Apr;22(4):256–62.
217. Yin Q-S, Shi B, Dong L, Bi L. Comparative study of galectin-3 and B-type natriuretic peptide as biomarkers for the diagnosis of heart failure. *J Geriatr Cardiol.* 2014 Mar;11(1):79–82.
218. Chen K, Jiang R-J, Wang C-Q, Yin Z-F, Fan Y-Q, Cao J-T, et al. Predictive value of plasma galectin-3 in patients with chronic heart failure. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 2013 Apr;17(8):1005–11.
219. Zhang X, Wan Y, Chata R, Brazzale A, Atherton JJ, Kostner K, et al. A pilot study to demonstrate diagnostic potential of galectin-3 levels in saliva. *J Clin Pathol.* 2016 Dec;69(12):1100–4.
220. Polat V, Bozcali E, Uygun T, Opan S, Karakaya O. Diagnostic significance of serum galectin-3 levels in heart failure with preserved ejection fraction. *Acta Cardiol.* 2016 Apr;71(2):191–7.
221. Sadaba JR, Martinez-Martinez E, Arrieta V, Alvarez V, Fernandez-Celis A, Ibarrola J, et al. Role for Galectin-3 in Calcific Aortic Valve Stenosis. *J Am Heart Assoc.* 2016 Nov;5(11).
222. Arangalage D, Nguyen V, Robert T, Melissopoulou M, Mathieu T, Estellat C, et al. Determinants and prognostic value of Galectin-3 in patients with aortic valve stenosis. *Heart.* 2016 Jun;102(11):862–8.
223. Maiolino G, Rossitto G, Pedon L, Cesari M, Frigo AC, Azzolini M, et al. Galectin-3 predicts long-term cardiovascular death in high-risk patients with coronary artery disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2015 Mar;35(3):725–32.
224. Tunon J, Blanco-Colio L, Cristobal C, Tarin N, Higuera J, Huelmos A, et al. Usefulness of a combination of monocyte chemoattractant protein-1, galectin-3, and N-terminal pro-brain natriuretic peptide to predict cardiovascular events in patients with coronary artery disease. *Am J Cardiol.* 2014 Feb;113(3):434–40.
225. Aksan G, Gedikli O, Keskin K, Nar G, Inci S, Yildiz SS, et al. Is galectin-3 a biomarker, a player-or both-in the presence of coronary atherosclerosis? *J Investig Med.* 2016 Mar;64(3):764–70.
226. Lepojärvi ES, Piira OP, Pääkkö E, Lammentausta E, Risteli J, Miettinen JA, et al. Serum PINP, PIIINP, galectin-3, and ST2 as surrogates of myocardial fibrosis and echocardiographic left ventricular diastolic filling properties. *Front Physiol.* 2015 Jul 13;6:200.
227. Di Tano G, Caretta G, De Maria R, Parolini M, Bassi L, Testa S, et al. Galectin-3 predicts left ventricular remodelling after anterior-wall myocardial infarction treated by primary percutaneous coronary intervention. *Heart.* 2017 Jan;103(1):71–7.
228. Jansen H, Koenig W, Jaensch A, Mons U, Breitling LP, Scharnagl H, et al. Prognostic Utility of Galectin-3 for Recurrent Cardiovascular Events During Long-term Follow-up in Patients with Stable Coronary Heart Disease: Results of the KAROLA Study. *Clin Chem.* 2016 Oct;62(10):1372–9.
229. Szadkowska I, Wlazel RN, Migala M, Bajon-Laskowska K, Szadkowski K, Zielinska M, et al. The association between galectin-3 and occurrence of reinfarction early after first myocardial infarction treated invasively. *Biomarkers Biochem Indic Expo response, susceptibility to Chem.* 2013 Dec;18(8):655–9.
230. Milner TD, Viner AC, MacKinnon AC, Sethi T, Flapan AD. Temporal expression of

- galectin-3 following myocardial infarction. *Acta Cardiol.* 2014 Dec;69(6):595–602.
231. Singasaas EG, Manhenke CA, Dickstein K, Orn S. Circulating Galectin-3 Levels Are Increased in Patients with Ischemic Heart Disease, but Are Not Influenced by Acute Myocardial Infarction. *Cardiology.* 2016;134(4):398–405.
  232. Takemoto Y, Ramirez RJ, Yokokawa M, Kaur K, Ponce-Balbuena D, Sinno MC, et al. Galectin-3 Regulates Atrial Fibrillation Remodeling and Predicts Catheter Ablation Outcomes. *JACC Basic to Transl Sci.* 2016 Apr;1(3):143–54.
  233. Chen D, Procter N, Goh V, Liu S, Chua SJ, Assadi-Khansari B, et al. New onset atrial fibrillation is associated with elevated galectin-3 levels. Vol. 223, *International journal of cardiology.* Netherlands; 2016. p. 48–9.
  234. Yao Y, Shen D, Chen R, Ying C, Wang C, Guo J, et al. Galectin-3 Predicts Left Ventricular Remodeling of Hypertension. *J Clin Hypertens (Greenwich).* 2016 Jun;18(6):506–11.
  235. Yakar Tuluçe S, Tuluçe K, Cil Z, Emren SV, Akyildiz ZI, Ergene O. Galectin-3 levels in patients with hypertrophic cardiomyopathy and its relationship with left ventricular mass index and function. *Anatol J Cardiol.* 2016 May;16(5):344–8.
  236. Franekova J, Kubicek Z, Hoskova L, Kotrbata M, Secnik P, Kautzner J, et al. Long-term biological variability of galectin-3 after heart transplantation. *Clin Chem Lab Med.* 2015 Jan;53(1):119–23.
  237. Grupper A, Nativi-Nicolau J, Maleszewski JJ, Geske JR, Kremers WK, Edwards BS, et al. Circulating Galectin-3 Levels Are Persistently Elevated After Heart Transplantation and Are Associated With Renal Dysfunction. *JACC Heart Fail.* 2016 Nov;4(11):847–56.
  238. Casanegra AI, Stoner JA, Tafur AJ, Pereira HA, Rathbun SW, Gardner AW. Differences in galectin-3, a biomarker of fibrosis, between participants with peripheral artery disease and participants with normal ankle-brachial index. *Vasc Med.* 2016 Oct;21(5):437–44.
  239. Yan X-J, Yu G-F, Jie Y-Q, Fan X-F, Huang Q, Dai W-M. Role of galectin-3 in plasma as a predictive biomarker of outcome after acute intracerebral hemorrhage. *J Neurol Sci.* 2016 Sep;368:121–7.
  240. Kadoglou NPE, Sfyroeras GS, Spathis A, Gkekas C, Gastouniotti A, Mantas G, et al. Galectin-3, Carotid Plaque Vulnerability, and Potential Effects of Statin Therapy. *Eur J Vasc Endovasc Surg.* 2015 Jan;49(1):4–9.
  241. Tang W, Huang C, Tang C, Xu J, Wang H. Galectin-3 may serve as a potential marker for diagnosis and prognosis in papillary thyroid carcinoma: a meta-analysis. *Onco Targets Ther.* 2016;9:455–60.
  242. Gweon HM, Kim J-A, Youk JH, Hong SW, Lim BJ, Yoon SO, et al. Can galectin-3 be a useful marker for conventional papillary thyroid microcarcinoma? *Diagn Cytopathol.* 2016 Feb;44(2):103–7.
  243. Wang X, Yuegao, Bai L, Ibrahim MM, Ma W, Zhang J, et al. Evaluation of Annexin A7, Galectin-3 and Gelsolin as possible biomarkers of hepatocarcinoma lymphatic metastasis. *Biomed Pharmacother.* 2014 Apr;68(3):259–65.
  244. Serizawa N, Tian J, Fukada H, Baghy K, Scott F, Chen X, et al. Galectin 3 regulates HCC cell invasion by RhoA and MLCK activation. *Lab Invest.* 2015 Oct;95(10):1145–56.
  245. Jiang S-S, Weng D-S, Wang Q-J, Pan K, Zhang Y-J, Li Y-Q, et al. Galectin-3 is associated with a poor prognosis in primary hepatocellular carcinoma. *J Transl Med.* 2014 Sep;12:273.
  246. Ulu M, Alacacioglu A, Yuksel E, Pamukk BO, Bozkaya G, Ari A, et al. Prognostic significance of serum galectin-3 levels in patients with hepatocellular cancer and chronic viral hepatitis. *Saudi J Gastroenterol.* 2015;21(1):47–50.
  247. Cheng D, Liang B, Li Y. Serum galectin-3 as a potential marker for gastric cancer. *Med Sci Monit.* 2015 Mar;21:755–60.
  248. Tas F, Bilgin E, Tastekin D, Erturk K, Duranyildiz D. Clinical Significance of Serum

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Galectin-3 Levels in Gastric Cancer Patients. *J Gastrointest Cancer*. 2016 Jun;47(2):182–6.
249. Leal MF, Calcagno DQ, Chung J, de Freitas VM, Demachki S, Assumpcao PP, et al. Deregulated expression of annexin-A2 and galectin-3 is associated with metastasis in gastric cancer patients. Vol. 15, *Clinical and experimental medicine*. Italy; 2015. p. 415–20.
  250. Balan V, Wang Y, Nangia-Makker P, Kho D, Bajaj M, Smith D, et al. Galectin-3: a possible complementary marker to the PSA blood test. *Oncotarget*. 2013 Apr;4(4):542–9.
  251. Araujo-Filho JL, Melo-Junior MR, Beltrao EIC, de Lima LRA, Antunes CBL, de Carvalho LBJ. Immunochemiluminescent detection of galectin-3 in tumoral tissue from prostate. *Int J Clin Exp Pathol*. 2013;6(9):1861–7.
  252. von Klot C-A, Kramer MW, Peters I, Hennenlotter J, Abbas M, Scherer R, et al. Galectin-1 and Galectin-3 mRNA expression in renal cell carcinoma. *BMC Clin Pathol*. 2014;14:15.
  253. Kaneko N, Gotoh A, Okamura N, Matsuo E, Terao S, Watanabe M, et al. Potential tumor markers of renal cell carcinoma: alpha-enolase for postoperative follow up, and galectin-1 and galectin-3 for primary detection. *Int J Urol*. 2013 May;20(5):530–5.
  254. Xie L, Ni W-K, Chen X-D, Xiao M-B, Chen B-Y, He S, et al. The expressions and clinical significances of tissue and serum galectin-3 in pancreatic carcinoma. *J Cancer Res Clin Oncol*. 2012 Jun;138(6):1035–43.
  255. Gao N, Yu W-Z, Guo N-J, Wang X-X, Sun J-R. Clinical significance of galectin-3 in patients with adult acute myeloid leukemia: a retrospective cohort study with long-term follow-up and formulation of risk scoring system. *Leuk Lymphoma*. 2017 Jun;58(6):1394–402.
  256. Samura B. Galectin-3 as a prognostic biomarker in patients with non-Hodkin lymphoma. *Georgian Med News*. 2015 Nov;(248):7–11.
  257. Barrow H, Guo X, Wandall HH, Pedersen JW, Fu B, Zhao Q, et al. Serum galectin-2, -4, and -8 are greatly increased in colon and breast cancer patients and promote cancer cell adhesion to blood vascular endothelium. *Clin Cancer Res*. 2011 Nov;17(22):7035–46.
  258. Gendy H El, Madkour B, Abdelaty S, Essawy F, Khattab D, Hammam O, et al. Diagnostic and Prognostic Significance of Serum and Tissue Galectin 3 Expression in Patients with Carcinoma of the Bladder. *Curr Urol*. 2014 Oct;7(4):185–90.
  259. Zhang H, Luo M, Liang X, Wang D, Gu X, Duan C, et al. Galectin-3 as a marker and potential therapeutic target in breast cancer. *PLoS One*. 2014;9(9):e103482.
  260. Yamaki S, Fujii T, Yajima R, Hirakata T, Yamaguchi S, Fujisawa T, et al. Clinicopathological significance of decreased galectin-3 expression and the long-term prognosis in patients with breast cancer. *Surg Today*. 2013 Nov 16;43(8):901–5.
  261. Henderson NC, Mackinnon AC, Farnworth SL, Kipari T, Haslett C, Iredale JP, et al. Galectin-3 expression and secretion links macrophages to the promotion of renal fibrosis. *Am J Pathol*. 2008 Feb;172(2):288–98.
  262. Dang Z, MacKinnon A, Marson LP, Sethi T. Tubular atrophy and interstitial fibrosis after renal transplantation is dependent on galectin-3. *Transplantation*. 2012 Mar;93(5):477–84.
  263. Okamura DM, Pasichnyk K, Lopez-Guisa JM, Collins S, Hsu DK, Liu F-T, et al. Galectin-3 preserves renal tubules and modulates extracellular matrix remodeling in progressive fibrosis. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2011 Jan;300(1):F245-53.
  264. Nishiyama J, Kobayashi S, Ishida A, Nakabayashi I, Tajima O, Miura S, et al. Up-regulation of galectin-3 in acute renal failure of the rat. *Am J Pathol*. 2000 Sep;157(3):815–23.
  265. Ji F, Zhang S, Jiang X, Xu Y, Chen Z, Fan Y, et al. Diagnostic and prognostic value

- of galectin-3, serum creatinine, and cystatin C in chronic kidney diseases. *J Clin Lab Anal.* 2017 Sep;31(5).
266. O'Seaghdha CM, Hwang S-J, Ho JE, Vasani RS, Levy D, Fox CS. Elevated galectin-3 precedes the development of CKD. *J Am Soc Nephrol.* 2013;24(9):1470–7.
  267. Bansal N, Katz R, Seliger S, DeFilippi C, Sarnak MJ, Delaney JA, et al. Galectin-3 and Soluble ST2 and Kidney Function Decline in Older Adults: The Cardiovascular Health Study (CHS). Vol. 67, *American journal of kidney diseases : the official journal of the National Kidney Foundation.* United States; 2016. p. 994–6.
  268. Yilmaz H, Inan O, Darcin T, Bilgic MA, Akcay A. Serum galectin-3 levels were associated with proteinuria in patients with Familial Mediterranean Fever. *Clin Exp Nephrol.* 2015 Jun;19(3):436–42.
  269. Gurel OM, Yilmaz H, Celik TH, Cakmak M, Namuslu M, Bilgic AM, et al. Galectin-3 as a new biomarker of diastolic dysfunction in hemodialysis patients. *Herz.* 2015 Aug;40(5):788–94.
  270. Yilmaz H, Gurel OM, Celik HT, Bozkurt A, Yildirim ME, Bilgic I, et al. Relationship of galectin-3 to left ventricular geometry and hypertrophy in chronic hemodialysis patients. *Herz.* 2015 Jun;40(4):702–8.
  271. Ozkan G, Ulusoy S, Mentese A, Guvercin B, Karahan SC, Yavuz A, et al. Can be galectin-3 a novel marker in determining mortality in hemodialysis patients? *Clin Biochem.* 2015 Aug;48(12):768–73.
  272. Hogas S, Schiller A, Voroneanu L, Constantinescu D, Timar R, Cianga P, et al. Predictive Value for Galectin 3 and Cardiotrophin 1 in Hemodialysis Patients. *Angiology.* 2016 Oct;67(9):854–9.
  273. Schwerg M, Eilers B, Wienecke A, Baumann G, Laule M, Knebel F, et al. Galectin-3 and prediction of therapeutic response to renal sympathetic denervation. *Clin Exp Hypertens.* 2016;38(4):399–403.
  274. Guay-Woodford LM, Desmond RA. Autosomal recessive polycystic kidney disease: the clinical experience in North America. *Pediatrics.* 2003 May;111(5 Pt 1):1072–80.
  275. Bao Q, Hughes RC. Galectin-3 and polarized growth within collagen gels of wild-type and ricin-resistant MDCK renal epithelial cells. *Glycobiology.* 1999 May;9(5):489–95.
  276. Danuta Ostalska-Nowicka, Michal Nowicki, Beata Kondraciuk, Malgorzata Partyka, Dariusz Samulak and MW. Expression of galectin-3 in nephrotic syndrome glomerulopathies in children. *FOLIA Histochem Cytobiol.* 2009;47(2):315–22.
  277. Kang EH, Moon KC, Lee EY, Lee YJ, Lee EB, Ahn C, et al. Renal expression of galectin-3 in systemic lupus erythematosus patients with nephritis. *Lupus.* 2009 Jan;18(1):22–8.
  278. Ponticelli C, Villa M, Cesana B, Montagnino G, Tarantino A. Risk factors for late kidney allograft failure. *Kidney Int.* 2002 Nov;62(5):1848–54.
  279. Tan R, Liu X, Wang J, Lu P, Han Z, Tao J, et al. Alternations of galectin levels after renal transplantation. *Clin Biochem.* 2014 Oct;47(15):83–8.
  280. Drechsler C, Delgado G, Wanner C, Blouin K, Pilz S, Tomaschitz A, et al. Galectin-3, Renal Function, and Clinical Outcomes: Results from the LURIC and 4D Studies. *J Am Soc Nephrol.* 2015;26(9):2213–21.
  281. Desmedt V, Desmedt S, Delanghe JR, Speeckaert R, Speeckaert MM. Galectin-3 in Renal Pathology: More Than Just an Innocent Bystander? Vol. 43, *American Journal of Nephrology.* 2016. p. 305–17.
  282. Iacobini C, Amadio L, Oddi G, Ricci C, Barsotti P, Missori S, et al. Role of galectin-3 in diabetic nephropathy. *J Am Soc Nephrol.* 2003 Aug;14(8 Suppl 3):S264–70.
  283. Pugliese G, Pricci F, Iacobini C, Leto G, Amadio L, Barsotti P, et al. Accelerated diabetic glomerulopathy in galectin-3/AGE receptor 3 knockout mice. *FASEB J.* 2001;15(13):2471–9.
  284. Iacobini C, Menini S, Oddi G, Ricci C, Amadio L, Pricci F, et al. Galectin-3/AGE-receptor 3 knockout mice show accelerated AGE-induced glomerular injury: evidence for a protective role of galectin-3 as an AGE receptor. *FASEB J Off Publ*

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Fed Am Soc Exp Biol. 2004 Nov;18(14):1773–5.
285. Henderson NC, Sethi T. The regulation of inflammation by galectin-3. *Immunol Rev.* 2009 Jul;230(1):160–71.
  286. Rebholz CM, Selvin E, Liang M, Ballantyne CM, Hoogeveen RC, Aguilar D, et al. Plasma galectin-3 levels are associated with the risk of incident chronic kidney disease. *Kidney Int.* 2018 Jan;93(1):252–9.
  287. Tan KCB, Cheung C-L, Lee ACH, Lam JKY, Wong Y, Shiu SWM. Galectin-3 is independently associated with progression of nephropathy in type 2 diabetes mellitus. *Diabetologia.* 2018 May;61(5):1212–9.
  288. G. S, H. S, P. H, N. G, W. W, T. Y, et al. Increased serum galectin-3 levels are associated with the development of type 2 diabetic nephropathy: A novel marker for progression? *Int J Clin Exp Med.* 2018;11(7):7156–64.
  289. Calvier L, Martinez-Martinez E, Miana M, Cachofeiro V, Rousseau E, Sadaba JR, et al. The impact of galectin-3 inhibition on aldosterone-induced cardiac and renal injuries. *JACC Heart Fail.* 2015 Jan;3(1):59–67.
  290. Martinez-Martinez E, Calvier L, Rossignol P, Rousseau E, Fernandez-Celis A, Jurado-Lopez R, et al. Galectin-3 inhibition prevents adipose tissue remodelling in obesity. *Int J Obes (Lond).* 2016 Jun;40(6):1034–8.
  291. Vergaro G, Prud'homme M, Fazal L, Merval R, Passino C, Emdin M, et al. Inhibition of Galectin-3 Pathway Prevents Isoproterenol-Induced Left Ventricular Dysfunction and Fibrosis in Mice. *Hypertens (Dallas, Tex 1979).* 2016 Mar;67(3):606–12.
  292. La Jolla Pharmaceutical Company. A Phase 2a, Placebo-Controlled, Randomized, Single-Blind Study of Weekly Doses of GCS-100 in Patients With Chronic Kidney Disease. *ClinicalTrials.gov Identifier: NCT01843790.*
  293. Bolibar B, Fina Aviles F, Morros R, Garcia-Gil M del M, Hermosilla E, Ramos R, et al. [SIDIAP database: electronic clinical records in primary care as a source of information for epidemiologic research]. *Med Clin (Barc).* 2012 May;138(14):617–21.
  294. Levey AS, Stevens LA, Schmid CH, Zhang YL, Castro AF 3rd, Feldman HI, et al. A new equation to estimate glomerular filtration rate. *Ann Intern Med.* 2009 May;150(9):604–12.
  295. Stevens PE, Levin A. Evaluation and management of chronic kidney disease: synopsis of the kidney disease: improving global outcomes 2012 clinical practice guideline. *Ann Intern Med.* 2013 Jun;158(11):825–30.
  296. Moayyeri A, Hammond CJ, Valdes AM, Spector TD. Cohort Profile: TwinsUK and healthy ageing twin study. *Int J Epidemiol.* 2012/01/09. 2013 Feb;42(1):76–85.
  297. Holle, R., Happich, M., Löwel, H. & Wichmann H. KORA – A Research Platform for Population Based Health Research. *Gesundheitswes* 67. 2005;19–25.
  298. Keltikangas-ja L, Pietika M, Hutri-ka N, Taittonen L, Jokinen E. Cohort Profile : The Cardiovascular Risk in Young Finns Study. *Int J Epidemiol.* 2008;(February):1220–6.
  299. Soininen P, Kangas AJ, Wurtz P, Suna T, Ala-Korpela M. Quantitative serum nuclear magnetic resonance metabolomics in cardiovascular epidemiology and genetics. *Circ Cardiovasc Genet.* 2015 Feb;8(1):192–206.
  300. Makinen V-P, Kangas AJ, Soininen P, Wurtz P, Groop P-H, Ala-Korpela M. Metabolic phenotyping of diabetic nephropathy. *Clin Pharmacol Ther.* 2013 Nov;94(5):566–9.
  301. Makinen V-P, Soininen P, Forsblom C, Parkkonen M, Ingman P, Kaski K, et al. 1H NMR metabolomics approach to the disease continuum of diabetic complications and premature death. *Mol Syst Biol.* 2008;4:167.
  302. Li J, Ji L. Adjusting multiple testing in multilocus analyses using the eigenvalues of a correlation matrix. *Heredity (Edinb).* 2005 Sep;95(3):221–7.
  303. Barrios C, Zierer J, Würtz P, Haller T, Metspalu A, Gieger C, et al. Circulating metabolic biomarkers of renal function in diabetic and non-diabetic populations. *Sci Rep.* 2018 Oct 15;8(1):15249.
  304. O'Callaghan CA, Shine B, Lasserson DS. Chronic kidney disease: a large-scale

