

PEC 1 Análisis metabolómico de pacientes caquéticos

Irene de Diego Tamayo

2024-11-03

Contents

Introducción	1
Objetivos	1
Materiales y métodos	2
Exploración de los datos e interpretación	2
1. Cargado de los datos y creación del SummarizedExperiment	2
2. Análisis exploratorio básico	4
3. Análisis de componentes principales	9
4. Análisis de expresión diferencial	11
Conclusiones	12

Introducción

La caquexia es un síndrome que se caracteriza por la pérdida continua de peso, incluyendo masa muscular esquelética, grasa y hueso, que conyeve serias deficiencias nutricionales, pérdida de apetito y extrema debilidad. Esta condición se desarrolla con frecuencia en personas con enfermedades crónicas como el cáncer, infecciones, cardiovasculares y otras enfermedades graves.

En la caquexia, la pérdida de masa muscular se produce debido a un constante estado catabólico, pérdida del apetito y aumento de la inflamación. Es muy común que, ante la falta de nutrientes esenciales, el cuerpo entre en estado de cetosis.

En el presente trabajo se realiza una exploración superficial de los datos obtenidos del dataset *human.cachexia*, un estudio metabolómico que compara pacientes caquéticos con un grupo control. El análisis exploratorio constará de un análisis superficial de la distribución de los datos, seguido por un análisis de componentes principales y un análisis de expresión diferencial.

Objetivos

- Realizar una primera exploración de los datos
- Comprobar si existen diferencias en los metabolitos de pacientes caquéticos vs grupo control.

Materiales y métodos

El dataset se descargó del repositorio de github: [nutrimetabolomics](#) con el nombre *2024-Cachexia*.

El análisis exploratorio se realizó con R-studio. Los paquetes utilizados se detallan a continuación:

- Bioconductor (Biobase)
- SummarizedExperiment
- Tidyverse
- Pheatmap
- Ggplot2
- Limma

El documento de R-Markdown contiene las instrucciones necesarias para instalar estos paquetes de forma automática.

Todos los archivos necesarios para realizar el presente trabajo pueden encontrarse en el repositorio de github: [DE_DIEGO-Tamayo-Irene-PEC1](#).

Exploración de los datos e interpretación

Cargamos los paquetes necesarios:

```
library(Biobase)
library(SummarizedExperiment)
library(tidyverse)
library(pheatmap)
library(ggplot2)
library(limma)
```

1. Cargado de los datos y creación del SummarizedExperiment

```
cac <- read.csv("human_cachexia.csv")
```

Primera exploración de los datos:

```
str(cac)
```

```
## 'data.frame':   77 obs. of  65 variables:
## $ Patient.ID      : chr  "PIF_178" "PIF_087" "PIF_090" "NETL_005_V1" ...
## $ Muscle.loss      : chr  "cachexic" "cachexic" "cachexic" "cachexic" ...
## $ X1.6.Anhydro.beta.D.glucose: num  40.9 62.2 270.4 154.5 22.2 ...
## $ X1.Methylnicotinamide : num  65.4 340.4 64.7 53 73.7 ...
## $ X2.Aminobutyrate   : num  18.7 24.3 12.2 172.4 15.6 ...
## $ X2.Hydroxyisobutyrate : num  26.1 41.7 65.4 74.4 83.9 ...
## $ X2.Oxoglutarate    : num  71.5 67.4 23.8 1199.9 33.1 ...
## $ X3.Aminoisobutyrate : num  1480.3 116.8 14.3 555.6 29.7 ...
## $ X3.Hydroxybutyrate  : num  56.83 43.82 5.64 175.91 76.71 ...
## $ X3.Hydroxyisovalerate : num  10.1 79.8 23.3 25 69.4 ...
```

