

Biomarcadores de RMN en el Estudio Prospectivo de la Ciudad de México

Introducción

Nightingale Health Plc. y el laboratorio Wolfson del Departamento de Salud de la Población (NDPH) de Nuffield (Oxford, Reino Unido) están realizando perfiles de biomarcadores metabólicos basados en resonancia magnética nuclear (RMN) de los participantes del Estudio Prospectivo de la Ciudad de México (MCPS por sus siglas en inglés). Esta primera versión cubre los datos de biomarcadores de lípidos y metabolitos en poco más de 40 000 muestras de plasma con EDTA del reclutamiento inicial (1998-2004). El segundo lanzamiento, previsto para mediados de 2023, cubrirá todas las muestras de estudio de plasma con EDTA disponibles, que comprenden ~150 000 del reclutamiento inicial y 10 000 del nuevo estudio (2015-2019). Las medidas metabólicas en la segunda fase se cuantificarán utilizando un algoritmo actualizado y, por lo tanto, formarán un recurso de datos completamente separado.

El resto de este documento detalla la metodología y los datos de biomarcadores metabólicos presentes desde la primera fase.

Métodos

Entre septiembre de 2018 y octubre de 2019, se subdividieron en alícuotas un subconjunto de poco más de 40 000 muestras de plasma de referencia con un volumen de 110 µl proporcionado para metabolómica por RMN usando la plataforma de Nightingale Health. Esta plataforma de biomarcadores ha sido descrita recientemente en el contexto de UK Biobank: Julkunen et al, Nat Comms 2023 en prensa (<https://www.medrxiv.org/content/10.1101/2022.06.13.22276332v2>). Para MCPS, las muestras se enviaron en hielo seco en lotes de ~ 5000-10 000 muestras, la mayoría de las muestras analizadas en Nightingale Health Plc (Helsinki and Kuopio, Finlandia), y el resto analizado con el mismo protocolo validado para su uso en el Departamento de Salud de la Población de Nuffield (NDPH) Laboratorio Wolfson (Oxford, Reino Unido). La plataforma¹ de metabolómica de RMN dirigida de alto rendimiento de Nightingale Health genera espectros a partir de los cuales se cuantifican 225 biomarcadores como concentraciones o proporciones absolutas (Fig. 1, Apéndice).

Los detalles de la plataforma de elaboración de perfiles de biomarcadores metabólicos de Nightingale Health y la experimentación se han descrito anteriormente¹. En resumen, las muestras de plasma con EDTA se almacenaron en un congelador a -80 °C antes del análisis. Antes de la preparación, las muestras congeladas se descongelaron lentamente a +4°C durante la noche y luego se mezclaron suavemente y se centrifugaron (3 min, 3400´g, +4°C) para eliminar el posible precipitado. Se transfirieron alícuotas de cada muestra a tubos de RMN de 3 mm de diámetro exterior y se mezclaron en una proporción de 1:1 con un tampón de fosfato (75 mM Na₂HPO₄ en 80 %/20 % H₂O/D₂O, pH 7,4, incluido también 0,08 % de sodio 3-(trimetilsilil) propionato-2,2,3,3-d₄ y azida sódica al 0,04 %) automáticamente con un manipulador de líquidos automatizado (estación de trabajo automatizada PerkinElmer Janus en Nightingale Health Laboratories; manipulador de líquidos automatizado Beckman-Coulter Biomek NX^{pen} en el laboratorio NDPH Wolfson) .