- population-based study of the effects of introducing the CKD-EPI formula for eGFR reporting. *BMJ Open*. 2011;1(2):e000308.
305. Otero A, Francisco ALM De, Gayoso P, García F, Study E. Prevalence of chronic renal disease in Spain : Results of the EPIRCE study. *Nefrologia*. 2010;78–86.
  306. Guallar-castillón P, Álvaro F De, Rodríguez-artalejo F, Banegas JR. Original article Chronic kidney disease in Spain: Prevalence and impact of accumulation of cardiovascular risk factors. *Nefrologia*. 2018;38(6):606–15.
  307. Zhang Y, Zhang S, Wang G. Metabolomic biomarkers in diabetic kidney diseases-- A systematic review. *J Diabetes Complications*. 2015;29(8):1345–51.
  308. Makinen V-P, Soininen P, Kangas AJ, Forsblom C, Tolonen N, Thorn LM, et al. Triglyceride-cholesterol imbalance across lipoprotein subclasses predicts diabetic kidney disease and mortality in type 1 diabetes: the FinnDiane Study. *J Intern Med*. 2013 Apr;273(4):383–95.
  309. Staplin N, Haynes R, Herrington WG, Reith C, Cass A, Fellström B, et al. Smoking and Adverse Outcomes in Patients With CKD: The Study of Heart and Renal Protection (SHARP). *Am J Kidney Dis*. 2016 Sep;68(3):371–80.
  310. Orth SR, Hallan SI. Smoking : A Risk Factor for Progression of Chronic Kidney Disease and for Cardiovascular Morbidity and Mortality in Absence ? *Clin J Am Soc Nephrol*. 2008;3(1):226–36.
  311. Keith DS, Nichols GA, Gullion CM, Brown JB, Smith DH. Longitudinal follow-up and outcomes among a population with chronic kidney disease in a large managed care organization. *Arch Intern Med*. 2004 Mar;164(6):659–63.
  312. Eriksen BO, Ingebretsen OC. The progression of chronic kidney disease: a 10-year population-based study of the effects of gender and age. *Kidney Int*. 2006 Jan;69(2):375–82.
  313. Shlipak MG, Fried LF, Cushman M, Manolio TA, Peterson D, Stehman-Breen C, et al. Cardiovascular mortality risk in chronic kidney disease: comparison of traditional and novel risk factors. *JAMA*. 2005 Apr;293(14):1737–45.
  314. Mahmood SS, Levy D, Vasan RS, Wang TJ. The Framingham Heart Study and the epidemiology of cardiovascular disease: a historical perspective. *Lancet (London, England)*. 2014 Mar;383(9921):999–1008.
  315. Chen S, Tseng C-H. Dyslipidemia, kidney disease, and cardiovascular disease in diabetic patients. *Rev Diabet Stud*. 2013;10(2–3):88–100.
  316. Vaziri ND, Norris K. Lipid disorders and their relevance to outcomes in chronic kidney disease. *Blood Purif*. 2011;31(1–3):189–96.
  317. Cases A, Coll E. Dyslipidemia and the progression of renal disease in chronic renal failure patients. *Kidney Int*. 2005;68:S87–93.
  318. Stadler K, Goldberg IJ, Susztak K. The evolving understanding of the contribution of lipid metabolism to diabetic kidney disease. *Curr Diab Rep*. 2015 Jul;15(7):40.
  319. Jandeleit-Dahm K, Cao Z, Cox AJ, Kelly DJ, Gilbert RE, Cooper ME. Role of hyperlipidemia in progressive renal disease: Focus on diabetic nephropathy. *Kidney Int*. 1999;56:S31–6.
  320. Fernández E, Martínez Castela A. Proyecto NEFRONA: banco de datos de libre utilización. *Nefrologia*. 2011;31(1):5–8.
  321. Betriu A, Martinez-Alonso M, Arcidiacono MV, Cannata-Andia J, Pascual J, Valdivielso JM, et al. Prevalence of subclinical atheromatosis and associated risk factors in chronic kidney disease: The NEFRONA study. *Nephrol Dial Transplant*. 2014;29(7):1415–22.
  322. Muntner P, He J, Hamm L, Loria C, Whelton PK. Renal insufficiency and subsequent death resulting from cardiovascular disease in the United States. *J Am Soc Nephrol*. 2002 Mar;13(3):745–53.
  323. Pálsson R, Patel UD. Cardiovascular complications of diabetic kidney disease. *Adv Chronic Kidney Dis*. 2014 May;21(3):273–80.
  324. Anavekar NS, McMurray JJ V, Velazquez EJ, Solomon SD, Kober L, Rouleau J-L, et

- al. Relation between renal dysfunction and cardiovascular outcomes after myocardial infarction. *N Engl J Med*. 2004 Sep;351(13):1285–95.
325. Selvin E, Marinopoulos S, Berkenblit G, Rami T, Brancati FL, Powe NR, et al. Meta-analysis: glycosylated hemoglobin and cardiovascular disease in diabetes mellitus. *Ann Intern Med*. 2004 Sep;141(6):421–31.
  326. Norgren L, Hiatt WR, Dormandy JA, Nehler MR, Harris KA, Fowkes FGR, et al. Inter-Society Consensus for the Management of Peripheral Arterial Disease (TASC II). *Eur J Vasc Endovasc Surg*. 2007;33 Suppl 1:S1-75.
  327. Hirsch AT, Criqui MH, Treat-Jacobson D, Regensteiner JG, Creager MA, Olin JW, et al. Peripheral arterial disease detection, awareness, and treatment in primary care. *JAMA*. 2001 Sep;286(11):1317–24.
  328. Plantinga LC, Crews DC, Coresh J, Miller ER 3rd, Saran R, Yee J, et al. Prevalence of chronic kidney disease in US adults with undiagnosed diabetes or prediabetes. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2010 Apr;5(4):673–82.
  329. Foley RN, Murray AM, Li S, Herzog CA, McBean AM, Eggers PW, et al. Chronic kidney disease and the risk for cardiovascular disease, renal replacement, and death in the United States Medicare population, 1998 to 1999. *J Am Soc Nephrol*. 2005 Feb;16(2):489–95.
  330. Afkarian M, Sachs MC, Kestenbaum B, Hirsch IB, Tuttle KR, Himmelfarb J, et al. Kidney disease and increased mortality risk in type 2 diabetes. *J Am Soc Nephrol*. 2013 Feb;24(2):302–8.
  331. Groop P-H, Thomas MC, Moran JL, Waden J, Thorn LM, Makinen V-P, et al. The presence and severity of chronic kidney disease predicts all-cause mortality in type 1 diabetes. *Diabetes*. 2009 Jul;58(7):1651–8.
  332. Orchard TJ, Secrest AM, Miller RG, Costacou T. In the absence of renal disease, 20 year mortality risk in type 1 diabetes is comparable to that of the general population: a report from the Pittsburgh Epidemiology of Diabetes Complications Study. *Diabetologia*. 2010 Nov;53(11):2312–9.
  333. He F, Xia X, Wu XF, Yu XQ, Huang FX. Diabetic retinopathy in predicting diabetic nephropathy in patients with type 2 diabetes and renal disease: a meta-analysis. *Diabetologia*. 2013 Mar;56(3):457–66.
  334. Grunwald JE, Alexander J, Ying G-S, Maguire M, Daniel E, Whittock-Martin R, et al. Retinopathy and chronic kidney disease in the Chronic Renal Insufficiency Cohort (CRIC) study. *Arch Ophthalmol (Chicago, Ill 1960)*. 2012 Sep;130(9):1136–44.
  335. Albanes D, Moore S, Ulrich C, Stolzenberg-Solomon R, Poole E, Temprosa M, et al. Consortium for METabolomics Studies (COMETS): Leveraging Resources to Accelerate Scientific Discovery. *FASEB J*. 2016 Apr 1;30(1\_supplement):lb129-lb129.
  336. Møller N, Meek S, Bigelow M, Andrews J, Nair KS. The kidney is an important site for in vivo phenylalanine-to-tyrosine conversion in adult humans: A metabolic role of the kidney. *Proc Natl Acad Sci*. 2000 Feb 1;97(3):1242–6.
  337. Wang TJ, Larson MG, Vasani RS, Cheng S, Rhee EP, McCabe E, et al. Metabolite profiles and the risk of developing diabetes. *Nat Med*. 2011 Apr;17(4):448–53.
  338. Floegel A, Stefan N, Yu Z, Mühlenbruch K, Drogan D, Joost H-G, et al. Identification of serum metabolites associated with risk of type 2 diabetes using a targeted metabolomic approach. *Diabetes*. 2013 Feb;62(2):639–48.
  339. Stancakova A, Civelek M, Saleem NK, Soininen P, Kangas AJ, Cederberg H, et al. Hyperglycemia and a common variant of GCKR are associated with the levels of eight amino acids in 9,369 Finnish men. *Diabetes*. 2012 Jul;61(7):1895–902.
  340. Guasch-Ferre M, Hruby A, Toledo E, Clish CB, Martinez-Gonzalez MA, Salas-Salvado J, et al. Metabolomics in Prediabetes and Diabetes: A Systematic Review and Meta-analysis. *Diabetes Care*. 2016 May;39(5):833–46.
  341. Wurtz P, Havulinna AS, Soininen P, Tynkkynen T, Prieto-Merino D, Tillin T, et al. Metabolite profiling and cardiovascular event risk: a prospective study of 3

- population-based cohorts. *Circulation*. 2015 Mar;131(9):774–85.
342. Young GA, Parsons FM. Impairment of phenylalanine hydroxylation in chronic renal insufficiency. *Clin Sci*. 1973 Jul;45(1):89–97.
  343. Boirie Y, Albright R, Bigelow M, Nair KS. Impairment of phenylalanine conversion to tyrosine in end-stage renal disease causing tyrosine deficiency. *Kidney Int*. 2004;66(2):591–6.
  344. Pitts RF, Damian AC, MacLeod MB. Synthesis of serine by rat kidney in vivo and in vitro. *Am J Physiol*. 1970 Sep;219(3):584–9.
  345. Tizianello A, De Ferrari G, Garibotto G, Gurreri G, Robaudo C. Renal metabolism of amino acids and ammonia in subjects with normal renal function and in patients with chronic renal insufficiency. *J Clin Invest*. 1980 May;65(5):1162–73.
  346. Wei T, Zhao L, Jia J, Xia H, Du Y, Lin Q, et al. Metabonomic analysis of potential biomarkers and drug targets involved in diabetic nephropathy mice. *Sci Rep*. 2015 Jul;5:11998.
  347. Magnusson I, Rothman DL, Katz LD, Shulman RG, Shulman GI. Increased rate of gluconeogenesis in type II diabetes mellitus. A <sup>13</sup>C nuclear magnetic resonance study. *J Clin Invest*. 1992 Oct;90(4):1323–7.
  348. Brennan S, Hering-Smith K, Hamm LL. Effect of pH on citrate reabsorption in the proximal convoluted tubule. *Am J Physiol*. 1988 Aug;255(2 Pt 2):F301–6.
  349. Kim J-A, Choi H-J, Kwon Y-K, Ryu DH, Kwon T-H, Hwang G-S. <sup>1</sup>H NMR-Based Metabolite Profiling of Plasma in a Rat Model of Chronic Kidney Disease. *PLoS One*. 2014 Jan 20;9(1):e85445.
  350. Sharma K, Karl B, Mathew A V, Gangoiti JA, Wassel CL, Saito R, et al. Metabolomics reveals signature of mitochondrial dysfunction in diabetic kidney disease. *J Am Soc Nephrol*. 2013 Nov;24(11):1901–12.
  351. Verges B. Pathophysiology of diabetic dyslipidaemia: where are we? *Diabetologia*. 2015 May;58(5):886–99.
  352. Verges B. New insight into the pathophysiology of lipid abnormalities in type 2 diabetes. *Diabetes Metab*. 2005 Nov;31(5):429–39.
  353. Baigent C, Landray MJ, Wheeler DC. CARDIOVASCULAR AND SURVIVAL PARADOXES IN DIALYSIS PATIENTS: Misleading Associations between Cholesterol and Vascular Outcomes in Dialysis Patients: The Need for Randomized Trials. *Semin Dial*. 2007 Nov 1;20(6):498–503.
  354. Baigent C, Landray M. Which cardiovascular risk factors matter in chronic kidney disease? *Nephrol Dial Transplant*. 2007 Jan;22(1):9–11.
  355. Lewis D, Haynes R, Landray MJ. Lipids in chronic kidney disease. *J Ren Care*. 2010 May;36 Suppl 1:27–33.
  356. Tsimihodimos V, Mitrogianni Z, Elisaf M. Dyslipidemia associated with chronic kidney disease. *Open Cardiovasc Med J*. 2011;5:41–8.
  357. Bermudez-Lopez M, Arroyo D, Betriu A, Masana L, Fernandez E, Valdivielso JM. New perspectives on CKD-induced dyslipidemia. *Expert Opin Ther Targets*. 2017 Oct;21(10):967–76.
  358. Baigent C, Landray MJ, Reith C, Emberson J, Wheeler DC, Tomson C, et al. The effects of lowering LDL cholesterol with simvastatin plus ezetimibe in patients with chronic kidney disease (Study of Heart and Renal Protection): a randomised placebo-controlled trial. *Lancet (London, England)*. 2011 Jun;377(9784):2181–92.
  359. Fellstrom BC, Jardine AG, Schmieder RE, Holdaas H, Bannister K, Beutler J, et al. Rosuvastatin and cardiovascular events in patients undergoing hemodialysis. *N Engl J Med*. 2009 Apr;360(14):1395–407.
  360. Wanner C, Krane V, Marz W, Olschewski M, Mann JFE, Ruf G, et al. Atorvastatin in patients with type 2 diabetes mellitus undergoing hemodialysis. *N Engl J Med*. 2005 Jul;353(3):238–48.
  361. Bowden RG, La Bounty P, Shelmadine B, Beaujean AA, Wilson RL, Hebert S. Reverse Epidemiology of Lipid-Death Associations in a Cohort of End-Stage Renal

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Disease Patients. *Nephron Clin Pract.* 2011;119(3):c214–9.
362. Bouillet B, Gautier T, Blache D, Pais de Barros J-P, Duvillard L, Petit J-M, et al. Glycation of apolipoprotein C1 impairs its CETP inhibitory property: pathophysiological relevance in patients with type 1 and type 2 diabetes. *Diabetes Care.* 2014 Apr;37(4):1148–56.
363. de Vries R, Dallinga-Thie GM, Smit AJ, Wolffenbuttel BHR, van Tol A, Dullaart RPF. Elevated plasma phospholipid transfer protein activity is a determinant of carotid intima-media thickness in type 2 diabetes mellitus. *Diabetologia.* 2006 Feb;49(2):398–404.
364. Muntner P, He J, Astor BC, Folsom AR, Coresh J. Traditional and nontraditional risk factors predict coronary heart disease in chronic kidney disease: results from the atherosclerosis risk in communities study. *J Am Soc Nephrol.* 2005 Feb;16(2):529–38.
365. de Vinuesa SG, Ortega M, Martinez P, Goicoechea M, Campdera FG, Luno J. Subclinical peripheral arterial disease in patients with chronic kidney disease: prevalence and related risk factors. *Kidney Int Suppl.* 2005 Jan;(93):S44-7.
366. Weigert J, Neumeier M, Wanninger J, Bauer S, Farkas S, Scherer MN, et al. Serum galectin-3 is elevated in obesity and negatively correlates with glycosylated hemoglobin in type 2 diabetes. *J Clin Endocrinol Metab.* 2010 Mar;95(3):1404–11.
367. Chen SC, Kuo PL. The role of galectin-3 in the kidneys. *Int J Mol Sci.* 2016 Apr 14;17(4):565.
368. Gucuk Ipek E, Akin Suljevic S, Kafes H, Basyigit F, Karalok N, Guray Y, et al. Evaluation of galectin-3 levels in acute coronary syndrome. *Ann Cardiol Angeiol (Paris).* 2016 Feb;65(1):26–30.
369. Agnello L, Bellia C, Lo Sasso B, Pivetti A, Muratore M, Scazzone C, et al. Establishing the upper reference limit of Galectin-3 in healthy blood donors. *Biochem Med (Zagreb).* 2017 Oct 15;27(3)030709.
370. Anders HJ, Huber TB, Isermann B, Schiffer M. CKD in diabetes: Diabetic kidney disease versus nondiabetic kidney disease. *Nat Rev Nephrol.* 2018;14(6):361–77.
371. Bermejo S, Soler J, Gimeno J, Barrios C, Rodríguez E, Mojal S, et al. Factores predictivos de nefropatía no diabética en pacientes diabéticos. Utilidad de la biopsia renal. *Nefrologia.* 2016;36(5):535–44.

## **15. ANEXOS**

ANEXOS

## 15. ANEXOS

**Tabla 1. Concentraciones absolutas de los metabolitos.** Para facilitar la comparabilidad entre cohortes, transformamos los niveles de metabolitos en z puntuaciones. Aquí, mostramos los niveles absolutos promedio y las desviaciones estándar de cada metabolito por cohorte.

Group	Trait		diabetic cohorts						non-diabetic cohorts					
			GenoDiabMar		TwinsUK (diabetics)		Kora (diabetics)		TwinsUK		Kora (non-diabetic)		YoungFinns	
			mean	sd	mean	sd	mean	sd	mean	sd	mean	sd	mean	sd
Amino Acid	Alanine, mmol/l	Ala	0,4667	0,0962	0,3837	0,0689	0,5071	0,0778	0,3464	0,0446	0,4637	0,0625	0,4277	0,0701
	Glutamine, mmol/l	Gln	0,4841	0,0699	0,5282	0,0728	0,5028	0,0673	0,5471	0,0663	0,5237	0,0598	0,5958	0,0987
	Glycine, mmol/l	Gly	0,2729	0,0573	0,2374	0,0440	0,2679	0,0468	0,2481	0,0520	0,2776	0,0529	0,3140	0,0675
	Histidine, mmol/l	His	0,0628	0,0103	0,0557	0,0079	0,0605	0,0090	0,0580	0,0070	0,0623	0,0083	0,0737	0,0132
	Isoleucine, mmol/l	Ile	0,0690	0,0199	0,0478	0,0153	0,0706	0,0263	0,0394	0,0095	0,0571	0,0191	0,0590	0,0179
	Leucine, mmol/l	Leu	0,0943	0,0241	0,0661	0,0160	0,0977	0,0181	0,0590	0,0113	0,0858	0,0154	0,0903	0,0212
	Phenylalanine, mmol/l	Phe	0,0865	0,0148	0,0702	0,0095	0,0785	0,0100	0,0682	0,0079	0,0748	0,0096	0,0846	0,0137
	Tyrosine, mmol/l	Tyr	0,0556	0,0146	0,0506	0,0122	0,0572	0,0135	0,0480	0,0093	0,0550	0,0114	0,0583	0,0126
	Valine, mmol/l	Val	0,2018	0,0467	0,1520	0,0321	0,2253	0,0325	0,1363	0,0263	0,1982	0,0347	0,2181	0,0461
Glycolysis	Citrate, mmol/l	Cit	0,1274	0,0209	0,1304	0,0194	0,1331	0,0219	0,1249	0,0170	0,1246	0,0223	0,1098	0,0215
	Glucose, mmol/l	Glc	7,2940	2,9396	4,9809	2,2824	6,7507	1,6759	3,6739	0,3798	4,8108	0,7023	4,8978	0,9120
	Glycerol, mmol/l	Glo1	0,1089	0,0372	0,1002	0,0319	0,1083	0,0383	0,0866	0,0285	0,0941	0,0324	0,0971	0,0368
	Lactate, mmol/l	Lac	2,1652	0,9825	1,4724	0,4280	1,7945	0,3894	1,2552	0,3199	1,5316	0,3641	1,5940	0,4271
	Pyruvate, mmol/l	Pyr	0,1123	0,0442	0,0999	0,0316	0,1324	0,0417	0,0785	0,0203	0,1088	0,0317	0,0877	0,0298

ANEXOS

Ketone Bodies	3-hydroxybutyrate, mmol/l	bOHBut	0,1696	0,0922	0,1908	0,1292	0,1903	0,1142	0,1806	0,1007	0,1516	0,1011	0,1196	0,0728
	Acetate, mmol/l	Ace	0,0612	0,1113	0,0437	0,0105	0,0433	0,0109	0,0448	0,0273	0,0471	0,0291	0,0479	0,0255
	Acetoacetate, mmol/l	AcAce	0,0444	0,0284	0,0649	0,0579	0,0510	0,0313	0,0620	0,0453	0,0478	0,0259	0,0588	0,0516
Fluid Balance	Albumin, signal area	Alb	0,0837	0,0059	0,0841	0,0075	0,0937	0,0044	0,0856	0,0068	0,0941	0,0046	0,1053	0,0113
Inflammation	Glycoprotein acetyls, mainly a1-acid glycoprotein, mmol/l	Gp	1,5623	0,2264	1,4203	0,2275	1,6029	0,3467	1,3189	0,1829	1,4306	0,2459	1,5573	0,3000
Glycerides	Phosphatidylcholine and other cholines, mmol/l	PC	1,4921	0,3164	1,5114	0,3102	2,2552	0,3444	1,6989	0,3119	2,3969	0,3651	2,2740	0,4421
	Ratio of triglycerides to phosphoglycerides	TG/PG	0,7321	0,2572	0,6095	0,2422	0,8123	0,3648	0,4748	0,1847	0,6388	0,2759	0,5570	0,2191
	Serum total triglycerides, mmol/l	Serum-TG	1,3191	0,5223	1,0978	0,4026	1,9555	1,2741	0,9711	0,3610	1,5722	0,8704	1,3051	0,7592
	Sphingomyelins, mmol/l	SM	0,3202	0,0653	0,3492	0,0719	0,5345	0,0810	0,4008	0,0749	0,5844	0,0853	0,5497	0,0970
	Total cholines, mmol/l	TotCho	1,7849	0,3432	1,8087	0,3360	2,7010	0,3831	2,0239	0,3436	2,9080	0,4108	2,7835	0,4887
	Total phosphoglycerides, mmol/l	TotPG	1,4789	0,3208	1,4944	0,3119	2,2884	0,3853	1,6656	0,3144	2,4415	0,3846	2,3760	0,4963
Fatty acids	18:2, linoleic acid, mmol/l	LA	2,7680	0,6145	2,7197	0,5511	3,7457	0,6829	3,0055	0,5842	3,8896	0,6114	3,3412	0,6348
	22:6, docosahexaenoic acid, mmol/l	DHA	0,1017	0,0370	0,1191	0,0447	0,1938	0,0552	0,1343	0,0470	0,1838	0,0553	0,2298	0,0773
	Estimated degree of unsaturation	UnSat	1,1891	0,0599	1,2347	0,0665	1,1705	0,0581	1,2561	0,0621	1,1746	0,0535	1,1595	0,0596
	Monounsaturated fatty acids; 16:1, 18:1, mmol/l	MUFA	2,8045	0,7953	2,5818	0,6099	3,8172	1,0498	2,5884	0,5880	3,7338	0,9790	3,5969	1,1542
	Omega-3 fatty acids, mmol/l	FAw3	0,3954	0,1144	0,4012	0,1286	0,6595	0,1569	0,4336	0,1312	0,6150	0,1532	0,5971	0,1870
	Omega-6 fatty acids, mmol/l	FAw6	3,1532	0,6512	3,2452	0,6249	4,5202	0,7646	3,5754	0,6331	4,7466	0,7084	4,1526	0,7726
	Polyunsaturated fatty acids, mmol/l	PUFA	3,5486	0,7425	3,6463	0,7352	5,1797	0,8354	4,0089	0,7324	5,3617	0,7953	4,7497	0,9073
	Ratio of 18:2 linoleic acid to total fatty acids, %	LA/FA	29,0097	3,7062	28,7801	2,4014	26,3101	3,3830	30,1091	2,9275	26,9453	2,8986	25,3187	3,0410
	Ratio of 22:6 docosahexaenoic acid to total fatty acids, %	DHA/FA	1,0549	0,2830	1,2425	0,3342	1,3598	0,3308	1,3366	0,3791	1,2638	0,3130	1,7216	0,4461
	Ratio of monounsaturated fatty acids to total fatty acids, %	MUFA/FA	28,8837	2,7642	27,1625	2,4517	26,2975	3,2028	25,7852	2,4346	25,4279	3,1504	26,5431	2,9833
	Ratio of omega-3 fatty acids to total fatty acids, %	FAw3/FA	4,1028	0,6912	4,1836	0,8089	4,6336	0,9074	4,3092	0,9461	4,2436	0,8447	4,4755	1,0048
	Ratio of omega-6 fatty acids to total fatty acids, %	FAw6/FA	33,0382	3,2309	34,3941	2,4222	31,7596	3,5988	35,8626	2,5232	32,8808	3,1455	31,4258	3,1689
	Ratio of polyunsaturated fatty acids to total fatty acids, %	PUFA/FA	37,1410	3,4341	38,5775	2,7366	36,3933	3,7412	40,1718	2,8529	37,1246	3,3372	35,9012	3,5039
	Ratio of saturated fatty acids to total fatty acids, %	SFA/FA	33,9754	2,0691	34,2601	1,4054	37,3089	2,4234	34,0428	1,4650	37,4477	2,0216	37,5557	2,1079
Saturated fatty acids, mmol/l	SFA	3,2838	0,8259	3,2564	0,7240	5,3515	1,0224	3,4124	0,6785	5,4363	0,9153	5,0412	1,3190	