## \$ X3.Indoxylsulfate	: num	567 369 665 412 166 ...
## \$ X4.Hydroxyphenylacetate	: num	120.3 432.7 292.9 214.9 97.5 ...
## \$ Acetate	: num	126.5 212.7 314.2 37.3 407.5 ...
## \$ Acetone	: num	9.49 11.82 4.44 206.44 44.26 ...
## \$ Adipate	: num	38.1 327 131.6 144 15 ...
## \$ Alanine	: num	314 871 464 590 1119 ...
## \$ Asparagine	: num	159.2 157.6 89.1 273.1 42.5 ...
## \$ Betaine	: num	110 245 117 279 392 ...
## \$ Carnitine	: num	265.1 120.3 25 200.3 84.8 ...
## \$ Citrate	: num	3714 2618 863 13630 854 ...
## \$ Creatine	: num	196.4 212.7 221.4 85.6 105.6 ...
## \$ Creatinine	: num	16482 15835 24588 20952 6768 ...
## \$ Dimethylamine	: num	633 608 735 1064 242 ...
## \$ Ethanolamine	: num	645 488 407 821 365 ...
## \$ Formate	: num	441 252 250 469 114 ...
## \$ Fucose	: num	337 198.3 186.8 407.5 26.1 ...
## \$ Fumarate	: num	7.69 18.92 7.1 96.54 19.69 ...
## \$ Glucose	: num	395 8691 1353 863 6836 ...
## \$ Glutamine	: num	871 602 302 1686 433 ...
## \$ Glycine	: num	2039 1108 620 5064 395 ...
## \$ Glycolate	: num	685.4 652 141.2 70.8 26.6 ...
## \$ Guanidoacetate	: num	154 110 183 103 53 ...
## \$ Hippurate	: num	4582 1737 4316 757 1153 ...
## \$ Histidine	: num	925 846 284 1043 327 ...
## \$ Hypoxanthine	: num	97.5 82.3 114.4 223.6 66.7 ...
## \$ Isoleucine	: num	5.58 8.17 9.3 37.71 40.04 ...
## \$ Lactate	: num	107 369 750 369 3641 ...
## \$ Leucine	: num	42.1 77.5 31.5 103.5 101.5 ...
## \$ Lysine	: num	146.9 284.3 97.5 290 122.7 ...
## \$ Methylamine	: num	52.5 23.6 18.7 48.9 27.9 ...
## \$ Methylguanidine	: num	9.97 7.69 4.66 141.17 5.31 ...
## \$ N.N.Dimethylglycine	: num	23.3 87.4 24.5 40 46.1 ...
## \$ O.Acetylcarnitine	: num	52.98 50.4 5.58 254.68 45.6 ...
## \$ Pantothenate	: num	25.8 186.8 145.5 42.5 74.4 ...
## \$ Pyroglutamate	: num	437 437 713 567 185 ...
## \$ Pyruvate	: num	21.1 37 29.4 64.1 12.3 ...
## \$ Quinolate	: num	165.7 73 192.5 86.5 38.1 ...
## \$ Serine	: num	284 392 296 1249 206 ...
## \$ Succinate	: num	154.5 244.7 142.6 144 68.7 ...
## \$ Sucrose	: num	45.1 459.4 160.8 111 75.2 ...
## \$ Tartrate	: num	97.51 32.79 16.28 837.15 4.53 ...
## \$ Taurine	: num	1920 1261 4273 1525 469 ...
## \$ Threonine	: num	184.9 198.3 110 376.1 64.1 ...
## \$ Trigonelline	: num	943.9 208.5 192.5 992.3 86.5 ...
## \$ Trimethylamine.N.oxide	: num	2122 639 1153 1451 172 ...
## \$ Tryptophan	: num	259.8 83.1 82.3 235.1 103.5 ...
## \$ Tyrosine	: num	290 167.3 60.3 323.8 142.6 ...
## \$ Uracil	: num	111 47 31.5 30.6 44.3 ...
## \$ Valine	: num	86.5 110 59.1 102.5 160.8 ...
## \$ Xylose	: num	72.2 192.5 2164.6 125.2 186.8 ...
## \$ cis.Aconitate	: num	237 334 330 1863 101 ...
## \$ myo.Inositol	: num	135.6 376.1 86.5 247.2 750 ...
## \$ trans.Aconitate	: num	51.9 217 58.6 75.9 98.5 ...
## \$ pi.Methylhistidine	: num	157.6 308 145.5 249.6 84.8 ...

```
## $ tau.Methylhistidine      : num  160.8 130.3 83.9 254.7 79.8 ...
```

El archivo contiene 77 observaciones y 65 variables, de las cuales 2 corresponden a metadatos:

- *Patient.ID*: número de identificación del paciente
- *Muscle.Loss*: variable que segrega a los pacientes en dos grupos: “cachexic” y “control”

La variable *Muscle.Loss* debería ser de tipo factor pero está mal caracterizada como tipo caracter, así que la transformamos:

```
cac$Muscle.loss <- as.factor(cac$Muscle.loss)
```

Creación del objeto SummarizedExperiment

Para crear un objeto `SummarizedExperiment`, primero debemos extraer los datos de expresión en una matriz (*assay*) y los metadatos en otra (*colData*).

Comenzamos por la matriz de datos (excluyendo los metadatos “*Patient.ID*” y “*Muscle.Loss*”):

```
datos <- as.matrix(cac[, -c(1, 2)])
rownames(datos) <- cac$Patient.ID
datos <- t(datos) # transponemos la matriz
```

A continuación, creamos la matriz *colData* con los metadatos:

```
col_data <- DataFrame(Patient_ID = cac$Patient.ID,
                      Muscle_loss = cac$Muscle.loss)
rownames(col_data) <- cac$Patient.ID
```

Finalmente, creamos el objeto `SummarizedExperiment` usando *col_data* y la matriz *datos*

```
# Creamos el objeto SummarizedExperiment
se <- SummarizedExperiment(
  assays = list(metabolites = datos),
  colData = col_data
)
se
```

```
## class: SummarizedExperiment
## dim: 63 77
## metadata(0):
## assays(1): metabolites
## rownames(63): X1.6.Anhydro.beta.D.glucose X1.Methylnicotinamide ...
##   pi.Methylhistidine tau.Methylhistidine
## rowData names(0):
## colnames(77): PIF_178 PIF_087 ... NETL_003_V1 NETL_003_V2
## colData names(2): Patient_ID Muscle_loss
```

