

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 567 580**

51 Int. Cl.:

G01N 33/92 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **12.06.2012** **E 12171570 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **02.03.2016** **EP 2674761**

54 Título: **PC-O 44:4 - Un biomarcador para la adiposidad visceral**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
25.04.2016

73 Titular/es:

NESTEC S.A. (100.0%)
Avenue Nestlé 55
1800 Vevey, CH

72 Inventor/es:

MARTIN, FRANÇOIS-PIERRE;
MONTOLIU ROURA, IVAN;
GUY, PHILIPPE ALEXANDRE y
REZZI, SERGE ANDRÉ DOMINIQUE

74 Agente/Representante:

ISERN JARA, Jorge

ES 2 567 580 T3

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

DESCRIPCIÓN

PC-O 44:4 - Un biomarcador para la adiposidad visceral

5 La presente invención, se refiere, de una forma general, al sector de los biomarcadores. De una forma particular, la presente invención, se refiere a los biomarcadores, tales como el consistente en la 1-O-alkil-2-acilglicerofosocolina (PC-0) 44:4, el cual puede utilizarse para, por ejemplo, la detección y / o la cuantificación de la adiposidad visceral y / o cambios en la adiposidad visceral. Este biomarcador, puede también utilizarse para diagnosticar el efecto de un cambio en el estilo de vida, en la adiposidad visceral, en un sujeto.

10 El continuo crecimiento del sobrepeso, y la obesidad epidémica, de una forma particular, entre los niños, han hecho que, el descifrado o descodificación de su genoma y fenotipos de metaboloma los cuales se encuentran asociados, se hayan convertido en uno de los mayores retos de la salud pública. Si bien la malnutrición y la obesidad, tal y como éstas se definen mediante el índice de masa corporal (BMI – [de sus siglas en idioma inglés, correspondientes a body mass index] -), imponen una substancial herramienta en la esperanza de vida, está claro que, el índice de masa corporal (BMI), tiene unas considerables limitaciones, en la valoración de la composición corporal, y que ésta carece de sensibilidad, para evaluar los riesgos de enfermedades (véase, a dicho efecto, Dulloo, A. G., et al. (2010) Int. J. Obes. (Lond) 34 Suplemento 2, páginas 4 - 17. Dulloo et al. han efectuado un reciente revisión, en cuanto a los avances en los conceptos referentes a los riesgos de la salud, relacionados con los fenotipos de la composición corporal, incluyendo (i) la división del índice de masa corporal, en un índice de masa de grasa (FM / H2) – (FM – [de sus siglas en idioma inglés, correspondientes a fat mass] – H2 = índice), e índice de masas exenta de grasa (FFM / H2) - (FFM, de sus siglas en idioma inglés, correspondientes a fat free mass] – H2 = índice -), (ii) la división de la masa exenta de grasa (FFM), en masa de los órganos y en masa muscular y esquelética, (iii) la división de la masa de grasa (FM), en grasa peligrosa, y en grasa protectora y (iv) la interrelación entre la capacidad de expansión del tejido adiposo y la deposición de grasa ectópica, en el interior de los órganos / tejidos, o bien, alrededor de éstos, la cual constituye la masa corporal magra (véase, a dicho efecto, Dulloo, A. G., et al. (2010) Int. J. Obes. (Lond) 34 Suplemento 2, páginas 4 - 17).

30 Durante el transcurso de las últimas décadas, numerosos investigadores, han utilizado las técnicas correspondientes al estado actual de la técnica especializada, han identificado genes, y factores de transcripción asociados con el almacenamiento de grasas y la obesidad (véase, a dicho efecto, los trabajos de Viguerie, N., et al. (2005) Diabetología 48, 123-131; Viguerie, N., et al. (2005) Biochimie 87, 117 - 123; Sorensen, T. I. et al. (2006) PLoS. Clin. Trials 1, e12; Klannemark, M., et al., (1998) Diabetologia 41, 1516 - 1522; Clement, K. et al. (2007) J. Intern. Med. 262, 422 - 430), genetic inheritability, - susceptibilidad de herencia genética -, Inher(Teran - Garcia, M. Et al. (2007) Appl. Physiol Nutr. Metab 32, 89 - 114), y éstos han sugerido una influencia de la microbiota humana en la incidencia de la obesidad (véase, a dicho efecto, Backhed, F., et al. (2007) Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A 104, 979 - 984; Ley, R., et al. (2006) Nature 444, 1022 - 1023; Turnbaugh, P., et al. (2006) Nature 444, 1027 - 1031).

40 Sin embargo, no obstante, en unos entornos obesogénicos y diabetogénicos similares, muchos individuos, permanecen todavía metabólicamente sanos y resistentes a los riesgos de las enfermedades cardiovasculares asociadas con la adiposidad (CVD –[de sus siglas en idioma inglés, correspondientes a adiposity-associated cardiovascular disease] -). De una forma adicional a la concienciación de que, los riesgos de enfermedades asociadas con la obesidad, pueden no ser uniformes (véase, a dicho efecto, Wildman, R. P., et al. (2008) Arch. Intern. Med. 168, 1617 - 1624), un número incrementado de individuos con un peso normal (a saber, con un índice de masa corporal, MBI < 25), expresan anomalías cardiometabólicas, las cuales, según se pensaba antes, eran específicas para los estados de sobrepeso y de obesidad. En un tiempo más reciente, la evidencia, indica de qué forma la composición corporal regioespecífica, puede determinar una predisposición individual a padecer de una enfermedad metabólica, correlacionándose, la grasa corporal y, de una forma particular, la distribución de la grasa visceral, con un riesgo incrementado de sufrir de trastornos cardiometabólicos, de diabetes, de hipertensión, de enfermedad del hígado graso, no alcohólica, y la mortalidad.

55 La adiposidad visceral, se ha venido controlando clínicamente, mediante la utilización de mediciones de la cintura y de la cadera (tales como, por ejemplo, unas medidas correspondientes a un valor de > 0,9 para los hombres, y de un valor de > 0,85 para las mujeres), controles éstos, los cuales sufren así mismo, también, de limitaciones similares, de una forma especial, en cuanto a lo referente a las poblaciones obesas. La tecnologías estándar de oro correspondientes a al diagnóstico por imágenes, incluyendo a las tecnologías tales como las consistentes en la exploración (escáner) de diagnóstico de imágenes por resonancia magnética (MRI – [de sus siglas en idioma inglés, correspondientes a magnetic resonance imaging] -), y en la exploración (escáner) mediante tomografía computerizada (CT – [de sus iniciales en idioma inglés, correspondientes a computed tomography] -), proporcionan, hoy en día, la cuantificación de los depósitos de grasa corporal. Sin embargo, no obstante, la evaluación del metabolismo, asociado con la grasa visceral, permanece, de una forma particular, como siendo todavía un reto, debido a la carencia de biomarcadores, los cuales sean de carácter no invasivo, y que sean rápidos y fiables, y los cuales puedan utilizarse en estudios epidemiológicos y ello, debido a las limitaciones que puedan tener los métodos analíticos convencionales en cuanto al hecho de que éstos, no sean apropiados para los análisis holísticos del metabolismo.

El exceso de grasas almacenada en las regiones del tronco o androide, pueden ser, desde el punto de vista metabólico, menos saludables que las grasas almacenadas en el área ginoide, con la resistencia a la insulina, como mecanismo causal clave. Así, por lo tanto, existe una necesidad en cuanto a una estratificación del paciente, con objeto de poder realizar un tratamiento y control nutritivo y terapéutico personalizado, si bien, no obstante, su aplicación, representa un reto, cuando los sujetos tienen un factor de relación o cociente (ratio) similar, de la cintura con respecto a la cadera, y el acceso a la instalaciones de exploración de diagnóstico la por la imagen, se encuentre limitado. Existe así, por lo tanto, una urgente necesidad, en cuanto al hecho de poder disponer de biomarcadores, los cuales permitan el proceder a la evaluación de la presencia de grasa visceral, a la evaluación del metabolismo asociado con la grasa visceral y / o los cambios en éste, de una forma la cual sea sencilla y fiable.

Los presentes inventores, han abordado dicha necesidad.

Era así, por lo tanto, un objetivo de la presente invención, el mejorar el estado actual del arte de la técnica especializada, con objeto de poder proporcionar biomarcadores, los cuales cumplan con el objetivo de la presente invención y / o los cuales permitan el superar por lo menos una de las desventajas correspondientes al arte actual de la técnica especializada.

El documento de solicitud de patente europea EP 2 249 161 A1, da a conocer un procedimiento para la diagnosis de la asfíxia. En el documento de solicitud de patente en cuestión, se da a conocer un gran número de compuestos endógenos, incluyendo a la fosfatidicolina, con una suma de residuos de acilo-alquilo C44:4.

Oberbach et al; J. Proteome Res., 10(10), 2011, páginas 4769 - 4788 dan a conocer perfiles proteómicos y metabólicos de suero, para identificar marcadores del cambio de la masa corporal.

El documento de solicitud de patente europea EP 2 172 775 A1, identifica a aminoácidos, los cuales son de utilidad en la discriminación entre el grupo de la acumulación de grasa visceral, y el grupo exento de acumulación de la grasa visceral de los sujetos.

Con objeto de identificar biomarcadores apropiados, los inventores, han utilizado un método metabonómico.

La metabonómica, se considera, hoy en día, como siendo una metodología de sistema, la cual se encuentra bien establecida, para caracterizar el fenotipo metabólico, el cual comprende la influencia de varios factores, tales como los consistentes en el entorno medioambiental, en los fármacos, en los productos dietéticos, en el estado de vida, en la genética, y en los factores del microbioma, los cuales indican el potencial de los cambios fisiológicos, los metabolitos, y sus cambios de concentración dinámica, en las células, en los tejidos y en los órganos, y los cuales representan los puntos finales de los procesos de regulación fisiológica.

Recientemente, los descubrimientos basados en la metabolómica y en la lipidómica, han venido acelerando nuestros conocimientos sobre los procesos de las enfermedades, y éstos proporcionarán nuevas oportunidades para la prevención y el tratamiento y control nutricional de los trastornos subclínicos asociados con el síndrome metabólico.

Los presentes inventores, han intentado el proporcionar un fenotipo metabólico comprensivo, de una composición regioespecífica; la adiposidad visceral. Esto ha permitido la identificación de marcadores biológicos, específicos de la adiposidad visceral.

En el presente estudio, se procedió a investigar el metabolismo asociado con la adiposidad visceral, en un cohorte de 40 mujeres obesas, sanas, mediante la utilización de las mediciones de varios puntos finales metabólicos, en combinación con la cuantificación in vivo de la composición corporal, mediante la utilización de absorciometría de rayos X de doble energía (DXA – [de sus siglas en idioma inglés, correspondientes a Dual energy X-ray Absorptimetry] -), y la distribución de la masa abdominal, mediante la utilización de una exploración mediante tomografía computerizada (CT).

Mediante la utilización de una combinación de espectrografía de resonancia magnética nuclear del protón (¹H NMR) y los perfiles de LC – MS / MS del plasma, objetivizados como diana, y muestras de orina recolectadas en un tiempo extra de 24 horas, los inventores han identificado nuevos biomarcadores metabólicos de la distribución de la grasa visceral, en este bien definido cohorte obeso, con diferentes modelos patrón de deposición de la grasa visceral.