Total fatty acids, mmol/l		TotFA	9,6370	2,2273	9,4846	1,9597	14,3484	2,5941	10,0098	1,8674	14,5319	2,3848	13,3878	3,1701
Apolipoproteins	Apolipoprotein A-I, g/l	ApoA1	1,3007	0,1682	1,3962	0,2111	1,6250	0,1968	1,5297	0,2032	1,7525	0,2285	1,6987	0,2636
	Apolipoprotein B, g/l	ApoB	0,7062	0,1744	0,6836	0,1699	1,0735	0,2827	0,7575	0,1717	1,0930	0,2446	0,9899	0,2434
	Ratio of apolipoprotein B to apolipoprotein A-I	ApoB/ApoA1	0,5468	0,1310	0,4934	0,1179	0,6692	0,1874	0,5001	0,1160	0,6349	0,1648	0,5924	0,1548
Lipoprotein particle size	Mean diameter for VLDL particles, nm	VLDL-D	36,7661	1,2237	36,3387	1,2781	37,2211	1,6973	35,5593	1,1051	36,5866	1,4687	36,1949	1,4374
	Mean diameter for LDL particles, nm	LDL-D	23,6080	0,1669	23,6210	0,1221	23,5903	0,1939	23,6065	0,0977	23,5894	0,1359	23,6159	0,1426
	Mean diameter for HDL particles, nm	HDL-D	9,7420	0,2320	9,9046	0,2247	9,8497	0,2469	10,0711	0,2558	10,0157	0,2808	9,9526	0,2776
Cholesterol	Esterified cholesterol, mmol/l	EstC	2,2816	0,5744	2,4866	0,6551	3,6459	0,7244	2,9323	0,6506	4,0869	0,7475	3,7006	0,7992
	Free cholesterol, mmol/l	FreeC	0,9641	0,2274	1,0316	0,2545	1,4592	0,2807	1,2074	0,2559	1,6217	0,2835	1,5804	0,3202
	Remnant cholesterol (non-HDL, non-LDL - cholesterol), mmol/l	Remnant-C	1,0491	0,3525	0,9962	0,3454	1,8348	0,5161	1,1483	0,3510	1,9004	0,4825	1,6442	0,4796
	Serum total cholesterol, mmol/l	Serum-C	3,2421	0,7943	3,4521	0,9438	5,0969	0,9969	4,1329	0,9108	5,7111	1,0270	5,2825	1,1112
	Total cholesterol in HDL2, mmol/l	HDL2-C	0,6791	0,2528	0,8754	0,2989	0,9456	0,3683	1,0596	0,3045	1,1720	0,4049	1,1164	0,3980
	Total cholesterol in HDL3, mmol/l	HDL3-C	0,4744	0,0280	0,4794	0,0332	0,5105	0,0437	0,4979	0,0307	0,5277	0,0381	0,5257	0,0482
Total cholesterol	Total cholesterol in chylomicrons and extremely large VLDL, mmol/l	XXL-VLDL-C	0,0037	0,0039	0,0029	0,0030	0,0095	0,0129	0,0022	0,0027	0,0075	0,0076	0,0049	0,0062
	Total cholesterol in very large VLDL, mmol/l	XL-VLDL-C	0,0110	0,0114	0,0078	0,0087	0,0275	0,0377	0,0052	0,0074	0,0203	0,0225	0,0137	0,0184
	Total cholesterol in large VLDL, mmol/l	L-VLDL-C	0,0553	0,0434	0,0396	0,0343	0,1184	0,1291	0,0281	0,0306	0,0890	0,0834	0,0606	0,0659
	Total cholesterol in medium VLDL, mmol/l	M-VLDL-C	0,1351	0,0730	0,1063	0,0578	0,2533	0,1741	0,0986	0,0567	0,2220	0,1283	0,1762	0,1038
	Total cholesterol in small VLDL, mmol/l	S-VLDL-C	0,1892	0,0684	0,1530	0,0591	0,3132	0,0996	0,1639	0,0633	0,3020	0,0984	0,2522	0,0946
	Total cholesterol in very small VLDL, mmol/l	XS-VLDL-C	0,2039	0,0580	0,1933	0,0566	0,3236	0,0768	0,2256	0,0591	0,3449	0,0785	0,2895	0,0800
	Total cholesterol in VLDL, mmol/l	VLDL-C	0,5991	0,2308	0,5041	0,1932	1,0457	0,4325	0,5247	0,1992	0,9859	0,3548	0,7978	0,3164
	Total cholesterol in large LDL, mmol/l	L-LDL-C	0,5433	0,2087	0,5838	0,2424	0,9492	0,2959	0,7509	0,2434	1,1092	0,2937	1,0495	0,3014
	Total cholesterol in medium LDL, mmol/l	M-LDL-C	0,3074	0,1301	0,3184	0,1475	0,5310	0,1866	0,4181	0,1493	0,6220	0,1867	0,5920	0,1931
	Total cholesterol in small LDL, mmol/l	S-LDL-C	0,1878	0,0788	0,1964	0,0889	0,3217	0,1135	0,2579	0,0902	0,3793	0,1134	0,3544	0,1154
	Total cholesterol in LDL, mmol/l	LDL-C	1,0394	0,4137	1,1011	0,4728	1,8059	0,5818	1,4271	0,4813	2,1111	0,5897	1,9962	0,6069
	Total cholesterol in IDL, mmol/l	IDL-C	0,4500	0,1578	0,4921	0,1872	0,7858	0,2229	0,6236	0,1854	0,9137	0,2208	0,8462	0,2224
	Total cholesterol in very large HDL, mmol/l	XL-HDL-C	0,1250	0,0831	0,1794	0,1048	0,2160	0,0923	0,2486	0,1094	0,2862	0,1225	0,1939	0,1191
	Total cholesterol in large HDL, mmol/l	L-HDL-C	0,2372	0,1350	0,3288	0,1521	0,2787	0,1873	0,4271	0,1767	0,3932	0,2317	0,3885	0,2315
	Total cholesterol in medium HDL, mmol/l	M-HDL-C	0,3515	0,0947	0,4006	0,0943	0,4633	0,1398	0,4282	0,0888	0,5110	0,1255	0,5318	0,1365
	Total cholesterol in small HDL, mmol/l	S-HDL-C	0,4341	0,0608	0,4365	0,0596	0,4902	0,1162	0,4516	0,0533	0,5063	0,0849	0,5226	0,0981
	Total cholesterol in HDL, mmol/l	HDL-C	1,1536	0,2725	1,3548	0,3276	1,4561	0,3980	1,5574	0,3306	1,6997	0,4342	1,6422	0,4269

ANEXOS

Free cholesterol	Free cholesterol in chylomicrons and extremely large VLDL, mmol/l	XXL-VLDL-FC	0,0017	0,0018	0,0013	0,0015	0,0042	0,0060	0,0008	0,0011	0,0030	0,0034	0,0020	0,0029
	Free cholesterol in very large VLDL, mmol/l	XL-VLDL-FC	0,0046	0,0053	0,0033	0,0041	0,0133	0,0176	0,0022	0,0033	0,0098	0,0103	0,0067	0,0088
	Free cholesterol in large VLDL, mmol/l	L-VLDL-FC	0,0243	0,0218	0,0168	0,0170	0,0582	0,0688	0,0108	0,0137	0,0407	0,0422	0,0281	0,0345
	Free cholesterol in medium VLDL, mmol/l	M-VLDL-FC	0,0628	0,0360	0,0466	0,0282	0,1122	0,0907	0,0375	0,0251	0,0880	0,0631	0,0692	0,0517
	Free cholesterol in small VLDL, mmol/l	S-VLDL-FC	0,0821	0,0283	0,0656	0,0223	0,1200	0,0459	0,0633	0,0230	0,1067	0,0406	0,0889	0,0379
	Free cholesterol in very small VLDL, mmol/l	XS-VLDL-FC	0,0694	0,0197	0,0622	0,0180	0,1020	0,0272	0,0725	0,0187	0,1065	0,0253	0,0936	0,0273
	Free cholesterol in large LDL, mmol/l	L-LDL-FC	0,1658	0,0506	0,1800	0,0596	0,2586	0,0748	0,2242	0,0598	0,3024	0,0737	0,2935	0,0743
	Free cholesterol in medium LDL, mmol/l	M-LDL-FC	0,1032	0,0261	0,1064	0,0325	0,1529	0,0366	0,1269	0,0283	0,1714	0,0349	0,1642	0,0370
	Free cholesterol in small LDL, mmol/l	S-LDL-FC	0,0629	0,0166	0,0648	0,0192	0,0940	0,0228	0,0770	0,0172	0,1061	0,0215	0,0988	0,0225
	Free cholesterol in IDL, mmol/l	IDL-FC	0,1317	0,0454	0,1427	0,0535	0,2135	0,0671	0,1837	0,0531	0,2521	0,0660	0,2435	0,0673
	Free cholesterol in very large HDL, mmol/l	XL-HDL-FC	0,0286	0,0226	0,0455	0,0286	0,0552	0,0272	0,0662	0,0316	1,7797	68,6104	0,0595	0,0363
	Free cholesterol in large HDL, mmol/l	L-HDL-FC	0,0472	0,0315	0,0682	0,0362	0,0566	0,0438	0,0926	0,0422	0,0849	0,0550	0,0836	0,0549
	Cholesterol esters	Free cholesterol in medium HDL, mmol/l	M-HDL-FC	0,0640	0,0196	0,0735	0,0200	0,0909	0,0294	0,0808	0,0191	0,1009	0,0265	0,1030
Free cholesterol in small HDL, mmol/l		S-HDL-FC	0,1141	0,0163	0,1116	0,0154	0,1281	0,0274	0,1082	0,0150	0,1257	0,0182	0,1295	0,0220
Cholesterol esters in chylomicrons and extremely large VLDL, mmol/l		XXL-VLDL-CE	0,0020	0,0022	0,0016	0,0017	0,0052	0,0070	0,0014	0,0016	0,0045	0,0044	0,0029	0,0034
Cholesterol esters in very large VLDL, mmol/l		XL-VLDL-CE	0,0063	0,0062	0,0045	0,0047	0,0142	0,0201	0,0030	0,0042	0,0105	0,0122	0,0071	0,0097
Cholesterol esters in large VLDL, mmol/l		L-VLDL-CE	0,0309	0,0222	0,0228	0,0178	0,0602	0,0608	0,0174	0,0174	0,0483	0,0419	0,0325	0,0320
Cholesterol esters in medium VLDL, mmol/l		M-VLDL-CE	0,0723	0,0394	0,0597	0,0317	0,1411	0,0855	0,0611	0,0332	0,1340	0,0674	0,1070	0,0540
Cholesterol esters in small VLDL, mmol/l		S-VLDL-CE	0,1071	0,0435	0,0874	0,0397	0,1933	0,0597	0,1006	0,0426	0,1954	0,0620	0,1633	0,0601
Cholesterol esters in very small VLDL, mmol/l		XS-VLDL-CE	0,1345	0,0400	0,1311	0,0395	0,2216	0,0541	0,1532	0,0412	0,2384	0,0561	0,1959	0,0553
Cholesterol esters in large LDL, mmol/l		L-LDL-CE	0,3775	0,1588	0,4039	0,1833	0,6906	0,2233	0,5267	0,1841	0,8068	0,2219	0,7560	0,2285
Cholesterol esters in medium LDL, mmol/l		M-LDL-CE	0,2041	0,1050	0,2120	0,1167	0,3781	0,1512	0,2912	0,1215	0,4506	0,1525	0,4278	0,1571
Cholesterol esters in small LDL, mmol/l		S-LDL-CE	0,1249	0,0635	0,1316	0,0709	0,2278	0,0920	0,1809	0,0735	0,2732	0,0927	0,2557	0,0939
Cholesterol esters in IDL, mmol/l		IDL-CE	0,3183	0,1137	0,3494	0,1344	0,5723	0,1591	0,4399	0,1330	0,6617	0,1574	0,6028	0,1572
Cholesterol esters in very large HDL, mmol/l		XL-HDL-CE	0,0963	0,0612	0,1339	0,0767	0,1608	0,0668	0,1824	0,0782	0,2091	0,0875	0,1344	0,0841
Cholesterol esters in large HDL, mmol/l		L-HDL-CE	0,1900	0,1037	0,2606	0,1161	0,2221	0,1440	0,3345	0,1345	0,3083	0,1769	0,3049	0,1769
Cholesterol esters in medium HDL, mmol/l		M-HDL-CE	0,2875	0,0755	0,3271	0,0746	0,3724	0,1113	0,3473	0,0701	0,4101	0,0997	0,4288	0,1077

Cholesterol esters in small HDL, mmol/l	S-HDL-CE	0,3200	0,0529	0,3249	0,0508	0,3621	0,0955	0,3435	0,0459	0,3806	0,0760	0,3931	0,0860
---	----------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------

Lipoprotein subclasses	Concentration of chylomicrons and extremely large VLDL particles, mol/l	XXL-VLDL-P	1,029E-10	1,037E-10	8,899E-11	8,565E-11	2,471E-10	3,388E-10	6,433E-11	6,757E-11	1,884E-10	1,918E-10	1,191E-10	1,645E-10
	Concentration of very large VLDL particles, mol/l	XL-VLDL-P	5,845E-10	5,867E-10	4,353E-10	4,620E-10	1,464E-09	1,945E-09	2,690E-10	3,643E-10	9,965E-10	1,135E-09	6,514E-10	9,230E-10
	Concentration of large VLDL particles, mol/l	L-VLDL-P	4,295E-09	3,241E-09	3,144E-09	2,620E-09	9,079E-09	1,002E-08	2,128E-09	2,187E-09	6,402E-09	6,227E-09	4,410E-09	4,999E-09
	Concentration of medium VLDL particles, mol/l	M-VLDL-P	1,636E-08	8,423E-09	1,274E-08	6,663E-09	2,812E-08	2,234E-08	1,045E-08	5,940E-09	2,220E-08	1,535E-08	1,741E-08	1,244E-08
	Concentration of small VLDL particles, mol/l	S-VLDL-P	3,022E-08	1,043E-08	2,446E-08	8,238E-09	4,379E-08	1,907E-08	2,286E-08	8,342E-09	3,810E-08	1,602E-08	3,146E-08	1,404E-08
	Concentration of very small VLDL particles, mol/l	XS-VLDL-P	3,595E-08	9,617E-09	3,298E-08	8,292E-09	5,177E-08	1,222E-08	3,621E-08	8,801E-09	5,205E-08	1,208E-08	4,522E-08	1,254E-08
	Concentration of large LDL particles, mol/l	L-LDL-P	1,248E-07	3,979E-08	1,307E-07	4,503E-08	2,004E-07	5,759E-08	1,605E-07	4,520E-08	2,272E-07	5,516E-08	2,153E-07	5,773E-08
	Concentration of medium LDL particles, mol/l	M-LDL-P	9,976E-08	3,480E-08	1,018E-07	3,969E-08	1,595E-07	4,979E-08	1,269E-07	3,829E-08	1,805E-07	4,809E-08	1,711E-07	5,073E-08
	Concentration of small LDL particles, mol/l	S-LDL-P	1,177E-07	3,923E-08	1,212E-07	4,411E-08	1,863E-07	5,570E-08	1,490E-07	4,238E-08	2,103E-07	5,347E-08	1,947E-07	5,546E-08
	Concentration of IDL particles, mol/l	IDL-P	7,983E-08	2,280E-08	8,325E-08	2,575E-08	1,244E-07	3,112E-08	1,001E-07	2,575E-08	1,386E-07	3,101E-08	1,299E-07	3,258E-08
	Concentration of very large HDL particles, mol/l	XL-HDL-P	2,613E-07	1,760E-07	3,823E-07	2,162E-07	4,096E-07	1,913E-07	5,346E-07	2,325E-07	5,592E-07	2,624E-07	4,146E-07	2,559E-07
	Concentration of large HDL particles, mol/l	L-HDL-P	8,409E-07	4,078E-07	1,105E-06	4,590E-07	9,997E-07	5,923E-07	1,405E-06	5,149E-07	1,346E-06	6,853E-07	1,338E-06	7,007E-07
	Concentration of medium HDL particles, mol/l	M-HDL-P	1,791E-06	3,893E-07	1,983E-06	3,798E-07	2,325E-06	5,829E-07	2,088E-06	3,694E-07	2,502E-06	5,001E-07	2,514E-06	5,796E-07
	Concentration of small HDL particles, mol/l	S-HDL-P	4,981E-06	5,603E-07	4,987E-06	5,236E-07	5,513E-06	1,111E-06	4,901E-06	5,399E-07	5,473E-06	7,011E-07	5,501E-06	7,961E-07
Total Lipids	Total lipids in chylomicrons and extremely large VLDL, mmol/l	XXL-VLDL-L	0,0220	0,0222	0,0188	0,0183	0,0530	0,0727	0,0136	0,0144	0,0404	0,0412	0,0256	0,0352
	Total lipids in very large VLDL, mmol/l	XL-VLDL-L	0,0566	0,0572	0,0420	0,0449	0,1426	0,1896	0,0261	0,0356	0,0979	0,1107	0,0641	0,0901
	Total lipids in large VLDL, mmol/l	L-VLDL-L	0,2473	0,1881	0,1805	0,1516	0,5257	0,5809	0,1224	0,1270	0,3723	0,3614	0,2563	0,2899
	Total lipids in medium VLDL, mmol/l	M-VLDL-L	0,5423	0,2802	0,4220	0,2215	0,9389	0,7360	0,3494	0,1990	0,7481	0,5086	0,5876	0,4118
	Total lipids in small VLDL, mmol/l	S-VLDL-L	0,5862	0,2003	0,4748	0,1590	0,8588	0,3558	0,4505	0,1629	0,7568	0,3045	0,6251	0,2696
	Total lipids in very small VLDL, mmol/l	XS-VLDL-L	0,4478	0,1204	0,4132	0,1067	0,6552	0,1523	0,4603	0,1129	0,6673	0,1523	0,5780	0,1581
	Total lipids in large LDL, mmol/l	L-LDL-L	0,8747	0,2846	0,9232	0,3252	1,4209	0,4108	1,1419	0,3264	1,6223	0,3969	1,5394	0,4126
	Total lipids in medium LDL, mmol/l	M-LDL-L	0,5039	0,1758	0,5164	0,2017	0,8109	0,2511	0,6452	0,1950	0,9215	0,2440	0,8741	0,2563
	Total lipids in small LDL, mmol/l	S-LDL-L	0,3278	0,1097	0,3387	0,1241	0,5216	0,1557	0,4184	0,1197	0,5925	0,1504	0,5491	0,1553
	Total lipids in IDL, mmol/l	IDL-L	0,7879	0,2337	0,8304	0,2682	1,2525	0,3204	1,0114	0,2676	1,4109	0,3210	1,3234	0,3342
	Total lipids in very large HDL, mmol/l	XL-HDL-L	0,2625	0,1779	0,3859	0,2199	0,4171	0,1950	0,5406	0,2363	0,5704	0,2670	0,4210	0,2600
	Total lipids in large HDL, mmol/l	L-HDL-L	0,5236	0,2599	0,6941	0,2930	0,6234	0,3756	0,8853	0,3298	0,8449	0,4386	0,8388	0,4461
	Total lipids in medium HDL, mmol/l	M-HDL-L	0,7536	0,1692	0,8382	0,1660	0,9820	0,2531	0,8857	0,1606	1,0607	0,2188	1,0697	0,2509
	Total lipids in small HDL, mmol/l	S-HDL-L	1,1006	0,1253	1,1028	0,1179	1,2210	0,2474	1,0870	0,1196	1,2156	0,1565	1,2258	0,1781

ANEXOS

Triglycerides	Triglycerides in chylomicrons and extremely large VLDL, mmol/l	XXL-VLDL-TG	0,0156	0,0156	0,0138	0,0131	0,0370	0,0509	0,0100	0,0102	0,0280	0,0286	0,0177	0,0249
	Triglycerides in very large VLDL, mmol/l	XL-VLDL-TG	0,0369	0,0364	0,0277	0,0289	0,0911	0,1204	0,0167	0,0224	0,0605	0,0701	0,0394	0,0572
	Triglycerides in large VLDL, mmol/l	L-VLDL-TG	0,1476	0,1113	0,1085	0,0904	0,3112	0,3477	0,0719	0,0736	0,2144	0,2141	0,1480	0,1730
	Triglycerides in medium VLDL, mmol/l	M-VLDL-TG	0,2969	0,1562	0,2293	0,1237	0,4983	0,4276	0,1776	0,1058	0,3737	0,2878	0,2905	0,2340
	Triglycerides in small VLDL, mmol/l	S-VLDL-TG	0,2555	0,0979	0,2035	0,0765	0,3495	0,2014	0,1741	0,0719	0,2803	0,1563	0,2327	0,1329
	Triglycerides in very small VLDL, mmol/l	XS-VLDL-TG	0,1202	0,0372	0,1006	0,0264	0,1463	0,0578	0,0948	0,0273	0,1253	0,0478	0,1128	0,0485
	Triglycerides in VLDL, mmol/l	VLDL-TG	0,8775	0,4363	0,6918	0,3417	1,4345	1,1746	0,5523	0,2984	1,0833	0,7821	0,8439	0,6467
	Triglycerides in large LDL, mmol/l	L-LDL-TG	0,0997	0,0296	0,0926	0,0212	0,1162	0,0420	0,0980	0,0226	0,1126	0,0336	0,1070	0,0426
	Triglycerides in medium LDL, mmol/l	M-LDL-TG	0,0484	0,0160	0,0447	0,0137	0,0539	0,0220	0,0486	0,0117	0,0525	0,0178	0,0503	0,0234
	Triglycerides in small LDL, mmol/l	S-LDL-TG	0,0297	0,0108	0,0269	0,0088	0,0373	0,0156	0,0280	0,0076	0,0349	0,0131	0,0315	0,0158
	Triglycerides in LDL, mmol/l	LDL-TG	0,1789	0,0547	0,1656	0,0397	0,2107	0,0752	0,1747	0,0411	0,2003	0,0626	0,1889	0,0808
	Triglycerides in IDL, mmol/l	IDL-TG	0,1224	0,0355	0,1097	0,0239	0,1362	0,0498	0,1115	0,0250	0,1263	0,0394	0,1205	0,0463
	Triglycerides in very large HDL, mmol/l	XL-HDL-TG	0,0097	0,0074	0,0102	0,0062	0,0175	0,0139	0,0131	0,0068	0,0180	0,0091	0,0162	0,0105
	Triglycerides in large HDL, mmol/l	L-HDL-TG	0,0247	0,0129	0,0253	0,0119	0,0249	0,0178	0,0326	0,0142	0,0315	0,0170	0,0347	0,0225
	Phospholipids	Triglycerides in medium HDL, mmol/l	M-HDL-TG	0,0444	0,0120	0,0424	0,0099	0,0587	0,0189	0,0405	0,0116	0,0570	0,0186	0,0504
Triglycerides in small HDL, mmol/l		S-HDL-TG	0,0600	0,0127	0,0526	0,0111	0,0615	0,0220	0,0463	0,0115	0,0534	0,0206	0,0481	0,0201
Triglycerides in HDL, mmol/l		HDL-TG	0,1401	0,0337	0,1306	0,0274	0,1720	0,0586	0,1326	0,0292	0,1620	0,0490	0,1517	0,0563
Phospholipids in chylomicrons and extremely large VLDL, mmol/l		XXL-VLDL-PL	0,0026	0,0029	0,0021	0,0023	0,0065	0,0090	0,0014	0,0017	0,0049	0,0051	0,0030	0,0043
Phospholipids in very large VLDL, mmol/l		XL-VLDL-PL	0,0087	0,0096	0,0065	0,0075	0,0240	0,0320	0,0042	0,0060	0,0171	0,0186	0,0110	0,0150
Phospholipids in large VLDL, mmol/l		L-VLDL-PL	0,0444	0,0342	0,0323	0,0274	0,0961	0,1051	0,0224	0,0232	0,0689	0,0652	0,0477	0,0523
Phospholipids in medium VLDL, mmol/l		M-VLDL-PL	0,1103	0,0546	0,0864	0,0435	0,1872	0,1379	0,0732	0,0397	0,1523	0,0966	0,1209	0,0783
Phospholipids in small VLDL, mmol/l		S-VLDL-PL	0,1416	0,0433	0,1183	0,0341	0,1960	0,0713	0,1125	0,0357	0,1744	0,0632	0,1402	0,0558
Phospholipids in very small VLDL, mmol/l		XS-VLDL-PL	0,1237	0,0368	0,1193	0,0352	0,1853	0,0501	0,1399	0,0360	0,1971	0,0480	0,1757	0,0487
Phospholipids in large LDL, mmol/l		L-LDL-PL	0,2317	0,0597	0,2468	0,0683	0,3554	0,0874	0,2930	0,0686	0,4004	0,0826	0,3829	0,0850
Phospholipids in medium LDL, mmol/l		M-LDL-PL	0,1482	0,0380	0,1533	0,0460	0,2261	0,0521	0,1786	0,0391	0,2470	0,0482	0,2318	0,0511
Phospholipids in small LDL, mmol/l		S-LDL-PL	0,1103	0,0266	0,1155	0,0309	0,1625	0,0356	0,1325	0,0257	0,1782	0,0325	0,1631	0,0333
Phospholipids in IDL, mmol/l		IDL-PL	0,2151	0,0596	0,2286	0,0680	0,3245	0,0877	0,2764	0,0679	0,3696	0,0842	0,3564	0,0853
Phospholipids in very large HDL, mmol/l		XL-HDL-PL	0,1278	0,0945	0,1963	0,1142	0,1836	0,1104	0,2790	0,1239	0,2663	0,1466	0,2110	0,1424
Phospholipids in large HDL, mmol/l		L-HDL-PL	0,2617	0,1180	0,3400	0,1337	0,3198	0,1795	0,4257	0,1436	0,4202	0,1972	0,4156	0,2004