2. Análisis exploratorio básico

Antes de nada, comprobamos si existen valores faltantes (*missing values*):

```
sum(is.na(assay(se)))
```

```
## [1] 0
```

No hay ningún valor faltante, así que procedemos con el análisis exploratorio. Primero, observamos la distribución de muestras en cada grupo:

```
table(colData(se)$Muscle_loss)
```

```
##
## cachexic control
##      47      30
```

Cálculo de estadísticos básicos:

```
met_stats <- data.frame(
  Mean = rowMeans(datos),
  SD = apply(datos, 1, sd),
  Median = apply(datos, 1, median),
  IQR = apply(datos, 1, IQR)
)

met_stats
```

##	Mean	SD	Median	IQR
## X1.6.Anhydro.beta.D.glucose	105.630390	130.025595	45.60	112.38
## X1.Methylnicotinamide	71.573636	133.192811	36.60	57.90
## X2.Aminobutyrate	18.159740	27.614526	10.49	14.23
## X2.Hydroxyisobutyrate	37.250649	23.956807	32.46	38.80
## X2.Oxoglutarate	145.087143	342.522174	55.15	70.34
## X3.Aminoisobutyrate	76.756364	191.014237	22.65	44.56
## X3.Hydroxybutyrate	21.717013	26.198904	11.70	23.97
## X3.Hydroxyisovalerate	21.647792	24.946091	12.55	25.01
## X3.Indoxylsulfate	218.879221	196.868730	144.03	251.35
## X4.Hydroxyphenylacetate	112.021039	120.812569	70.11	103.79
## Acetate	66.141429	79.212562	39.65	70.21
## Acetone	11.427013	23.460432	7.10	5.54
## Adipate	24.756364	50.426898	10.18	13.00
## Alanine	273.562338	256.985016	194.42	321.15
## Asparagine	62.283636	53.951507	42.10	68.63
## Betaine	90.324675	82.720360	64.72	98.95
## Carnitine	52.085065	73.944144	23.81	46.51
## Citrate	2235.345974	2166.567733	1790.05	2283.34
## Creatine	126.831948	273.216370	44.26	100.28
## Creatinine	8733.971818	6477.617261	7631.20	8834.39
## Dimethylamine	358.166104	307.822835	304.90	312.27
## Ethanolamine	276.260390	251.780477	204.38	320.99
## Formate	147.402987	187.181079	95.58	113.82
## Fucose	88.668831	80.658497	61.56	94.60
## Fumarate	8.440130	14.467064	4.10	5.62
## Glucose	559.844545	1386.940378	210.61	326.84

