

TRABAJO FIN DE GRADO EN MEDICINA



# Envejecimiento en el Síndrome de Cornelia de Lange

*Aging in Cornelia de Lange Syndrome*

Autora:

Laura Acero Cajo

Director/es:

Ana Latorre Pellicer

Juan Pié Juste

Departamento de Farmacología, Fisiología y Medicina Legal y Forense

Grado en Medicina

Curso académico 2020-2021



**Universidad**  
Zaragoza



Facultad de Medicina  
**Universidad** Zaragoza

## **AGRADECIMIENTOS**

Me gustaría agradecer a mis tutores, Ana Latorre y Juan Pie, por su entrega y dedicación y por apoyarme y facilitarme la realización de este trabajo, así como al Grupo de Genética Clínica y Genómica Funcional del Instituto de Investigación Sanitaria de Aragón y a las familias que han participado en este estudio.

## GLOSARIO

**ACTH:** Hormona adrenocorticotropa

**ANKRD11:** Dominio de Repetición de anquirina, del inglés Ankyrin Repeat Domain 11

**BRD4:** Proteína 4 con Bromodominio, del inglés Bromodomain-containing protein 4

**CEICA:** Comité de Ética de la Investigación de la Comunidad Autónoma de Aragón

**CREBBP:** Proteína de unión a CREB, del inglés CREB binding protein

**EP300:** Proteína de unión a E1A p300, del inglés E1A binding protein p300

**ERGE:** Enfermedad por reflujo gastroesofágico

**FA:** Fosfatasa alcalina

**GA4GH:** Alianza Global para la Genómica y la Salud, del inglés Global Alliance for Genomics and Health

**GH:** Hormona del crecimiento, del inglés Growth Hormone

**HCU:** Hospital Clínico Universitario “Lozano Blesa”

**HDAC8:** Histona deacetilasa 8, del inglés Histone Deacetylase 8

**HDL:** Lipoproteína de alta densidad, del inglés High Density Lipoprotein

**HOMA-IR:** Índice de resistencia a la insulina, del inglés Homeostasis Model Assessment – Insulin Resistance

**HPO:** Ontología del fenotipo humano, del inglés Human Phenotype Ontology

**HUMS:** Hospital Universitario Miguel Servet

**IACS:** Instituto Aragonés de Ciencias de la Salud

**IAM:** Infarto agudo de miocardio

**IGF-1:** Factor de crecimiento insulínico tipo 1, del inglés insulin-like growth factor-1

**LDL:** Lipoproteína de baja densidad, del inglés Low Density Lipoprotein

**MAU2:** Factor de cohesión de cromátidas hermanas, del inglés MAU2 Sister Chromatid Cohesion Factor

**NCBI:** Centro Nacional de Información Biotecnológica, del inglés National Center for Biotechnology Information

**NIPBL:** Factor de carga de cohesina, del inglés Nipped-B-like protein

**NLM:** Biblioteca Nacional de Medicina (de EE. UU), del inglés National Library of Medicine

**OMIM:** Herencia mendeliana en línea en el hombre, del inglés Online Mendelian Inheritance in Man

**PTH:** Hormona paratiroidea

**RAD21:** Componente del complejo cohesina, del inglés RAD21 Cohesin Complex Component

**SCdL:** Síndrome de Cornelia de Lange

**SD:** Síndrome de Down

**SMC1A:** Proteína Estructural del Cromosoma 1A, del inglés Structural Maintenance Of Chromosomes 1A

**SMC3:** Proteína estructural del Cromosoma 3, del inglés Structural Maintenance Of Chromosomes 3

**SPS:** Síndromes progeroides segmentarios

**TDHA:** Trastorno por déficit de atención e hiperactividad

**TFG:** Tasa de filtración glomerular

**TOC:** Trastorno obsesivo compulsivo

**TSH:** Hormona estimulante de la tiroides, del inglés Thyroid Stimulating Hormone

**VLDL:** Lipoproteína de muy baja densidad, del inglés Very Low Density Lipoprotein

## RESUMEN

El Síndrome de Cornelia de Lange (SCdL) es un trastorno multisistémico incluido dentro del grupo de cohesinopatías que cursa principalmente con discapacidad intelectual, rasgos faciales característicos, anomalías en extremidades superiores y crecimiento atípico. Los principales genes alterados, conocidos hasta el momento, en esta enfermedad son *NIPBL*, *SMC3*, *RAD21*, *SMC1A*, *HDAC8*, *BRD4*, *ANKRD11*, *MAU2*. Debido a las características fenotípicas, a