	Phospholipids in medium HDL, mmol/l	M-HDL-PL	0,3577	0,0741	0,3952	0,0716	0,4600	0,1126	0,4170	0,0708	0,4926	0,0956	0,4875	0,1099
	Phospholipids in small HDL, mmol/l	S-HDL-PL	0,6065	0,0822	0,6137	0,0711	0,6693	0,1403	0,5891	0,0782	0,6559	0,0942	0,6551	0,1043

Total cholesterol (%)	Total cholesterol to total lipids ratio in chylomicrons and extremely large VLDL, %	XXL-VLDL-C-%	17,2531	7,7952	14,7535	4,3600	17,4941	3,7429	14,6487	5,6483	17,9436	3,3976	19,2613	5,2901
	Total cholesterol to total lipids ratio in very large VLDL, %	XL-VLDL-C-%	19,3626	6,1127	18,7174	5,7061	19,6391	4,4945	19,5197	7,7218	21,6664	5,0012	23,0091	7,5505
	Total cholesterol to total lipids ratio in large VLDL, %	L-VLDL-C-%	21,9294	3,5557	21,4652	3,6366	23,3113	4,3164	22,0161	4,7394	24,7016	4,5283	24,0338	5,4358
	Total cholesterol to total lipids ratio in medium VLDL, %	M-VLDL-C-%	24,7898	3,7200	24,9187	4,8592	28,5831	5,0165	28,2505	5,2799	31,4984	5,0822	31,7938	5,2402
	Total cholesterol to total lipids ratio in small VLDL, %	S-VLDL-C-%	32,3526	4,3818	31,8547	6,1505	37,8489	5,5406	36,2640	5,5189	41,2211	5,5614	41,5654	6,2892
	Total cholesterol to total lipids ratio in very small VLDL, %	XS-VLDL-C-%	45,4629	4,0835	46,4405	3,7804	49,6148	6,3533	48,8680	2,9347	51,8755	4,6289	50,2154	5,2077
	Total cholesterol to total lipids ratio in large LDL, %	L-LDL-C-%	60,7873	5,6548	61,2480	6,9198	66,3623	2,5745	64,9369	3,5623	67,9885	2,3979	67,8214	2,4746
	Total cholesterol to total lipids ratio in medium LDL, %	M-LDL-C-%	59,3768	6,5408	59,7421	6,7718	64,5692	4,2971	63,5615	5,1842	66,7862	3,9886	67,0541	3,8940
	Total cholesterol to total lipids ratio in small LDL, %	S-LDL-C-%	55,7129	6,8104	55,9552	7,4276	60,6213	5,5065	60,3882	5,4479	63,2545	4,6724	63,7944	4,6864
	Total cholesterol to total lipids ratio in IDL, %	IDL-C-%	56,2315	5,2445	57,8972	5,2341	62,8592	2,9997	61,0625	3,0825	64,6614	2,3612	63,8138	2,6131
	Total cholesterol to total lipids ratio in very large HDL, %	XL-HDL-C-%	48,4585	8,4903	46,4777	5,5477	53,2067	8,1773	46,0108	3,7563	51,3651	6,4553	46,6025	9,7875
	Total cholesterol to total lipids ratio in large HDL, %	L-HDL-C-%	43,8281	4,9103	46,7443	3,4644	43,1547	5,1771	47,4192	3,3938	44,7793	5,1849	44,5047	5,7798
	Total cholesterol to total lipids ratio in medium HDL, %	M-HDL-C-%	46,1751	3,5684	47,4143	2,6629	46,6647	3,6514	48,1206	2,2475	47,7878	3,2922	49,5039	2,5552
	Total cholesterol to total lipids ratio in small HDL, %	S-HDL-C-%	39,4578	3,3706	39,5496	2,9266	40,0434	4,2680	41,6147	3,0018	41,5910	4,2309	42,5611	4,6012

ANEXOS

Free cholesterol (%)	Free cholesterol to total lipids ratio in chylomicrons and extremely large VLDL, %	XXL-VLDL-FC-%	7,4346	3,3204	6,0841	2,1442	7,7623	1,5008	4,9498	2,4030	6,9371	1,4563	7,3497	2,4573
	Free cholesterol to total lipids ratio in very large VLDL, %	XL-VLDL-FC-%	7,3736	2,3850	6,8199	2,6291	10,1443	2,5885	7,7867	3,7661	11,1339	3,0551	11,3942	4,2665
	Free cholesterol to total lipids ratio in large VLDL, %	L-VLDL-FC-%	8,7488	2,3208	8,1901	2,3773	10,5091	1,4831	7,5045	2,6350	10,3579	1,7013	9,9561	2,6028
	Free cholesterol to total lipids ratio in medium VLDL, %	M-VLDL-FC-%	11,2043	1,1519	10,5323	1,4311	11,7298	0,8257	10,1346	1,6267	11,4834	0,8463	11,3904	1,2190
	Free cholesterol to total lipids ratio in small VLDL, %	S-VLDL-FC-%	14,0072	0,6272	13,8170	0,7545	14,0989	0,7431	14,0619	0,7962	14,1986	0,6996	14,2473	0,8469
	Free cholesterol to total lipids ratio in very small VLDL, %	XS-VLDL-FC-%	15,4807	1,1763	14,9622	1,2603	15,5225	1,8371	15,7186	1,0215	15,9628	1,1862	16,1507	1,1461
	Free cholesterol to total lipids ratio in large LDL, %	L-LDL-FC-%	19,1064	1,4244	19,7631	1,5023	18,2416	1,3110	19,7712	0,9604	18,6617	1,3755	19,1577	1,1054
	Free cholesterol to total lipids ratio in medium LDL, %	M-LDL-FC-%	21,2310	2,7194	21,4601	2,9039	19,3340	2,0035	20,2261	2,1457	18,9533	1,6300	19,1945	1,7559
	Free cholesterol to total lipids ratio in small LDL, %	S-LDL-FC-%	19,6981	2,2146	19,7706	2,3137	18,3833	1,7809	18,7956	1,6679	18,1803	1,4314	18,3055	1,5775
	Free cholesterol to total lipids ratio in IDL, %	IDL-FC-%	16,5085	1,7069	16,8730	1,6742	16,9827	1,5525	18,0478	1,1770	17,7674	1,5056	18,3149	1,2336
	Free cholesterol to total lipids ratio in very large HDL, %	XL-HDL-FC-%	10,2051	2,3949	11,2978	2,0342	13,1394	2,4365	11,9817	1,2057	13,5436	1,5040	14,2350	2,5046
	Free cholesterol to total lipids ratio in large HDL, %	L-HDL-FC-%	8,3162	1,9920	9,4005	1,4943	8,3132	2,3485	10,0796	1,3717	9,3266	2,1080	9,2187	2,1809
	Free cholesterol to total lipids ratio in medium HDL, %	M-HDL-FC-%	8,3327	0,8816	8,6271	0,8268	9,0958	1,0188	9,0297	0,6369	9,4028	0,8458	9,5209	0,6597
	Free cholesterol to total lipids ratio in small HDL, %	S-HDL-FC-%	10,3482	0,6033	10,0986	0,5999	10,4881	0,6051	9,9330	0,5964	10,3401	0,6724	10,5507	0,6454

Cholesterol esters (%)	Cholesterol esters to total lipids ratio in chylomicrons and extremely large VLDL, %	XXL-VLDL-CE-%	9,8185	6,5896	8,6693	3,9806	9,7316	3,5003	9,6989	4,6412	11,0065	3,1066	11,9115	4,8933
	Cholesterol esters to total lipids ratio in very large VLDL, %	XL-VLDL-CE-%	11,9891	5,0878	11,8975	5,2250	9,4949	3,4046	11,7332	5,5365	10,5326	3,2878	11,6150	5,2222
	Cholesterol esters to total lipids ratio in large VLDL, %	L-VLDL-CE-%	13,1807	3,5049	13,2751	3,6147	12,8023	4,2577	14,5116	4,0939	14,3436	4,2571	14,0777	5,0189
	Cholesterol esters to total lipids ratio in medium VLDL, %	M-VLDL-CE-%	13,5858	3,7596	14,3868	4,5369	16,8535	5,1193	18,1158	5,2032	20,0150	5,3305	20,4035	5,4380
	Cholesterol esters to total lipids ratio in small VLDL, %	S-VLDL-CE-%	18,3453	4,3106	18,0373	5,9100	23,7495	5,2339	22,2021	5,3495	27,0226	5,2918	27,3183	6,0139
	Cholesterol esters to total lipids ratio in very small VLDL, %	XS-VLDL-CE-%	29,9820	3,8498	31,4777	3,2171	34,0925	5,6141	33,1495	2,6754	35,9125	4,3662	34,0647	4,9352
	Cholesterol esters to total lipids ratio in large LDL, %	L-LDL-CE-%	41,6806	5,8078	41,4849	7,8388	48,1211	2,6408	45,1654	3,8949	49,3269	2,2702	48,6636	2,5067
	Cholesterol esters to total lipids ratio in medium LDL, %	M-LDL-CE-%	38,1458	8,7542	38,2818	9,4298	45,2361	5,7854	43,3356	7,0741	47,8328	5,0564	47,8595	5,1141
	Cholesterol esters to total lipids ratio in small LDL, %	S-LDL-CE-%	36,0146	8,4687	36,1844	9,5354	42,2383	6,6596	41,5924	6,9286	45,0742	5,4947	45,4889	5,6824
	Cholesterol esters to total lipids ratio in IDL, %	IDL-CE-%	39,7232	4,2830	41,0245	3,9983	45,8769	2,9841	43,0146	2,4003	46,8941	2,1848	45,4988	2,3913
	Cholesterol esters to total lipids ratio in very large HDL, %	XL-HDL-CE-%	38,2533	8,2675	35,1794	5,3188	40,0679	8,0504	34,0290	3,4757	37,8217	5,9144	32,3675	8,8865
	Cholesterol esters to total lipids ratio in large HDL, %	L-HDL-CE-%	35,5121	3,1862	37,3436	2,3261	34,8417	3,3275	37,3397	2,1628	35,4526	3,3686	35,2860	3,9794
	Cholesterol esters to total lipids ratio in medium HDL, %	M-HDL-CE-%	37,8423	2,9583	38,7870	2,0650	37,5685	3,1633	39,0909	1,8795	38,3851	2,8014	39,9831	2,3605
	Cholesterol esters to total lipids ratio in small HDL, %	S-HDL-CE-%	29,1092	3,7404	29,4511	3,2539	29,5554	4,6418	31,6819	3,3377	31,2510	4,6673	32,0103	5,0481
	Phospholipids (%)	Phospholipids to total lipids ratio in chylomicrons and extremely large VLDL, %	XXL-VLDL-PL-%	11,1049	3,1514	10,3535	2,3944	12,1881	1,3539	9,8436	2,4394	11,8808	1,2614	10,8097
Phospholipids to total lipids ratio in very large VLDL, %		XL-VLDL-PL-%	14,2729	3,8371	14,2040	3,1074	17,3512	2,7622	15,3405	4,3310	18,3388	2,9452	17,9385	4,1587
Phospholipids to total lipids ratio in large VLDL, %		L-VLDL-PL-%	17,8623	1,5783	17,7873	1,0534	18,5955	1,2896	18,4043	2,1476	18,9187	1,4862	19,2142	2,1966
	Phospholipids to total lipids ratio in medium VLDL, %	M-VLDL-PL-%	20,6182	0,9185	20,7797	1,2736	20,4852	1,1363	21,2933	1,1589	20,8522	1,0485	21,1507	1,2794

ANEXOS

Phospholipids to total lipds ratio in small VLDL, %	S-VLDL-PL-%	24,4507	1,3231	25,4607	2,2105	23,2529	1,4619	25,4159	1,7990	23,3950	1,3489	22,7574	1,5623
Phospholipids to total lipds ratio in very small VLDL, %	XS-VLDL-PL-%	27,4916	2,0118	28,6419	2,2345	28,1294	2,4132	30,3367	1,7898	29,4944	2,0987	30,4942	2,6242
Phospholipids to total lipds ratio in large LDL, %	L-LDL-PL-%	27,1393	2,4423	27,7782	3,6543	25,3427	1,4119	26,1009	1,7516	24,9487	1,2948	25,1865	1,3808
Phospholipids to total lipds ratio in medium LDL, %	M-LDL-PL-%	30,4963	4,1557	30,9872	4,4593	28,6958	3,5548	28,5212	3,3726	27,4040	2,9660	27,1628	2,9012
Phospholipids to total lipds ratio in small LDL, %	S-LDL-PL-%	34,8567	4,8606	35,6780	5,6504	32,0965	4,2480	32,6631	4,1174	30,7383	3,2847	30,4879	3,6546
Phospholipids to total lipds ratio in IDL, %	IDL-PL-%	27,5024	1,0128	27,8382	1,2467	26,0563	0,9230	27,4823	0,7871	26,2429	0,8113	27,0370	0,9430
Phospholipids to total lipds ratio in very large HDL, %	XL-HDL-PL-%	47,2492	9,8186	50,3170	6,9637	41,3557	11,5395	51,4203	4,0742	44,7095	8,3967	48,2670	11,7047
Phospholipids to total lipds ratio in large HDL, %	L-HDL-PL-%	51,0670	4,0177	49,5158	2,7313	52,4744	4,0728	48,8212	2,8417	51,1336	4,1233	51,1117	4,8466
Phospholipids to total lipds ratio in medium HDL, %	M-HDL-PL-%	47,7031	1,8394	47,3486	1,5209	47,0269	1,5810	47,2057	1,2616	46,5888	1,4336	45,6785	1,3128
Phospholipids to total lipds ratio in small HDL, %	S-HDL-PL-%	55,0426	3,2132	55,6419	2,5449	54,8611	4,1102	54,1173	2,7798	53,9849	3,6960	53,5314	4,3738

**Tabla 2. Rasgos metabólicos asociados con el FGe.** Se analizó la asociación de 227 rasgos metabólicos con FGe en cuatro cohortes distintas, estratificando el estado de la diabetes tipo 2. Las medidas de metabolitos significativamente asociadas (metanálisis p-valor <-10e-3 y dirección de efecto consistente en todas las cohortes) se indican en verde. Los rasgos metabólicos se separan en cuatro grupos (primera columna): (1) asociados en diabéticos y no diabéticos, (2) asociados solo en diabéticos sin asociación en no diabéticos (p>0.05 en todas las cohortes no diabéticas), (3) asociados solo con no diabéticos (p>0.05 en todas las cohortes diabéticas), (4) metabolitos significativamente asociados en diabéticos y no diabéticos con direcciones de efectos opuestas en rasgos no son consistentes en todas las cohortes.