Los inventores, han identificado, como tal, un biomarcador, PC-O 44:4.

PC-O es 1-O-alquil-2-acilglicerofosfolina

Las especies de lípidos individuales, se anotaron del siguiente modo: [clase de lípido] [número total de átomos de carbono] : [número total de enlaces dobles]. Así, por ejemplo, el PC 34:1, refleja una especie de fosfatidilcolina, la cual comprende 34 átomos de carbono y un doble enlace.

El PC-O 44:4, es así, por lo tanto, la 1-O-alkil-2-acilglicerofosfolina.

Los inventores, han encontrado adicionalmente el hecho consistente en que, la PC-O 44:4, puede utilizarse como un biomarcador para la detección y / o la cuantificación de la adiposidad visceral y / o cambios en la adiposidad visceral. Este procedimiento de diagnóstico, se practica fuera del cuerpo humano o del cuerpo animal.

Esta detección y / o cuantificación del biomarcador, puede llevarse a cabo en un líquido corporal. El líquido corporal, puede ser la sangre, el suero sanguíneo o la orina, por ejemplo.

De una forma típica, etapa de la detección y / o de la cuantificación, se lleva a cabo en una muestra de fluido corporal, la cual se haya obtenido previamente, del sujeto a ser sometido a test de ensayo.

La grasa visceral, se conoce así mismo, también, como la grasa abdominal, la grasa de los órganos, o la grasa intraabdominal, y ésta se encuentra localizada en el interior de la cavidad abdominal la cual se encuentra entre los órganos.

La grasa visceral, puede estar compuesta por diversos depósitos o reservas de adiposa, incluyendo al tejido adiposo, blanco, epididimal, mesentérico (EWAT – [de sus siglas en idioma inglés, correspondientes a mesenteric, epididymal white adipose tissue] -), y los depósitos o reservas perirrenales, así como el tejido adiposo epicardial y la grasa alrededor del hígado y del estómago. De una forma típica, la grasa en el abdomen, es mayoritariamente visceral, dando como resultado, la famosa “beer belly” (barriguita cervecera).

Demasiada grasa visceral, tiene como resultado una obesidad central, la cual, a su vez, se encuentra vinculada a los trastornos cardiovasculares, a la diabetes del tipo 2, a la resistencia a la insulina, o a las enfermedades inflamatorias, por ejemplo. Estos son ejemplos de los trastornos asociados con un exceso de grasa visceral.

La presente invención, se refiere así mismo, también, a un procedimiento para el diagnóstico de las adiposidad visceral, en un sujeto, procedimiento éste, el cual comprende el proceder a determinar el nivel de 1-O-alkil-2-acilglicerofosfolina (PC-O) 44:4, en una muestra de fluido corporal, previamente obtenida de un sujeto a ser sometido a test de ensayo, y comparar el nivel de PCO 44:4 del sujeto, con un valor de referencia predeterminado, en donde, el valor de referencia predeterminado en cuestión, se basa en un nivel promedio del nivel de PC-O 44:4, en el mismo fluido corporal, en una población de control, y en donde, una nivel disminuido de PC-O 44:4, en la muestra, en comparación con el valor de referencia predeterminado, indica una adiposidad visceral incrementada.

La adiposidad visceral, pueden incluir tejido adiposo blanco epididimal, mesentérico y / o grasa perirrenal, así como tejido adiposo epicardial, y grasa alrededor del hígado y del estómago.

El fluido corporal, puede ser el consistente en la sangre, en el suero sanguíneo, en el plasma sanguíneo, o en la orina, por ejemplo.

El suero sanguíneo y / o el plasma sanguíneo, tienen la ventaja consistente en que, el factor de relación o cociente (ratio) de la señal con respecto al ruido, para el biomarcador, a ser sometido a test de ensayo, es particularmente alto.

La orina, tiene la ventaja consistente en que, la muestra de fluido corporal, puede obtenerse de una forma no invasiva.

De una forma independiente en cuanto al fluido corporal elegido, el procedimiento de la presente invención, tiene la ventaja consistente en que, la obtención de tales tipos de fluidos corporales, del sujeto, se trata de un procedimiento el cual se encuentra bien establecido.

El presente procedimiento de diagnosis, se lleva a cabo, a continuación, en un fluido corporal, fuera del cuerpo.

El nivel de PC-O 44:4, en la muestra, puede detectarse y cuantificarse mediante cualquiera de los procedimientos los cuales son conocidos en el arte especializado de la técnica. Así, por ejemplo, puede utilizarse la espectrometría de masas, tal como, por ejemplo, la ULPC-ESI-MS / MS. Otros procedimientos tales como los consistentes en los procedimientos de electrometría, los procedimientos cromatográficos, las técnicas de marcaje, o los procedimientos químicos cuantitativos, pueden también utilizarse, así mismo.

De una forma ideal, el nivel de PC-O 44:4, en la muestra, y el valor de referencia, se determinan mediante el mismo procedimiento.

El valor de referencia predeterminado, puede estar basado en el nivel medio de PC-O 44:4, en el fluido corporal sometido a test de ensayo, en una población de control. La población de control, puede ser un grupo de por lo menos 3 personas, siendo éste, de una forma preferible, de por lo menos 10 personas y, de una forma más

preferible, de por los menos 50 personas, con unos antecedentes genéticos o herencia genética similares, una edad similar, y una estatus medio de salud similar.

5 La población de control, puede también ser, así mismo, la misma persona, de tal forma que, el valor de referencia predeterminado, se obtiene, previamente, del mismo sujeto. Esto permitirá una comparación directa del efecto de un estilo de vida presente, con respecto a un estilo de vida previo, en la adiposidad visceral, por ejemplo, y así, de este modo, las mejoras podrán evaluarse de una forma directa.

10 La determinación de la adiposidad de la grasa visceral, permite extraer conclusiones, acerca de la presencia de la adiposidad de la grasa visceral, sobre el riesgo de adquirir unos trastornos asociados.

15 El tema en cuestión de la presente invención, se refiere así mismo, también, a un procedimiento para diagnosticar un cambio en la adiposidad visceral, en un sujeto, le cual comprende la determinación del nivel de PC-O 44:4, en una muestra de fluido corporal, previamente obtenida de un sujeto, a ser sometida a test de ensayo, y comparar el nivel de PC-O 44:4 del sujeto, con respecto a un valor de referencia predeterminado, en donde, el valor de referencia predeterminado, se base en el nivel de PC-O 44:4, en el mismo fluido corporal, obtenido del mismo sujeto, previamente, y en donde, un nivel disminuido de PC-O 44:4, en la muestra, en comparación con un valor de referencia predeterminado, indica la presencia de adiposidad visceral.

20 Este procedimiento, permite el seguimiento del crecimiento o de la reducción de la grasa corporal, durante el transcurso del tiempo, y así, por consiguiente, permite la extracción de conclusiones sobre un riesgo incrementado o disminuido, de desarrollar trastornos o desórdenes asociados con la adiposidad visceral.

25 Esto tiene por ejemplo la ventaja consistente en que, los resultados, se encuentran inmediatamente disponibles, mucho antes de que se puedan determinar el incremento o la disminución real de la grasa visceral. Esto es particularmente bueno, para la motivación de las personas, las cuales aspiran a reducir la grasa visceral. De una forma notable, la reducción de la grasa visceral, es una tarea dificultosa, la cual requiere, a menudo, un ejercicio intensivo. Ohkawara et al., sugieren el hecho de que se requieren por lo menos 10 equivalentes metabólicos de horas de tarea (MET - [de sus siglas en idioma inglés, correspondientes a metabolic equivalent of task] -), por semana, de ejercicio aeróbico, para conseguir una reducción efectiva de la grasa visceral (véase, a dicho efecto, Ohkawara, K.; et al., (2007), International journal of obesity, - Diario internacional de la obesidad (2005) 31 (12): 1786 - 1797).

35 La presente invención, se refiere así mismo, también, a un procedimiento para diagnosticar el efecto de un cambio en el estilo de vida, sobre la adiposidad visceral, en un sujeto, procedimiento éste, el cual comprende el proceder a determinar el nivel d PC-O 44:4, en una muestra de fluido corporal, previamente obtenida de un sujeto, a ser sometida a test de ensayo, y comparar el nivel de PC-O 44:40 del sujeto, con respecto a un valor de referencia predeterminado, en donde, el valor de referencia predeterminado en cuestión, se basa en un nivel de PC-O 44:4, en el mismo fluido corporal, en el mismo fluido corporal, obtenido previamente del mismo sujeto, y en donde, un nivel de PD-O 44:4 disminuido, en la muestra, en comparación con el valor de referencia predeterminado, indica un efecto positivo del cambio del estilo de vida, sobre la adiposidad visceral.

40 Este procedimiento, tiene el efecto consistente en que, éste permite el control de seguimiento del los cambios del estilo de vida, sobre la masa de grasa visceral, y sobre el riesgo de sufrir de trastornos o desórdenes asociados con éstos.

45 El cambio del estilo de vida, puede ser cualquier cambio, tal como el consistente en un nuevo trabajo, un diferente nivel de estrés, una nueva relación, incrementos o disminuciones de la actividad física, y / o un cambio en el bienestar global.

50 Así, por ejemplo, el cambio en el estilo de vida, puede ser el consistente en un cambio en la dieta.

55 El cambio en la dieta, puede ser el consistente en un incremento o en una disminución del contenido de hidratos de carbono, de los lípidos y / o de proteínas, de la dieta en cuestión. Éste puede también ser el cambio de la dieta en cuestión, a una diferente dieta regional, tal como, por ejemplo, la dieta mediterránea. Y ésta puede también ser, así mismo, un cambio en la ingesta calórica.

60 Como tal, el procedimiento de la presente invención, puede utilizarse para someter a test de ensayo, la efectividad de un nuevo régimen nutricional, de productos nutricionales y / o de medicamentos.

Los productos nutricionales, pueden ser, por ejemplo, productos los cuales afirman tener efectos en la grasa corporal, en el seguimiento de control del peso y / o en la grasa visceral.

De una forma típica, los productos nutricionales, pueden ser productos alimenticios, bebidas, productos alimenticios para animales de compañía o domésticos, suplementos alimenticios, nutracéuticos, aditivos alimenticios o fórmulas nutricionales.

5 Así, por ejemplo, el cambio en la dieta, puede ser el uso de por lo menos un producto nutricional, el cual no se haya consumido previamente, o que se consuma en diferentes cantidades.

Como tales, el procedimiento de la presente invención, puede utilizarse para someter a test de ensayo la efectividad de un nuevo régimen nutricional y / o un producto nutricional.

10

El PC-O 44:4, puede utilizarse como el único marcador, para los propósitos de la presente invención.

Mientras que, el PC-O 44:4, como marcador único, es efectivo como herramienta para el procedimiento de diagnóstico de la presente invención, la calidad y / o el poder de predicción de la citada diagnóstico, se mejorará, si la diagnóstico en cuestión, se basa en más de únicamente un marcador.

15

Así, de este modo, se pueden utilizar uno o más marcadores adicionales distintos, para diagnosticar la adiposidad visceral y / o el riesgo para trastornos o desórdenes asociados, en un sujeto, en combinación con el marcador consistente en la PC-O 44:4.