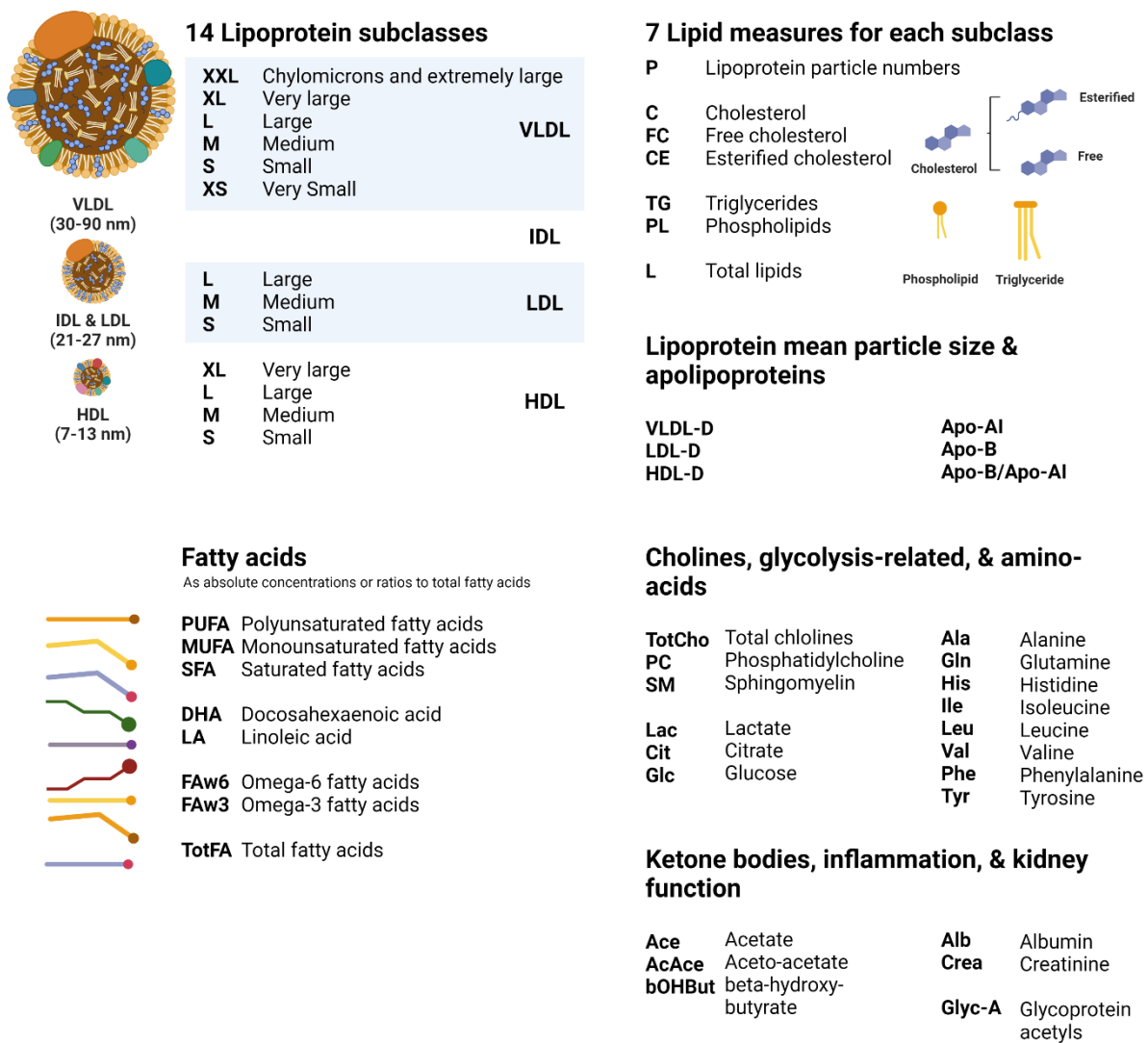


Figura 1: Mediciones metabólicas y de lípidos en plasma cuantificadas mediante espectroscopia de resonancia magnética nuclear (RMN)

Abreviaturas: Apo-A1, espolipoproteína A1; Apo B, espolipoproteína B; HDL, lipoproteína de alta densidad; HDL-D, diámetro de partícula de HDL; IDL, lipoproteína de densidad intermedia; LDL, lipoproteína de baja densidad; LDL-D, diámetro de partícula de LDL; VLDL, lipoproteína de muy baja densidad; VLDL-D, diámetro de partícula VLDL. Fuente: Aguilar-Ramírez, D., Herrington, WG, Alegre-Díaz, J. et al. Adiposidad y biomarcadores metabólicos y lipídicos medidos por RMN en 30 000 adultos mexicanos. *Commun Med* 2, 143 (2022). <https://doi.org/10.1038/s43856-022-00208-2>

Las muestras preparadas se mantuvieron en una gradilla de RMN de 96 posiciones y se cargaron en un cambiador de muestras refrigerado, que mantiene la temperatura de las muestras en espera de ser medidas a +6 °C. Se registraron dos espectros de RMN para cada muestra de plasma utilizando un espectrómetro de RMN de 500 MHz (Bruker AVANCE IIIHD) en Nightingale Health Laboratories y un espectrómetro de RMN de 600 MHz (Bruker AVANCE IIIHD) en el laboratorio NDPH Wolfson. El primer espectro es un espectro de RMN de protones presaturado, que presenta resonancias que surgen principalmente de proteínas y lípidos dentro de varias partículas de lipoproteínas. El otro espectro es

un espectro filtrado por relajación T2 en el que se suprimen la mayoría de las señales lipídicas de lipoproteínas y macromoléculas amplias, lo que conduce a una detección mejorada de metabolitos de bajo peso molecular. Se realizó un control de calidad automatizado de los datos espectrales. Los biomarcadores lipídicos y metabólicos se cuantificaron utilizando el software patentado de Nightingale Health.