Sig	Class	Trait	diabetic												non-diabetic																			
			GenoDiabMar				TwinsUK (diabetic)				Kora (diabetic)				Meta-Analysis				TwinsUK				Kora				Young Finns				Meta-Analysis			
			n	beta	95%CI	p	n	beta	95%CI	p	n	beta	95%CI	p	n	beta	95%CI	p	n	beta	95%CI	p	n	beta	95%CI	p	n	beta	95%CI	p				
both	Amino Acid	Glycine	649	-12.25	[-14.10;-10.41]	1.4E-34	110	-2.04	[-4.91;0.83]	0.16307	128	-5.53	[-8.30;-2.77]	0.00014	887	-8.37	[-9.73;-7.02]	7.3E-34	1168	-1.27	[-2.02;-0.52]	0.00096	1441	-1.49	[-2.18;-0.81]	1.9E-05	2023	-1.18	[-1.72;-0.64]	1.9E-05	4632	-1.29	[-1.66;-0.92]	6.3E-12
		Phenylalanine	646	-11.70	[-13.54;-9.86]	4.4E-32	111	-4.58	[-4.51;-1.36]	0.29248	148	-5.17	[-7.86;-2.47]	0.00025	905	-7.92	[-9.27;-6.57]	1.2E-30	1168	-2.04	[-2.80;-1.28]	1.4E-07	1525	-2.11	[-2.77;-1.45]	5.5E-10	2023	-1.18	[-1.76;-0.61]	5.1E-05	4716	-1.69	[-2.07;-1.32]	1.1E-18
	Glycolysis	Citrate	655	-4.97	[-7.01;-2.93]	2.2E-06	111	-2.62	[-5.47;-0.23]	0.0712	147	-0.74	[-3.66;2.18]	0.62157	913	-3.34	[-4.78;-1.90]	5.7E-06	1167	-2.43	[-3.16;-1.69]	1.1E-10	1514	-1.87	[-2.51;-1.22]	1.7E-08	2024	-1.50	[-2.01;-0.98]	1.9E-08	4705	-1.82	[-2.18;-1.47]	7.1E-24
		Glycerol	301	-11.03	[-13.96;-8.10]	1.7E-12	107	-1.53	[-4.70;-1.64]	0.43485	143	-3.09	[-6.36;-0.17]	0.06568	551	-8.57	[-7.37;-3.77]	1.2E-09	1147	-1.31	[-2.10;-0.53]	0.00102	1415	-2.42	[-3.14;-1.71]	3.9E-11	1133	-1.46	[-2.20;-0.72]	0.00011	3695	-1.77	[-2.19;-1.34]	7.5E-16
	Apolipoproteins	Apolipoprotein A-I	655	5.69	[-3.58;7.79]	1.6E-07	111	1.25	[-1.83;-4.32]	0.42727	160	1.90	[-0.92;4.72]	0.1884	926	3.62	[-2.14;-5.10]	1.6E-06	1168	1.11	[-0.29;1.93]	0.00776	1624	1.69	[-1.02;2.36]	8.5E-07	2025	0.05	[-0.51;0.61]	0.86317	4817	0.81	[-0.43;-1.19]	3.1E-05
		Total cholesterol in HDL2	653	5.71	[-3.64;7.78]	8.9E-08	111	1.04	[-2.15;-4.24]	0.52223	160	3.38	[-0.72;6.05]	0.01384	924	4.05	[-2.59;-5.50]	4.9E-08	1168	1.70	[-0.88;2.52]	5.1E-05	1624	2.11	[-1.41;2.80]	3E-09	2025	0.46	[-0.15;1.08]	0.14185	4817	1.32	[-0.91;-1.72]	1.5E-10
	Total cholesterol	Total cholesterol in very large HDL	655	4.18	[-2.10;6.26]	9E-05	111	1.12	[-1.84;-4.07]	0.45787	160	3.20	[-0.53;5.86]	0.0199	926	3.18	[-1.74;-4.61]	1.4E-05	1168	1.21	[-0.38;2.04]	0.00425	1624	1.82	[-1.16;2.49]	9.6E-08	2025	0.53	[-0.08;1.14]	0.08706	4817	1.14	[-0.74;-1.53]	1.6E-08
		Total cholesterol in HDL	655	5.29	[-3.21;7.38]	8E-07	111	0.83	[-2.37;-4.03]	0.61223	159	2.91	[-0.25;5.57]	0.03388	925	3.65	[-2.19;-5.11]	9.6E-07	1168	1.56	[-0.73;2.38]	0.00021	1624	2.01	[-1.32;2.70]	1.3E-08	2025	0.33	[-0.28;0.94]	0.28863	4817	1.18	[-0.78;-1.58]	6.6E-09
	Free cholesterol	Free cholesterol in medium HDL	655	5.59	[-3.51;7.66]	1.8E-07	111	0.42	[-2.62;-4.47]	0.78617	160	2.34	[-0.29;4.96]	0.08306	926	3.47	[-2.03;-4.90]	2.2E-06	1168	1.19	[-0.43;1.95]	0.00215	1624	1.15	[-0.51;1.80]	0.00046	2025	0.24	[-0.30;0.78]	0.38222	4817	0.75	[-0.39;-1.11]	5.3E-05
		Cholesterol esters	Cholesterol esters in very large HDL	655	4.22	[-2.15;6.30]	7.4E-05	111	1.11	[-1.83;-4.05]	0.45791	160	3.03	[-0.38;6.68]	0.02629	926	3.14	[-1.71;-4.57]	1.6E-05	1168	1.17	[-0.35;1.99]	0.0053	1624	1.70	[-1.04;2.36]	4.6E-07	2025	0.44	[-0.16;1.04]	0.15041	4817	1.05	[-0.66;-1.44]
	Lipoprotein subclasses	Concentration of very large HDL particles	655	2.80	[-0.69;4.91]	0.0096	111	1.15	[-1.88;-4.18]	0.45607	160	3.47	[-0.80;6.14]	0.01182	926	2.62	[-1.17;-4.07]	0.00041	1168	1.30	[-0.46;1.14]	0.00244	1624	1.88	[-1.19;2.56]	8.8E-08	2025	0.58	[-0.05;1.22]	0.07251	4817	1.21	[-0.80;-1.62]	5.9E-09
		Concentration of medium HDL particles	655	5.37	[-3.28;7.46]	6.3E-07	111	0.46	[-2.56;-3.48]	0.76511	160	2.30	[-0.31;4.90]	0.08574	926	3.33	[-1.89;-4.76]	5.4E-06	1168	1.12	[-0.37;1.87]	0.00349	1624	1.11	[-0.48;1.74]	0.00058	2025	0.33	[-0.14;0.86]	0.2326	4817	0.76	[-0.40;-1.21]	3.3E-05
	Total Lipids	Total lipids in very large HDL	655	3.44	[-1.33;5.54]	0.00143	111	1.24	[-1.75;-4.23]	0.41704	160	3.60	[-0.93;6.27]	0.00911	926	2.97	[-1.52;4.42]	6.7E-05	1168	1.42	[-0.58;2.26]	0.00094	1624	1.91	[-1.23;2.60]	5.6E-08	2025	0.65	[-0.02;1.29]	0.04488	4817	1.28	[-0.87;-1.69]	8.4E-10
		Total lipids in medium HDL	655	5.42	[-3.34;7.50]	4.4E-07	111	0.52	[-2.51;-3.54]	0.73757	157	2.07	[-0.61;4.75]	0.13172	923	3.33	[-1.88;-4.77]	6.3E-06	1168	1.17	[-0.42;1.93]	0.00232	1622	1.17	[-0.54;1.81]	0.00029	2023	0.38	[-0.16;0.92]	0.16674	4813	0.82	[-0.46;-1.18]	8.8E-06
	Phospholipids	Phospholipids in medium HDL	655	5.09	[-2.99;7.19]	2.4E-06	111	0.81	[-2.24;3.87]	0.60231	160	2.16	[-0.44;4.77]	0.10516	926	3.24	[-1.80;-4.68]	1E-05	1168	1.13	[-0.37;1.88]	0.00335	1624	1.16	[-0.52;1.79]	0.00036	2025	0.32	[-0.22;0.86]	0.23971	4817	0.78	[-0.42;-1.14]	2.4E-05
		Total cholesterol to total lipids ratio in chylomicrons and extremely large VLDL	607	-5.33	[-7.59;-3.07]	4.9E-06	81	-0.01	[-3.33;-3.31]	0.99441	151	-1.76	[-4.42;0.90]	0.1964	739	-3.02	[-4.55;-1.49]	0.00011	779	-0.92	[-1.77;-0.08]	0.03222	1566	-1.14	[-1.75;-0.53]	0.00025	1660	-0.68	[-1.26;-0.11]	0.01908	4005	-0.90	[-1.28;-0.53]	2.2E-06
	Total cholesterol (%)	Cholesterol to total lipids ratio in IDL	651	8.96	[-7.04;10.89]	9.1E-19	107	1.23	[-1.52;3.98]	0.38174	158	2.78	[-0.21;5.35]	0.03595	916	5.43	[-4.08;6.77]	2.6E-15	1165	0.46	[-0.29;1.21]	0.22933	1619	1.56	[-0.96;2.17]	4.9E-07	2021	0.46	[-0.06;0.99]	0.08452	4805	0.83	[-0.48;-1.18]	3.6E-06
		Cholesterol esters to total lipids ratio in very small VLDL	651	6.15	[-1.16;8.15]	2.5E-09	110	0.01	[-2.90;2.91]	0.99694	159	2.38	[-0.21;4.98]	0.07376	920	3.67	[-2.28;5.06]	2.3E-07	1168	0.71	[-0.04;1.45]	0.06234	1621	0.91	[-0.30;1.52]	0.00367	2019	0.67	[-0.12;1.21]	0.01654	4808	0.76	[-0.40;-1.12]	3.1E-05
	Cholesterol esters (%)	Cholesterol esters to total lipids ratio in IDL	652	9.23	[-7.31;11.15]	7.6E-20	107	1.60	[-1.16;4.36]	0.25513	158	1.97	[-0.61;4.55]	0.13694	917	5.45	[-4.10;6.79]	2.1E-15	1165	0.40	[-0.34;1.13]	0.29372	1619	1.18	[-0.58;1.78]	0.00013	2023	0.43	[-0.11;0.96]	0.11629	4807	0.67	[-0.32;-0.03]	0.00017
		Triglycerides to total lipids ratio in very small VLDL	653	-5.83	[-7.83;-3.83]	1.7E-08	111	-0.03	[-2.91;2.85]	0.9841	160	-3.04	[-6.42;-0.46]	0.02233	924	-3.68	[-5.07;-2.30]	1.9E-07	1168	-0.94	[-1.72;-0.16]	0.01876	1623	-1.50	[-2.14;-0.85]	5.2E-06	2023	-0.76	[-1.32;-0.20]	0.00792	4814	-1.05	[-1.42;-0.68]	3.3E-08
	Triglycerides (%)	Triglycerides to total lipids ratio in large LDL	654	-9.26	[-11.19;-7.33]	8.9E-20	111	-1.62	[-4.34;-1.10]	0.24257	158	-3.01	[-5.59;-0.43]	0.02347	923	-5.70	[-7.04;-4.36]	9.1E-17	1167	-0.69	[-1.44;0.06]	0.07297	1622	-1.58	[-2.19;-0.98]	3.6E-07	2024	-0.63	[-1.16;-0.11]	0.01879	4813	-0.96	[-1.32;-0.61]	7.7E-08
		Triglycerides to total lipids ratio in medium LDL	648	-8.87	[-10.81;-6.93]	3.7E-18	107	-1.36	[-4.15;-1.43]	0.3393	158	-2.85	[-5.43;-0.26]	0.03227	913	-5.03	[-6.79;-4.08]	4.1E-15	1165	-0.57	[-1.32;0.18]	0.13867	1619	-1.42	[-2.03;-0.82]	4.5E-06	2024	-0.43	[-0.96;0.10]	0.11027	4808	-0.80	[-1.15;-0.44]	9.3E-06
Triglycerides to total lipids ratio in small LDL	Triglycerides to total lipids ratio in small LDL	647	-8.13	[-10.10;-6.17]	2.5E-15	108	-0.78	[-3.62;2.06]	0.59199	158	-3.06	[-5.66;-0.46]	0.02221	913	-5.00	[-6.37;-3.63]	8.9E-13	1165	-0.51	[-1.27;0.24]	0.18482	1618	-1.67	[-2.28;-1.05]	1.5E-07	2024	-0.58	[-1.11;-0.04]	0.03374	4807	-0.92	[-1.28;-0.57]	3.7E-07	
	Triglycerides to total lipids ratio in IDL	654	-9.26	[-11.18;-7.34]	6.2E-20	111	-1.31	[-4.10;-1.48]	0.35725	158	-3.16	[-5.76;-0.55]	0.01888	923	-5.75	[-7.10;-4.40]	8.2E-17	1168	-0.89	[-1.66;-0.13]	0.02186	1620	-1.84	[-2.46;-1.22]	6.6E-09	2023	-0.77	[-1.30;-0.24]	0.00467	4811	-1.15	[-1.51;-0.80]	2.4E-10	
Triglycerides to total lipids ratio in large HDL	Triglycerides to total lipids ratio in large HDL	639	-6.58	[-8.60;-4.56]	3.6E-10	108	-0.13	[-3.09;2.82]	0.92943	139	-3.24	[-5.97;-0.51]	0.02149	886	-4.17	[-5.60;-2.75]	9.5E-09	1168	-1.19	[-1.92;-0.45]	0.00161	1538	-1.71	[-2.33;-1.09]	7.1E-08	1906	-1.14	[-1.68;-0.60]	3.7E-05	4612	-1.34	[-1.70;-0.98]	1.7E-13	
	Phospholipids to total lipids ratio in very small VLDL	653	4.40	[-2.37;6.42]	2.4E-05	111	1.25	[-1.58;4.09]	0.38594	159	2.19	[-0.42;4.81]	0.10247	923	3.01	[-1.61;4.40]	2.3E-05	1168	1.33	[-0.55;2.12]	0.00085	1620	0.96	[-0.34;1.59]	0.00246	2020	0.73	[-0.18;1.28]	0.00934	4808	0.94	[-0.58;-1.31]	4.3E-07	
Cholesterol	Esterified cholesterol	651	7.35	[-5.35;9.34]	1.5E-12	106	2.43	[-0.37;5.23]	0.08901	159	0.63	[-2.06;3.33]	0.64572	916	4.35	[-2.96;5.74]	9.3E-10	1161	0.34	[-0.42;1.10]	0.38222	1615	0.44	[-0.17;1.05]	0.16068	2023	-0.37	[-0.89;0.16]	0.17135	4799	0.05	[-0.30;0.41]	0.76428	
	Serum total cholesterol	655	6.36	[-4.33;8.39]	1.4E-09	111	2.29	[-0.41;4.99]	0.09639	160	0.40	[-2.28;0.07]	0.7716	926	3.68	[-2.29;-5.07]	2E-07	1168	0.29	[-0.47;1.06]	0.448	1623	0.39	[-0.22;0.99]	0.21459	2025	-0.36	[-0.89;0.16]	0.17829	4816	0.03	[-0.32;0.38]	0.86542	

ANEXOS

diab only	Free cholesterol	Total cholesterol in IDL	655	6.55 [4.55-8.55]	2.8E-10	111	2.37 [0.30-5.03]	0.08222	160	0.90 [-1.69-0.49]	0.49737	926	3.90 [2.53-5.26]	2.1E-08	1168	0.14 [-0.60-0.88]	0.71276	1624	-0.01 [-0.62-0.59]	0.96251	2025	-0.37 [-0.90-0.16]	0.14954	4817	-0.14 [-0.49-0.21]	0.44476
		Free cholesterol in large LDL	655	6.34 [4.34-8.34]	9.2E-10	111	2.40 [0.29-5.08]	0.08001	160	1.01 [-1.60-0.62]	0.44995	926	3.86 [2.49-5.22]	3.1E-08	1168	0.18 [-0.56-0.93]	0.62696	1624	0.19 [-0.41-0.80]	0.53495	2025	-0.26 [-0.78-0.27]	0.3399	4817	-0.01 [-0.36-0.34]	0.96133
		Free cholesterol in medium LDL	655	7.09 [5.11-9.08]	6.3E-12	111	2.33 [0.31-4.97]	0.08342	160	0.41 [-2.18-0.01]	0.75485	926	4.03 [2.67-5.38]	5.6E-09	1168	-0.06 [-0.80-0.67]	0.86338	1624	0.28 [-0.32-0.88]	0.35583	2025	-0.26 [-0.79-0.28]	0.34891	4817	-0.03 [-0.38-0.32]	0.87645
		Free cholesterol in small LDL	655	6.77 [4.78-8.76]	6.1E-11	111	2.07 [0.58-4.71]	0.12579	160	0.15 [-2.45-2.75]	0.91117	926	3.72 [2.36-5.08]	7.7E-08	1168	0.15 [-0.59-0.89]	0.69996	1624	0.34 [-0.26-0.94]	0.27192	2025	-0.32 [-0.86-0.22]	0.24677	4817	0.01 [-0.34-0.37]	0.94378
	Cholesterol esters	Free cholesterol in IDL	655	5.14 [3.11-7.17]	8.5E-07	111	2.31 [0.38-5.00]	0.09227	160	0.80 [-1.81-0.42]	0.54799	926	3.20 [1.82-4.58]	5.2E-06	1168	0.23 [-0.52-0.97]	0.55162	1624	0.01 [-0.60-0.61]	0.98157	2025	-0.39 [-0.92-0.13]	0.14072	4817	-0.12 [-0.47-0.23]	0.48766
		Cholesterol esters in large LDL	655	6.15 [4.14-8.15]	3E-09	111	2.47 [0.18-5.12]	0.06757	160	0.51 [-2.09-0.10]	0.70213	926	3.63 [2.26-4.99]	1.8E-07	1168	0.03 [-0.70-0.77]	0.92638	1624	0.02 [-0.58-0.62]	0.95976	2025	-0.29 [-0.82-0.25]	0.29801	4817	-0.11 [-0.46-0.24]	0.54345
		Cholesterol esters in medium LDL	655	5.00 [2.98-7.02]	1.5E-08	111	2.45 [0.20-5.09]	0.07015	160	0.14 [-2.47-2.75]	0.91704	926	2.98 [1.62-4.35]	1.9E-05	1168	0.01 [-0.73-0.75]	0.97695	1624	-0.04 [-0.64-0.56]	0.90085	2025	-0.35 [-0.89-0.20]	0.21199	4817	-0.16 [-0.51-0.20]	0.3826
		Cholesterol esters in small LDL	655	5.09 [3.07-7.11]	1E-06	111	2.48 [0.17-5.13]	0.06686	160	0.40 [-2.22-0.02]	0.76408	926	3.11 [1.74-4.48]	8.5E-06	1168	0.08 [-0.66-0.82]	0.83458	1624	0.09 [-0.51-0.69]	0.76915	2025	-0.33 [-0.87-0.21]	0.22796	4817	-0.09 [-0.45-0.26]	0.60559
	Lipoprotein subclasses	Cholesterol esters in IDL	655	6.90 [4.90-8.89]	2.9E-11	111	2.40 [0.26-5.07]	0.07726	160	0.88 [-1.71-0.46]	0.50634	926	4.07 [2.71-5.42]	4.6E-09	1168	0.10 [-0.64-0.84]	0.78538	1624	-0.03 [-0.63-0.58]	0.93454	2025	-0.36 [-0.89-0.18]	0.19025	4817	-0.14 [-0.49-0.21]	0.4339
		Concentration of large LDL particles	655	5.21 [3.19-7.24]	5.9E-07	111	2.56 [0.10-5.21]	0.05906	160	0.15 [-2.46-2.76]	0.91117	926	3.11 [1.74-4.48]	8.7E-06	1168	-0.00 [-0.74-0.74]	0.99817	1624	-0.12 [-0.72-0.48]	0.69543	2025	-0.34 [-0.88-0.20]	0.21593	4817	-0.19 [-0.54-0.17]	0.29784
		Concentration of IDL particles	655	5.25 [3.22-7.28]	5.2E-07	111	2.38 [0.25-5.00]	0.07632	160	0.13 [-2.47-2.74]	0.91967	926	3.06 [1.70-4.43]	1.1E-05	1168	-0.04 [-0.78-0.70]	0.98008	1624	-0.25 [-0.86-0.35]	0.40778	2025	-0.45 [-0.98-0.08]	0.09564	4817	-0.29 [-0.64-0.06]	0.10164
		Total lipids in large LDL	655	5.92 [3.91-7.93]	1.2E-08	111	2.50 [0.15-5.14]	0.06409	160	0.53 [-2.06-0.13]	0.68799	926	3.53 [2.17-4.89]	3.8E-07	1168	0.01 [-0.73-0.75]	0.98016	1624	-0.03 [-0.63-0.57]	0.92768	2025	-0.32 [-0.85-0.22]	0.24649	4817	-0.14 [-0.50-0.21]	0.42168
	Total Lipids	Total lipids in medium LDL	655	5.55 [3.54-7.56]	9.3E-08	111	2.51 [0.12-5.15]	0.0615	160	0.16 [-2.45-2.76]	0.90544	926	3.26 [1.90-4.62]	2.8E-06	1168	-0.09 [-0.83-0.64]	0.80334	1624	-0.01 [-0.61-0.59]	0.98366	2025	-0.34 [-0.89-0.20]	0.21665	4817	-0.17 [-0.52-0.18]	0.34927
		Total lipids in small LDL	655	5.73 [3.72-7.75]	3.6E-08	111	2.45 [0.19-5.09]	0.06908	160	0.14 [-2.47-2.74]	0.91919	926	3.32 [1.96-4.69]	1.8E-06	1168	0.13 [-0.61-0.86]	0.75726	1624	0.12 [-0.48-0.72]	0.69434	2025	-0.32 [-0.86-0.22]	0.24748	4817	-0.07 [-0.42-0.29]	0.71864
		Total lipids in IDL	655	5.70 [3.68-7.72]	4.5E-08	111	2.33 [0.30-4.97]	0.08211	160	0.35 [-2.25-0.95]	0.7929	926	3.33 [1.96-4.69]	1.8E-06	1168	0.01 [-0.73-0.75]	0.98133	1624	-0.18 [-0.78-0.43]	0.56635	2025	-0.41 [-0.96-0.10]	0.11071	4817	-0.25 [-0.60-0.10]	0.16826
		Phospholipids in large LDL	655	6.48 [4.47-8.48]	4.4E-10	111	2.53 [0.13-5.19]	0.06245	160	0.65 [-1.95-0.25]	0.62644	926	3.84 [2.47-5.20]	3.4E-08	1168	0.08 [-0.66-0.82]	0.83925	1624	0.04 [-0.56-0.64]	0.89612	2025	-0.30 [-0.84-0.23]	0.2673	4817	-0.10 [-0.45-0.25]	0.57721
	Phospholipids	Phospholipids in medium LDL	655	6.74 [4.74-8.74]	8.3E-11	111	2.52 [0.11-5.15]	0.06669	160	0.26 [-2.33-2.86]	0.84282	926	3.84 [2.49-5.20]	2.8E-08	1168	-0.13 [-0.87-0.60]	0.71991	1624	0.12 [-0.49-0.72]	0.70752	2025	-0.28 [-0.82-0.27]	0.32491	4817	-0.11 [-0.46-0.25]	0.55604
		Phospholipids in small LDL	655	7.12 [5.12-9.12]	7.5E-12	111	2.22 [0.42-4.85]	0.09985	160	0.07 [-2.53-2.66]	0.95937	926	3.89 [2.53-5.25]	2E-08	1168	0.30 [-0.44-0.13]	0.42565	1624	0.38 [-0.22-0.98]	0.21708	2025	-0.12 [-0.66-0.43]	0.67562	4817	0.15 [-0.20-0.51]	0.40069
		Phospholipids in IDL	655	5.35 [3.33-7.38]	2.8E-07	111	2.48 [0.18-5.14]	0.06488	160	0.58 [-2.03-0.18]	0.66488	926	3.27 [1.90-4.64]	2.8E-06	1168	0.09 [-0.65-0.82]	0.81838	1624	-0.15 [-0.75-0.46]	0.63126	2025	-0.36 [-0.89-0.17]	0.18217	4817	-0.19 [-0.54-0.16]	0.29175
		Total cholesterol to total lipids ratio in medium LDL	647	5.09 [3.09-7.10]	8E-07	106	2.74 [0.08-5.56]	0.05661	158	1.50 [-1.13-4.13]	0.26613	911	3.53 [2.14-4.91]	6.3E-07	1162	-0.09 [-0.82-0.65]	0.81814	1615	0.48 [0.12-1.08]	0.11685	2018	0.05 [-0.48-0.58]	0.86097	4795	0.16 [-0.19-0.51]	0.35945
Total cholesterol (%)	Total cholesterol to total lipids ratio in small LDL	647	5.18 [3.17-7.18]	5.5E-07	106	2.80 [0.01-5.61]	0.05048	157	1.44 [-1.20-4.07]	0.28761	910	3.56 [2.17-4.95]	4.9E-07	1164	0.06 [-0.67-0.79]	0.87745	1611	0.45 [0.16-1.05]	0.14764	2019	-0.14 [-0.67-0.38]	0.59169	4794	0.10 [-0.25-0.45]	0.58313	
	Cholesterol esters to total lipids ratio in large LDL	652	7.11 [5.14-9.09]	4.2E-12	107	2.19 [0.51-4.89]	0.11169	157	0.98 [-1.60-0.57]	0.45802	916	4.18 [2.83-5.54]	1.5E-09	1166	0.15 [-0.58-0.88]	0.67892	1620	0.49 [0.12-1.09]	0.11301	2023	0.14 [-0.42-0.69]	0.62151	4809	0.26 [-0.09-0.62]	0.14544	
	Cholesterol esters to total lipids ratio in medium LDL	643	3.49 [1.48-5.51]	0.00072	106	3.09 [0.28-5.91]	0.03128	158	1.08 [-1.56-0.72]	0.42525	907	2.72 [1.33-4.12]	0.00013	1160	-0.08 [-0.81-0.65]	0.82948	1615	0.22 [-0.38-0.82]	0.47725	2019	-0.13 [-0.66-0.40]	0.63236	4794	-0.00 [-0.35-0.35]	0.9981	
	Cholesterol esters to total lipids ratio in small LDL	645	3.44 [1.42-5.46]	0.0009	106	3.27 [0.48-6.06]	0.0217	156	1.37 [-1.28-4.02]	0.31134	907	2.83 [1.43-4.22]	6.9E-05	1162	-0.06 [-0.79-0.66]	0.86099	1614	0.26 [0.34-0.87]	0.39226	2019	-0.22 [-0.74-0.31]	0.41425	4795	-0.02 [-0.37-0.33]	0.90035	
Glycolysis	Lactate	655	-0.30 [-2.37-1.77]	0.77729	111	2.33 [0.54-5.20]	0.11107	148	-0.10 [-2.83-2.63]	0.94261	914	0.41 [-1.02-1.84]	0.57452	1168	-0.22 [-0.98-0.54]	0.57395	1525	-1.80 [-2.43-1.16]	3.9E-08	2024	-0.37 [-0.91-0.16]	0.17229	4717	-0.79 [-1.15-0.43]	1.6E-05	
	Ratio of apolipoprotein B to apolipoprotein A-I	654	0.56 [1.48-2.61]	0.58837	111	2.76 [0.06-5.59]	0.05503	160	-2.26 [-4.83-0.31]	0.08657	925	0.27 [-1.12-1.66]	0.70321	1168	-0.95 [-1.69-0.20]	0.01261	1624	-1.40 [-2.05-0.75]	2.8E-05	2025	-0.69 [-1.32-0.07]	0.0209	4817	-1.01 [-1.40-0.62]	3E-07	
Total cholesterol	Total cholesterol in chylomicrons and extremely large VLDL	654	0.10 [-1.98-2.17]	0.92593	111	1.21 [-1.59-4.00]	0.39703	158	-1.93 [-4.54-0.67]	0.14756	923	-0.21 [-1.62-1.19]	0.76665	1168	-1.09 [-1.84-0.35]	0.00409	1618	-0.74 [-1.36-0.11]	0.01213	2018	-0.32 [-0.89-0.25]	0.27376	4804	-0.65 [-1.02-0.28]	0.00052	
	Total cholesterol in very large VLDL	655	0.22 [-1.85-2.30]	0.83196	111	0.96 [-1.86-0.78]	0.50488	158	-2.13 [-4.73-0.47]	0.11017	924	-0.28 [-1.69-1.12]	0.69489	1168	-1.23 [-1.98-0.48]	0.00126	1618	-0.81 [-1.44-0.17]	0.01259	2019	-0.33 [-0.91-0.24]	0.25882	4805	-0.71 [-1.08-0.34]	0.00015	
	Total cholesterol in large VLDL	655	-0.48 [-2.55-1.60]	0.65127	111	1.80 [-1.07-6.68]	0.21937	158	-2.42 [-5.01-0.18]	0.06959	924	-0.50 [-1.92-0.91]	0.48433	1168	-1.12 [-1.89-0.36]	0.00395	1621	-0.94 [-1.58-0.30]	0.00397	2020	-0.42 [-1.00-0.17]	0.16384	4809	-0.77 [-1.14-0.39]	6.1E-05	
	Total cholesterol in medium VLDL	655	-0.77 [-2.84-1.30]	0.4644	111	2.49 [0.32-5.29]	0.08201	160	-2.56 [-5.12-0.00]	0.05136	926	-0.50 [-1.89-0.90]	0.48472	1168	-0.98 [-1.73-0.23]	0.01079	1624	-1.13 [-1.76-0.49]	0.00053	2021	-0.60 [-1.18-0.01]	0.04457	4813	-0.87 [-1.25-0.50]	4.4E-06	
	Total cholesterol in small VLDL	655	-0.89 [-2.95-1.17]	0.39845	111	2.43 [0.26-5.12]	0.0761	160	-2.59 [-5.17-0.01]	0.05058	926	-0.50 [-1.88-0.88]	0.47808	1168	-0.81 [-1.55-0.07]	0.03227	1624	-1.37 [-2.00-0.75]	1.8E-05	2025	-1.36 [-1.95-0.77]	5.9E-06	4817	-1.23 [-1.60-0.86]	8.8E-11	
	Total cholesterol in VLDL	655	0.57 [-1.50-2.64]	0.58922	111	2.44 [0.28-5.15]	0.07912	160	-2.50 [-5.04-0.05]	0.05649	926	0.15 [-1.24-1.53]	0.83327	1168	-0.75 [-1.49-0.02]	0.04479	1624	-1.20 [-1.82-0.57]	0.00019	2025	-0.99 [-1.59-0.39]	0.00125	4817	-1.00 [-1.37-0.63]	1.5E-07	
Free cholesterol	Free cholesterol in large VLDL	655	-0.08 [-2.16-1.99]	0.93662	111	1.62 [-1.26-4.51]	0.2706	158	-2.31 [-4.91-0.28]	0.08218	924	-0.34 [-1.75-1.08]	0.63941	1167	-0.78 [-1.54-0.03]	0.04277	1621	-0.83 [-1.47-0.19]	0.01069	2018	-0.41 [-0.99-0.17]	0.16975	4806	-0.64 [-1.02-0.27]	0.00072	
	Free cholesterol in very small VLDL	655	0.05 [-2.01-2.12]	0.95844	111	1.88 [-0.69-4.46]	0.15183	160	-1.58 [-4.15-0.99]	0.22912	926	0.11 [-1.26-1.47]	0.87956	1168	-0.47 [-1.20-0.26]	0.20749	1624	-1.13 [-1.73-0.53]	0.00022	2025	-1.18 [-1.72-0.64]	2E-05	4817			