20

Los inventores, se sorprendieron de hecho de observar que pueden también utilizarse, así mismo, otros biomarcadores, para detectar, mediante la diagnóstico, la adiposidad visceral y / o el riesgo para trastornos o desórdenes asociados.

25

Como tales, los inventores han identificado el hecho consistente en que, unas concentraciones disminuidas, en el fluido corporal, de las PC-O 44:6, PC-O 44:4, PC-O 42:4, PC-O 40:4, y / o PC-O 40:3; y / o unas concentraciones incrementadas, en el fluido corporal, de tirosina y / o glutamina, permiten diagnosticar un incremento en las cantidades de grasa visceral y / o un riesgo incrementado para desarrollar trastornos o desórdenes, asociado con un exceso de grasa visceral.

30

De una forma inversa, unas concentraciones incrementadas en el fluido corporal, de PC-O 44:6, PC-O 44:4, PC-O 42:4, PC-O 40:4, y / o PC-O 40:3; y / o unas concentraciones disminuidas en el fluido corporal, de tirosina y / o glutamina, permiten diagnosticar una disminución en las cantidades de grasa visceral y / o un riesgo reducido para desarrollar trastornos o desórdenes asociados con un exceso de grasa visceral.

35

Los procedimientos de la presente invención, pueden comprender, así de este modo, de una forma adicional, las etapas de determinar el nivel de por lo menos un biomarcador adicional, seleccionado de entre el grupo consistente en la glutamina y / o la tirosina, PC-O 44:6, PC-O 42:4, PC-O 40:4, y / o PC-O 40:3, en la muestra de fluido corporal, y comparar el nivel en el sujeto, de por lo menos una de entre la glutamina y / o tirosina, PC-O 44:6, PC-O 42:4, PC-O 40:4, y / o PC-O 40:3, con respecto a un valor de referencia predeterminado, en donde, el valor de referencia predeterminado, se basa en un valor promedio de los niveles de la glutamina, la tirosina, PC-O 44:6, PC-O 42:4, PC-O 40:4, y / o PC-O 40:3, en una muestra de fluido corporal de una población normal de control, sana, o en los niveles de glutamina, tirosina, PC-O 44:6, PC-O 42:4, PC-O 40:4, y / o PC-O 40:3, en el mismo fluido corporal, obtenido del mismo sujeto, previamente, y en donde, un nivel incrementado de glutamina y / o tirosina, y / o un nivel disminuido de PC-O 44:6, PC-O 44:4, PC-O 42:4, PC-O 40:4, y / o PC-O 40:3, en la muestra de fluido corporal, en comparación con los valores de referencia predeterminados, indican una adiposidad visceral incrementado.

40

45

El procedimiento de la presente invención, puede comprender la evaluación de por lo menos 2 biomarcadores, la evaluación de por lo menos 3 biomarcadores, la evaluación de por lo menos 4 biomarcadores, la evaluación de por lo menos 5 biomarcadores, la evaluación de por lo menos 6 biomarcadores, o la evaluación de por lo menos 7 biomarcadores,

50

Así por ejemplo, el biomarcador PC-O 44:4, puede evaluarse conjuntamente con el biomarcador PC-O 44:6.

55

El biomarcador PC-O 44:4, puede evaluarse conjuntamente con el biomarcador PC-O 42:4.

El biomarcador PC-O 44:4, puede evaluarse conjuntamente con el biomarcador PC-O 40:4.

El biomarcador PC-O 44:4, puede evaluarse conjuntamente con el biomarcador PC-O 40:3.

60

El biomarcador PC-O 44:4, puede evaluarse conjuntamente con los biomarcadores PC-O 44:6 y PC-O 42:4.

El biomarcador PC-O 44:4, puede evaluarse conjuntamente con los PC-O 44:6, PC-O 42:4, y PC-O 40:4.

El biomarcador PC-O 44:4, puede evaluarse conjuntamente con los biomarcadores PC-O 44:6, PC-O 42:4, y PC-O 40:3.

5 El biomarcador PC-O 44:4, puede evaluarse conjuntamente con los biomarcadores PC-O 44:6, PC-O 42:4, PC-O 40:3, y PC-O 40:4.

El biomarcador PC-O 44:4, puede evaluarse conjuntamente con los biomarcadores PC-O 44:6, PC-O 42:4, PC-O 40:3, PC-O 40:4, y la glutamina.

10 El biomarcador PC-O 44:4, puede evaluarse conjuntamente con los biomarcadores PC-O 44:6, PC-O 42:4, PC-O 40:3, PC-O 40:4, glutamine y tirosina.

15 La ventaja de evaluar más que de un biomarcador, es la consistente en que, cuantos más biomarcadores se evalúan, más fiable será la diagnosis. Así, por ejemplo, si más de 1, 2, 3, 4, 5, 6, ó 7 biomarcadores, exhiben las elevaciones o disminuciones en las concentraciones, de la forma la cual se ha descrito anteriormente, arriba, es entonces mayor el poder predictivo para la presencia o ausencia y el grado de la obesidad visceral, así como el riesgo para los trastornos o desórdenes asociados.

20 En concordancia con lo anteriormente expuesto, los inventores, han identificado incluso otros biomarcadores adicionales, los cuales pueden utilizarse para predecir la adiposidad visceral y riesgo de desarrollar trastornos o desórdenes asociados.

25 Así, por ejemplo, se encontró el hecho de que, unas concentraciones incrementados de la fenilalanina, la Leucina, Isoleucina, la palmitoilcarnitina (C16), la caproilcarnitina (C10), la octenoilcarnitina (C8:1), la lisofosfatidilcolina (LPC) 24:0, la fosfatidilcolina (PC)PC 30:0, y / o PC 34:4 en los fluidos corporales, o unas concentraciones disminuidas de las PC-O 34:1, PC-O 34:2, PC-O 36:2, PC-O 36:3, PC-O 40:6, PC-O 42:2, PC-O 42:3, PC-O 44:3, PC-O 44:5, PC 42:0, y / o PC 42:2 en los fluidos corporales, en comparación con los correspondientes valores de referencia, previamente obtenidos, indican un adiposidad visceral incrementada y un riesgo incrementado para los trastornos o desórdenes asociados.

30 PC es fosfatidilcolina. LPC es lisofosfatidilcolina. C es acilcarnitina.

35 A la inversa, unas concentraciones disminuidas de fenilalanina, Leucina, Isoleucina, C10 (decanoilcarnitina), C16 (Palmitoilcarnitina), C8:1 (Octenoil-Carnitina) LPC 24:0, PC 30:0, y / o PC 34:4 en los fluidos corporales, o unas concentraciones incrementadas de PC-O 34:1, PC-O 34:2, PC-O 36:2, PC-O 36:3, PC-O 40:6, PC-O 42:2, PC-O 42:3, PC-O 44:3, PC-O 44:5, PC 42:0, y / o PC 42:2 en los fluidos corporales, en comparación con los valores de referencia, previamente obtenidos, indican una adiposidad visceral disminuida y un riesgo disminuido para los trastornos o desórdenes asociados.

40 Así, de este modo, los procedimientos de la presente invención, pueden comprender, de una forma adicional, las etapas de determinar el nivel de por lo menos uno biomarcador adicional, seleccionado de entre el grupo consistente en la fenilalanina, la Leucina, la Isoleucina, C10 (decanoilcarnitina), C16 (Palmitoilcarnitina), C8:1 (Octenoil-Carnitina), LPC 24:0, PC 30:0, PC 34:4, PC-O 34:1, PC-O 34:2, PC-O 36:2, PC-O 36:3, PC-O 40:6, PC-O 42:2, PC-O 42:3, PC-O 44:3, PC-O 44:5, PC 42:0, y / o PC 42:2 en la muestra de fluido corporal, y comparar el nivel, en el sujeto, de por lo menos uno de entre la fenilalanina, la Leucina, la Isoleucina, C10, C16, C8:1, carnitina, LPC 24:0, PC 30:0, PC 34:4, PC-O 34:1, PC-O 34:2, PC-O 36:2, PC-O 36:3, PC-O 40:6, PC-O 42:2, PC-O 42:3, PC-O 44:3, PC-O 44:5, PC 42:0, y / o PC 42:2 con respecto a un valor de referencia predeterminado, en donde, el valor de referencia predeterminado en cuestión, se basa en los niveles promedio de fenilalanina, Leucina, Isoleucina, C10, C16, C8:1, carnitina, LPC 24:0, PC 30:0, PC 34:4, PCO 34:1, PC-O 34:2, PC-O 36:2, PC-O 36:3, PC-O 40:6, PC-O 42:2, PC-O 42:3, PC-O 44:3, PC-O 44:5, PC 42:0, y / o PC 42:2, en una muestra de fluido corporal, de una población normal de control, sana, o en los niveles de fenilalanina, Leucina, Isoleucina, C10 (decanoilcarnitina), C16 (Palmitoilcarnitina), C8:1 (Octenoil-Carnitina), LPC 24:0, PC 30:0, PC 34:4, PC-O 34:1, PC-O 34:2, PC-O 36:2, PC-O 36:3, PC-O 40:6, PC-O 42:2, PC-O 42:3, PC-O 44:3, PC-O 44:5, PC 42:0, y / o PC 42:2, en el mismo fluido corporal, obtenido del mismo sujeto, previamente, y en donde, un nivel incrementado de fenilalanina, Leucina, Isoleucina, C10, C16, C8:1, carnitina, LPC 24:0, PC 30:0, y / o PC 34:4, en el fluido corporal y / o un nivel disminuido de PC-O 34:1, PC-O 34:2, PC-O 36:2, PC-O 36:3, PC-O 40:6, PC-O 42:2, PC-O 42:3, PC-O 44:3, PC-O 44:5, PC 42:0, y / o PC 42:2, en la muestra de fluido corporal, en comparaciones con los valores de referencia predeterminados, indica una adiposidad visceral incrementada.

60 Una adiposidad visceral incrementada, incrementa el riesgo de desarrollar trastornos o desórdenes asociados con un exceso de grasa visceral.

65 Así, por consiguiente, en los procedimientos de la presente invención, el grado de adiposidad visceral, puede utilizarse como una indicación para la probabilidad o riesgo de desarrollar trastornos o desórdenes asociados con un exceso de grasa visceral.

Así mismo, también, los cambios en la adiposidad visceral, pueden utilizarse como una indicación para la probabilidad o riesgo de desarrollar trastornos o desórdenes asociados con un exceso de grasa visceral.

5 Los trastornos o desórdenes asociados con la adiposidad visceral son, por ejemplo, los trastornos o desórdenes cardiometabólicos.

Así, de este modo, los procedimientos de la presente invención, pueden utilizarse para determinar el riesgo de desarrollar trastornos o desórdenes metabólicos.

10 Otros trastornos o desórdenes adicionales asociados con la adiposidad visceral son, por ejemplo, las desregulaciones metabólicas. Las desregulaciones metabólicas típicas, son las siguientes: la obesidad, la resistencia a la insulina, la diabetes del tipo 2, el síndrome metabólico, las enfermedades vasculares (la hipertensión, la enfermedad cardíaca coronaria), la esteatohepatitis, en la enfermedad hepática metabólica, las lipodistrofias, la función pulmonar, los trastornos o desórdenes inflamatorios, y otros trastornos o desórdenes relacionados con la obesidad.