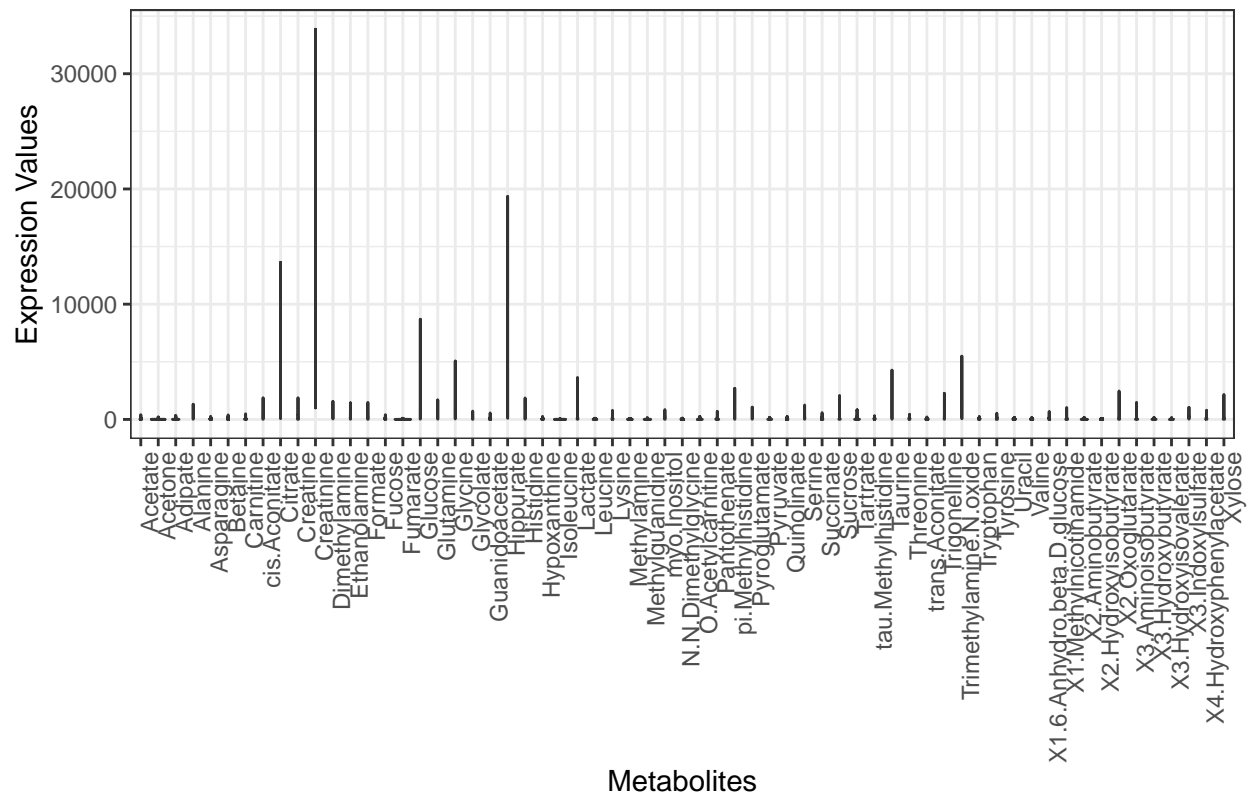
## Glutamine	306.871558	290.971907	225.88	332.56
## Glycine	880.717403	949.692892	528.48	834.20
## Glycolate	187.989351	180.423391	130.32	216.83
## Guanidoacetate	86.370519	83.095325	64.72	75.07
## Hippurate	2286.837662	2870.317404	1224.15	2429.18
## Histidine	292.637532	312.756874	174.16	353.20
## Hypoxanthine	61.097662	57.529792	40.04	63.23
## Isoleucine	8.709091	6.935195	7.17	7.35
## Lactate	158.456494	420.401343	81.45	104.25
## Leucine	24.363636	21.515644	19.11	22.07
## Lysine	108.794156	126.659344	69.41	91.24
## Methylamine	17.376234	13.915350	14.73	18.79
## Methylguanidine	15.324545	19.847857	7.85	15.04
## N.N.Dimethylglycine	26.349610	24.537583	21.98	33.01
## O.Acetylcarnitine	19.733377	34.334228	11.47	16.97
## Pantothenate	44.883766	86.770096	22.65	30.13
## Pyroglutamate	211.447792	190.947314	157.59	233.15
## Pyruvate	21.294416	25.970956	13.46	24.23
## Quinolate	66.439481	51.349700	51.42	60.78
## Serine	197.686883	185.787066	142.59	187.33
## Succinate	60.229091	85.155339	30.88	65.86
## Sucrose	113.227792	259.067629	40.85	75.33
## Tartrate	40.004026	103.482428	12.94	18.90
## Taurine	525.123506	673.848756	249.64	565.66
## Threonine	95.357403	87.097645	64.07	105.18
## Trigonelline	270.436104	398.086055	114.43	286.84
## Trimethylamine.N.oxide	652.156883	910.149632	383.75	559.19
## Tryptophan	66.243117	56.333318	46.99	75.21
## Tyrosine	81.757273	83.248486	60.34	89.73
## Uracil	35.557662	35.002894	27.39	32.32
## Valine	35.667013	29.697365	33.12	38.22
## Xylose	100.933377	250.216325	50.40	59.16
## cis.Aconitate	204.219740	278.141989	129.02	218.45
## myo.Inositol	135.397532	170.266474	78.26	137.07
## trans.Aconitate	40.630390	39.566754	26.84	44.97
## pi.Methylhistidine	370.288312	530.689300	162.39	320.25
## tau.Methylhistidine	89.686883	77.239064	68.72	102.93

Creemos un violin plot para visualizar la distribución de los datos de expresión:

```
metabol <- as.data.frame(datos) %>%
  rownames_to_column("Metabolite") %>%
  pivot_longer(-Metabolite, names_to = "Sample", values_to = "Value")

ggplot(metabol, aes(x = Metabolite, y = Value)) +
  geom_violin() +
  theme_bw() +
  theme(axis.text.x = element_text(angle = 90, hjust = 1)) +
  labs(title = "Distribution of Metabolite Values",
       x = "Metabolites",
       y = "Expression Values")
```