Garantía de control de calidad

Se realizó un seguimiento del rendimiento en tiempo real de la consistencia de la medición. La primera y la última posición de las gradillas de RMN de 96 posiciones se designaron como muestras de control de calidad (QC) de alto y bajo nivel, respectivamente. Las muestras de control de calidad eran alícuotas de dos grupos de plasma humano con EDTA y se procesaron de forma idéntica a las otras muestras. Los objetivos del coeficiente de variación (CV) en ocho medidas metabólicas (colesterol HDL, colesterol LDL, colesterol total, triglicéridos totales, glucosa, Apo-A1, Apo-B y creatinina) se preespecificaron y rastrearon mediante gráficos de Levey-Jennings. Para la mayoría de los biomarcadores metabólicos, los CV están por debajo del 5 % . La plataforma de RMN automatizada tiene puntos de control de calidad múltiples y estandarizados tanto a nivel de placa como de lote. Una comparación entre laboratorios entre Nightingale Health Ltd y el Laboratorio Wolfson de CTSU (utilizando múltiples conjuntos de muestras en ambos laboratorios) demostró una buena concordancia.

Indicadores de datos de calidad

El software patentado de Nightingale Health integra procedimientos de calidad que verifican la calidad de la muestra al informar indicadores de datos de calidad que pueden indicar signos de problemas de degradación y contaminación. Las banderas de datos de calidad incluyen;

- Glucosa baja / piruvato alto / lactato alto
 - La concentración de glucosa circulante en una población está bastante bien definida con una probabilidad muy baja de que las muestras se desvíen, particularmente en el lado de la distribución de baja concentración. Sin embargo, si durante el proceso de recolección de muestras, la sangre se mantiene a temperatura ambiente (con las células), la glucosa se metabolizará a piruvato/lactato.
- Alcohol isopropílico
 - Señales de alcohol isopropílico detectadas. Impide la cuantificación de creatinina.
- Macromolécula anormal A
 - Señales de macromolécula(s)/proteína(s) anormal(es). Impide la cuantificación de fenilalanina, acetato, acetoacetato, glutamina y piruvato.
- Glutamina baja / glutamato alto
 - En estas muestras, la mayor parte de la glutamina parece haberse degradado en glutamato. Esto puede ocurrir, durante el proceso de recolección de la muestra, si la muestra se mantiene a temperatura ambiente durante un período de tiempo prolongado, hay múltiples ciclos de congelación y descongelación, o si hay condiciones oxidativas/oxidación en la muestra. En estas muestras no se cuantifica la glutamina.
- Bajo contenido de proteína

- En función de la distribución de la concentración de albúmina en grandes poblaciones, se etiqueta una muestra si se sospecha una posible dilución de la muestra.
- Etanol alto
 - En ocasiones, se pueden introducir pequeñas cantidades de etanol en la muestra a partir de los desinfectantes utilizados en el proceso de donación/recolección de sangre o durante los procedimientos de almacenamiento o preparación de la muestra; en estos casos, el glicerol y, a veces, el β -hidroxibutirato no se pueden cuantificar. También es bueno tener en cuenta que el alto contenido de alcohol en la muestra podría (metabólicamente artificialmente) aumentar la concentración de acetato.
- muestra diluida
 - Según la distribución de la concentración de albúmina en grandes poblaciones, se marca una muestra si se sospecha una posible dilución de la muestra. Esto también puede relacionarse con la degradación de la integridad de la muestra.

Información para el procesamiento y análisis de datos

metabolitos de RMN

De las 225 medidas proporcionadas por participante (Fig. 1, Apéndice), 128 son medidas directas y 97 derivadas (es decir, a través de algoritmos posteriores a la estimación). Muchas de las medidas directas tienen dependencias. Por ejemplo, los lípidos totales (L) en pequeñas (S) lipoproteínas de baja densidad (LDL) es la suma del colesterol libre y esterificado (FC y CE, respectivamente), los triglicéridos (TG) y los fosfolípidos (PL) dentro de esta subclase de lipoproteínas (es decir, $S\text{-LDL-L} = S\text{-LDL-FC} + S\text{-LDL-CE} + S\text{-LDL-TG} + S\text{-LDL-PL}$). Por otro lado, la mayoría de las medidas derivadas son cocientes entre dos medidas directas, que representan la proporción de un lípido de lipoproteína dado, como los triglicéridos en LDL pequeñas (es decir, $S\text{-LDL-TG}$), de la cantidad total de lípidos en la subclase de lipoproteína relevante (es decir, $S\text{-LDL-L}$). Como resultado de estas características, algunas medidas metabólicas se consideran varias veces dentro de la plataforma de biomarcadores de RMN. Por ejemplo, el colesterol esterificado en LDL pequeñas ($S\text{-LDL-CE}$) -una medida directa- también se considera dentro del colesterol en LDL pequeñas ($S\text{-LDL-C}$), dentro del colesterol en LDL (LDL-C), dentro de el colesterol total (CT), y dentro de la relación colesterol esterificado a lípidos totales en LDL pequeñas.