Los procedimientos de la presente invención, pueden llevarse a cabo con cualquier sujeto.

20 De una forma ventajosa, el procedimiento de la presente invención, puede llevarse a cabo en sujeto los cuales se encuentran en riesgo de desarrollar trastornos o desórdenes de adiposidad visceral y / o trastornos o desórdenes asociados con la adiposidad visceral.

Así, por ejemplo, los procedimientos de la presente invención, pueden tener que llevarse a cabo con sujetos normales, con sujetos con un sobrepeso, o con sujetos obesos.

25 “Sobrepeso”, se define, para un humano adulto, como una situación en la que éste tiene un BMI (índice de masa corporal), comprendido dentro de unos márgenes los cuales se encuentran situados entre 25 y 35. “Índice de masa corporal” o “BMI”, significa el factor de relación o cociente (ratio), correspondiente al peso, en kg, dividido por la altura en metros elevada al cuadrado. “Obesidad”, es una condición, en la cual, la reserva natural de energía, almacenada en el tejido graso de los animales. De una forma particular, de humanos y otros animales, se encuentra incrementada, hasta un punto en donde, ésta se encuentra asociada con ciertas condiciones de salud o una mortalidad incrementada. “Obeso” (u “obesa”), se define como una condición para un humano adulto, en la que ésta tiene un índice de masa corporal, mayor de 30.

35 El valor de referencia para PC-O 44:4, y de una forma opcional, para los otros biomarcadores, se mide, de una forma preferible, mediante la utilización de las mismas unidades utilizadas para caracterizar el nivel de PC-O 44:4 y, de una forma opcional, de los otros biomarcadores, obtenido del sujeto a someter a test de ensayo. Así, de este modo, si el nivel de PC-O 44:4 y, de una forma opcional, de los otros biomarcadores, es un valor absoluto tal como el consistente en las unidades de PC-O 44:4, en $\mu\text{mol} / \text{l}$ (μM), el valor de referencia, se basa así mismo, también, en las unidades de PC-O 44:4 en $\mu\text{mol} / \text{l}$ ((en $\mu\text{mol} / \text{l}$ (μM), en personas individuales o individuos, en la población general o una población de de control de sujetos seleccionada.

40 De una forma adicional, el valor de referencia, puede ser un valor individual de corte, tal como un valor promedio o un valor medio. Los valores de referencia de PC-O 44:4, y opcionalmente, de los otros biomarcadores, en las muestras obtenidas de fluido corporal, tales como los consistentes en los valores medios, los valores promedio, o los niveles de “corte”, pueden establecerse procediendo a someter a test de ensayo a un amplio número de personas individuales o individuos, en la población general o la población seleccionada, y mediante la utilización de un modelo estadístico, tal como el consistente en el procedimiento del valor de predicción, para seleccionar un criterio de positividad o curva de características del operador receptor, el cual define unas óptimas de especificidad (tasa más alta de negativos ciertos) y de sensibilidad (tasa más alta de falsos negativos), según se describe por parte de Knapp, R. G., y Miller, M. C. (1992). Clinical Epidemiology and Biostatistics -, Epidemiología clínica y bioestadística -. William y Wilkins, Harual Publishing Co. Malvern, Pa., trabajo éste, el cual se incorpora aquí, en este documento de solicitud de patente, a título de referencia.

55 Las personas expertas en el arte especializado de la técnica, sabrán como asignar unos valores correctos de referencia, de la forma que éstos podrán variar, según el género, la raza, la herencia genética, el estado de salud o la edad, por ejemplo.

60 Como un ejemplo, los inventores, han determinado unos valores típicos de referencia, en sujetos humanos adultos, obesos, y en sujetos adultos normales, en un fluido corporal, tal como el consistente en el plasma sanguíneo, por ejemplo.

Por consiguiente, los valores medios de referencia, para los sujetos adultos, pueden ser, por ejemplo,

65 68,71 μM de fluido corporal para la tirosina,

662,67 μM de fluido corporal para la glutamina,
 1,47 μM de fluido corporal para la PC-O 44:6,
 0,84 μM de fluido corporal para la PC-O 44:4,
 1,27 μM de fluido corporal para la PC-O 42:4,
 5 2,65 μM de fluido corporal para la PC-O 40:4,
 1,37 μM de fluido corporal para la PC-O 40:3,
 52,97 μM de fluido corporal para la fenilalanina,
 193,56 μM de fluido corporal para las Leucina + Isoleucina,
 0,19 μM de fluido corporal para la C10,
 10 0,06 μM de fluido corporal para la C16,
 0,03 μM de fluido corporal para la C8:1,
 0,25 μM de fluido corporal para la LPC 24:0,
 4,18 μM de fluido corporal para la PC 30:0,
 1,11 μM de fluido corporal para la PC 34:4,
 15 9,84 μM de fluido corporal para la PC-O 34:1,
 11,49 μM de fluido corporal para la PC-O 34:2,
 11,79 μM de fluido corporal para la PC-O 36:2,
 7,20 μM de fluido corporal para la PC-O 36:3,
 3,68 μM de fluido corporal para la PC-O 40:6,
 20 0,56 μM de fluido corporal para la PC-O 42:2,
 0,89 μM de fluido corporal para la PC-O 42:3,
 0,21 μM de fluido corporal para la PC-O 44:3,
 2,17 μM de fluido corporal para la PC-O 44:5,
 0,56 μM de fluido corporal para la PC 42:0,
 25 0,22 μM de fluido corporal para la PC 42:2.

En los sujetos normales, los valores medios de referencia, pueden ser, aproximadamente

75,00 μM de fluido corporal para la tirosina,
 30 748,27 μM de fluido corporal para la glutamina,
 1,21 μM de fluido corporal para la PC-O 44:6,
 0,50 μM de fluido corporal para la PC-O 44:4,
 1,12 μM de fluido corporal para la PC-O 42:4,
 3,24 μM de fluido corporal para la PC-O 40:4,
 35 2,10 μM de fluido corporal para la PC-O 40:3,
 49,17 μM de fluido corporal para la fenilalanina,
 197,52 μM de fluido corporal para la Leucina + Isoleucina,
 0,29 μM de fluido corporal para la C10,
 0,09 μM de fluido corporal para la C16,
 40 0,04 μM de fluido corporal para la C8:1,
 0,77 μM de fluido corporal para la LPC 24:0,
 4,10 μM de fluido corporal para la PC 30:0,
 1,42 μM de fluido corporal para la PC 34:4,
 8,20 μM de fluido corporal para la PC-O 34:1,
 45 9,26 μM de fluido corporal para la PC-O 34:2,
 12,67 μM de fluido corporal para la PC-O 36:2,
 5,83 μM de fluido corporal para la PC-O 36:3,
 4,45 μM de fluido corporal para la PC-O 40:6,
 0,82 μM de fluido corporal para la PC-O 42:2,
 50 1,08 μM de fluido corporal para la PC-O 42:3,
 0,22 μM de fluido corporal para la PC-O 44:3,
 1,82 μM de fluido corporal para la PC-O 44:5,
 0,65 μM de fluido corporal para la PC 42:0,
 0,35 μM de fluido corporal para la PC 42:2.

55 Los sujetos a ser sometidos a test de ensayo con el procedimiento de la presente invención, puede ser un ser humano o un animal, de una forma particular, un mamífero, por ejemplo, los animales típicos, pueden ser los animales de compañía o domésticos, tales como los consistentes en los gatos, en los perros o en los animales de granja, por ejemplo.

60 Aquellas personas expertas en el arte especializado de la técnica, entenderán el hecho de que, éstas, podrán combinar, de una forma libre, la totalidad de las características de la presente invención, las cuales se describen aquí, en este documento de solicitud de patente, sin salirse del ámbito de la presente invención, de la forma mediante la cual ésta se revela. De una forma particular, las características las cuales se describen aquí, para los

procedimientos de la presente invención, pueden aplicarse a otros procedimientos y al uso de la presente invención, y viceversa.

5 Otras ventajas y características adicionales de la presente invención resultarán evidentes, a raíz de los ejemplos y figuras los cuales se facilitan abajo, a continuación.

10 La tabla 1, muestra unas características clínicas del cohorte seleccionado, según su estratificación en cuatro cuartiles, en base a su contenido de grasa visceral, según se evalúa mediante el valor de \log_{10} del factor de relación (ratio) o cociente de la grasa intraperitoneal / abdominal, mediante tomografía computerizada.

15 Los valores, se presentan como (\pm SD) media. ALAT = alanina aminotransferasa, ASAT= aspartato aminotransferasa, BMI = índice de masa corporal, GGT= gamma-glutamiltanspeptidasa, HDL-C= lipoproteína colesterol de alta densidad, HOMAIR = evaluación del modelo de homeostasis de la resistencia a la insulina, LDL-C= lipoproteína colesterol de baja densidad, MAP = presión sanguínea arterial media, NEFAs = ácidos grasos no esterificados, TG = triglicéridos.

20 La tabla 2, muestra las concentraciones de metabolitos, presentados como (\pm SD) media, para cada uno de los cuatro cuartiles, en base a su contenido de grasa visceral, según se evalúa mediante el valor de \log_{10} del factor de relación (ratio) o cociente de la grasa intraperitoneal / abdominal, mediante tomografía computerizada.

25 La figura 1, muestra la reconstrucción estadística de los perfiles de plasma sanguíneo mediante ^1H NMR, mediante la utilización de un análisis de bosques aleatorios, para identificar los modelos patrón metabólicos, asociados con la adiposidad visceral (según se identifica mediante casillas cuadradas). GPCs = glicerofosfolípidos, PUFAs = ácidos grasos poliinsaturados (de sus iniciales en idioma inglés, polyunsaturated fatty acids), UFAs = ácidos grasos insaturados (de sus iniciales en idioma inglés, unsaturated fatty acids).

30 La figura 2 muestra la importancia y la robustez de los metabolitos, en la predicción de la adiposidad de grasa visceral, según se evalúa mediante análisis de bosques aleatorios. Los valores medios agrupados, disminuyen, en cuanto a lo referente a la precisión, después de $n = 10000$ generaciones de bosques aleatorios. Una importancia mayor de la variable, corresponde a unos mayores valores medios agrupados, los cuales disminuyen en cuanto a lo referente a su precisión.

35 Las figuras 3 – 1, 3 - 2, y 3 – 3, muestran diferencias de metabolitos entre los sujetos de alta grasa visceral y los sujetos de baja grasa visceral, para cada uno de los metabolitos seleccionados. Se procede a un trazado de los gráficos, para cada uno de los cuartiles, en base a su contenido de grasa corporal, según se valor mediante el valor de \log_{10} , de volumen de grasa intraperitoneal, medido mediante tomografía computerizada, 1 = cuartil 1, 2 = cuartil 2, 3 = cuartil 3, 4 = cuartil 4.

40 **EJEMPLOS**

Sujetos y diseño experimental

45 El ensayo clínico, se basaba en un estudio observacional el cual se llevó a cabo en 40 mujeres caucásicas obesas, sanas, en el centro hospitalario universitario "Centre Hospitalier Universitaire Baudios" (CHUV, Lausanne, Suiza). El protocolo del estudio, se aprobó por parte de un comité ético independiente, el cual se encontraba ubicado en el citado centro hospitalario universitario (CHUV). Los participantes en el estudio, tenían un índice de masa corporal (BMI), correspondiente a un valor situado dentro de unos márgenes de 28 y 40, éstos tenían una edad situada entre los 25 años y los 45 años, y no mostraban rasgos de enfermedad metabólica (diabetes del tipo 2, enfermedad cardiovascular o síndrome metabólico). Las muestras biológicas resultantes (a saber, muestras de orina y muestras de orina de 24 horas), se almacenaron a una temperatura de $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$, hasta la realización de los análisis metabólicos.