non-diab only	Free cholesterol	Free cholesterol in very small VLDL	655	0.05 [2.01:2.12]	0,95844	111	1.88 [-0.69:4.46]	0,15183	160	-1.58 [-4.15:0.99]	0,22912	926	0.11 [-1.26:1.47]	0,87956	1168	-0.47 [-2.00:2.6]	0,20749	1624	-1.13 [-1.73:0.53]	0,00022	2025	-1.18 [-1.72:0.64]	2E-05	4817	-1.00 [-1.35:0.65]	2,6E-08
	Cholesterol esters	Cholesterol esters in chylomicrons and extremely large VLDL	654	-0.41 [-2.48:1.67]	0,70126	111	1.28 [-1.47:0.72]	0,36272	158	-1.83 [-4.43:0.77]	0,17045	923	-0.38 [-1.78:1.02]	0,59287	1168	-1.05 [-1.80:0.31]	0,00551	1618	-0.67 [-1.29:0.05]	0,03496	2019	-0.42 [-0.99:0.14]	0,14145	4805	-0.66 [-1.02:0.29]	0,00039
		Cholesterol esters in very large VLDL	655	-0.36 [-2.43:1.71]	0,7359	111	0.91 [-1.90:3.73]	0,52465	158	-2.23 [-4.83:0.37]	0,0946	924	-0.59 [-1.99:0.82]	0,41208	1168	-1.29 [-2.04:0.54]	0,00073	1618	-0.86 [-1.49:0.23]	0,00076	2018	-0.36 [-0.93:0.21]	0,21659	4804	-0.76 [-1.13:0.39]	5,8E-05
		Cholesterol esters in large VLDL	655	-0.92 [-3.00:1.15]	0,38224	111	1.87 [-1.00:4.73]	0,20219	158	-2.44 [-5.04:0.16]	0,06745	924	-0.70 [-2.11:0.71]	0,33311	1168	-1.08 [-1.85:0.31]	0,00573	1621	-0.97 [-1.60:0.33]	0,00285	2019	-0.40 [-0.98:0.18]	0,18122	4808	-0.76 [-1.13:0.38]	7,1E-05
		Cholesterol esters in medium VLDL	655	-0.55 [-2.62:1.52]	0,60386	111	2.46 [-0.28:5.19]	0,07797	160	-2.33 [-4.88:0.22]	0,07519	926	-0.30 [-1.69:1.08]	0,66899	1168	-0.82 [-1.57:0.08]	0,02893	1624	-0.92 [-1.55:0.30]	0,00383	2024	-0.52 [-1.09:0.06]	0,07676	4816	-0.73 [-1.10:0.37]	9E-05
	Cholesterol esters in small VLDL	655	-0.18 [-2.25:1.88]	0,86194	111	2.29 [-0.37:4.94]	0,09188	160	-2.10 [-4.67:0.48]	0,11232	926	-0.07 [-1.44:1.31]	0,92284	1168	-0.62 [-1.35:0.11]	0,0954	1624	-1.19 [-1.81:0.57]	0,00016	2025	-1.33 [-1.91:0.75]	7E-06	4817	-1.11 [-1.47:0.74]	3,2E-06	
	Lipoprotein subclasses	Concentration of very small VLDL particles	655	0.21 [-1.86:2.28]	0,84434	111	2.45 [-0.15:5.04]	0,06447	160	-2.11 [-4.69:0.47]	0,11064	926	0.18 [-1.19:1.55]	0,80063	1168	-0.55 [-1.28:0.18]	0,14039	1624	-1.28 [-1.89:0.68]	3,4E-05	2025	-1.03 [-1.58:0.47]	0,00029	4817	-1.00 [-1.36:0.64]	3,8E-08
		Concentration of large HDL particles	655	1.65 [-0.49:3.79]	0,13086	111	0.03 [-3.36:3.43]	0,98424	160	2.62 [-0.66:5.31]	0,05753	926	1.64 [-0.14:3.14]	0,03243	1168	1.28 [-0.44:2.11]	0,00276	1624	1.75 [-1.05:2.45]	1,1E-06	2025	0.35 [-0.30:0.99]	0,29021	4817	1.06 [-0.65:1.47]	4,8E-07
	Total Lipids	Total lipids in large VLDL	655	0.06 [-2.02:2.14]	0,95416	111	2.08 [-0.84:5.00]	0,16195	159	-2.46 [-5.04:0.11]	0,06291	925	-0.22 [-1.64:1.19]	0,75601	1168	-1.03 [-1.80:0.25]	0,00922	1624	-0.94 [-1.58:0.29]	0,00448	2021	-0.28 [-0.88:0.31]	0,34848	4813	-0.69 [-1.07:0.31]	0,00037
		Total lipids in very small VLDL	655	0.79 [-1.28:2.86]	0,45636	111	2.27 [-0.32:4.86]	0,08589	160	-1.76 [-4.34:0.82]	0,18283	926	0.48 [-0.89:1.85]	0,48935	1168	-0.49 [-1.22:0.24]	0,18641	1624	-1.20 [-1.80:0.59]	0,00011	2025	-1.03 [-1.58:0.47]	0,00029	4817	-0.96 [-1.31:0.60]	1,4E-07
	Triglycerides	Triglycerides in large VLDL	655	0.07 [-2.01:2.15]	0,94632	111	2.05 [-0.88:4.99]	0,17001	158	-2.19 [-4.79:0.41]	0,10131	924	-0.14 [-1.56:1.28]	0,84968	1168	-1.02 [-1.80:0.25]	0,00955	1623	-0.88 [-1.53:0.24]	0,00759	2020	-0.25 [-0.84:0.35]	0,41758	4811	-0.65 [-1.03:0.27]	0,00076
		Triglycerides in large LDL	655	-1.96 [-4.03:0.12]	0,06529	111	2.61 [-0.02:5.24]	0,0515	160	-1.87 [-4.49:0.75]	0,16399	926	-0.67 [-2.05:0.72]	0,34524	1168	-0.67 [-1.41:0.07]	0,0741	1623	-1.31 [-1.92:0.71]	2,3E-05	2025	-0.58 [-1.12:0.05]	0,03327	4816	-0.85 [-1.20:0.50]	2,3E-06
		Triglycerides in medium LDL	655	-1.62 [-3.69:0.46]	0,12712	111	2.58 [-0.07:5.22]	0,05631	160	-1.88 [-4.52:0.75]	0,16331	926	-0.54 [-1.92:0.85]	0,44856	1168	-0.68 [-1.42:0.06]	0,07025	1623	-1.16 [-1.76:0.55]	0,00019	2024	-0.53 [-1.06:0.01]	0,0539	4815	-0.78 [-1.13:0.42]	1,6E-05
		Triglycerides in small LDL	655	-1.16 [-3.24:0.91]	0,27315	111	2.68 [-0.02:5.37]	0,05133	160	-2.32 [-4.92:0.28]	0,08187	926	-0.47 [-1.86:0.92]	0,50594	1168	-0.31 [-1.04:0.42]	0,40829	1624	-1.07 [-1.68:0.46]	0,00064	2023	-0.57 [-1.12:0.02]	0,04105	4815	-0.68 [-1.04:0.32]	0,00019
	Phospholipids	Phospholipids in large VLDL	655	-0.14 [-2.22:1.94]	0,89265	111	1.99 [-0.91:4.89]	0,17904	158	-2.21 [-4.81:0.39]	0,09716	924	-0.25 [-1.67:1.17]	0,72994	1168	-1.10 [-1.87:0.33]	0,00492	1621	-0.85 [-1.49:0.20]	0,00994	2018	-0.40 [-0.99:0.18]	0,17901	4807	-0.72 [-1.10:0.35]	0,00017
Phospholipids in very small VLDL		655	1.60 [-0.46:3.66]	0,12903	111	2.36 [-0.24:4.97]	0,05109	160	-0.86 [-3.47:1.75]	0,05198	926	1.13 [-0.24:2.52]	0,10795	1168	-2.10 [-0.93:0.53]	0,58922	1624	-0.85 [-1.45:0.25]	0,00584	2025	-0.81 [-1.35:0.27]	0,00321	4817	-0.68 [-1.04:0.33]	0,00014	
Free cholesterol (%)	Free cholesterol to total lipids ratio in medium VLDL	648	-0.64 [-2.74:1.46]	0,54983	108	2.10 [-0.70:4.91]	0,14142	160	-2.51 [-5.08:0.06]	0,05746	916	-0.51 [-1.92:0.90]	0,47695	1152	-0.58 [-1.32:0.16]	0,12356	1621	-1.52 [-2.13:0.91]	1,1E-06	2015	-0.96 [-1.50:0.42]	0,00052	4788	-1.06 [-1.41:0.71]	4,6E-09	
	Free cholesterol to total lipids ratio in large LDL	653	1.54 [-0.54:3.62]	0,14628	110	-1.74 [-4.54:1.05]	0,22106	158	2.53 [-0.08:5.14]	0,05941	921	1.00 [-0.41:2.40]	0,16455	1166	0.79 [-0.04:1.55]	0,03905	1617	0.89 [-0.25:1.52]	0,0064	2020	0.38 [-0.21:0.97]	0,20726	4803	0.66 [-0.28:1.04]	0,00058	
Phospholipids (%)	Phospholipids to total lipids ratio in very large HDL	569	-2.14 [-4.31:0.03]	0,05343	102	0.07 [-2.77:2.90]	0,96346	153	2.44 [-0.14:5.02]	0,06548	824	-0.16 [-1.60:1.27]	0,82229	1142	0.93 [-0.20:1.65]	0,01235	1603	1.06 [-0.41:1.70]	0,00133	1931	0.23 [-0.35:0.81]	0,43075	4676	0.69 [-0.32:1.06]	0,00028	
	Phospholipids to total lipids ratio in large HDL	639	0.84 [-1.26:2.94]	0,43199	110	1.53 [-1.48:4.55]	0,31938	139	-1.49 [-4.32:1.34]	0,30359	888	0.37 [-1.10:1.85]	0,61785	1168	-0.49 [-1.32:0.34]	0,24065	1538	-1.41 [-2.09:0.74]	4,6E-05	1907	-0.46 [-1.11:0.18]	0,16168	4613	-0.81 [-1.22:0.40]	9,4E-05	
di	Amino Acid	Alanine	655	7.14 [-5.11:9.17]	1,2E-11	111	2.07 [-0.73:4.87]	0,14695	148	-2.28 [-4.97:0.42]	0,1001	914	3.32 [-1.92:4.72]	3,5E-06	1168	-1.18 [-1.92:0.43]	0,00202	1524	-1.92 [-2.54:0.19]	2,4E-09	2023	-1.11 [-1.65:0.58]	4,6E-05	4715	-1.39 [-1.75:1.03]	2,4E-14
		Valine	655	8.79 [-6.83:10.75]	1,2E-17	111	1.13 [-1.81:4.08]	0,45093	148	-1.03 [-3.76:1.70]	0,46194	914	4.48 [-3.08:5.88]	3,5E-10	1168	-0.87 [-1.63:0.11]	0,02524	1517	-0.65 [-1.37:0.07]	0,07625	2023	-1.04 [-1.64:0.44]	0,00074	4708	-0.88 [-1.27:0.48]	1,4E-05
	Glycolysis	Pyruvate	650	4.82 [-2.76:6.88]	5,5E-06	111	2.83 [-0.13:5.80]	0,06121	147	1.22 [-1.55:4.00]	0,38909	908	3.37 [-1.93:4.82]	4,7E-06	1167	0.27 [-0.48:1.03]	0,47787	1521	-1.73 [-2.36:1.10]	9,4E-08	2016	-0.45 [-0.98:0.09]	0,10054	4704	-0.70 [-1.06:0.34]	0,00013
		Albumin, signal area (log)	655	6.57 [-4.55:8.58]	3,3E-10	111	-0.01 [-2.88:2.85]	0,9936	160	-1.86 [-4.41:0.70]	0,15589	926	2.55 [-1.63:9.93]	0,00031	1168	-0.16 [-0.94:0.61]	0,67837	1623	-0.59 [-1.20:0.02]	0,058	2025	-1.03 [-1.55:0.51]	0,00011	4816	-0.70 [-1.06:0.35]	9,4E-05
	Fluid Balance	Glutamine	125	-7.87 [-12.31:3.43]	0,00072	108	0.32 [-2.77:3.41]	0,83837	147	-1.41 [-4.17:1.36]	0,32009	380	-1.92 [-3.79:0.05]	0,04414	1092	-0.16 [-0.95:0.62]	0,68473	1523	0.53 [-0.11:1.16]	0,10442	2023	-0.61 [-1.17:0.06]	0,03091	4638	-0.13 [-0.50:0.24]	0,49526
		Histidine	653	1.24 [-0.82:3.30]	0,23707	111	2.18 [-0.66:5.03]	0,13225	148	0.74 [-2.02:3.50]	0,5993	912	1.35 [-0.82:2.77]	0,06458	1166	0.20 [-0.55:0.94]	0,60886	1522	-0.31 [-0.93:0.31]	0,33043	2023	-0.98 [-1.50:0.46]	0,00023	4711	-0.51 [-0.86:0.15]	0,00502
	Amino Acid	Isoleucine	655	2.20 [-0.13:4.27]	0,03727	111	0.90 [-2.10:3.90]	0,55576	148	-3.11 [-5.86:0.36]	0,02839	914	0.43 [-1.02:1.88]	0,56154	1168	-1.37 [-2.15:0.59]	0,00054	1524	-2.01 [-2.74:1.27]	9,9E-08	2024	-1.44 [-2.08:0.80]	1,1E-05	4716	-1.60 [-2.01:1.19]	2,2E-14
		Leucine	655	5.37 [-3.34:7.41]	3E-07	111	0.81 [-2.17:3.78]	0,59582	148	-2.95 [-5.71:0.18]	0,03875	914	2.07 [-0.63:3.51]	0,00472	1168	-1.17 [-1.95:0.40]	0,00309	1525	-1.34 [-2.09:0.80]	0,00045	2022	-1.45 [-2.09:0.80]	1,1E-05	4715	-1.34 [-1.75:0.92]	2,2E-10
	Glycolysis	Tyrosine	654	5.72 [-3.70:7.75]	4,4E-08	111	-0.16 [-2.98:2.67]	0,91212	148	2.11 [-0.60:4.83]	0,12956	913	3.29 [-1.89:4.70]	4,5E-06	1166	-0.16 [-0.91:0.59]	0,67802	1522	0.15 [-0.52:0.81]	0,66558	2023	-0.47 [-1.04:0.10]	0,10349	4711	-0.20 [-0.57:0.18]	0,30009
		Glucose	654	1.48 [-0.59:3.54]	0,1608	111	0.16 [-2.65:2.98]	0,91052	146	-1.42 [-4.18:1.35]	0,31674	911	0.37 [-1.06:1.80]	0,61094	1168	0.90 [-0.15:1.64]	0,01796	1520	0.03 [-0.60:0.66]	0,92117	2024	-0.30 [-0.82:0.22]	0,25828	4712	0.07 [-0.28:0.43]	0,67862
	Ketone Bodies	3-hydroxybutyrate	447	-0.45 [-2.54:1.64]	0,67421	111	0.06 [-2.80:2.92]	0,96748	148	0.10 [-2.70:2.90]	0,94598	906	-0.17 [-1.62:1.27]	0,81406	1166	0.40 [-0.33:1.14]	0,28502	1519	0.17 [-0.46:0.81]	0,59368	1133	-0.04 [-0.74:0.66]	0,9996	3818	0.17 [-0.23:0.57]	0,39834
		Acetate	653	0.71 [-1.38:2.79]	0,5072	111	0.35 [-2.37:3.07]	0,80284	148	-0.22 [-2.99:2.55]	0,87649	912	0.36 [-1.06:1.79]	0,61526	1166	0.28 [-0.43:1.00]	0,43641	1516	0.52 [-0.11:1.14]	0,10704	2022	-0.33 [-0.85:0.19]	0,21852	4704	0.08 [-0.27:0.43]	0,64917
	Inflammation	Acetoacetate	654	1.48 [-0.59:3.54]	0,1608	111	0.16 [-2.65:2.98]	0,91052	146	-1.42 [-4.18:1.35]	0,31674	911	0.37 [-1.06:1.80]	0,61094	1168	0.90 [-0.15:1.64]	0,01796	1520	0.03 [-0.60:0.66]	0,92117	2024	-0.30 [-0.82:0.22]	0,25828	4712	0.07 [-0.28:0.43]	0,67862
		Cysoprotein acetyl	655	-3.63 [-5.72:1.53]	0,00074	111	0.37 [-2.66:3.41]	0,80936	148	-3.88 [-6.58:1.19]	0,00536	914	-2.79 [-4.24:1.33]	0,00017	1168	-0.93 [-1.72:0.14]	0,02053	1525</								