Entre las variables de metabolitos de RMN, los valores faltantes se denotan de la siguiente manera:

- Los valores cero (0) indican una concentración muy baja (es decir, por debajo del umbral de cuantificación de la plataforma y, por lo tanto, no necesariamente valores nulos verdaderos). Se sugiere (Nightingale Health) reemplazarlos con el valor más bajo observado distinto de cero de la medida de RMN relevante.
- No definido (codificado -1): el valor o la relación derivados no se pueden proporcionar debido a la baja concentración en las medidas originales
- Etiqueta (codificada -2): el valor no se puede cuantificar debido a la irregularidad detectada en la muestra, consulte la sección de indicadores de datos de calidad anterior
- No disponible (codificado -3): el valor fue rechazado por el control automático de calidad de la muestra y la medición

Participantes con/sin medidas metabólicas de RMN

Las muestras se procesaron en el orden en que se almacenaron en Oxford, siguiendo aproximadamente el patrón temporal en el que se reclutaron los participantes para el estudio. El reclutamiento del estudio comenzó en el distrito de Coyoacán y posteriormente se trasladó al distrito de Iztapalapa (el menos próspero de los dos distritos). En consecuencia, los participantes con datos de RMN disponibles en la primera publicación no son un subconjunto aleatorio de la población de estudio de MCPS, y es más probable que sean participantes de Coyoacán que de Iztapalapa. La edad media, el peso, la altura y el IMC no son diferentes entre estos participantes de MCPS con datos de RMN y sin ellos, pero hay algunas diferencias en otras características (probablemente asociadas con los diferentes perfiles sociodemográficos y de estilo de vida de los dos distritos).

Comparación con ensayos químicos

En general, los rasgos cuantificados en los participantes de MCPS por RMN son consistentes con las mediciones de los ensayos químicos estándar. Sin embargo, estas correlaciones son más bajas que las informadas de cohortes con poblaciones del norte de Europa, ² del Reino Unido, ^{3,4} y del este de Asia ⁵.

Los valores medios de colesterol total y LDL medidos por RMN son, en promedio, más bajos que los de los ensayos clínicos. Nightingale Health Plc indica que un sesgo del software relacionado con el volumen de la muestra de la cuantificación de biomarcadores en la versión 2016 (las muestras de MCPS eran de 100 uL en lugar de los 350 uL que se usaban convencionalmente para las mediciones de RMN en la mayoría de las cohortes previamente analizadas) es la razón principal de esta discrepancia. Sin embargo, dado que estos rasgos representan principalmente un riesgo continuo en lugar de un límite, las variables de escala (por ejemplo, a unidades de desviación estándar) permiten evaluaciones epidemiológicas apropiadas. La segunda publicación de datos de metabolitos de RMN, en todas las muestras del estudio y prevista para mediados de 2023, se basará en un algoritmo de cuantificación actualizado, versión 2020, que no tiene este sesgo.

Desde una perspectiva epidemiológica, la consistencia de las asociaciones entre biomarcadores y enfermedad es tan relevante como la consistencia analítica en concentraciones absolutas. ^{3,6}

Duración del ayuno

Los análisis iniciales de estos datos muestran una variación en los niveles de múltiples metabolitos según la duración del ayuno. Cada vez se acepta más que el muestreo sin ayuno es aceptable, si no preferible, para estudios epidemiológicos, ya que es más representativo de los niveles habituales de tales biomarcadores que las medidas en ayunas. ⁷

Lote

El número de lote va del 1 al 8, donde los lotes 1 a 7 se analizaron en Nightingale Health Ltd (Finlandia) y el lote 8 en NDPH (Oxford). Cada lote comprendía ~5000 muestras. La plataforma de creación de perfiles de biomarcadores es conocida por su alta repetibilidad en el tiempo y la ausencia de efectos por lotes. No obstante, los investigadores pueden desear considerar realizar análisis de sensibilidad para explorar esto.

Bibliografía

1. 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;8(1):192-206.
2. Vehtari A, Mäkinen V-P, Soininen P, Ingman P, Mäkelä SM, Savolainen MJ, et al. A novel Bayesian approach to quantify clinical variables and to determine their spectroscopic counterparts in 1H NMR metabolomic data. *BMC Bioinformatics*. 2007 May;8(S2):S8.
3. Würtz P, Kangas AJ, Soininen P, Lawlor DA, Davey Smith G, Ala-Korpela M. Quantitative Serum Nuclear Magnetic Resonance Metabolomics in Large-Scale Epidemiology: A Primer on -Omic Technologies. *American Journal of Epidemiology*. 2017 Nov 1;186(9):1084–96.
4. Fraser A, Macdonald-Wallis C, Tilling K, Boyd A, Golding J, Davey Smith G, et al. Cohort Profile: The Avon Longitudinal Study of Parents and Children: ALSPAC mothers cohort. *International Journal of Epidemiology*. 2013 Feb 1;42(1):97–110.
5. Holmes MV, Millwood IY, Kartsonaki C, Hill MR, Bennett DA, Boxall R, et al. Lipids, Lipoproteins, and Metabolites and Risk of Myocardial Infarction and Stroke. *Journal of the American College of Cardiology*. 2018 Feb;71(6):620–32.
6. Balling M, Langsted A, Afzal S, Varbo A, Davey Smith G, Nordestgaard BG. A third of nonfasting plasma cholesterol is in remnant lipoproteins: Lipoprotein subclass profiling in 9293 individuals. *Atherosclerosis*. 2019 Jul;286:97–104.
7. Nordestgaard BG. A Test in Context: Lipid Profile, Fasting Versus Nonfasting. *Journal of the American College of Cardiology*. 2017 Sep;70(13):1637–46.