las comorbilidades asociadas y a la esperanza de vida reducida, se cree que este síndrome puede estar asociado a un envejecimiento precoz. Por ello, el objetivo de este trabajo es valorar la posible existencia de un deterioro prematuro bioquímico en el SCdL. Para ello, se ha realizado un estudio retrospectivo de 24 valores bioquímicos en una cohorte española de 24 individuos con SCdL (9 hombres y 15 mujeres) de edades comprendidas entre 2 y 37 años. Las analíticas fueron realizadas en el Hospital Clínico Universitario Lozano Blesa durante el XIII Congreso Nacional del Síndrome de Cornelia de Lange en el 2018. Los 24 parámetros analizados se han clasificado en 8 categorías: eje adrenal, metabolismo lipídico, función cardiaca, metabolismo glucídico, eje tiroideo, eje de crecimiento, función renal y metabolismo mineral óseo. Se ha realizado una regresión lineal para estudiar cambios relacionados con la edad, y comparado los datos con los valores de normalidad en población sana de diferentes cohortes, tanto en edad pediátrica como en la edad adulta y senectud. Además, se han utilizado las bases de datos Pubmed, OMIM y HPO para realizar una detallada revisión bibliográfica del deterioro asociado a la edad que sufren estos parámetros en condiciones fisiológicas. Con todo ello, se observa que los individuos con SCdL presentan un deterioro prematuro en el metabolismo glucídico y mineral óseo. Por lo tanto, con este trabajo se pone de manifiesto la importancia de realizar un seguimiento clínico con la evaluación del índice HOMA-IR y el metabolismo fosfocálcico en los individuos con SCdL.

### Palabras clave

Síndrome de Cornelia de Lange, SCdL, síndromes progeroides, envejecimiento fisiológico, envejecimiento prematuro, eje adrenal, metabolismo lipídico, función cardiaca, metabolismo glucídico, eje tiroideo, eje de crecimiento, función renal, metabolismo mineral óseo.

## ABSTRACT

Cornelia de Lange Syndrome (CdLS) is a multisystemic disorder included within the group of cohesinopathies that mainly presents intellectual disability, characteristic facial features, abnormalities in the upper extremities and atypical growth. The main altered genes, known to date, in this disease are *NIPBL*, *SMC3*, *RAD21*, *SMC1A*, *HDAC8*, *BRD4*, *ANKRD11*, *MAU2*. Due to the phenotypic characteristics, associated comorbidities and reduced life expectancy, it is believed that this syndrome may be associated with premature aging. Therefore, the aim of this study is to assess the possible existence of a premature biochemical deterioration in the CdLS. To do this, a retrospective study of 24 biochemical values was carried out in a Spanish cohort of 24 individuals with CdLS (9 men and 15 women) aged between 2 and 37 years. The analyses were conducted at the Hospital Clínico Universitario Lozano Blesa during the XIII National Congress of Cornelia de Lange Syndrome in 2018. The 24 parameters analyzed have been classified into 8 categories: adrenal axis, lipid metabolism, heart function, carbohydrate metabolism, thyroid axis, growth axis, kidney function and bone mineral metabolism. A linear regression has been performed to study age-related changes, and the data compared with the normality values in the healthy population of different cohorts, both in pediatric age and in adulthood and senescence. In addition, Pubmed, OMIM and HPO databases have been used to carry out a detailed bibliographic review of the age-related deterioration suffered by these parameters under physiological conditions. With all this, it is observed that individuals with CdLS present a premature deterioration in carbohydrate and bone mineral metabolism. Therefore, this work highlights the importance of carrying out a clinical follow-up with the evaluation of the HOMA-IR index and phosphocalcic metabolism in individuals with CdLS.