Fatty acids	18:2, linoleic acid	650	2.53 [0.44-4.62]	0,01791	106	2.87 [0.16-5.57]	0,03771	156	-0.96 [-3.69;1.77]	0,49309	912	1.69 [0.27-3.10]	0,01941	1161	-0.49 [-1.23-0.26]	0,20077	1609	0.11 [0.50-0.73]	0,71654	2020	-0.50 [-1.03-0.03]	0,06407	4790	-0.29 [0.65-0.06]	0,10246	
	22:6, docosahexaenoic acid	450	-0.08 [-2.14;1.98]	0,94074	106	2.53 [0.49-5.54]	0,10013	156	-1.78 [-4.36-0.80]	0,17785	912	-0.02 [-1.44;1.40]	0,98293	1161	1.42 [0.66-2.17]	0,00024	1609	-0.32 [0.93-0.28]	0,29621	2023	-0.51 [-1.03-0.02]	0,06118	4793	-0.03 [0.38-0.33]	0,88704	
	Estimated degree of unsaturation	450	-1.96 [-4.02-0.09]	0,06107	106	-0.74 [-3.73-2.26]	0,63013	156	0.82 [1.82-0.46]	0,54518	912	-0.88 [-2.30-0.55]	0,22836	1161	1.83 [0.88-2.59]	1,9E-06	1609	0.60 [0.02;1.23]	0,05919	2023	-0.55 [-1.08-0.01]	0,04425	4793	0.36 [0.00-0.72]	0,04719	
	Monounsaturated fatty acids; 16:1, 18:1	450	-0.76 [-2.84;1.32]	0,47652	106	2.51 [0.29-5.31]	0,07862	156	-2.96 [-5.55-0.36]	0,02685	912	-0.58 [-1.98-0.82]	0,41838	1161	-0.78 [-1.53-0.03]	0,0423	1609	-1.24 [-1.86;-0.62]	8,4E-05	2022	-0.46 [-1.02-0.10]	0,10987	4792	-0.81 [-1.17;-0.44]	1,4E-05	
	Omega-3 fatty acids	450	1.60 [0.48-3.68]	0,13255	106	3.01 [0.10-5.91]	0,04233	156	-1.75 [-4.34-0.84]	0,18646	912	0.93 [0.49-2.35]	0,19796	1161	1.11 [0.36;1.86]	0,00374	1609	-0.33 [0.94-0.28]	0,29023	2022	-0.62 [-1.14-0.09]	0,02285	4792	-0.14 [0.49-0.21]	0,44283	
	Omega-6 fatty acids	450	2.76 [0.67-4.85]	0,00996	106	2.75 [0.00-5.50]	0,04974	156	-0.93 [-3.69;1.82]	0,50813	912	1.77 [0.35-3.20]	0,01491	1161	-0.12 [0.88-0.63]	0,7463	1608	0.18 [0.43-0.80]	0,56254	2022	-0.42 [0.95-0.10]	0,11558	4791	-0.16 [0.51-0.20]	0,38268	
	Polyunsaturated fatty acids	450	2.62 [0.53-4.72]	0,01436	106	2.85 [0.08-5.62]	0,04362	156	-1.25 [-3.99;1.49]	0,37339	912	1.64 [0.21;3.06]	0,02472	1161	0.10 [0.65-0.86]	0,78798	1608	0.10 [0.51-0.71]	0,74411	2022	-0.45 [0.98-0.07]	0,09224	4791	-0.15 [0.50-0.21]	0,41762	
	Ratio of 18:2 linoleic acid to total fatty acids	449	2.09 [0.04-4.15]	0,04657	106	1.15 [1.64-0.93]	0,41909	156	1.68 [0.94-2.99]	0,21043	911	1.74 [0.34-3.13]	0,01494	1159	-0.13 [0.90-0.64]	0,73947	1608	1.11 [0.49;1.73]	0,00046	2020	-0.24 [0.79-0.31]	0,387	4787	0.24 [0.12-0.61]	0,18589	
	Ratio of 22:6 docosahexaenoic acid to total fatty acids	450	-1.31 [-3.36-0.73]	0,2078	106	1.18 [1.99-0.35]	0,46596	156	-0.54 [-3.12;2.04]	0,68298	912	-0.57 [-2.00-0.86]	0,43472	1161	2.01 [1.26;2.76]	1,5E-07	1609	-0.01 [0.62-0.59]	0,96427	2020	-0.27 [0.80-0.25]	0,30496	4790	0.31 [0.04-0.66]	0,08208	
	Ratio of monounsaturated fatty acids to total fatty acids	450	-5.72 [-7.73;3.70]	4E-08	106	0.11 [-2.86;3.07]	0,94347	156	-3.30 [-5.95-0.64]	0,01605	912	-3.71 [-5.12;-2.30]	2,6E-07	1161	-1.40 [-2.19;-0.60]	0,00058	1609	-1.83 [-2.46;-1.19]	2,3E-08	2023	-0.66 [-1.24;-0.08]	0,02514	4793	-1.23 [-1.61;-0.86]	1,4E-10	
	Ratio of omega-3 fatty acids to total fatty acids	450	0.56 [-1.48;2.60]	0,58924	106	1.95 [1.08-0.98]	0,20707	156	-0.16 [-2.76;2.43]	0,90221	912	0.65 [0.77-2.07]	0,36913	1161	1.91 [1.16;2.66]	6E-07	1609	0.07 [0.54-0.67]	0,82417	2022	-0.50 [-1.02-0.02]	0,05921	4792	0.21 [0.14-0.56]	0,23473	
	Ratio of omega-6 fatty acids to total fatty acids	449	2.66 [0.61-4.71]	0,01127	106	-0.06 [-2.93;2.80]	0,96464	156	2.11 [0.52-4.74]	0,11738	911	1.84 [0.43-3.25]	0,01026	1161	0.52 [0.25;1.28]	0,18636	1609	1.23 [0.60;1.86]	0,00015	2022	-0.19 [0.74-0.37]	0,51138	4792	0.45 [0.08-0.82]	0,01643	
	Ratio of polyunsaturated fatty acids to total fatty acids	449	2.64 [0.59-4.70]	0,01193	106	0.54 [-2.36;3.43]	0,71591	156	1.94 [0.69-4.57]	0,14976	911	1.94 [0.53-3.35]	0,00716	1161	1.15 [0.37;1.92]	0,00378	1607	1.21 [0.59;1.84]	0,00015	2022	-0.33 [0.88-0.22]	0,23845	4790	0.52 [0.16-0.89]	0,00514	
	Ratio of saturated fatty acids to total fatty acids	450	4.57 [2.55-6.59]	1,1E-05	106	-0.89 [-3.66;1.88]	0,52959	156	1.43 [1.22-1.64]	0,29327	912	2.33 [0.93-3.72]	0,00105	1161	0.16 [0.57-0.88]	0,67412	1609	0.52 [0.09-1.12]	0,09563	2023	1.05 [0.53;1.57]	7,2E-05	4793	0.67 [0.33;1.02]	0,00014	
	Saturated fatty acids	450	2.65 [0.55-4.74]	0,01343	106	2.49 [0.28-5.26]	0,07874	156	-1.63 [-4.27;1.01]	0,22838	912	1.38 [0.03-2.80]	0,0546	1161	-0.26 [-1.01-0.49]	0,49797	1609	-0.41 [-1.01-0.20]	0,18922	2021	-0.01 [0.55-0.54]	0,98506	4791	-0.20 [0.56-0.16]	0,2696	
	Total fatty acids	450	1.59 [0.51-3.69]	0,13744	106	2.73 [0.05-5.50]	0,05389	156	-2.26 [-4.90-0.38]	0,09516	912	0.78 [0.63-2.20]	0,27776	1161	-0.31 [-1.06-0.44]	0,41556	1609	-0.59 [-1.19-0.02]	0,05887	2021	-0.32 [0.86-0.23]	0,25542	4791	-0.41 [0.76-0.05]	0,02492	
	Apolipoproteins	Apolipoprotein B	454	3.25 [1.21-5.29]	0,00187	111	2.81 [0.17-5.45]	0,03674	160	-1.68 [-4.24-0.88]	0,20095	925	1.73 [0.37-3.10]	0,01292	1168	-0.41 [-1.14-0.33]	0,27721	1624	-0.64 [-1.25-0.02]	0,04177	2025	-0.63 [-1.21;-0.05]	0,03262	4817	-0.58 [0.94-0.21]	0,00192
	Lipoprotein particle size	Mean diameter for VLDL particles	455	0.72 [1.35-2.79]	0,49618	111	1.91 [1.18-0.99]	0,22567	160	-2.06 [-4.64-0.52]	0,11962	926	0.12 [-1.31;1.55]	0,87013	1168	-0.83 [-1.63-0.03]	0,04275	1624	-0.84 [-1.49;-0.18]	0,01284	2025	-0.15 [0.75-0.44]	0,61055	4817	-0.55 [0.93-0.16]	0,0056
		Mean diameter for LDL particles	454	-2.58 [-4.66-0.50]	0,01524	111	-2.66 [-5.44-0.11]	0,0601	159	0.36 [-2.31-0.02]	0,79327	924	-1.78 [-3.19-0.37]	0,01359	1168	0.00 [0.73-0.73]	0,9944	1622	-0.94 [-1.54-0.34]	0,00219	2023	-0.13 [0.68-0.42]	0,63902	4813	-0.38 [0.73-0.03]	0,03484
	Cholesterol	Mean diameter for HDL particles	455	2.02 [0.12-4.15]	0,06423	111	0.82 [-2.47-0.11]	0,62463	160	3.67 [1.03-6.31]	0,00717	926	2.29 [0.81-3.78]	0,00239	1168	1.38 [0.52-2.24]	0,00165	1624	1.90 [1.20-2.61]	1,2E-07	2025	0.56 [0.10;1.23]	0,09718	4817	1.24 [0.82;1.66]	7,5E-09
Free cholesterol		451	3.04 [0.97-5.10]	0,00409	106	2.25 [0.57-5.06]	0,11783	159	-0.45 [-3.16;2.25]	0,74252	916	1.88 [0.46-3.29]	0,00953	1161	0.10 [0.67-0.86]	0,80682	1616	0.01 [0.60-0.62]	0,97569	2023	-0.33 [0.86-0.20]	0,2234	4800	-0.12 [0.48-0.23]	0,49224	
Total cholesterol	Remnant cholesterol (non-HDL)	455	3.44 [1.38-5.49]	0,00109	111	2.44 [0.20-5.07]	0,07032	160	-1.67 [-4.23-0.88]	0,20118	926	1.70 [0.34-3.07]	0,01468	1168	-0.42 [-1.15-0.31]	0,25587	1624	-0.73 [-1.34-0.12]	0,019	2025	-0.74 [-1.31;-0.17]	0,01055	4817	-0.66 [1.02-0.30]	0,00034	
	Total cholesterol in HDL3	455	2.37 [0.28-4.47]	0,02669	111	1.17 [1.85-0.18]	0,4483	158	-0.85 [-3.58;1.89]	0,54602	924	1.18 [0.28-2.64]	0,11207	1168	0.63 [0.16;1.42]	0,11981	1624	0.83 [0.17;1.48]	0,0132	2024	-0.45 [0.98-0.08]	0,09794	4816	0.18 [0.19-0.55]	0,33379	
Free cholesterol	Total cholesterol in very small VLDL	455	2.40 [0.33-4.46]	0,0232	111	1.90 [0.70-4.50]	0,15149	160	-0.41 [-2.97;2.16]	0,75592	926	1.46 [0.10-2.83]	0,03597	1168	-0.30 [1.03-0.43]	0,41877	1624	-0.84 [-1.44;-0.24]	0,0059	2025	-0.86 [1.40-0.33]	0,00159	4817	-0.73 [1.08-0.38]	4,8E-05	
	Total cholesterol in large HDL	455	1.93 [0.19-4.05]	0,07533	111	-0.16 [-3.56;3.24]	0,92574	160	2.84 [0.17-5.50]	0,03899	926	1.81 [0.32-3.30]	0,0175	1168	1.34 [0.50-2.18]	0,00181	1624	1.90 [1.20-2.61]	1,3E-07	2025	0.50 [0.16;1.16]	0,13525	4817	1.20 [0.79;1.62]	1,6E-08	
Total cholesterol	Total cholesterol in medium HDL	455	5.92 [3.86-7.98]	2,5E-08	111	-0.06 [-3.06;2.93]	0,96797	160	2.53 [0.07-5.13]	0,0586	926	3.56 [2.14-4.98]	8,7E-07	1168	1.25 [0.50-2.01]	0,00114	1624	1.33 [0.70;1.97]	4,3E-05	2025	0.43 [0.11-0.97]	0,12183	4817	0.91 [0.55;1.27]	8,2E-07	
	Total cholesterol in small HDL	455	3.82 [1.78-5.87]	0,00026	111	1.09 [1.68-0.85]	0,44092	156	-1.20 [-3.89;1.49]	0,38379	922	1.76 [0.36-3.16]	0,01396	1168	0.20 [0.55-0.94]	0,60858	1620	0.25 [0.36-0.85]	0,42219	2024	-0.45 [0.98-0.08]	0,09428	4812	-0.07 [0.42-0.28]	0,68252	
Free cholesterol	Free cholesterol in chylomicrons and extremely large VLDL	455	0.90 [-1.18;2.98]	0,39759	111	1.03 [1.82-0.87]	0,47969	158	-2.00 [-4.60-0.61]	0,13489	924	0.08 [-1.33;1.49]	0,91184	1167	-0.63 [-1.38-0.12]	0,00974	1619	-0.59 [-1.22-0.04]	0,06864	2019	-0.10 [0.67-0.48]	0,74271	4805	-0.39 [0.76-0.02]	0,03696	
	Free cholesterol in very large VLDL	455	0.89 [1.18-2.97]	0,39881	111	0.98 [1.85-3.81]	0,49698	158	-1.98 [-4.59-0.62]	0,1374	924	0.07 [-1.33;1.48]	0,91796	1167	-0.73 [-1.48-0.01]	0,05442	1619	-0.69 [-1.32-0.06]	0,03325	2019	-0.25 [0.83-0.33]	0,3942	4805	-0.52 [0.89-0.15]	0,00596	
Free cholesterol	Free cholesterol in medium VLDL	455	-1.07 [-3.14;1.00]	0,30927	111	2.22 [0.67-5.11]	0,13189	160	-2.78 [-5.35-0.21]	0,03541	926	-0.80 [-2.21-0.60]	0,2628	1168	-1.15 [-1.91;-0.38]	0,0032	1624	-1.34 [-1.99;-0.69]	5,2E-05	2020	-0.55 [-1.14-0.04]	0,06555	4812	-0.97 [1.34-0.59]	5,3E-07	
	Free cholesterol in small VLDL	455	-1.97 [-4.03-0.09]	0,06134	111	2.47 [0.32-5.25]	0,08231	160	-3.05 [-5.63-0.47]	0,02205	926	-1.17 [-2.56-0.22]	0,09967	1168	-1.09 [1.85-0.34]	0,00444	1624	-1.56 [-2.19;-0.92]	1,7E-06	2025	-1.24 [1.82;0.65]	4,1E-05	4817	-1.31 [1.69-0.94]	6,6E-12	
Cholesterol esters	Free cholesterol in very large HDL	455	3.60 [1.50-5.70]	0,00083	111	1.06 [1.96-0.07]	0,91655	160	2.77 [1.04-4.49]	0,00165	926	2.77 [1.04-4.49]	0,00165	1168	1.21 [0.36-2.05]	0,00498	1624	1.21 [0.36-2.05]	0,00498	2025	0.70 [0.08;1.32]	0,02758	4817	0.88 [0.38;1.38]	0,00058	
	Free cholesterol in large HDL	455	1.25 [0.87-3.37]	0,24817	111	-0.31 [-3.65;3.04]	0,85757	160	2.72 [0.05-5.39]	0,04786	926	1.24 [0.09-2.89]	0,06559	1168	1.24 [0.40-2.09]	0,00395	1624	1.88 [1.17-2.58]	2,1E-07	2025	0.44 [0.22;1.10]	0,18814	4817	1.14 [0.72;1.56]	8,8E-08	
Cholesterol esters	Free cholesterol in small HDL	455	3.45 [1.38-5.51]	0,00111	111	-0.48 [-3.34;2.37]	0,73906	156	-1.51 [-4.10;1.08]	0,25568	922	1.04 [0.37-2.44]	0,14745	1168	-0.02 [0.76-0.72]	0,9522	1620	0.22 [0.38-0.82]	0,48176	2024	-0.27 [0.79-0.26]					

Lipoprotein subclasses	Concentration of chylomicrons and extremely large VLDL particles	655	1.74 [0.33;3.82]	0,10055	111	1.57 [1.27;4.40]	0,27941	158	-1.53 [-4.14;1.09]	0,25348	924	0.75 [-0.66;2.16]	0,2999	1168	-0.84 [-1.59;-0.09]	0,02884	1619	-0.49 [-1.12;0.14]	0,1267	2019	-0.02 [-0.59;0.56]	0,95277	4806	-0.38 [-0.75;-0.01]	0,04485
	Concentration of very large VLDL particles	655	0.59 [-1.49;2.67]	0,57822	111	1.37 [-1.49;4.23]	0,3476	158	-2.01 [-4.61;0.59]	0,13204	924	0.01 [-1.40;1.43]	0,98486	1167	-0.75 [-1.51;-0.01]	0,05164	1619	-0.68 [-1.31;-0.04]	0,03699	2018	-0.20 [-0.78;0.38]	0,49253	4804	-0.50 [-0.87;-0.13]	0,00867
	Concentration of large VLDL particles	655	-0.25 [-2.32;1.83]	0,81678	111	1.94 [0.98;4.85]	0,19277	158	-2.16 [-4.76;-0.44]	0,105	924	-0.30 [-1.72;1.12]	0,67857	1167	-0.75 [-1.52;0.02]	0,05616	1620	-0.75 [-1.39;-0.11]	0,02136	2017	-0.34 [-0.92;0.24]	0,25287	4804	-0.58 [-0.96;-0.20]	0,00248
	Concentration of medium VLDL particles	655	-0.96 [-3.03;1.11]	0,36296	111	2.23 [0.69;5.16]	0,13411	160	-2.69 [-5.26;-0.11]	0,04236	926	-0.74 [-2.15;0.68]	0,30753	1168	-1.15 [-1.92;-0.38]	0,0033	1624	-1.25 [-1.90;-0.60]	0,00017	2018	-0.52 [-1.11;0.07]	0,08174	4810	-0.92 [-1.30;-0.54]	1.8E-06
	Concentration of small VLDL particles	655	-1.92 [-3.97;0.14]	0,0681	111	2.43 [0.41;5.28]	0,09378	160	-3.00 [-5.58;-0.42]	0,02415	926	-1.18 [-2.58;0.22]	0,09793	1168	-1.16 [-1.92;-0.39]	0,00298	1624	-1.54 [-2.18;-0.89]	3.2E-06	2022	-0.98 [-1.57;-0.38]	0,00134	4814	-1.22 [-1.59;-0.84]	3.5E-10
	Concentration of medium LDL particles	655	4.92 [2.89;6.94]	2.4E-06	111	2.56 [0.08;5.21]	0,05699	160	-0.17 [-2.78;2.44]	0,90031	926	2.89 [1.52;4.26]	3.5E-05	1168	-0.08 [-0.82;0.65]	0,8235	1624	-0.10 [-0.70;0.50]	0,73892	2025	-0.35 [-0.90;0.19]	0,20319	4817	-0.20 [-0.56;0.15]	0,25846
Concentration of small LDL particles	655	5.24 [3.22;7.27]	5E-07	111	2.51 [0.14;5.15]	0,06346	160	-0.13 [-2.74;2.48]	0,92053	926	3.03 [1.66;4.40]	1.4E-05	1168	0.10 [0.64;0.84]	0,78697	1624	0.03 [0.57;0.64]	0,90942	2025	-0.32 [-0.86;0.23]	0,2546	4817	-0.10 [-0.45;0.26]	0,58798	
Concentration of small HDL particles	655	3.68 [1.61;5.75]	0,00053	111	0.70 [-2.14;1.54]	0,62879	156	-1.15 [-3.77;1.47]	0,39131	922	1.54 [0.13;2.96]	0,03178	1168	0.21 [0.56;0.98]	0,5914	1620	0.08 [0.52;0.69]	0,78769	2024	-0.14 [-0.68;0.39]	0,59919	4812	0.01 [0.34;0.37]	0,95411	
Total Lipids	Total lipids in chylomicrons and extremely large VLDL	655	1.69 [0.39;3.76]	0,11205	111	1.55 [1.28;4.39]	0,28314	158	-1.59 [-4.20;1.03]	0,236	924	0.70 [-0.71;2.11]	0,33104	1168	-0.85 [-1.60;-0.10]	0,02674	1620	-0.50 [-1.13;0.13]	0,11939	2019	-0.05 [-0.62;0.53]	0,87425	4807	-0.40 [-0.77;-0.03]	0,03535
	Total lipids in very large VLDL	655	0.68 [-1.40;2.76]	0,52179	111	1.38 [1.48;4.24]	0,34312	158	-2.07 [-4.67;0.53]	0,12042	924	0.04 [-1.37;1.45]	0,9561	1167	-0.77 [-1.52;-0.01]	0,04796	1621	-0.72 [-1.36;-0.08]	0,0273	2018	-0.24 [-0.83;0.34]	0,41537	4806	-0.54 [-0.91;-0.16]	0,00509
	Total lipids in medium VLDL	655	-0.50 [-2.57;1.57]	0,6338	111	2.49 [0.44;5.42]	0,09605	160	-2.68 [-5.26;-0.11]	0,04259	926	-0.47 [-1.88;0.95]	0,5187	1168	-1.05 [-1.82;-0.28]	0,00732	1624	-1.25 [-1.90;-0.60]	0,00018	2023	-0.55 [-1.16;0.05]	0,07172	4815	-0.92 [-1.30;-0.54]	2.6E-06
	Total lipids in small VLDL	655	-1.44 [-3.50;0.62]	0,17068	111	2.43 [0.40;5.27]	0,09238	160	-2.98 [-5.56;-0.40]	0,02513	926	-0.95 [-2.35;0.45]	0,18409	1168	-1.09 [-1.85;-0.33]	0,00507	1624	-1.53 [-2.17;-0.89]	3.3E-06	2025	-1.14 [-1.74;-0.53]	0,00022	4817	-1.26 [-1.64;-0.88]	8E-11
	Total lipids in large HDL	655	2.21 [0.08;4.34]	0,04282	111	0.35 [-3.10;3.80]	0,84395	160	2.64 [0.04;5.31]	0,05518	926	1.99 [0.49;3.49]	0,00935	1168	1.43 [0.59;2.27]	0,0009	1624	1.81 [1.11;2.51]	4.8E-07	2025	0.39 [0.26;1.04]	0,24011	4817	1.14 [0.72;1.55]	7.5E-08
	Total lipids in small HDL	655	3.83 [1.77;5.90]	0,00603	111	0.60 [-2.24;1.43]	0,67963	156	-1.24 [-3.86;1.38]	0,35375	922	1.57 [0.16;2.98]	0,02917	1168	0.23 [0.56;0.99]	0,56259	1620	0.13 [0.48;0.73]	0,67671	2024	-0.15 [-0.68;0.38]	0,58251	4812	0.03 [0.33;0.38]	0,88265
Triglycerides	Triglycerides in chylomicrons and extremely large VLDL	655	2.00 [0.07;4.08]	0,05878	111	1.62 [1.22;4.46]	0,2635	158	-1.45 [-4.07;1.17]	0,27908	924	0.90 [0.51;1.32]	0,20889	1168	-0.77 [-1.52;-0.02]	0,04475	1619	-0.46 [-1.09;0.17]	0,15035	2019	0.03 [0.55;0.60]	0,92676	4806	-0.33 [0.70;0.04]	0,07675
	Triglycerides in very large VLDL	655	0.69 [-1.39;2.77]	0,51378	111	1.49 [1.38;4.36]	0,30914	158	-2.03 [-3.63;0.57]	0,12789	924	-0.08 [-1.33;1.49]	0,9109	1167	-0.73 [-1.49;-0.03]	0,05993	1620	-0.7 [1.36;-0.08]	0,02735	2018	-0.19 [0.78;0.39]	0,51709	4805	-0.51 [0.88;-0.13]	0,00831
	Triglycerides in medium VLDL	655	-0.66 [-2.73;1.41]	0,53221	111	2.23 [0.76;5.22]	0,14337	160	-2.76 [-5.34;-0.18]	0,03787	926	-0.64 [-2.06;0.78]	0,37638	1168	-1.11 [-1.89;-0.34]	0,00504	1624	-1.29 [-1.94;-0.63]	0,00012	2021	-0.42 [-1.02;0.19]	0,17533	4813	-0.89 [1.27;-0.50]	6.3E-06
	Triglycerides in small VLDL	655	-1.99 [-4.04;0.07]	0,05887	111	2.12 [0.84;5.08]	0,16099	160	-3.12 [-5.70;-0.54]	0,01916	926	-1.39 [-2.80;0.02]	0,05399	1168	-1.26 [-2.04;-0.49]	0,00144	1624	-1.57 [-2.22;-0.91]	2.8E-06	2023	-0.85 [-1.45;-0.25]	0,00542	4815	-1.20 [1.58;-0.81]	9.4E-10
	Triglycerides in very small VLDL	655	-3.13 [-5.18;-1.09]	0,00282	111	2.46 [0.33;5.26]	0,08394	160	-3.52 [-6.08;-0.96]	0,00788	926	-1.87 [-3.25;-0.48]	0,00846	1168	-1.20 [-1.95;-0.44]	0,00192	1624	-1.72 [-2.35;-1.10]	8E-08	2025	-1.08 [-1.65;-0.50]	0,00026	4817	-1.33 [1.70;-0.96]	1.8E-12
	Triglycerides in VLDL	655	-0.11 [-2.18;1.97]	0,92078	111	2.61 [0.38;5.61]	0,08748	160	-2.71 [-5.29;-0.13]	0,04096	926	-0.29 [1.71;-1.14]	0,69242	1168	-0.89 [-1.68;-0.11]	0,02495	1624	-1.38 [-2.04;-0.72]	4E-05	2025	-0.70 [1.31;-0.08]	0,02607	4817	-0.99 [1.37;-0.60]	6.8E-07
	Triglycerides in LDL	655	-2.34 [-4.42;0.25]	0,0285	111	2.66 [0.03;5.28]	0,04715	160	-2.53 [-5.16;-0.99]	0,06072	926	-1.00 [-2.38;0.39]	0,1589	1168	-0.62 [-1.36;0.12]	0,10236	1623	-1.18 [-1.79;-0.57]	0,00016	2024	-0.69 [1.24;-0.15]	0,01219	4815	-0.84 [1.20;-0.49]	3.5E-06
	Triglycerides in HDL	655	-3.23 [-5.29;-1.17]	0,00223	111	2.48 [0.17;5.13]	0,06654	160	-2.35 [-4.95;-0.25]	0,07848	926	-1.44 [-2.81;-0.06]	0,04133	1168	-0.89 [-1.63;-0.15]	0,01858	1624	-1.58 [-2.19;-0.97]	4.2E-07	2025	-0.86 [1.40;-0.32]	0,00096	4817	-1.11 [1.47;-0.76]	9E-10
	Triglycerides in very large HDL	655	2.78 [0.69;4.87]	0,00932	111	1.55 [1.19;4.30]	0,26769	158	-0.71 [-3.31;1.88]	0,59085	924	1.44 [0.04;2.84]	0,04308	1168	-0.22 [-1.01;0.57]	0,59992	1621	-0.35 [0.95;0.25]	0,25059	2022	-0.19 [0.72;0.35]	0,49104	4811	-0.25 [0.61;0.10]	0,16654
	Triglycerides in large HDL	655	-3.64 [-5.79;-1.49]	0,00097	111	1.76 [1.46;4.97]	0,28393	160	-0.84 [-2.71;1.03]	0,07619	926	-1.37 [-2.86;0.11]	0,07025	1168	0.19 [0.62;1.01]	0,64349	1623	0.05 [0.60;0.70]	0,88068	2025	-0.71 [1.30;1.03]	0,01612	4816	-0.25 [0.63;0.13]	0,19961
	Triglycerides in medium HDL	655	-1.46 [-3.58;0.65]	0,17555	111	2.76 [0.05;5.57]	0,05434	160	-1.01 [-3.62;1.61]	0,45124	926	-0.25 [-1.67;1.17]	0,72722	1168	-0.34 [-1.10;0.43]	0,39056	1624	-0.83 [1.45;-0.22]	0,00824	2025	-0.43 [0.98;0.12]	0,12333	4817	-0.55 [0.91;-0.19]	0,00294
	Triglycerides in small HDL	655	-3.73 [-5.78;-1.67]	0,0004	111	1.88 [1.06;4.83]	0,21006	160	-2.06 [-4.65;-0.54]	0,12238	926	-1.94 [-3.35;-0.53]	0,00703	1168	-1.38 [-2.17;-0.59]	0,00063	1624	-1.37 [-2.01;-0.72]	3.7E-05	2024	-0.64 [1.21;-0.06]	0,02971	4816	-1.06 [1.43;-0.68]	4.3E-08
	Triglycerides in HDL	655	-3.64 [-5.78;-1.55]	0,00072	111	2.84 [0.06;5.61]	0,04492	160	-2.85 [-5.41;-0.29]	0,0308	926	-1.75 [0.15;-0.34]	0,01478	1168	-0.51 [-1.25;0.24]	0,18432	1624	-1.06 [1.67;-0.45]	0,00064	2025	-0.68 [1.21;-0.15]	0,01251	4817	-0.77 [1.12;-0.42]	2E-05
	Phospholipids	Phospholipids in chylomicrons and extremely large VLDL	655	1.50 [0.57;3.58]	0,15618	111	1.46 [1.38;4.31]	0,31281	158	-1.49 [-4.29;0.92]	0,20652	924	0.56 [0.85;1.97]	0,43648	1167	-0.49 [-1.24;0.26]	0,20245	1619	-0.54 [-1.17;0.09]	0,09279	2019	-0.06 [0.63;0.51]	0,84768	4805	-0.33 [0.69;0.04]
Phospholipids in very large VLDL	655	0.88 [-1.19;2.96]	0,40433	111	1.27 [-1.57;4.11]	0,38125	158	-1.93 [-4.53;0.67]	0,14847	924	0.15 [-1.26;1.56]	0,83113	1167	-0.72 [-1.47;0.03]	0,06159	1619	-0.67 [-1.30;-0.03]	0,03893	2019	-0.16 [0.74;0.42]	0,59891	4805	-0.47 [0.84;-0.10]	0,01337	
Phospholipids in medium VLDL	655	-0.75 [-2.82;1.32]	0,47697	111	2.34 [0.56;5.23]	0,11439	160	-2.72 [-5.28;-0.15]	0,03936	926	-0.62 [-2.02;0.79]	0,39088	1168	-1.14 [-1.90;-0.37]	0,00357	1624	-1.25 [-1.90;-0.60]	0,00016	2020	-0.55 [1.14;0.04]	0,07001	4812	-0.93 [1.31;-0.55]	1.4E-06	
Phospholipids in small VLDL	655	-1.78 [-3.84;0.28]	0,0906	111	2.39 [0.45;5.22]	0,09855	160	-3.00 [-5.58;-0.41]	0,0244	926	-1.12 [-2.52;0.28]	0,11693	1168	-1.10 [-1.86;-0.33]	0,005	1624	-1.52 [-2.16;-0.88]	3.3E-06	2023	-1.20 [1.79;-0.60]	8E-05	4815	-1.29 [1.66;-0.91]	2.6E-11	
Phospholipids in very large HDL	655	2.05 [0.07;4.18]	0,0589	111	1.20 [-1.85;4.26]	0,44081	160	3.69 [1.04;6.34]	0,00711	926	2.35 [0.90;3.81]	0,00155	1168	1.56 [0.71;2.40]	0,00031	1624	1.97 [1.27;2.67]	4.2E-08	2025	0.69 [0.03;1.35]	0,04008	4817	1.36 [0.94;1.77]	2E-10	
Phospholipids in large HDL	655	2.53 [0.40;4.66]	0,02027	111	0.41 [-3.00;3.82]	0,81395	160	2.62 [0.05;5.30]	0,05628	926	2.15 [0.65;3.65]	0,00487	1168	1.47 [0.63;2.30]	0,00058	1624	1.75 [1.05;2.44]	9.9E-07	2025	0.37 [0.27;1.01]	0,25391	4817	1.11 [0.70;1.52]	1.1E-07	
Phospholipids in small HDL	654	4.27 [2.19;6.34]	6.1E-05	111	-0.16 [-3.02;2.70]	0,91144	156	-0.25 [-2.85;2.34]	0,85011	921	1.86 [0.45;2.27]	0,00974	1168	0.40 [0.35;1.16]	0,2953	1620	0.27 [0.33;0.87]	0,38033	2024	0.24 [0.28;0.77]	0,36632	4812	0.29 [0.06;0.64]	0,10965	