Apéndice – lista de biomarcadores por RMN disponibles en los datos

Variable	Nombre de biomarcador	Unidades	Figura 1*
XXL-VLDL-P	Concentration of chylomicrons and extremely large VLDL particles	mol/l	Y
XXL-VLDL-L	Total lipids in chylomicrons and extremely large VLDL	mmol/l	Y
XXL-VLDL-PL	Phospholipids in chylomicrons and extremely large VLDL	mmol/l	Y
XXL-VLDL-C	Total cholesterol in chylomicrons and extremely large VLDL	mmol/l	Y
XXL-VLDL-CE	Cholesterol esters in chylomicrons and extremely large VLDL	mmol/l	Y
XXL-VLDL-FC	Free cholesterol in chylomicrons and extremely large VLDL	mmol/l	Y
XXL-VLDL-TG	Triglycerides in chylomicrons and extremely large VLDL	mmol/l	Y
XL-VLDL-P	Concentration of very large VLDL particles	mol/l	Y
XL-VLDL-L	Total lipids in very large VLDL	mmol/l	Y
XL-VLDL-PL	Phospholipids in very large VLDL	mmol/l	Y
XL-VLDL-C	Total cholesterol in very large VLDL	mmol/l	Y
XL-VLDL-CE	Cholesterol esters in very large VLDL	mmol/l	Y
XL-VLDL-FC	Free cholesterol in very large VLDL	mmol/l	Y
XL-VLDL-TG	Triglycerides in very large VLDL	mmol/l	Y
L-VLDL-P	Concentration of large VLDL particles	mol/l	Y
L-VLDL-L	Total lipids in large VLDL	mmol/l	Y
L-VLDL-PL	Phospholipids in large VLDL	mmol/l	Y
L-VLDL-C	Total cholesterol in large VLDL	mmol/l	Y
L-VLDL-CE	Cholesterol esters in large VLDL	mmol/l	Y
L-VLDL-FC	Free cholesterol in large VLDL	mmol/l	Y
L-VLDL-TG	Triglycerides in large VLDL	mmol/l	Y
M-VLDL-P	Concentration of medium VLDL particles	mol/l	Y
M-VLDL-L	Total lipids in medium VLDL	mmol/l	Y
M-VLDL-PL	Phospholipids in medium VLDL	mmol/l	Y
M-VLDL-C	Total cholesterol in medium VLDL	mmol/l	Y
M-VLDL-CE	Cholesterol esters in medium VLDL	mmol/l	Y
M-VLDL-FC	Free cholesterol in medium VLDL	mmol/l	Y
M-VLDL-TG	Triglycerides in medium VLDL	mmol/l	Y
S-VLDL-P	Concentration of small VLDL particles	mol/l	Y
S-VLDL-L	Total lipids in small VLDL	mmol/l	Y
S-VLDL-PL	Phospholipids in small VLDL	mmol/l	Y
S-VLDL-C	Total cholesterol in small VLDL	mmol/l	Y
S-VLDL-CE	Cholesterol esters in small VLDL	mmol/l	Y
S-VLDL-FC	Free cholesterol in small VLDL	mmol/l	Y
S-VLDL-TG	Triglycerides in small VLDL	mmol/l	Y
XS-VLDL-P	Concentration of very small VLDL particles	mol/l	Y
XS-VLDL-L	Total lipids in very small VLDL	mmol/l	Y
XS-VLDL-PL	Phospholipids in very small VLDL	mmol/l	Y
XS-VLDL-C	Total cholesterol in very small VLDL	mmol/l	Y
XS-VLDL-CE	Cholesterol esters in very small VLDL	mmol/l	Y
XS-VLDL-FC	Free cholesterol in very small VLDL	mmol/l	Y
XS-VLDL-TG	Triglycerides in very small VLDL	mmol/l	Y
IDL-P	Concentration of IDL particles	mol/l	Y
IDL-L	Total lipids in IDL	mmol/l	Y
IDL-PL	Phospholipids in IDL	mmol/l	Y
IDL-C	Total cholesterol in IDL	mmol/l	Y
IDL-CE	Cholesterol esters in IDL	mmol/l	Y
IDL-FC	Free cholesterol in IDL	mmol/l	Y
IDL-TG	Triglycerides in IDL	mmol/l	Y
L-LDL-P	Concentration of large LDL particles	mol/l	Y
L-LDL-L	Total lipids in large LDL	mmol/l	Y
L-LDL-PL	Phospholipids in large LDL	mmol/l	Y
L-LDL-C	Total cholesterol in large LDL	mmol/l	Y