## Keywords

Cornelia de Lange syndrome, CdLS, progeroid syndromes, physiological aging, premature aging, adrenal axis, lipid metabolism, heart function, carbohydrate metabolism, thyroid axis, growth axis, kidney function, bone mineral metabolism.

# ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1. Síndrome de Cornelia de Lange .....	1
1.1.1. Características clínicas .....	2
1.1.2. Características moleculares.....	4
1.1.3. Diagnóstico clínico y genético del SCdL .....	5
1.2. Síndromes progeroides .....	5
1.3. Biomarcadores de envejecimiento .....	6
2. OBJETIVOS .....	9
3. MATERIAL Y MÉTODOS .....	10
3.1. Bases de datos.....	10
3.1.1. PubMed .....	10
3.1.2. Human Phenotype Ontology .....	10
3.1.3. OMIM .....	10
3.2. Participantes.....	11
3.2.1. Evaluación Clínica .....	11
3.2.2. Análisis de muestras.....	11
3.2.2.1. Análisis Bioquímico .....	11
3.2.2.2. Diagnóstico molecular .....	11
3.3. Valores referencia.....	12
3.4. Gráficas y Análisis estadísticos.....	12
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	14
4.1. Eje adrenal .....	14
4.2. Metabolismo lipídico .....	16
4.3. Función cardíaca .....	17
4.4. Metabolismo glucídico .....	19
4.5. Eje tiroideo .....	21
4.6. Eje de crecimiento .....	22
4.7. Función renal.....	24
4.8. Metabolismo mineral óseo .....	25
5. DISCUSIÓN FINAL.....	29
6. CONCLUSIONES .....	31
7. BIBLIOGRAFÍA.....	32
8. ANEXO .....	35

# 1. INTRODUCCIÓN

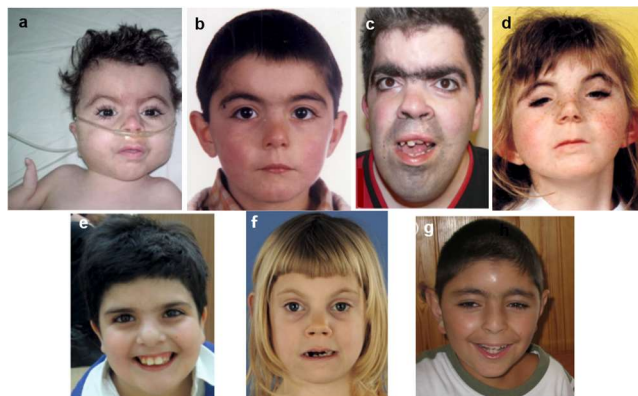
## 1.1. Síndrome de Cornelia de Lange

El síndrome de Cornelia de Lange (SCdL) (OMIM# 122470, 300590, 300882, 610759, 614701)<sup>14</sup> es un trastorno multisistémico genéticamente heterogéneo con características físicas, cognitivas y conductuales que lleva el nombre de la pediatra holandesa Cornelia de Lange, quien describió el trastorno por primera vez en dos bebés en 1933. Aunque los primeros casos fueron documentados en 1849 por los anatomistas holandeses Gerardus y Willem Vrolik, seguidos en 1926 por un médico alemán llamado Brachmann<sup>1</sup>.

Está causado por variantes en cualquiera de los ocho genes descritos hasta el momento (*NIPBL*, *SMC3*, *RAD21*, *SMC1A*, *HDAC8*, *BRD4*, *ANKRD11*, *MAU2*)<sup>2, 15</sup>, todos ellos tienen una función estructural o reguladora en el complejo de cohesina. Por ello, este síndrome se incluye dentro de un conjunto de patologías denominadas cohesinopatías<sup>1</sup>.