Evaluación de la composición corporal

55 Se procedió a llevar a cabo una exploración corporal de rastreo total, con objeto de determinar ambas, la distribución de la grasa abdominal y la composición corporal total. Las exploraciones corporales de rastreo total, se llevaron a cabo en un sistema de exploración de rastreo por absorciometría de rayos X de doble energía (DXE) equipado con sistema informático, del tipo, "GE Lunar iDAX system" (versión del programa de software informático: enCORE, versión 12.10.113), mediante uno modo de exploración de rastreo, el cual se realizó, de una forma automática, mediante el dispositivo de exploración en cuestión. Para la medición mediante absorciometría de rayos X de doble energía (DXA), todos los sujetos llevaban un bata hospitalaria, y a éstos se les había retirado la totalidad de los artefactos metálicos los cuales pudieran eventualmente llevar. La unidad informática de absorciometría de rayos X de doble energía (iDXA), se calibró diariamente, mediante la utilización un espectro de calibración del tipo "GE Lunar phantom". La realización de la totalidad de las exploraciones de rastreo o escáners, se llevaron a cabo por parte de un operador experimentado y entrenado, siguiendo el manual de instrucciones para el operador, para el

posicionamiento y la obtención de datos. Durante la consulta, de un transcurso de tiempo correspondiente a una duración de aproximadamente una hora, se procedió a llevar a cabo la totalidad de las exploraciones de rastreo corporal, dos veces, para cada sujeto, con reposicionamiento o recolocación, entre las exploraciones de rastreo. Las exploraciones de rastreo o escáners, se analizaron mediante el sistema de software informático enCORE (versión 12.00.207). Las regiones de interés (ROIs – [de sus iniciales en idioma inglés, correspondientes a Region of Interest] -), se determinaron de una forma automática, mediante el sistema de software informático enCORE (Auto ROI), para la región correspondiente a la totalidad del cuerpo, para la región de los brazos, para la región de las piernas, para la región del tronco, y para la región ginoide. Un operario experto en la realización de mediciones por absorciometría de rayos X de doble energía, procedió a la verificación y, así mismo, también, cuando fuere indicado, al reposicionamiento o recolocación de los emplazamientos de las regiones de interés (ROIs), (experto en ROI). De una forma adicional a la exploración de rastreo o escaneado asistida mediante sistema de software informático, se procedió a llevar a cabo mediciones de la cintura y de la cadera.

Las mediciones de tomografía computerizada (CT), se llevaron a cabo en un dispositivo de exploración de rastreo o escáner mediante cromatografía computerizada con un multidetector de 64 cortes (VCT Lightspeed, GE Medical Systems, Milwaukee, USA). Los sujetos a ser sometidos a la exploración de rastreo, se colocaron en una posición tal, como para que éstos yacieran en una posición supina, con sus brazos arriba y su cabeza y piernas, elevadas mediante un cojín. Se requiere una exploración de rastreo individual (10 mm), del abdomen, en el nivel de las vértebras L4 – L5, y se procede al análisis del área de la sección transversal del tejido adiposo, expresada en centímetros cuadrados. Se procedió a la utilización de los siguientes parámetros para la obtención de datos: 12 kv, 100 – 200 mA, con una modulación de dosis en el eje z, y un campo de visión de 500 mm. Se procede a una reconstrucción de las imágenes transversales axiales, de 5 mm de espesor de corte o rebanada, mediante la utilización de un núcleo estándar. El proceso de cuantificación, utiliza un algoritmo semi-interactivo, comercialmente disponible en el mercado, para la segmentación de las grasas subcutánea e intraabdominal, en una estación de trabajo del tipo “Advantage Window Workstation” (GE Medical Systems).

Química clínica

Se procedió a determinar los valores correspondientes al plasma total, al colesterol de alta densidad (HDL) y al colesterol de baja densidad (LDL), a los triglicéridos, a los uratos, a la creatinina, a las concentraciones de sodio y de potasio, a la alanina aminotransferasa (ALAT), a la aspartato aminotransferasa (ASAT)=, a la gamma-glutamiltanspeptidasa (GGT), y a la presión arterial media (MAP), mediante a la utilización de métodos de laboratorio de rutina. El estatus de la resistencia a la insulina, se evaluó como un modelo de evaluación de la homeostasis de la resistencia a la insulina (HOMA - IR), correspondientemente en concordancia con la fórmula anteriormente descrita, arriba (Mathews et al., 1985): $\text{insulina } (\mu\text{U/ml}) \times \text{glucosa } (\mu\text{Mol/l}) / 22,5$.

Preparación de las muestras y análisis de espectroscopia de $^1\text{H-NMR}$

Se procedió a introducir muestras de plasma de sangre con heparina (400 μl), en tubos de NMR de 5 mm, con 200 μl de una solución de tampón fosfato deuterizada (KH_2PO_4 con una concentración final de 0,2 M). Como sustancia de bloqueo, se procedió a utilizar el deuterio. Los perfiles metabólicos, se midieron en un espectrómetro de 660 MHz, del tipo “Bruker Avance III 600 MHz spectrometer”, equipado con una sonda criogénica inversa, de 5 mm, a 300 K (Bruker Biospin, Rheinstetten, Alemania). Se obtuvo, para cada muestra de plasma, la secuencia de impulsos unidimensionales de $^1\text{H-NMR}$ estándar, con supresión de agua (RD=4s), la secuencia de eco de espín, Carr-Purcell-Meiboom-Gill (CPMG), con supresión de agua (RD=4s), y la secuencia editada por difusión (RD=4s). Para cada experimento unidimensional, se procedió a recopilar 32 exploraciones de rastreo o escáners, mediante la utilización de 98 K puntos de datos. Los espectros de $^1\text{H-NMR}$, se procesaron mediante la utilización de un paquete de software informático del tipo TOPSPIN (versión 2.1, Bruker, Alemania), previamente a la transformación de Fourier. Los espectros de NMR obtenidos, se ajustaron manualmente en cuanto a lo referente a la fase, y se corrigieron con respecto a los datos de base de referencia, y se reverenciaron al cambio químico del protón anomérico de la α -glucosa, en δ 5,2396, para el espectro de plasma. La asignación de las resonancias de $^1\text{H-NMR}$, a los metabolitos específicos, se llevó a cabo mediante el emparejamiento de ajuste en nuestra base de datos de NMR, desarrollada en nuestra casa, de los compuestos puros, mediante la utilización de los datos existentes en la literatura especializada (véase, a dicho efecto, Fan, T. W. (1996) Progress in Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy, - Progreso en la espectroscopia de resonancia magnético nuclear -, 28, 161 - 219; Nicholson, J. K., et al. (1995) Anal. Chem. 67, 793 - 811). La identificación de los metabolitos, se confirmó mediante las técnicas de NMR, consistentes en la espectroscopia de correlación 2 D de $^1\text{H-}^1\text{H}$ (2D $^1\text{H-}^1\text{H}$ correlation Spectroscopy (COSY) (Hurd, R. E. (1990) J. Magn. Reson. 87, 422 - 428), Espectroscopia de correlación total $^1\text{H-}^1\text{H}$ ($^1\text{H-}^1\text{H}$ TOrtal Correlation Spectroscopy) (TOCSY) (Bax, A. & Davis (1985) J. Magn. Reson. 65, 355 - 360) y Correlación cuántica heteronuclear individual $^1\text{H-}^{13}\text{C}$ ($^1\text{H-}^{13}\text{C}$ Heteronuclear Single Quantum Correlation (HSQC) (Bodenhausen, G. & Ruben (1980) Chemical Physics Letters 69, 185 - 189).

Preparación de las muestras, para un equipo de análisis, a modo de kit, del tipo “Biocrates Life Sciences Absolute IDQTM kit analysis”

Se procedió a utilizar el equipo de análisis, a modo de kit, del tipo “Biocrates Life Sciences Absolute IDQTM kit analysis”, para las muestras de plasma en EDTA, tal y como se ha publicado, con anterioridad (véase, a dicho efecto (Römisch-Margl, W., C. Prehn, R. Bogumil, C. Röhring, K. Suhre, J. Adamski, Procedure for tissue sample preparation and metabolite extraction for high-throughput targeted metabolomics, - Procedimiento para la preparación de muestras de tejido y para la extracción de metabolitos, para metabolómica de alto rendimiento, objetivizada como diana -. Metabonomics, 2011. Online First [publicación primera en online]. La preparación de las placas de pozos, y la aplicación y la extracción, se llevaron a cabo en concordancia con las instrucciones del fabricante. Se procedió a cargar un volumen final de 10 µl de plasma, en la placa, provista de 96 pozos, los cuales contenían los patrones estándar isotópicamente marcados. La cromatografía líquida, se llevó a cabo en un sistema de cromatografía líquida a presión ultra alta del tipo “Dionex Ultimate 3000 ultra high pressure liquid chromatography (UHPLC) system” (Dionex AG, Olten, Suiza), acoplado a un espectrómetro de masas del tipo “3200 Q TRAP mass spectrometer” (AB Sciex; Foster City, CA, USA), equipado con una fuente de ionización del tipo “TurboV ion source”, que operaba en un modo de ionización por electroproyección (ESI - de sus siglas en idioma inglés, correspondientes a electrospray ionization -). Los extractos de muestras (20 µl), se inyectaron dos veces (en los modos de ESI positiva y negativa), mediante la utilización de un gradiente de caudal de flujo de 0 – 2,4 minutos: 30 µl / minuto, 2,4 – 2, 8 minutos: 200 ml / minuto, 2,9 - 3 minutos: 30 ml / minuto. Los parámetros de MS se ajustaron a los siguientes valores: temperatura de desolvatación (TEM): 200 °C, alto voltaje: - 4500 V (ESI -), (ESI -), 5500 V (ESI +), gases de cortina (CUR) y nebulizador (GS1 y GS2): nitrógeno; 20, 40, y 50 psi; respectivamente, presión de gas de la colisión de nitrógeno: 5 mTorr. La obtención de MS/MS, se llevó a cabo en un modo de seguimiento de control programado de la reacción (SRM), con valores potenciales optimizados de desagrupación, para los s163 metabolitos sometidos a exploración de rastreo en este ensayo de escaneado. Se procedió a importar los archivos de datos en bruto, (sistema informático de análisis del tipo “Analist software, versión 1.5.1; AB Sciex, Foster City, CA, USA), introduciéndolos en el sistema informático de análisis del tipo “analysis software MetIQ”, para calcular las concentraciones de los metabolitos. La lista de todos metabolitos detectables, se encuentra comercialmente disponible en el mercado, de procedencia de la firma Biocrates Life Sciences, Austria (<http://biocrates.com>).