Variable	Nombre de biomarcador	Unidades	Figura 1*
L-LDL-CE	Cholesterol esters in large LDL	mmol/l	Y
L-LDL-FC	Free cholesterol in large LDL	mmol/l	Y
L-LDL-TG	Triglycerides in large LDL	mmol/l	Y
M-LDL-P	Concentration of medium LDL particles	mol/l	Y
M-LDL-L	Total lipids in medium LDL	mmol/l	Y
M-LDL-PL	Phospholipids in medium LDL	mmol/l	Y
M-LDL-C	Total cholesterol in medium LDL	mmol/l	Y
M-LDL-CE	Cholesterol esters in medium LDL	mmol/l	Y
M-LDL-FC	Free cholesterol in medium LDL	mmol/l	Y
M-LDL-TG	Triglycerides in medium LDL	mmol/l	Y
S-LDL-P	Concentration of small LDL particles	mol/l	Y
S-LDL-L	Total lipids in small LDL	mmol/l	Y
S-LDL-PL	Phospholipids in small LDL	mmol/l	Y
S-LDL-C	Total cholesterol in small LDL	mmol/l	Y
S-LDL-CE	Cholesterol esters in small LDL	mmol/l	Y
S-LDL-FC	Free cholesterol in small LDL	mmol/l	Y
S-LDL-TG	Triglycerides in small LDL	mmol/l	Y
XL-HDL-P	Concentration of very large HDL particles	mol/l	Y
XL-HDL-L	Total lipids in very large HDL	mmol/l	Y
XL-HDL-PL	Phospholipids in very large HDL	mmol/l	Y
XL-HDL-C	Total cholesterol in very large HDL	mmol/l	Y
XL-HDL-CE	Cholesterol esters in very large HDL	mmol/l	Y
XL-HDL-FC	Free cholesterol in very large HDL	mmol/l	Y
XL-HDL-TG	Triglycerides in very large HDL	mmol/l	Y
L-HDL-P	Concentration of large HDL particles	mol/l	Y
L-HDL-L	Total lipids in large HDL	mmol/l	Y
L-HDL-PL	Phospholipids in large HDL	mmol/l	Y
L-HDL-C	Total cholesterol in large HDL	mmol/l	Y
L-HDL-CE	Cholesterol esters in large HDL	mmol/l	Y
L-HDL-FC	Free cholesterol in large HDL	mmol/l	Y
L-HDL-TG	Triglycerides in large HDL	mmol/l	Y
M-HDL-P	Concentration of medium HDL particles	mol/l	Y
M-HDL-L	Total lipids in medium HDL	mmol/l	Y
M-HDL-PL	Phospholipids in medium HDL	mmol/l	Y
M-HDL-C	Total cholesterol in medium HDL	mmol/l	Y
M-HDL-CE	Cholesterol esters in medium HDL	mmol/l	Y
M-HDL-FC	Free cholesterol in medium HDL	mmol/l	Y
M-HDL-TG	Triglycerides in medium HDL	mmol/l	Y
S-HDL-P	Concentration of small HDL particles	mol/l	Y
S-HDL-L	Total lipids in small HDL	mmol/l	Y
S-HDL-PL	Phospholipids in small HDL	mmol/l	Y
S-HDL-C	Total cholesterol in small HDL	mmol/l	Y
S-HDL-CE	Cholesterol esters in small HDL	mmol/l	Y
S-HDL-FC	Free cholesterol in small HDL	mmol/l	Y
S-HDL-TG	Triglycerides in small HDL	mmol/l	Y
XXL-VLDL-PL_%	Phospholipids to total lipids ratio in chylomicrons and extremely large VLDL	%	N
XXL-VLDL-C_%	Total cholesterol to total lipids ratio in chylomicrons and extremely large VLDL	%	N
XXL-VLDL-CE_%	Cholesterol esters to total lipids ratio in chylomicrons and extremely large VLDL	%	N
XXL-VLDL-FC_%	Free cholesterol to total lipids ratio in chylomicrons and extremely large VLDL	%	N
XXL-VLDL-TG_%	Triglycerides to total lipids ratio in chylomicrons and extremely large VLDL	%	N
XL-VLDL-PL_%	Phospholipids to total lipids ratio in very large VLDL	%	N
XL-VLDL-C_%	Total cholesterol to total lipids ratio in very large VLDL	%	N
XL-VLDL-CE_%	Cholesterol esters to total lipids ratio in very large VLDL	%	N
XL-VLDL-FC_%	Free cholesterol to total lipids ratio in very large VLDL	%	N
XL-VLDL-TG_%	Triglycerides to total lipids ratio in very large VLDL	%	N