El SCdL clásico o típico es fácilmente reconocible por pediatras experimentados y genetistas clínicos ya que estos pacientes tienen una apariencia craneofacial distintiva y un patrón de crecimiento característico, así como malformaciones en extremidades. Sin embargo, no todos los individuos exhiben el fenotipo clásico, la presentación del trastorno puede variar ampliamente<sup>1</sup>.

La heterogeneidad tanto en la presentación fenotípica como en los genes causales ha hecho que sea cada vez más difícil determinar qué combinación de características deberían definir el SCdL. Por ello, el fenotipo general de este síndrome se puede caracterizar como un espectro al que pertenece el fenotipo clásico de SCdL y otros síndromes con fenotipo similar pero causados por otros genes implicados en el funcionamiento de la cohesina<sup>1</sup> (Figura 1).



**Figura 1.** Fenotipos faciales en individuos con SCdL. a. *NIPBL* (SCdL clásico); b. *NIPBL* (SCdL no clásico); c. *SMC1A*; d. *SMC3*; e. *HDAC8*; f. *RAD21*; g. *ANKRD11*<sup>1, 13, 16</sup>

Existe un grupo de patologías causadas por variantes patogénicas en genes implicados en el funcionamiento de la cohesina que no se incluyen dentro del espectro SCdL ya que muestran una superposición limitada con el fenotipo clásico, como son el Síndrome de Roberts (OMIM# 268300) y el Síndrome de Nicolaidis–Baraitser (OMIM# 601358)<sup>1, 14</sup>.

Hasta la fecha, no se conocen individuos con fenotipo clásico de SCdL en el que se haya demostrado de manera fiable que una variante en un gen sin función de cohesina haya causado dicho trastorno. Por tanto, todas las causas conocidas de SCdL pueden clasificarse como cohesinopatías, pero no todas las cohesinopatías dan como resultado SCdL<sup>1</sup>.



La incidencia exacta de este síndrome es desconocida ya que es posible que los casos más leves sean subdiagnosticados, pero se estima que es de 1/ 10.000 – 30.000 nacidos vivos<sup>2</sup>.

### 1.1.1. Características clínicas

El SCdL se caracteriza por discapacidad intelectual, rasgos faciales bien definidos, anomalías en las extremidades superiores y crecimiento atípico, entre muchos otros signos y síntomas<sup>1</sup> (Anexo, Tabla 1).

Dado que el SCdL generalmente se puede reconocer desde el nacimiento, el pediatra tiene un papel central en la atención clínica. Una vez que se ha confirmado el diagnóstico clínico de SCdL, todos los bebés o niños deben ser evaluados para detectar malformaciones importantes asociadas y comunes que requieren tratamiento y/o vigilancia<sup>1</sup>.

Los rasgos faciales son los más característicos del SCdL e incluyen manifestaciones oculares como sinofridia, cejas gruesas y pestañas largas, nariz corta, reborde nasal cóncavo, punta nasal hacia arriba y narinas antevertidas, un surco nasolabial largo y liso, un bermellón (labio superior) delgado y las comisuras de la boca hacia abajo<sup>4</sup> (Figura 2).

Típicamente tienen orejas de implantación baja, con malformación del pabellón auricular. Un tercio de los individuos tienen canales auditivos pequeños y estenóticos, lo que predispone a otitis media y sinusitis. La pérdida auditiva es muy común (85 a 90%) en las personas con SCdL. Suele ser bilateral, presente en la infancia, varía de leve a grave (40-50%) y es neurosensorial en un 25% y conductiva en un 75%. La hipoacusia conductiva es a menudo secundaria a otitis media persistente con derrame (80-85%). La estenosis del canal está presente en el 30%<sup>5</sup>.

La intubación puede ser difícil en personas con SCdL, debido a que suelen tener micrognatia, mentón pequeño, cuello corto, rigidez de las articulaciones temporomandibulares y paladar hendido<sup>1</sup>.