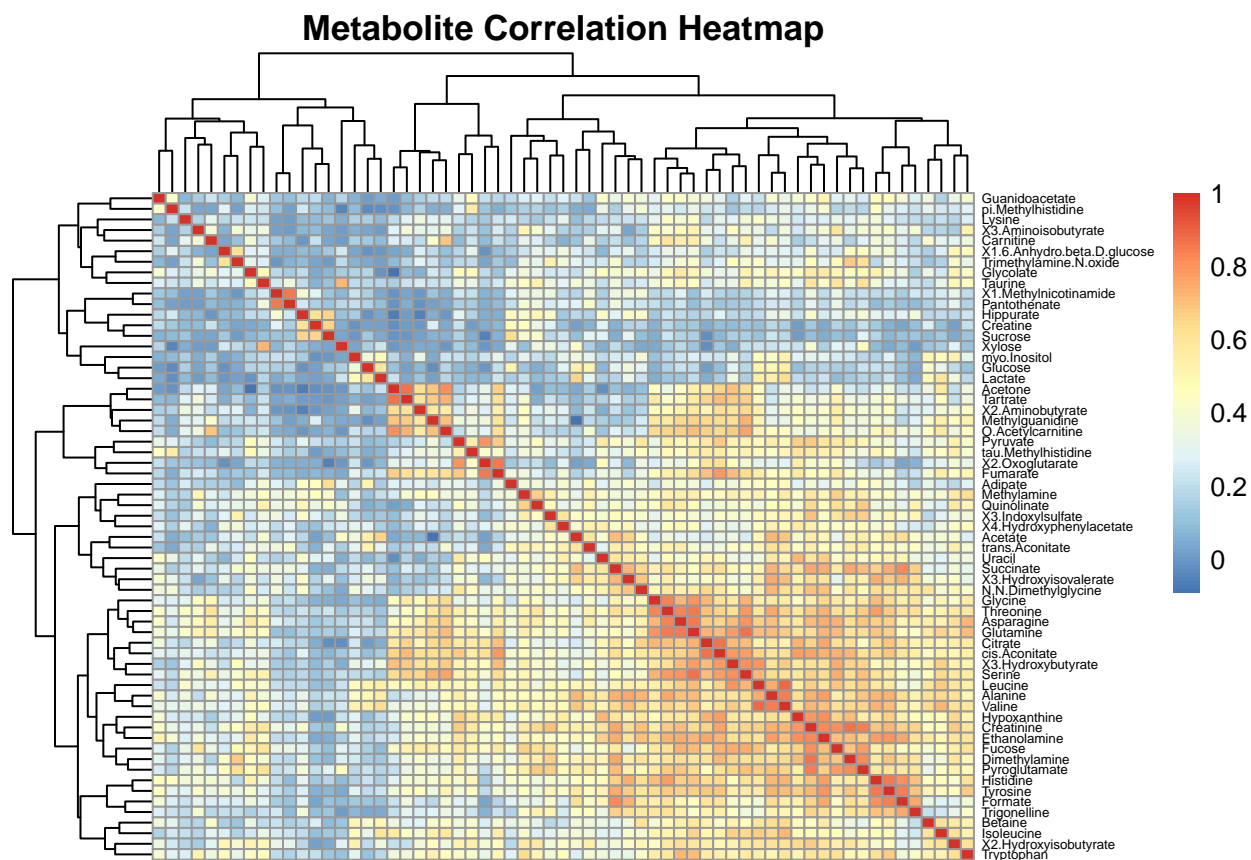
Distribution of Metabolite Values



En este gráfico, vemos los niveles de expresión de cada metabolito en el conjunto de muestras. Los metabolitos *Creatine*, *Guanidoacetate* y *cis.Aconitrato* son los que presentan un mayor nivel de expresión. No obstante, ello no nos da información sobre las diferencias en expresión entre cada grupo (veremos esto más adelante).

Cálculo y visualización de correlaciones:

```
cor_matrix <- cor(t(assay(se)))
pheatmap(cor_matrix,
  show_rownames = TRUE,
  show_colnames = FALSE,
  main = "Metabolite Correlation Heatmap",
  fontsize_row = 5)
```



En este gráfico vemos si existe correlación entre la expresión de ciertos metabolitos. El color rojo/naranja indica una alta correlación, por lo que son metabolitos que suelen co-expresarse.

Para tener una idea más clara de cuáles son los metabolitos con una mayor correlación, procedemos a generar una lista de las correlaciones más fuertes:

```
# Convertimos la matriz en un data frame
cor_df <- as.data.frame(as.table(cor_matrix))

# Filtramos las correlaciones de cada variable consigo misma (diagonal)
cor_df <- cor_df[cor_df$Var1 != cor_df$Var2, ]

# Ordenamos las correlaciones por nivel de magnitud
cor_df <- cor_df[order(-abs(cor_df$Freq)), ]

# Filtramos los duplicados eliminando todas las líneas pares
top_cor <- cor_df[seq(1, nrow(cor_df), by = 2), ]

# Seleccionamos las 10 correlaciones más fuertes
head(top_cor, 10)
```

##	Var1	Var2	Freq
## 2262	Valine	Leucine	0.8804148
## 1684	Serine	Glutamine	0.8674403
## 1130	cis.Aconitate	Citrate	0.8628231
## 1218	Dimethylamine	Creatinine	0.8623471


```
## 742      Tartrate      Acetone 0.8588489
## 277      Fumarate      X2.Oxoglutarate 0.8573558
## 2008     Tyrosine      Histidine 0.8572686
## 909      Glutamine     Asparagine 0.8556964
## 105      Pantothenate X1.Methylnicotinamide 0.8494645
## 1689     Threonine     Glutamine 0.8477669
```