ANEXOS

Total cholesterol (%)	Total cholesterol to total lipids ratio in very small VLDL	651	5.30 [3.28-7.31]	3.3E-07	110	-0.27 [-3.15-2.61]	0,85525	158	2.07 [0.56-4.70]	0,12419	919	3.08 [1.68-4.47]	1,6E-05	1168	0.69 [-0.07-1.45]	0,07554	1621	0.93 [0.30-1.55]	0,00359	2017	0.51 [-0.03-1.06]	0,06585	4806	0.69 [0.33-1.05]	0,00017
	Total cholesterol to total lipids ratio in large LDL	652	7.73 [5.77-9.69]	4E-14	107	1.95 [-0.76-4.65]	0,15785	158	2.23 [-0.35-4.80]	0,09245	917	4.78 [3.42-6.13]	4.3E-12	1165	0.13 [-0.60-0.86]	0,73114	1618	0.97 [0.37-1.58]	0,00155	2022	0.33 [-0.20-0.86]	0,21634	4805	0.50 [0.15-0.85]	0,00481
	Total cholesterol to total lipids ratio in very large HDL	571	3.19 [1.05-5.34]	0,00363	103	-1.71 [-4.70-1.29]	0,26517	156	-1.87 [-4.44-0.70]	0,15582	830	0.46 [-0.98-1.91]	0,52857	1142	-0.80 [-1.52-0.08]	0,02992	1608	-0.80 [-1.44-0.15]	0,01523	1940	-0.56 [-1.12-0.00]	0,05036	4690	-0.70 [-1.06-0.33]	0,00018
	Total cholesterol to total lipids ratio in large HDL	639	2.81 [0.74-4.87]	0,00787	110	-1.47 [-4.45-1.50]	0,33265	139	3.12 [0.35-5.89]	0,02876	888	1.88 [0.44-3.33]	0,01069	1168	1.08 [0.29-1.88]	0,00768	1537	1.74 [1.08-2.41]	2.8E-07	1903	0.72 [0.10-1.35]	0,02335	4608	1.17 [0.78-1.57]	5.7E-09
	Total cholesterol to total lipids ratio in medium HDL	652	5.44 [3.41-7.47]	2E-07	111	-1.29 [-4.14-1.57]	0,37704	156	3.45 [0.84-6.07]	0,01057	919	3.26 [1.86-4.66]	4.9E-06	1168	1.30 [0.56-2.04]	0,00061	1619	1.36 [0.73-1.98]	2.2E-05	2022	0.57 [0.01-1.12]	0,045	4809	1.01 [0.64-1.37]	5.2E-08
	Total cholesterol to total lipids ratio in small HDL	655	1.30 [-0.76-3.37]	0,21629	111	1.38 [-1.39-4.15]	0,32921	156	-0.45 [-3.17-2.27]	0,74513	922	0.85 [-0.57-2.26]	0,2394	1167	-0.33 [-1.06-0.41]	0,30465	1615	0.38 [-0.23-0.99]	0,21981	2021	-0.39 [-0.92-0.13]	0,13958	4803	-0.12 [-0.47-0.23]	0,48692
Free cholesterol (%)	Free cholesterol to total lipids ratio in chylomicrons and extremely large VLDL	508	-1.17 [-3.45-1.11]	0,31618	81	0.15 [-3.34-3.44]	0,93167	151	-3.49 [-6.10-0.87]	0,00998	740	-1.71 [-3.26-0.17]	0,02933	786	-0.41 [-1.28-0.46]	0,3545	1566	-1.70 [-2.32-1.07]	1.3E-07	1661	-0.30 [-0.88-0.28]	0,30519	4013	-0.84 [-1.22-0.46]	1,6E-05
	Free cholesterol to total lipids ratio in very large VLDL	497	0.52 [1.80-2.84]	0,66188	79	-1.69 [-4.95-1.58]	0,31194	155	1.43 [1.30-1.16]	0,30576	731	0.32 [1.24-1.87]	0,69115	694	-0.25 [-1.15-0.65]	0,58549	1521	0.93 [0.28-1.59]	0,0053	1552	-0.03 [-0.62-0.57]	0,9315	3767	0.28 [0.11-0.68]	0,16404
	Free cholesterol to total lipids ratio in large VLDL	594	1.26 [0.91-1.42]	0,2561	89	1.11 [-2.10-4.32]	0,49787	157	-2.26 [-4.87-0.35]	0,09232	840	0.10 [1.38-1.58]	0,89807	842	-0.69 [-1.53-0.16]	0,11364	1591	-0.78 [-1.39-0.17]	0,01214	1769	-0.44 [-1.02-0.14]	0,13628	4202	-0.62 [1.00-0.24]	0,00128
	Free cholesterol to total lipids ratio in small VLDL	652	-1.87 [-3.95-0.21]	0,07974	110	0.60 [-2.33-3.52]	0,68862	160	0.54 [-2.09-3.17]	0,68805	922	-0.58 [-2.00-0.85]	0,4281	1167	-0.12 [-0.89-0.66]	0,76674	1623	-0.04 [-0.69-0.61]	0,91281	2022	-0.90 [-1.44-0.37]	0,00095	4812	-0.46 [-0.82-0.09]	0,01598
	Free cholesterol to total lipids ratio in very small VLDL	653	-1.61 [-3.68-0.45]	0,1267	111	-0.79 [-3.53-1.95]	0,57013	158	-0.68 [-3.33-1.97]	0,61659	922	-1.14 [-2.54-0.26]	0,11139	1168	0.02 [-0.77-0.81]	0,96011	1620	0.03 [-0.61-0.66]	0,93806	2015	-0.85 [-1.38-0.31]	0,00187	4803	-0.38 [0.74-0.02]	0,0403
	Free cholesterol to total lipids ratio in medium LDL	648	-0.77 [-2.82-1.28]	0,46261	107	-2.61 [-5.30-0.07]	0,05648	158	0.65 [-2.02-3.32]	0,63506	913	-0.88 [-2.27-0.51]	0,21555	1165	0.05 [-0.69-0.79]	0,80295	1619	0.75 [0.14-1.36]	0,01562	2023	0.63 [0.07-1.19]	0,02713	4807	0.53 [0.18-0.89]	0,00353
	Free cholesterol to total lipids ratio in small LDL	646	-1.28 [-3.33-0.78]	0,22317	108	-3.31 [-5.96-0.65]	0,01463	158	-0.04 [-2.74-2.65]	0,97448	912	-1.50 [-2.90-0.11]	0,03387	1165	0.02 [-0.71-0.75]	0,9521	1618	0.50 [0.11-1.11]	0,10859	2022	0.40 [-0.16-0.95]	0,16063	4805	0.34 [0.02-0.70]	0,06081
	Free cholesterol to total lipids ratio in HDL	652	3.12 [1.08-5.16]	0,00282	110	1.08 [-1.84-4.00]	0,46889	158	1.76 [0.90-4.43]	0,19698	920	2.26 [0.84-3.67]	0,00179	1167	0.70 [-0.11-1.50]	0,08904	1613	0.70 [0.05-1.34]	0,03386	2014	0.20 [-0.35-0.76]	0,47602	4794	0.48 [0.10-0.85]	0,01249
	Free cholesterol to total lipids ratio in very large HDL	569	3.07 [0.93-5.21]	0,00503	100	-0.30 [-3.19-2.58]	0,83655	153	-0.47 [-3.08-2.15]	0,72662	822	1.17 [0.27-2.60]	0,11045	1139	0.34 [-0.42-1.10]	0,38071	1606	0.74 [0.13-1.35]	0,01781	1933	0.25 [-0.28-0.77]	0,35334	4678	0.43 [0.08-0.78]	0,01632
	Free cholesterol to total lipids ratio in large HDL	639	2.69 [0.62-4.77]	0,01125	110	0.41 [-2.52-3.34]	0,78406	138	0.97 [1.86-3.80]	0,50238	887	1.68 [0.22-3.13]	0,02368	1167	1.47 [0.66-2.29]	0,00037	1537	1.26 [0.59-1.93]	0,00023	1909	0.64 [0.04-1.25]	0,03776	4613	1.05 [0.66-1.44]	1,6E-07
Free cholesterol to total lipids ratio in medium HDL	652	5.84 [3.80-7.87]	2.8E-08	111	1.52 [1.55-4.60]	0,33192	156	1.08 [1.63-3.79]	0,43536	919	3.55 [2.11-4.99]	1.3E-06	1168	1.34 [0.55-2.12]	0,00083	1616	0.81 [0.17-1.46]	0,01385	2018	-0.10 [-0.66-0.46]	0,72427	4802	0.52 [0.15-0.90]	0,00564	
Free cholesterol to total lipids ratio in small HDL	655	0.93 [-1.12-2.98]	0,37401	111	-2.29 [-5.13-0.55]	0,11389	156	-1.37 [-4.02-1.28]	0,31293	922	-0.51 [-1.92-0.90]	0,47844	1168	-0.36 [-1.09-0.37]	0,33397	1620	0.24 [-0.39-0.85]	0,44892	2023	-0.48 [-1.02-0.07]	0,08741	4811	-0.21 [-0.56-0.15]	0,25301	
Cholesterol esters (%)	Cholesterol esters to total lipids ratio in chylomicrons and extremely large VLDL	509	-3.75 [-6.02-1.48]	0,00131	80	-0.74 [-4.08-2.59]	0,66324	149	-1.19 [-3.87-1.50]	0,38882	738	-2.27 [-3.81-0.73]	0,0039	780	-0.82 [-1.66-0.02]	0,05557	1564	-0.42 [-1.03-0.19]	0,1816	1660	-0.48 [-1.05-0.09]	0,0996	4004	-0.52 [0.90-0.15]	0,00602
	Cholesterol esters to total lipids ratio in very large VLDL	495	-4.57 [-6.92-2.22]	0,00016	79	-0.59 [-3.79-2.61]	0,71817	153	-1.39 [-4.03-1.24]	0,30082	727	-2.57 [-4.11-1.03]	0,00107	688	-0.72 [-1.64-0.19]	0,12212	1516	-0.26 [-0.88-0.36]	0,40788	1546	-0.44 [-1.05-0.17]	0,15434	3750	-0.42 [0.81-0.03]	0,03524
	Cholesterol esters to total lipids ratio in large VLDL	591	-3.48 [-5.65-1.31]	0,00176	89	0.41 [-2.78-3.60]	0,80034	158	0.30 [-2.33-2.93]	0,8229	838	-1.44 [-2.92-0.04]	0,05707	836	-0.22 [-1.08-0.65]	0,62513	1598	0.46 [-0.16-0.09]	0,14771	1760	-0.19 [-0.76-0.37]	0,49578	4194	0.04 [-0.34-0.41]	0,84019
	Cholesterol esters to total lipids ratio in medium VLDL	647	-0.03 [-2.11-2.05]	0,97797	107	0.69 [-2.21-3.58]	0,64226	160	1.74 [0.87-4.35]	0,19389	914	0.66 [-0.75-2.08]	0,35825	1152	0.28 [-0.46-1.03]	0,45462	1624	1.14 [0.49-1.80]	0,00063	2021	0.24 [-0.33-0.82]	0,40908	4797	0.55 [0.17-0.92]	0,00408
	Cholesterol esters to total lipids ratio in small VLDL	652	1.57 [0.49-3.62]	0,13592	107	0.54 [-2.20-3.28]	0,69901	160	1.96 [0.60-4.53]	0,13554	919	1.42 [0.04-2.80]	0,04445	1164	0.20 [-0.53-0.93]	0,58938	1623	0.87 [0.24-1.50]	0,00697	2021	0.16 [-0.38-0.71]	0,55791	4808	0.40 [0.04-0.76]	0,02853
	Cholesterol esters to total lipids ratio in very large HDL	571	2.30 [0.13-4.46]	0,03823	103	-2.03 [-5.05-0.99]	0,1874	156	-1.72 [-4.29-0.86]	0,19335	830	0.02 [-1.44-1.47]	0,98305	1143	-0.82 [-1.55-0.08]	0,02916	1609	-1.07 [-1.72-0.42]	0,00124	1940	-0.54 [-1.10-0.02]	0,06108	4692	-0.78 [-1.15-0.41]	3.3E-05
	Cholesterol esters to total lipids ratio in large HDL	639	2.92 [0.87-4.98]	0,00544	110	-2.18 [-5.09-0.72]	0,14052	139	3.29 [0.55-6.03]	0,01992	888	1.79 [0.36-3.22]	0,01438	1168	0.81 [0.03-1.59]	0,04074	1536	1.77 [1.13-2.42]	9E-08	1901	0.82 [0.21-1.43]	0,00882	4605	1.15 [0.77-1.54]	4.4E-09
	Cholesterol esters to total lipids ratio in medium HDL	652	4.90 [2.85-6.94]	3.3E-06	111	-2.08 [-4.84-0.67]	0,13768	156	3.43 [0.84-6.03]	0,01051	919	2.70 [1.32-4.09]	0,00013	1168	1.11 [0.38-1.84]	0,00296	1618	1.53 [0.91-2.15]	1.3E-06	2022	0.66 [0.12-1.21]	0,0171	4808	1.06 [0.70-1.42]	5.8E-09
Cholesterol esters to total lipids ratio in small HDL	655	1.03 [-1.03-3.09]	0,32774	111	1.68 [-1.10-4.45]	0,23641	156	-0.26 [-2.98-2.46]	0,85186	922	0.85 [-0.56-2.26]	0,23886	1167	-0.26 [-0.99-0.46]	0,47577	1614	0.36 [-0.25-0.97]	0,24774	2021	-0.34 [-0.86-0.18]	0,2041	4802	-0.09 [-0.44-0.25]	0,59995	
Triglycerides to total lipids ratio in chylomicrons and extremely large VLDL	507	3.82 [1.56-6.08]	0,00101	81	-0.93 [-4.38-2.51]	0,5949	151	2.77 [0.13-5.41]	0,0416	739	2.52 [0.98-4.05]	0,00134	785	0.99 [0.14-1.85]	0,0227	1570	1.33 [0.72-1.94]	2.1E-05	1672	0.97 [0.40-1.54]	0,00091	4027	1.11 [0.73-1.48]	6.6E-09	

Triglycerides (%)	Triglycerides to total lipids ratio in medium VLDL	650	1.07 [-1.01;3.15]	0,3149	108	-1.25 [-4.16;1.66]	0,40112	160	-2.15 [-4.78;0.48]	0,11112	918	-0.43 [-1.85;0.99]	0,55441	1152	0.08 [-0.68;0.85]	0,82942	1622	-0.87 [-1.52;-0.23]	0,00832	2017	-0.05 [-0.61;0.52]	0,87097	4791	-0.29 [-0.66;0.08]	0,12729
	Triglycerides to total lipids ratio in small VLDL	652	-1.12 [-3.19;0.94]	0,28598	110	-0.55 [-3.44;2.34]	0,70947	160	-2.67 [-5.27;-0.08]	0,04544	922	-1.44 [-2.85;-0.03]	0,04485	1167	-0.46 [-1.23;0.31]	0,23906	1624	-1.14 [-1.79;-0.50]	0,00056	2018	-0.10 [-0.66;0.46]	0,73221	4809	-0.52 [-0.90;-0.15]	0,00557
	Triglycerides to total lipids ratio in very large HDL	571	-0.39 [-2.53;1.74]	0,71857	103	-0.36 [-3.19;2.47]	0,8035	156	-3.06 [-5.58;-0.53]	0,01882	830	-1.22 [-2.63;0.19]	0,09064	1143	-1.60 [-2.31;-0.88]	1,2E-05	1610	-1.56 [-2.20;-0.92]	1,7E-06	1942	-0.56 [-1.12;0.00]	0,05218	4695	-1.15 [-1.51;-0.79]	5,2E-10
	Triglycerides to total lipids ratio in medium HDL	653	-4.75 [-6.80;-2.71]	6,2E-06	111	1.86 [-1.08;4.80]	0,21589	157	-2.42 [-5.09;0.24]	0,077	921	-2.55 [-3.97;-1.13]	0,00043	1168	-0.96 [-1.74;-0.18]	0,01606	1621	-1.55 [-2.19;-0.90]	2,8E-06	2022	-0.68 [-1.26;-0.11]	0,02057	4811	-1.04 [-1.42;-0.66]	5,9E-08
	Triglycerides to total lipids ratio in small HDL	655	-5.59 [-7.61;-3.57]	8,6E-08	111	1.65 [-1.26;4.55]	0,2662	156	-2.18 [-4.83;0.48]	0,11079	922	-2.93 [-4.34;-1.52]	4,5E-05	1168	-1.34 [-2.12;-0.57]	0,00066	1620	-1.73 [-2.38;-1.08]	2,4E-07	2023	-0.80 [-1.38;-0.23]	0,00633	4811	-1.24 [-1.62;-0.86]	1,2E-10
Phospholipids (%)	Phospholipids to total lipids ratio in chylomicrons and extremely large VLDL	506	1.23 [-1.08;3.54]	0,2962	81	1.91 [-1.57;5.38]	0,28198	151	-3.40 [-5.03;0.23]	0,07563	738	0.10 [-1.45;1.65]	0,89793	783	0.29 [-0.56;1.14]	0,50139	1566	-0.58 [-1.20;0.03]	0,06397	1660	-0.44 [-1.01;0.14]	0,13554	4009	-0.35 [-0.72;0.03]	0,06956
	Phospholipids to total lipids ratio in very large VLDL	495	2.71 [0.39;5.03]	0,02242	79	-0.84 [-4.11;2.42]	0,61229	154	1.44 [-1.34;4.22]	0,31159	728	1.49 [-0.07;3.06]	0,06119	687	-0.12 [-1.03;0.80]	0,8042	1520	1.05 [0.41;1.69]	0,00139	1549	0.30 [-0.29;0.90]	0,31622	3756	0.51 [0.11;0.90]	0,01178
	Phospholipids to total lipids ratio in large VLDL	591	-0.10 [-2.29;2.08]	0,92747	89	1.21 [-1.91;4.33]	0,44653	158	1.46 [-1.28;4.20]	0,29676	838	0.67 [-0.83;2.17]	0,38113	840	-0.44 [-1.31;0.43]	0,31823	1596	0.48 [-0.14;1.10]	0,13277	1773	-0.10 [-0.68;0.47]	0,72281	4209	0.05 [-0.33;0.43]	0,80054
	Phospholipids to total lipids ratio in medium VLDL	649	0.19 [-1.88;2.25]	0,85909	107	-1.92 [-4.90;1.05]	0,20482	160	1.77 [-0.89;4.44]	0,19478	916	0.15 [-1.28;1.59]	0,83212	1151	-0.21 [-0.97;0.55]	0,58463	1623	0.87 [0.23;1.52]	0,00789	2017	-0.11 [-0.68;0.47]	0,71749	4791	0.20 [-0.18;0.57]	0,29957
	Phospholipids to total lipids ratio in small VLDL	652	0.53 [-1.52;2.58]	0,61308	110	-2.30 [-5.14;0.54]	0,11288	160	2.10 [-0.46;4.67]	0,1101	922	0.31 [-1.08;1.71]	0,66106	1167	0.71 [-0.02;1.44]	0,05825	1624	0.87 [0.23;1.50]	0,00738	2023	-0.05 [-0.61;0.51]	0,8716	4814	0.44 [0.08;0.81]	0,01754
	Phospholipids to total lipids ratio in large LDL	654	-3.58 [-5.61;-1.55]	0,00059	108	-1.52 [-4.18;1.13]	0,26152	158	0.66 [-1.98;3.30]	0,62403	920	-1.87 [-3.25;-0.50]	0,00765	1166	0.15 [-0.58;0.89]	0,68142	1619	0.34 [-0.26;0.94]	0,26589	2022	0.37 [-0.16;0.91]	0,17457	4807	0.31 [-0.04;0.66]	0,08212
	Phospholipids to total lipids ratio in medium LDL	648	-1.69 [-3.73;0.35]	0,10531	107	-2.07 [-4.76;0.63]	0,13297	158	0.07 [-2.60;2.74]	0,95739	913	-1.31 [-2.70;0.08]	0,06414	1165	-0.11 [-0.85;0.64]	0,77442	1618	0.22 [-0.38;0.83]	0,46526	2024	0.46 [-0.07;0.98]	0,08818	4807	0.25 [-0.10;0.60]	0,15425
	Phospholipids to total lipids ratio in small LDL	647	-1.82 [-3.86;0.22]	0,08085	108	-2.62 [-5.27;0.03]	0,05283	158	-0.45 [-3.11;2.22]	0,74204	913	-1.67 [-3.05;-0.29]	0,01802	1165	0.22 [-0.51;0.95]	0,5548	1618	0.33 [-0.27;0.93]	0,27847	2024	0.66 [0.13;1.19]	0,0154	4807	0.45 [0.10;0.80]	0,01207
	Phospholipids to total lipids ratio in IDL	654	-2.10 [-4.19;-0.02]	0,04845	110	-2.16 [-4.82;0.50]	0,11193	158	1.48 [-1.14;4.10]	0,27128	922	-1.11 [-2.50;0.28]	0,11768	1167	0.59 [-0.15;1.32]	0,1173	1616	0.68 [0.06;1.30]	0,03119	2018	0.91 [0.34;1.48]	0,00167	4801	0.75 [0.39;1.12]	5E-05
	Phospholipids to total lipids ratio in medium HDL	654	-5.05 [-7.08;-3.02]	1,3E-06	111	1.15 [-1.60;3.90]	0,414	156	-2.48 [-5.06;0.10]	0,06154	921	-2.75 [-4.13;-1.38]	9,1E-05	1168	-0.84 [-1.58;-0.11]	0,02485	1618	-1.11 [-1.72;-0.50]	0,00036	2022	-0.26 [-0.79;0.27]	0,33217	4808	-0.68 [-1.03;-0.33]	0,00016
	Phospholipids to total lipids ratio in small HDL	654	1.25 [-0.81;3.30]	0,23543	111	-1.88 [-4.60;0.85]	0,17652	156	1.37 [-1.33;4.07]	0,32228	921	0.45 [-0.95;1.85]	0,52887	1168	0.57 [0.16;1.30]	0,12513	1620	0.31 [-0.30;0.91]	0,32001	2024	0.75 [0.22;1.29]	0,0057	4812	0.56 [0.21;0.91]	0,00174