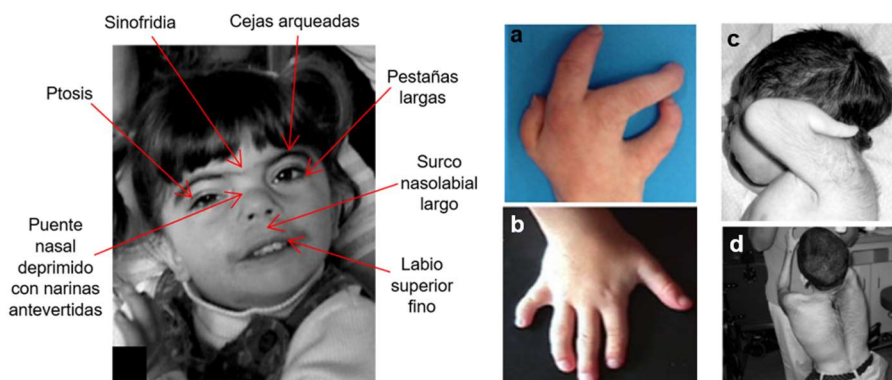
El peso al nacer suele estar por debajo del percentil 5, y la altura, el peso y la circunferencia de la cabeza permanecen por debajo de los rangos para la población general. El crecimiento está influenciado por la naturaleza de la variante y el gen causante y tiende a estar menos comprometido en individuos con variantes en el gen *SMC1A* en comparación con aquellos con variantes en *NIPBL*<sup>1</sup>.

La mayoría de las personas con SCdL atravesarán la pubertad, aunque es probable que sea levemente retrasada (la edad media de aparición es de 15 años para los niños y de 13 años para las niñas). En promedio, la menarquia se retrasa un año en comparación con la población general. El 5% de las niñas nunca menstruará, mientras que para las demás esta será irregular. Aproximadamente el 80% de las niñas desarrollarán tejido mamario y un 19% útero bicorne. En los niños, el 80% presentará criptorquidia, el 37% un pene hipoplásico y el 9% hipospadias. Los adolescentes con SCdL pueden tener sobrepeso u obesidad, normalmente inducida por una dieta con alto índice calórico y la actividad física limitada<sup>2</sup>.

Los problemas musculoesqueléticos son comunes, independientemente del gen involucrado. En individuos con variantes en *NIPBL*, las anomalías importantes más frecuentes son las de las extremidades superiores (25%), mientras que, en aquellos con variantes en otros genes, tales malformaciones son poco frecuentes (*SMC3*, *HDAC8* y *RAD21*) o ausentes (*SMC1A*)<sup>1, 7, 13</sup>.

Las principales anomalías de las extremidades se encuentran casi exclusivamente en las extremidades superiores, más frecuentemente en varones<sup>6</sup>, y son asimétricos en el 65% (en el 75% de estos individuos, el lado derecho es el lado más afectado)<sup>7</sup>.

Las malformaciones incluyen un antebrazo ausente, sinostosis radiocubital, radio o cúbito ausentes y oligodactilia. La polidactilia ocurre solo en raras ocasiones. Las manos pequeñas están presentes en casi todas las personas con SCdL; subdesarrollo de la cabeza radial y la luxación radial están presentes en el 79% de los individuos; otras anomalías menores (pulgares colocados proximalmente o curvatura anormal (clinodactilia) del quinto dedo) están presente en 65-85%<sup>1, 7, 13</sup>. La escoliosis, especialmente la escoliosis torácica, se desarrolla en un tercio de los pacientes, sobre los 10 años de edad<sup>1</sup> (Figura 2).



**Figura 2.** Algunos rasgos faciales y manifestaciones clínicas características de los pacientes con SCdL. a. ectrodactilia y sindactilia; b. clinodactilia del quinto dedo; c. ausencia de cúbito y la mayoría de estructuras digitales (nótese también el hirsutismo en espalda); d. hirsutismo<sup>2, 7, 11</sup>

Las anomalías cardiovasculares más características del SCdL son el defecto septal ventricular, la comunicación interauricular y la anomalía de la morfología del sistema cardiovascular<sup>3</sup>.