3. Análisis de componentes principales

En este apartado procedemos a reducir la dimensionalidad de nuestros datos usando un análisis de componentes principales.

```
pca_result <- prcomp(t(assay(se)), scale. = TRUE)
```

Queremos ver qué componentes explican la mayor parte de la varianza en nuestros datos. Para ello, extraemos primero las varianzas explicadas por cada componente:

```
loads <- round(pca_result$sdev^2 / sum(pca_result$sdev^2) * 100, 1)
```

Y calculamos la varianza acumulada:

```
cumulative_var <- cumsum(loads)
cumulative_var
```

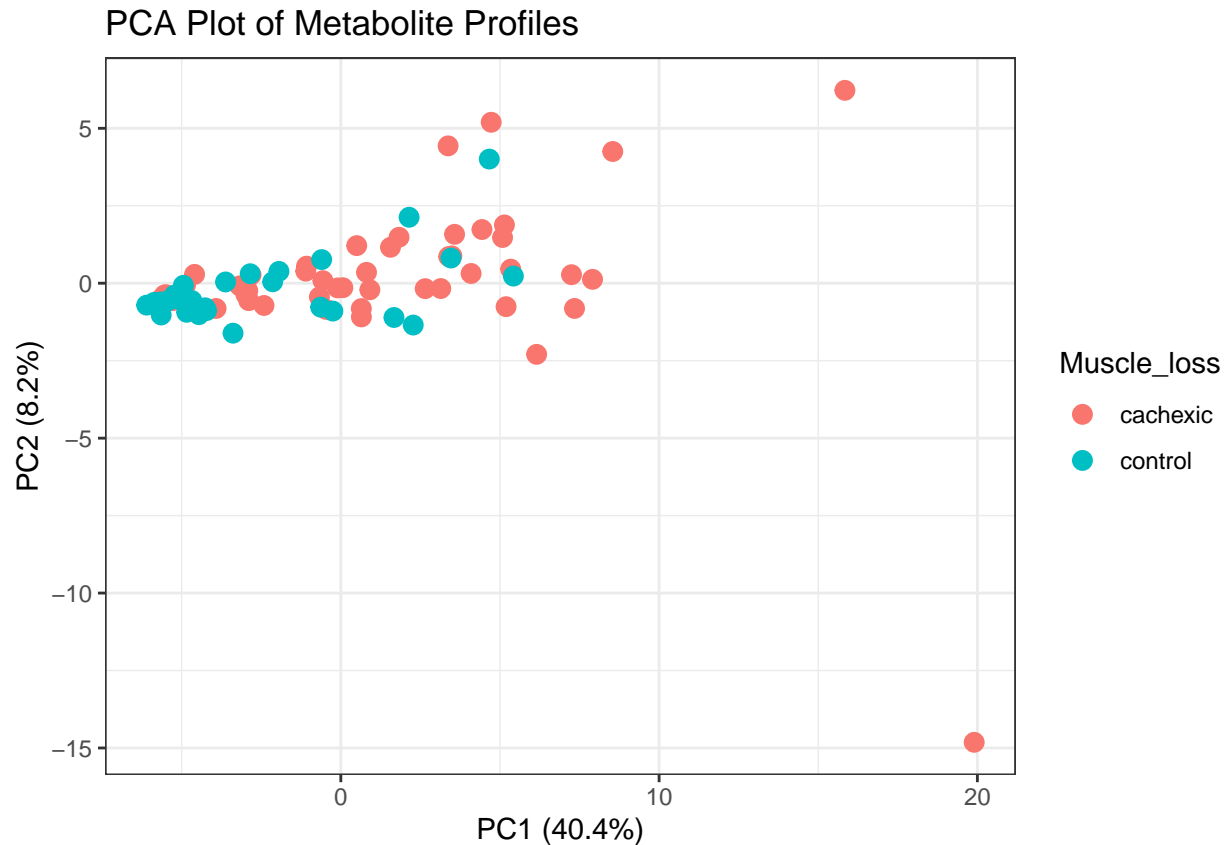
```
## [1] 40.4 48.6 53.9 58.7 63.1 67.2 70.6 73.6 76.1 78.4 80.5 82.3 84.0 85.6 87.1
## [16] 88.4 89.6 90.7 91.7 92.6 93.4 94.2 94.9 95.5 96.0 96.5 96.9 97.3 97.6 97.9
## [31] 98.2 98.4 98.6 98.8 99.0 99.1 99.2 99.3 99.4 99.5 99.6 99.7 99.8 99.8 99.8
## [46] 99.8 99.8 99.8 99.8 99.8 99.8 99.8 99.8 99.8 99.8 99.8 99.8 99.8 99.8 99.8
## [61] 99.8 99.8 99.8
```

Vemos que los 11 primeros PCs explican el 80.5% de la varianza.