Análisis de datos multivariantes

Se procedió a convertir el espectro de NMR en el plasma, en puntos de datos de 22K, en el rango de δ 0.2 – 10.0, atizando un método de rutina de MATLAB, excluyendo la señal residual de agua, entre δ 54,68 – 5,10. Las intensidades de los cambios químicos, se normalizaron a la suma de todas las intensidades, dentro del rango especificado, previamente al análisis quimiométrico. Los análisis quimiométricos, se llevaron a cabo mediante la utilización de un paquete de software informático del tipo “software package SIMCA-P+” (versión 12.0.1, Umetrics AB, Umea, Suecia), y métodos de rutina de desarrollo propio, del tipo MATLAB (The MathWorks Inc., Natick, MA, USA). Con objeto de detectar la presencia de similitudes entre los perfiles metabólicos, se utilizaron los siguientes métodos de análisis: Principal Component Analysis (PCA), - Análisis de los componentes principales-, (Wold, S., et al. (1987) Chemom. Intell. Lab. Syst. 2, 37 - 52), Projection to Latent Structures (PLS)-, Proyección a las estructuras implícitas -, (Wold, S., et al. (1987) PLS Meeting, Frankfurt), y Orthogonal Projection to Latent Structures (O-PLS) -, Proyección ortogonal a las estructuras implícitas -, (Trygg, J. & Wold (2003) J. Chemom. 17, 53 - 64). Con objeto de proceder a la evaluación del modelo, se utilizó un procedimiento de validación por septuplicado (es decir, de una repetición de siete veces) (véase, a dicho efecto, (Cloarec, O., et al. (2005) Anal. Chem. 77, 517-526). La precisión de la clasificación del modelo O-PSL-DA, se estableció a partir de las muestras previstas, en el ciclo de validación cruzada, por septuplicado.

Los datos de MS objetivizados como diana, se analizaron mediante el método de análisis de bosques aleatorios mediante la utilización de un paquete del tipo ‘randomForest’ (A. Liaw y M. Wiener (2002). Classification and Regression by randomForest, - Clasificación y regresión mediante el método de los bosques aleatorios -. R News 2(3), 18 - 22). Running in the R environment -, Gestión en el entorno de R -, (R Development Core Team (2011). R: A language and environment for statistical computing, - Un lenguaje y entorno para la computación estadística. R Foundation for Statistical Computing, - Fundación R para la computación estadística, Viena, Austria. ISBN 3-900051-07-0, URL <http://www.R-project.org/>). Se procedió a llevar a cabo, así mismo, también, test de ensayo de univariantes de significancia o trascendencia, en R, para la confirmación,

Debido a la distribución no normal de la adiposidad visceral, se procedió a emplear los siguientes parámetros, para la realización de los análisis metabólicos subsiguientes: valor de transformación logarítmica del contenido de grasa visceral, del factor de relación o cociente de la grasa intraperitoneal / subcutánea (ratio 1), o del factor de relación de la grasa intraperitoneal / subcutánea (ratio 2).

Las características antropométricas y bioquímicas del cohorte, se muestran en la Tabla 1, de conformidad con la estratificación en cuatro cuartiles (Q1-4, n = 10) en base al valor de \log_{10} de factor de relación o cociente de la grasa intraperitoneal / abdominal (ratio 2), medido mediante la utilización de métodos de CT. La glucosa en ayunas ($p < 0,10$) y la insulina en ayunas ($p < 0,05$), así como el valor de HOMA-IR en ayunas ($p < 0.05$), eran mayores, e los sujetos con la adiposidad visceral más alta (Q4), en comparación con (Q1). Los valores de la transformación logarítmica del factor de relación o cociente (ratio) de la grasa intraperitoneal / subcutánea, o del factor de relación o cociente (ratio) de la grasa intraperitoneal / abdominal, son los valores los cuales se utilizaron, de una forma

preferencial, con objeto de proceder a estratificar los sujetos, en concordancia con su adiposidad visceral, ya que, estos parámetros, mostraron ser independientes con respecto a al índice de masa corporal (BMI), la cintura, la cadera, la alanina aminotransferasa (ALAT), la presión sanguínea arterial media MAP, y los índices calorimétricos, lo cual no era el caso para los valores de transformación logarítmica de volumen de grasa interperitoneal. De una forma de digno interés, en este cohorte, los valores de colesterol HDL y de colesterol HDL y el colesterol total, no eran estadísticamente diferentes entre los grupos.

Con objeto de identificar las firmas fenotípicas de la deposición de la grasa visceral, se procedió a analizar las muestras de plasma, mediante la utilización de ¹H-NMR, y de un método metabólico de LC-MS/MS, con especificación de objetivos. Los análisis en cuestión, se llevaron a cabo en las muestras de plasma en ayunas. Los análisis de OPLS (Proyección ortogonal a las estructuras implícitas) de las muestras recogidas, mostraban algunas asociaciones sutiles pero significativas, entre los lípidos del plasma sanguíneo, y la deposición de grasa visceral (R²X: 0,29; R²Y: 0,68; Q²Y: 0,32). Se procedió así mismo, también, a emplear el análisis de bosques aleatorios, con objeto de confirmar la asociación estadística existente entre los lípidos específicos del plasma y el estatus de la grasa visceral (véase, a dicho efecto, la Figura 1), la cual sugería una remodelación de los lípidos específicos del plasma, marcada mediante los cambios en los modelos patrón de los glicerofosfolípidos y de la saturación de los ácidos grasos.

Así, por lo tanto, se procedió a utilizar una metabonomía de LC-MS/MS, con objetivos específicos, para proporcionar una información estructural y mediciones cuantitativas de 163 metabolitos, incluyendo a los aminoácidos, a los azúcares, a las acil-carnitinas, a los esfingolípidos, y a los glicerofosfolípidos. Mediante la utilización del análisis de OPLS, fue posible el determinar una firma metabólica para la adiposidad de la grasas visceral (R²X: 0,29; R²Y: 0,68; Q²Y: 0,32).

Con objeto de proceder a seleccionar los marcadores más vigorosos, se utilizó el método de la precisión en el decrecimiento medio %, de los datos fuera de banda (“out of bag”), como una característica importante de la variable. Así, de este modo, ha sido posible determinar las variables las cuales discriminan de la mejor forma a los sujetos, en concordancia con sus estatus de grasa visceral (Q1 versus Q4). Ambos, los Q1 y Q4, se evaluaron mediante la utilización de sendos valores de la transformación logarítmica del volumen de la grasa intraperitoneal correspondientes al ratio 1 (factor de relación o cociente de la grasa intraperitoneal / subcutánea o al ratio 2 (factor de relación de la grasa intraperitoneal / subcutánea (ratio 2). La simulación, se utilizó así mismo, también, para evaluar las variaciones metabólicas interdiarias, mediante la consideración de cada visita, de una forma separada (datos no mostrados). Finalmente, se retuvieron 26 metabolitos, como siendo de importancia, para clasificar a los sujetos en concordancia con su adiposidad de grasa visceral (véanse, a dicho efecto, las figuras 2, 3 – 1, 3 – 2, 3 – 3). La adiposidad visceral, se asoció con las concentraciones incrementantes de los aminoácidos circulantes, incluyendo a la glutamina, a la leucina / isoleucina, a la fenilalanina, y a la tirosina. Estos modelos patrón, se asociaron con altas concentraciones de acilcarnitinas, incluyendo a la palmitoilcarnitina (C16), a la caproilcarnitina (C10), a la octenoilcarnitina (C8:1), y a la lisofosfatidilcolina LPC 24:0, y a los diacilfosfolípidos, incluyendo a las PC 30:0, PC 34:4. De una forma adicional, se marcó, mediante un agotamiento de los éteres de acilo consistentes en los PC-O 36:3, PC-O 40:3, PC-O 40:4, PC-O 40:6, PC-O 42:2, PC-O 42:3, PC-O 42:4, PC-O 44:3, PC-O 44:4, PC-O 44:6, y dos diacilfosfolípidos (PC 42:0 y PC 42:2). Con objeto de evaluar la capacidad discriminatoria de cada componente de la firma, se procedió a llevar a cabo tests de ensayo de la suma de rangos de (Wilcoxon Rank sum tests), entre los grupos de adiposidad de grasa visceral (la totalidad de los metabolitos, se encuentran listados en la Tabla 2, en concordancia con el descriptor sometido a test de ensayo, a saber, el valor logarítmico decimal (log₁₀) del ratio 2).

La figura 2, recopila los biomarcadores seleccionados, conjuntamente con su peso, en la clasificación de la adiposidad visceral, mediante el valor logarítmico decimal (log₁₀) del contenido de grasa visceral, valor logarítmico decimal (log₁₀) del ratio 1 ó el valor logarítmico decimal (log₁₀) del ratio 2. Estos marcadores, mostraban una sensibilidad y una especificidad de 0,90, para la grasa visceral, en el modo de validación cruzada (Sencv, Specv).

Tabla 1

Factor	Primer cuartil Q1	Segundo cuartil Q2	Tercer cuartil Q3	Cuarto cuartil Q4	Valores de P del test de Mann-Whitney (Q1-Q4)
Edad, años	33,9 ± 4,89	32,80 ± 3,58	38,00 ± 4,42	37,60 ± 5,82	0,13897
BMI, Kg / m ²	34,1 ± 3,27	36,34 ± 3,62	37,00 ± 2,95	34,59 ± 4,42	0,93969
Ratio log ₁₀ grasa inter-peritoneal /abdominal	-0,70 ± 0,05	0,61 ± 0,02	0,52 ± 0,02	0,40 ± 0,06	1,25506E-09
Cintura, cm	122 ± 5,47	128 ± 7,48	127,34 ± 6,29	122,28 ± 9,65	0,56498
Cadera, cm	97,28 ± 8,28	103,39 ± 8,7	108,72 ± 11,71	104,73 ± 13,84	0,45838
Ratio cintura /	0,80 ± 0,07	0,81 ± 0,06	0,85 ± 0,07	0,84 ± 0,09	0,35104
	140,40 ± 1,35	140,80 ± 1,32	141,50 ± 1,58	139,9 ± 1,10	0,32 894

ES 2 567 580 T3

cadena Na, mmol / l Ka, mmol / l	4,05 ± 0,18	4,10 ± 0,18	3,99 ± 0,25	4,04 ± 0,18	0,87656
--	-------------	-------------	-------------	-------------	---------

Tabla 1 (continuación)