Variable	Nombre de biomarcador	Unidades	Figura 1*
L-VLDL-PL_%	Phospholipids to total lipids ratio in large VLDL	%	N
L-VLDL-C_%	Total cholesterol to total lipids ratio in large VLDL	%	N
L-VLDL-CE_%	Cholesterol esters to total lipids ratio in large VLDL	%	N
L-VLDL-FC_%	Free cholesterol to total lipids ratio in large VLDL	%	N
L-VLDL-TG_%	Triglycerides to total lipids ratio in large VLDL	%	N
M-VLDL-PL_%	Phospholipids to total lipids ratio in medium VLDL	%	N
M-VLDL-C_%	Total cholesterol to total lipids ratio in medium VLDL	%	N
M-VLDL-CE_%	Cholesterol esters to total lipids ratio in medium VLDL	%	N
M-VLDL-FC_%	Free cholesterol to total lipids ratio in medium VLDL	%	N
M-VLDL-TG_%	Triglycerides to total lipids ratio in medium VLDL	%	N
S-VLDL-PL_%	Phospholipids to total lipids ratio in small VLDL	%	N
S-VLDL-C_%	Total cholesterol to total lipids ratio in small VLDL	%	N
S-VLDL-CE_%	Cholesterol esters to total lipids ratio in small VLDL	%	N
S-VLDL-FC_%	Free cholesterol to total lipids ratio in small VLDL	%	N
S-VLDL-TG_%	Triglycerides to total lipids ratio in small VLDL	%	N
XS-VLDL-PL_%	Phospholipids to total lipids ratio in very small VLDL	%	N
XS-VLDL-C_%	Total cholesterol to total lipids ratio in very small VLDL	%	N
XS-VLDL-CE_%	Cholesterol esters to total lipids ratio in very small VLDL	%	N
XS-VLDL-FC_%	Free cholesterol to total lipids ratio in very small VLDL	%	N
XS-VLDL-TG_%	Triglycerides to total lipids ratio in very small VLDL	%	N
IDL-PL_%	Phospholipids to total lipids ratio in IDL	%	N
IDL-C_%	Total cholesterol to total lipids ratio in IDL	%	N
IDL-CE_%	Cholesterol esters to total lipids ratio in IDL	%	N
IDL-FC_%	Free cholesterol to total lipids ratio in IDL	%	N
IDL-TG_%	Triglycerides to total lipids ratio in IDL	%	N
L-LDL-PL_%	Phospholipids to total lipids ratio in large LDL	%	N
L-LDL-C_%	Total cholesterol to total lipids ratio in large LDL	%	N
L-LDL-CE_%	Cholesterol esters to total lipids ratio in large LDL	%	N
L-LDL-FC_%	Free cholesterol to total lipids ratio in large LDL	%	N
L-LDL-TG_%	Triglycerides to total lipids ratio in large LDL	%	N
M-LDL-PL_%	Phospholipids to total lipids ratio in medium LDL	%	N
M-LDL-C_%	Total cholesterol to total lipids ratio in medium LDL	%	N
M-LDL-CE_%	Cholesterol esters to total lipids ratio in medium LDL	%	N
M-LDL-FC_%	Free cholesterol to total lipids ratio in medium LDL	%	N
M-LDL-TG_%	Triglycerides to total lipids ratio in medium LDL	%	N
S-LDL-PL_%	Phospholipids to total lipids ratio in small LDL	%	N
S-LDL-C_%	Total cholesterol to total lipids ratio in small LDL	%	N
S-LDL-CE_%	Cholesterol esters to total lipids ratio in small LDL	%	N
S-LDL-FC_%	Free cholesterol to total lipids ratio in small LDL	%	N
S-LDL-TG_%	Triglycerides to total lipids ratio in small LDL	%	N
XL-HDL-PL_%	Phospholipids to total lipids ratio in very large HDL	%	N
XL-HDL-C_%	Total cholesterol to total lipids ratio in very large HDL	%	N
XL-HDL-CE_%	Cholesterol esters to total lipids ratio in very large HDL	%	N
XL-HDL-FC_%	Free cholesterol to total lipids ratio in very large HDL	%	N
XL-HDL-TG_%	Triglycerides to total lipids ratio in very large HDL	%	N
L-HDL-PL_%	Phospholipids to total lipids ratio in large HDL	%	N
L-HDL-C_%	Total cholesterol to total lipids ratio in large HDL	%	N
L-HDL-CE_%	Cholesterol esters to total lipids ratio in large HDL	%	N
L-HDL-FC_%	Free cholesterol to total lipids ratio in large HDL	%	N
L-HDL-TG_%	Triglycerides to total lipids ratio in large HDL	%	N
M-HDL-PL_%	Phospholipids to total lipids ratio in medium HDL	%	N
M-HDL-C_%	Total cholesterol to total lipids ratio in medium HDL	%	N
M-HDL-CE_%	Cholesterol esters to total lipids ratio in medium HDL	%	N
M-HDL-FC_%	Free cholesterol to total lipids ratio in medium HDL	%	N
M-HDL-TG_%	Triglycerides to total lipids ratio in medium HDL	%	N