Para visualizar estas relaciones, podemos realizar un plot con los primeros dos PCs, los cuales explican el 48.6% de la varianza total.

```
# seleccionamos sólo los dos primeros componentes principales
pca_data <- as.data.frame(pca_result$x[,1:2])
# Extraemos los grupos cachexic y control
pca_data$Muscle_loss <- colData(se)$Muscle_loss

# Construimos el plot:
ggplot(pca_data, aes(x = PC1, y = PC2, color = Muscle_loss)) +
  geom_point(size = 3) +
  theme_bw() +
  labs(title = "PCA Plot of Metabolite Profiles",
       x = paste0("PC1 (", round(summary(pca_result)$importance[2,1] * 100, 1), "%)"),
       y = paste0("PC2 (", round(summary(pca_result)$importance[2,2] * 100, 1), "%)"))
```



Aunque hay solapamiento, vemos que el PC1 es capaz de separar a ambos grupos: los individuos caquéticos tienden a tener valores más altos en PC1 que los del grupo control.

Finalmente, inspeccionamos qué metabolitos están contribuyendo más fuertemente en el PC1.

```
PC1_loads <- pca_result$rotation[,1]
head(sort(PC1_loads, decreasing = TRUE))
```

##	Creatinine	Glutamine	Ethanolamine	Asparagine	Threonine	Valine
##	0.1754974	0.1708957	0.1704181	0.1691602	0.1684597	0.1679131

El resultado es interesante, ya que estos metabolitos están relacionados con el daño muscular, inflamación y síntesis proteica.

- La creatinina es un producto de desecho de células musculares que se eleva en situaciones de daño muscular y/o filtrado deficiente de los riñones, lo cual suele ser típico en pacientes cachexicos.
- La glutamina es un aminoácido implicado en la síntesis de nucleótidos y proteínas, y juega un papel crítico en el sistema inmunitario. Niveles bajos de este metabolito podrían reflejar un mayor uso en procesos inflamatorios (la caquexia está asociada a inflamación sistémica).
- La etanolamina sirve como precursor de fosfolípidos. Alteraciones en sus niveles pueden indicar cambios en la composición de membranas celulares y estrés celular.
- La asparagina, treonina y valina son aminoácidos que juegan un papel importante en el transporte de nitrógeno y la síntesis proteica. Debido a que la caquexia aumenta la tasa de destrucción de músculo, es esperable encontrar niveles alterados de ciertos aminoácidos.