Factor	Primer cuartil Q1	Segundo cuartil Q2	Tercer cuartil Q3	Cuarto cuartil Q4	Valores de P del test de Mann- Whitney (Q1-Q4)
Glucosa, mmol / l	4,95 ± 0,35	5,17 ± 0,52	5,41 ± 0,49	5,37 ± 0,5	0,05716
	65,60 ± 9,45	65,2 ± 11,2	64,78 ± 9,28	70,3 ± 6,53	0,2563
Creatinina, mmol / l	5,52 ± 1,01	5,58 ± 0,85	5,31 ± 0,68	5,48 ± 0,97	0,90965
	1,54 ± 0,43	1,32 ± 0,29	1,38 ± 0,25	1,32 ± 0,24	0,18104
Colesterol, mmol / l	3,77 ± 1,07	4,42 ± 1,22	3,99 ± 0,97	4,24 ± 0,95	0,28901
	3,50, 0,97	3,56 ± 0,88	3,34 ± 0,61	3,47 ± 0,79	1
HDL mmol / l	1,04 ± 0,43	2,25 ± 2,1	1,28 ± 0,45	1,52 ± 0,57	0,09354
Ratio HDL / colest.	275,20 ± 41,93	363,22 ± 71,45	303,40 ± 75,28	285,00 ± 31,70	0,35268
	21,40 ± 3,24	21,4 ± 4,48	24,00 ± 6,94	24,50 ± 6,7	0,40157
LDL, mmol / l	18,40 ± 6,11	19,20 ± 5,07	23,50 ± 8,34	27,10 ± 13,28	0,13971
TG, mmol / l	0,86 ± 0,25	0,91 ± 0,21	0,99 ± 0,3	1,08 ± 0,34	0,12066
Uratos, µmol / l	57,80 ± 18,6	71,10 ± 19,75	62,40 ± 20,97	57,80 ± 14,15	0,8796
ASAT, U / l	20,00 ± 11,86	17,50 ± 6,88	21,10 ± 4,84	25,44 ± 11,26	0,19122
ALAT, U / l	1357,00 ±	1434,00 ±	1469,00 ±	1433,00 ±	0,36362
Ratio ALAT/ ASAT	191,78	142,61	152,49	210,82	
	13,60 ± 9,21	22,12 ± 6,32	24,36 ± 7,22	25,44 ± 4,62	0,01468
MAP, mm Hg	4,24 ± 2,02	4,95 ± 1,49	6,06 ± 1,87	6,12 ± 1,23	0,01149
GGT, U / l	544,50 ±	580,60 ± 301,38	596,20 ± 185,79	585,10 ± 188,62	0,66426
Calorimetría, kcal / 24 horas	201,51				
Insulina					
HOMA – IR					
NEFAs µmol / l					

5 Tabla 2

Metabolito	Primer cuartil Q1	Segundo cuartil Q2	Tercer cuartil Q3	Cuarto cuartil Q4	Valores de P del test de Mann- Whitney (Q1-Q4)
Glutamina, µmol / l	615,56 ± 107,95	748 ± 193,49	792,1 ± 260,61	714 ± 94,02	0,02468
	61,97 ± 11,02	80,54 ± 22,21	75,91 ± 21,83	80,99 ± 24,69	0,05347
Tirosina, µmol / l	0,22 ± 0,1	0,2 ± 0,09	0,14 ± 0,06	0,3 ± 0,19	0,40018
Caproilcarnitina, µmol / l	0,07 ± 0,02	0,07 ± 0,03	0,07 ± 0,03	0,1 ± 0,04	0,12065
Palmitoilcarnitina µmol / l	0,04 ± 0,02	0,05 ± 0,02	0,05 ± 0,04	0,05 ± 0,02	0,25258
Octenoilcarnitina µmol / l	0,36 ± 0,25	0,51 ± 0,24	0,52 ± 0,36	0,46 ± 0,31	0,21613
LPC 24:0, µmol / l	4,43 ± 1,48	5,17 ± 2,35	5,75 ± 1,98	5,57 ± 1,76	0,1564
	1,3 ± 0,46	1,53 ± 1,14	1,41 ± 0,52	1,55 ± 0,75	0,31537
PC 30:0, µmol / l	0,65 ± 0,23	0,48 ± 0,16	0,47 ± 0,08	0,48 ± 0,14	0,07889
PC 34:4, µmol / l	0,2 ± 0,06	0,19 ± 0,11	0,13 ± 0,05	0,17 ± 0,08	0,40018
PC 42:0, µmol / l	9,94 ± 2,22	9,78 ± 3,84	8,48 ± 2,15	8,53 ± 0,99	0,17752
PC 42:2, µmol / l	10,66 ± 3,5	9,31 ± 3,51	9,38 ± 4,57	8,77 ± 1,76	0,21102
PC-O 34:1 µmol / l	11,29 ± 2,64	11,86 ± 2,68	10,38 ± 3,08	9,17 ± 2,09	0,07865
	7,04 ± 1,68	6,7 ± 2,61	7,11 ± 1,82	5,5 ± 1,24	0,02792
PC-O 34:2 µmol / l	1,41 ± 0,27	1,46 ± 0,38	1,27 ± 0,3	0,86 ± 0,42	0,00421
	2,79 ± 0,56	2,9 ± 0,73	2,47 ± 0,69	2,02 ± 0,83	0,01784
PC-O 36:2 µmol / l	2,81 ± 0,86	3,27 ± 1,09	2,8 ± 0,84	2,74 ± 1,09	0,06525
	0,66 ± 0,23	0,56 ± 0,14	0,53 ± 0,16	0,45 ± 0,18	0,05347
PC-O 36:3 µmol / l	0,89 ± 0,2	0,92 ± 0,14	0,9 ± 0,27	0,63 ± 0,26	0,06525
	1,34 ± 0,33	1,09 ± 0,28	1,09 ± 0,37	0,82 ± 0,22	0,00298

ES 2 567 580 T3

PC-O 40:3 μmol /l	0,21 \pm 0,06 0,8 \pm 0,3	0,02 \pm 0,04 0,67 \pm 0,24	0,15 \pm 0,06 0,63 \pm 0,19	0,17 \pm 0,05 0,51 \pm 0,18	0,1564 0,01721
PC-O 40:4 μmol /l	2,29 \pm 0,74 1,52 \pm 0,56	2,03 \pm 0,55 1,22 \pm 0,3	1,9 \pm 0,74 1,11 \pm 0,5	1,71 \pm 0,7 1,03 \pm 0,32	0,04113 0,01013
PC-O 40:6 μmol /l	49,9 \pm 14,16	50,47 \pm 8,45	62,82 \pm 22,17	56,42 \pm 8,38	0,04113
PC-O 42:2 μmol /l					
PC-O 42:3 μmol /l					
PC-O 42:4 μmol /l					
PC-O 44:3 μmol /l					
PC-O 44:4 μmol /l					
PC-O 44:5 μmol /l					
PC-O 44:6 μmol /l					
Fenilalanina, μmol / l					

Tabla 2 (continuación)

Metabolito	Primer cuartil Q1	Segundo cuartil Q2	Tercer cuartil Q3	Cuarto cuartil Q4	Valores de P del test de Mann- Whitney (Q1-Q4)
Leucina + Iso- leucina, μmol / l	181,44 \pm 53,02	214,2 \pm 56,71	202,4 \pm 27,39	228,8 \pm 33,83	0,04536

REIVINDICACIONES

- 1.- Uso de la 1-O-alkuil-2-acilglicerofosfocolina 44:4 (PC-O 44:4), como un biomarcador, para detectar y / o cuantificar la adiposidad visceral y / o los cambios en la adiposidad visceral.
- 2.- Procedimiento de diagnosis de la adiposidad visceral, en un sujeto, el cual comprende:
- determinar el nivel de PC-O 44:4, en una muestra de fluido corporal, previamente obtenida de un sujeto a ser sometido a test de ensayo, y
 - comparar el nivel de PCO 44:4 del sujeto, con un valor de referencia predeterminado, en donde, el valor de referencia predeterminado, se basa en un nivel promedio de PC-O 44:4, en el mismo fluido corporal, en una población de control, y en donde, una nivel disminuido de PC-O 44:4, en la muestra, en comparación con el valor de referencia predeterminado, indica un adiposidad visceral incrementada.
- 3.- Procedimiento de diagnosis de un cambio en la adiposidad visceral, en un sujeto, el cual comprende:
- determinar el nivel de PC-O 44:4, en una muestra de fluido corporal, previamente obtenida de un sujeto a ser sometido a test de ensayo, y
 - comparar el nivel de PCO 44:4 del sujeto, con un valor de referencia predeterminado, en donde, el valor de referencia predeterminado, se basa en un nivel de PC-O 44:4, en el mismo fluido corporal, obtenido del mismo sujeto, previamente, y en donde, un nivel disminuido de PC-O 44:4, en la muestra, en comparación con el valor de referencia predeterminado, indica un adiposidad visceral incrementada.
- 4.- Procedimiento de diagnosis del efecto de un cambio en el estilo de vida, sobre la adiposidad visceral, en un sujeto, el cual comprende:
- determinar el nivel de PC-O 44:4, en una muestra de fluido corporal, previamente obtenida de un sujeto a ser sometido a test de ensayo, y
 - comparar el nivel de PCO 44:4 del sujeto, con un valor de referencia predeterminado, en donde, el valor de referencia predeterminado, se basa en un nivel de PC-O 44:4, en el mismo fluido corporal, obtenido del mismo sujeto, previamente, y en donde, un nivel incrementado de PC-O 44:4, en la muestra, en comparación con el valor de referencia predeterminado, indica un efecto positivo del cambio en el estilo de vida, sobre la adiposidad visceral.
- 5.- El procedimiento, según la reivindicación 4, en donde, el cambio en estilo de vida, es un cambio en la dieta.
- 6.- El procedimiento, según la reivindicación 5, en donde, el cambio en la dieta, es el uso de por lo menos un producto nutricional, el cual no se consumía previamente, o el cual se consumía en unas cantidades diferentes.
- 7.- El procedimiento, según una cualquiera de las reivindicaciones 5 ó 6, para someter a test de ensayo la efectividad de un nuevo régimen nutricional.
- 8.- El procedimiento, según una cualquiera de las reivindicaciones 2 a 7, el cual comprende, de una forma adicional, las etapas de
- determinar el nivel de por lo menos un biomarcador adicional, seleccionado de entre el grupo consistente en la glutamina y / o la tirosina, la 1-O-alkuil-2-acilglicerofosfocolina 44:6 (PC-O 44:6), la 1-O-alkuil-2-acilglicerofosfocolina 42:4 (PC-O 42:4), la 1-O-alkuil-2-acilglicerofosfocolina 40:4 (PC-O 40:4), y la 1-O-alkuil-2-acilglicerofosfocolina 40:3 (PC-O 40:3), en la muestra de fluido corporal, y
 - comparar el nivel en el sujeto, de por lo menos una de entre la glutamina y / o tirosina, PC-O 44:6, PC-O 42:4, PC-O 40:4, y / o PC-O 40:3, con respecto a un valor de referencia predeterminado, en donde, el valor de referencia predeterminado, se basa en un valor promedio de los niveles de la glutamina, la tirosina, PC-O 44:6, PC-O 42:4, PC-O 40:4, y / o PC-O 40:3, en una muestra de fluido corporal de una población normal de control, sana, o en los niveles de glutamina, tirosina, PC-O 44:6, PC-O 42:4, PC-O 40:4, y / o PC-O 40:3, en el mismo fluido corporal, obtenido del mismo sujeto, previamente, y en donde, un nivel incrementado de glutamina y / o tirosina, y / o un nivel disminuido de PC-O 44:6, PC-O 44:4, PC-O 42:4, PC-O 40:4, y / o PC-O 40:3, en la muestra de fluido corporal, en comparación con los valores de referencia predeterminados, indican una adiposidad visceral incrementada.
- 9.- El procedimiento, según una cualquiera de las reivindicaciones 2 a 8, en donde, los niveles de biomarcadores, se determinan mediante espectrometría de ¹H-NMR y / o espectrometría de masas, en la muestra y en la referencia.