Variable	Nombre de biomarcador	Unidades	Figura 1*
S-HDL-PL_%	Phospholipids to total lipids ratio in small HDL	%	N
S-HDL-C_%	Total cholesterol to total lipids ratio in small HDL	%	N
S-HDL-CE_%	Cholesterol esters to total lipids ratio in small HDL	%	N
S-HDL-FC_%	Free cholesterol to total lipids ratio in small HDL	%	N
S-HDL-TG_%	Triglycerides to total lipids ratio in small HDL	%	N
VLDL-D	Mean diameter for VLDL particles	nm	Y
LDL-D	Mean diameter for LDL particles	nm	Y
HDL-D	Mean diameter for HDL particles	nm	Y
Serum-C	Serum total cholesterol	mmol/l	N
VLDL-C	Total cholesterol in VLDL	mmol/l	N
Remnant-C	Remnant cholesterol	mmol/l	N
LDL-C	Total cholesterol in LDL	mmol/l	N
HDL-C	Total cholesterol in HDL	mmol/l	N
HDL2-C	Total cholesterol in HDL2	mmol/l	N
HDL3-C	Total cholesterol in HDL3	mmol/l	N
EstC	Esterified cholesterol	mmol/l	N
FreeC	Free cholesterol	mmol/l	N
Serum-TG	Serum total triglycerides	mmol/l	N
VLDL-TG	Triglycerides in VLDL	mmol/l	N
LDL-TG	Triglycerides in LDL	mmol/l	N
HDL-TG	Triglycerides in HDL	mmol/l	N
TotPG	Total phosphoglycerides	mmol/l	N
TG/PG	Ratio of triglycerides to phosphoglycerides		N
PC	Phosphatidylcholine and other cholines	mmol/l	Y
SM	Sphingomyelins	mmol/l	Y
TotCho	Total cholines	mmol/l	Y
ApoA1	Apolipoprotein A-I	g/l	Y
ApoB	Apolipoprotein B	g/l	Y
ApoB/ApoA1	Ratio of apolipoprotein B to apolipoprotein A-I		Y
TotFA	Total fatty acids	mmol/l	Y
UnSat	Estimated degree of unsaturation		Y
DHA	22:6, docosahexaenoic acid	mmol/l	Y
LA	18:2, linoleic acid	mmol/l	Y
FAw3	Omega-3 fatty acids	mmol/l	Y
FAw6	Omega-6 fatty acids	mmol/l	Y
PUFA	Polyunsaturated fatty acids	mmol/l	Y
MUFA	Monounsaturated fatty acids; 16:1, 18:1	mmol/l	Y
SFA	Saturated fatty acids	mmol/l	Y
DHA/FA	Ratio of 22:6 docosahexaenoic acid to total fatty acids	%	Y
LA/FA	Ratio of 18:2 linoleic acid to total fatty acids	%	Y
FAw3/FA	Ratio of omega-3 fatty acids to total fatty acids	%	Y
FAw6/FA	Ratio of omega-6 fatty acids to total fatty acids	%	Y
PUFA/FA	Ratio of polyunsaturated fatty acids to total fatty acids	%	Y
MUFA/FA	Ratio of monounsaturated fatty acids to total fatty acids	%	Y
SFA/FA	Ratio of saturated fatty acids to total fatty acids	%	Y
Glc	Glucose	mmol/l	Y
Lac	Lactate	mmol/l	Y
Cit	Citrate	mmol/l	Y
Ala	Alanine	mmol/l	Y
Gln	Glutamine	mmol/l	Y
His	Histidine	mmol/l	Y
Ile	Isoleucine	mmol/l	Y
Leu	Leucine	mmol/l	Y
Val	Valine	mmol/l	Y
Phe	Phenylalanine	mmol/l	Y

Variable	Nombre de biomarcador	Unidades	Figura 1*
Tyr	Tyrosine	mmol/l	Y
Ace	Acetate	mmol/l	Y
AcAce	Acetoacetate	mmol/l	Y
bOHBut	3-hydroxybutyrate	mmol/l	Y
Crea	Creatinine	mmol/l	Y
Alb	Albumin	signal area	Y
Gp	Glycoprotein acetyls, mainly a1-acid glycoprotein	mmol/l	Y

*Indica si el biomarcador esta representado en la Figura 1.