4. Análisis de expresión diferencial

Tras la exploración superficial de los datos, procedemos a realizar un análisis más sofisticado que nos muestre diferencias entre los grupos cachexic y control. Para ello, usaremos el análisis de expresión diferencial.

```
# Creamos la matriz de diseño
design <- model.matrix(~ Muscle_loss, data = colData(se))

# Ajustamos el modelo lineal a los datos de expresión
fit <- lmFit(assay(se), design)

# Aplicamos la moderación Bayesiana para ajustar los p-valores
fit <- eBayes(fit)

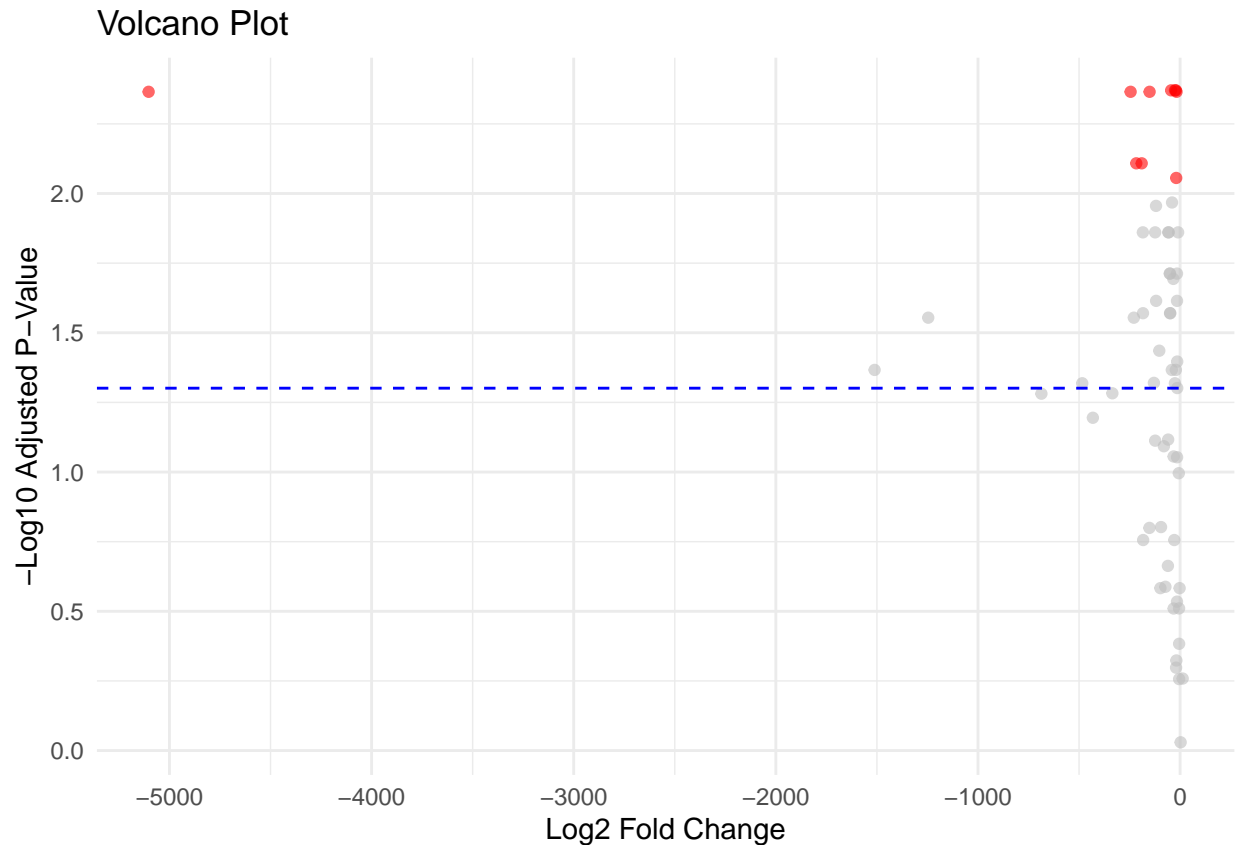
# Obtención de los resultados (cachexic vs. control)
res <- topTable(fit, coef = "Muscle_losscontrol", number = Inf)

# Filtramos los resultados más significativos (e.g., adjusted p-value < 0.01)
significant_res <- res[res$adj.P.Val < 0.01, ]
significant_res
```

```
##           logFC      AveExpr      t      P.Value      adj.P.Val
## Quinolate      -44.42323    66.43948 -4.059026 0.0001187889 0.004261236
## Valine          -25.44989    35.66701 -3.966611 0.0001640210 0.004261236
## N.N.Dimethylglycine -20.89312    26.34961 -3.904997 0.0002029160 0.004261236
## Leucine         -17.70504    24.36364 -3.721952 0.0003775515 0.004313003
## Dimethylamine   -244.89730   358.16610 -3.692244 0.0004169006 0.004313003
## Pyroglutamate   -151.03434   211.44779 -3.666129 0.0004546884 0.004313003
## Creatinine      -5102.96555  8733.97182 -3.650258 0.0004792226 0.004313003
## Glutamine       -216.98309    306.87156 -3.423593 0.0009999880 0.007791122
## Alanine         -190.00706    273.56234 -3.389840 0.0011130175 0.007791122
## X3.Hydroxybutyrate -19.36197    21.71701 -3.317829 0.0013956410 0.008792538
##               B
## Quinolate      -3.924607
## Valine         -3.951915
## N.N.Dimethylglycine -3.970002
## Leucine        -4.023109
## Dimethylamine  -4.031633
## Pyroglutamate  -4.039101
## Creatinine     -4.043630
## Glutamine      -4.107328
## Alanine        -4.116647
## X3.Hydroxybutyrate -4.136374
```

A continuación, observamos los datos en un volcano plot

```
ggplot(res, aes(x = logFC, y = -log10(adj.P.Val))) +
  geom_point(aes(color = adj.P.Val < 0.01), alpha = 0.6) +
  scale_color_manual(values = c("grey", "red")) +
  labs(title = "Volcano Plot", x = "Log2 Fold Change", y = "-Log10 Adjusted P-Value") +
  theme_minimal() +
  theme(legend.position = "none") +
  geom_hline(yintercept = -log10(0.05), linetype = "dashed", color = "blue")
```



En rojo vemos los metabolitos estadísticamente significativos al 99% de confianza.

Comprobamos que nuestra lista incluye los metabolitos observados en el PC1. Parece que la creatinina y los aminoácidos son importantes marcadores de esta enfermedad. A mayores, los pacientes caquéticos presentan una mayor cantidad de metabolitos involucrados en procesos proinflamatorios y metabólicos. En concreto, X3.Hidroxi butirato es un cuerpo cetónico que se produce en condiciones de cetosis y restricción calórica, donde se utilizan las grasas como principal fuente de energía.

Conclusiones

Nuestro análisis superficial de los datos reveló las diferencias en los niveles de ciertos metabolitos en pacientes caquéticos vs control. Los metabolitos que parecen contribuir en mayor medida al fenotipo caquexia fueron los siguientes:

- Creatinine
- Glutamine
- Ethanolamine
- Asparagine
- Threonine
- Valine
- Quinolate
- N.N.Dimethylglycine
- Dimethylamine
- Pyroglutamate
- X3.Hydroxybutyrate

Los niveles más altos de estos metabolitos en pacientes caquéticos sugieren que existen alteraciones metabólicas debido a la pérdida de peso, en concreto de masa muscular, estrés metabólico e inflamación.