- 10.- El procedimiento, según una cualquiera de las reivindicaciones 2 a 9, en donde, la fluido corporal, es plasma o suero sanguíneo.
- 5 11.- El procedimiento, según una cualquiera de las reivindicaciones 2 a 10, en donde, el grado de adiposidad visceral, es indicativo para la probabilidad de desarrollar desórdenes asociados con el exceso de grasa visceral.
- 12.- El procedimiento, según la reivindicación 11, en donde, los desórdenes asociados con un exceso de grasa corporal, son las enfermedades cardiometabólicas vasculares y / o las desregulaciones metabólicas.
- 10 13.- El procedimiento, según una cualquiera de las reivindicaciones 2 a 12, a ser llevado a cabo en sujetos normales, en sujetos con sobrepeso o en sujetos obesos.
- 14.- El procedimiento, según una cualquiera de las reivindicaciones 2 a 13, en donde, el sujeto, es un humano o una animal de compañía, tal como el consistente en un gato o en un perro.

Figura 1 :

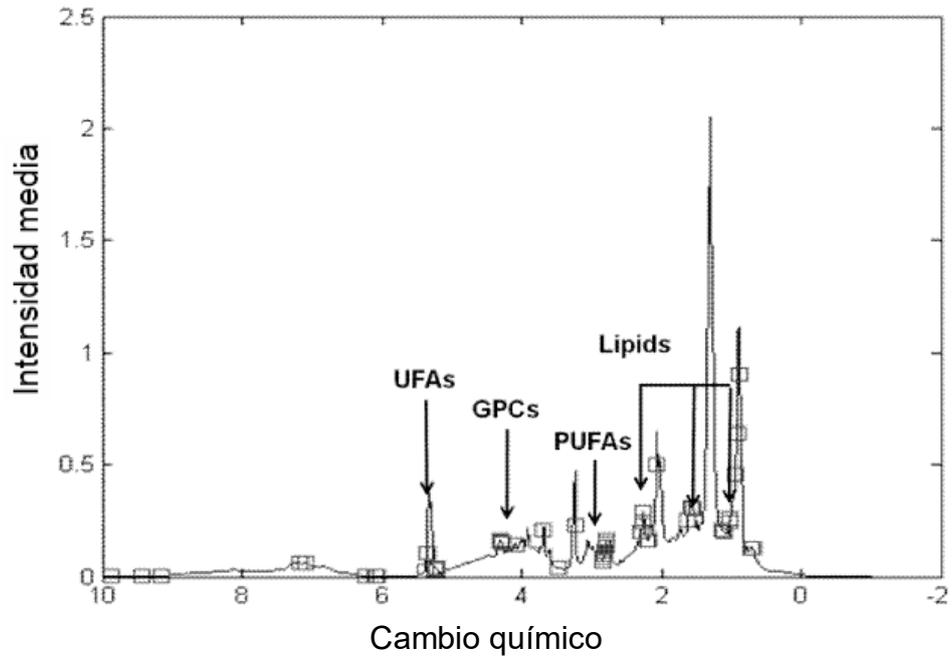


Figura 2 :

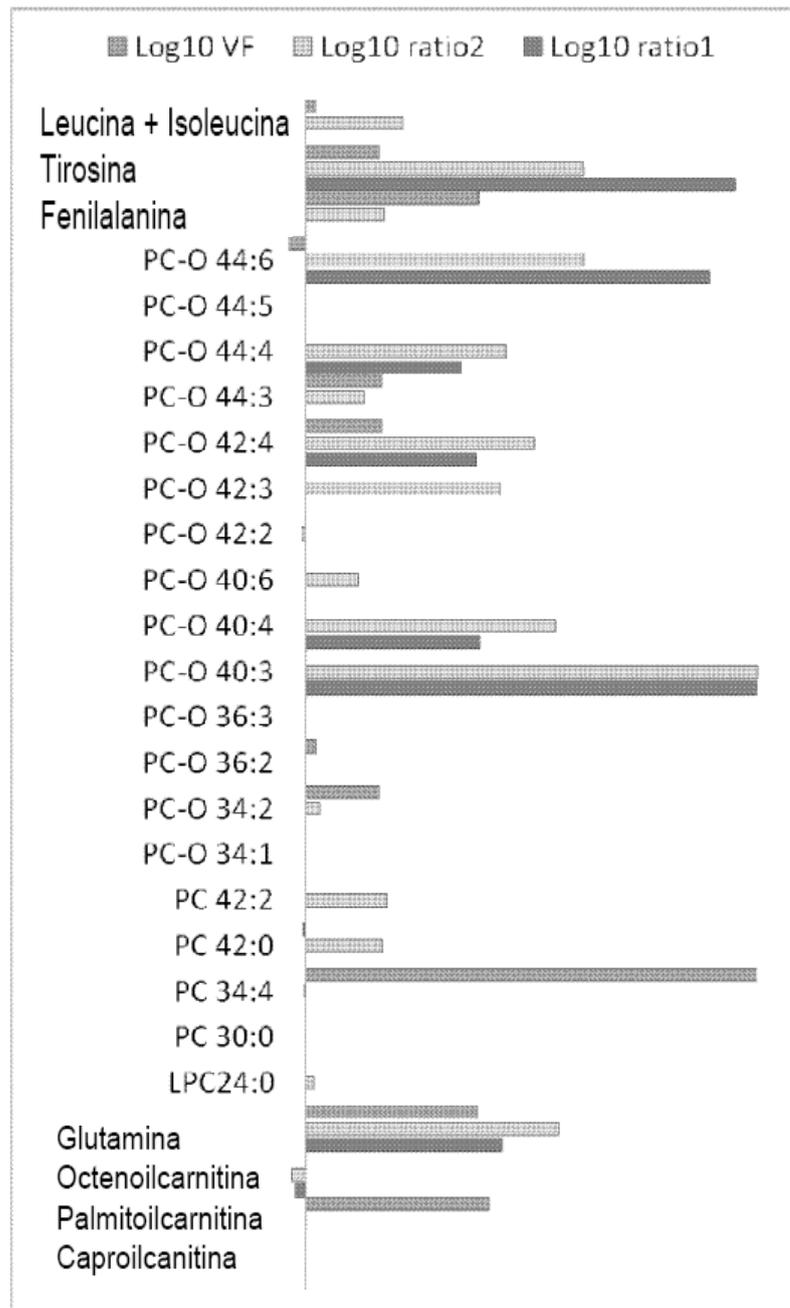


Figura 3 - 1 :

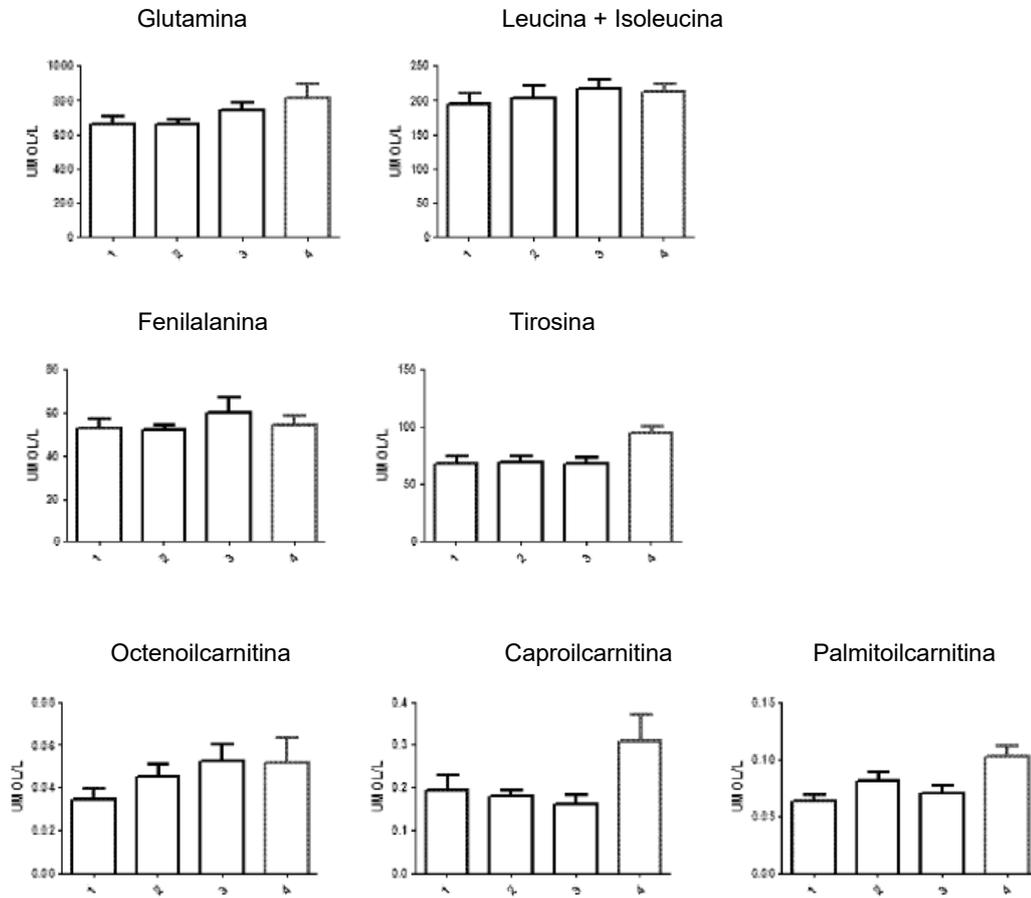


Figura 3 - 2 :

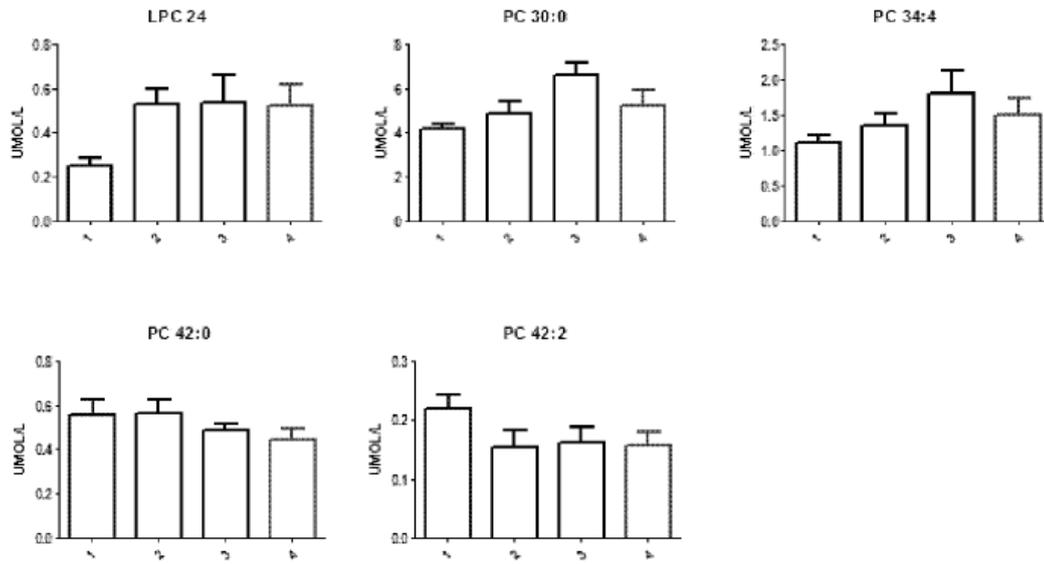


Figura 3 - 3 :