La ecocardiografía y la ecografía renal están indicadas, de forma rutinaria, en todo lactante y niño diagnosticado, dado que el 25% de los individuos con SCdL tienen una anomalía cardíaca y el 10% una malformación renal<sup>1</sup>.

Los individuos con SCdL tienen malformaciones gastrointestinales frecuentemente, como estenosis pilórica, malrotación intestinal y hernia diafragmática congénita<sup>3</sup>. La enfermedad por reflujo gastroesofágico (ERGE) es el problema gastrointestinal más prevalente y grave y también puede presentarse en la infancia como el complejo Sandifer, que se caracteriza por causar una postura distónica paroxística incluyendo tortícolis y opistótonos<sup>2</sup>. Las dificultades de alimentación están presentes casi universalmente en recién nacidos y bebés con SCdL y, en numerosas ocasiones, también en niños y adultos<sup>8</sup>.

Los problemas dentales consisten en una erupción dentaria secundaria tardía, dientes pequeños o ausentes, malposición, maloclusión, apiñamiento de los dientes, caries dentales en la superficie maxilar perilingüe, debido a la ERGE y enfermedad periodontal y bruxismo<sup>9</sup>.

Las personas con SCdL muestran discapacidad intelectual que varía de severa a leve; una pequeña proporción se encuentra dentro del rango normal, mientras que la mayoría tiene discapacidad intelectual de severa a moderada. La ansiedad es común como condición primaria en los individuos con SCdL. También puede aparecer TOC, TDAH, alteración del sueño y autismo, entre otros<sup>3</sup>.

Las dificultades en la interacción social y ansiedad pueden empeorar las habilidades lingüísticas<sup>10</sup>. Las habilidades de comunicación varían ampliamente en individuos con SCdL pero, por lo general, existen grandes dificultades, particularmente en las habilidades del lenguaje expresivo, aunque también puede existir un habla y un lenguaje bien desarrollados<sup>1</sup>.

La fonación, el habla y la masticación pueden verse comprometidas en individuos con SCdL debido a un anormal tono muscular. El habla también puede verse afectado por la pérdida de audición o anomalías morfológicas del paladar, mandíbula y articulación temporomandibular. Además, tienden a vocalizar con un tono bajo, llorar y hablar con una voz monótona, independientemente del nivel cognitivo<sup>1</sup>.

Es frecuente que aparezca hirsutismo generalizado, especialmente en la cara, la espalda y las extremidades y cutis marmorata<sup>3</sup>. En ocasiones, pueden presentar arrugas, flacidez y el pelo gris, signos de envejecimiento prematuro, y, por lo tanto, pueden parecer más viejos de lo que a su edad cronológica corresponde<sup>3</sup>. También se ha evidenciado la existencia de trombocitopenia transitoria y/o inmune<sup>1</sup>.

### 1.1.2. Características moleculares

El espectro del SCdL, es decir, el fenotipo de este síndrome, se ha asociado con anomalías moleculares que afectan a los genes implicados en la regulación de la cromatina, especialmente los que implican al complejo de cohesina<sup>11</sup>. La cohesina es un regulador esencial de muchos aspectos de la biología cromosómica, como la segregación cromosómica, el mantenimiento de la estabilidad del genoma, la regulación de la expresión génica, la estructura de la cromatina y la organización del genoma<sup>12</sup>.

Se desconoce el mecanismo exacto del SCdL, pero se estima que el papel directo de la cohesina como regulador de la expresión génica es de crucial importancia en la expresión fenotípica del síndrome<sup>1</sup>.

Hasta la fecha, los principales genes que se han visto involucrados con este síndrome son *NIPBL*, *SMC1A*, *SMC3*, *RAD21*, *HDAC8*, *BRD4*, *ANKRD11*, *MAU2*. Estos genes representan aproximadamente el 80% de los casos, por lo que la etiopatogenia del 20% restante de los pacientes con un cuadro clínico diagnóstico de SCdL es desconocida<sup>1,15</sup>.

El gen *NIPBL* (OMIM# 608667)<sup>14</sup> es el gen asociado con más frecuencia al SCdL, identificándose en el 70% de los casos aproximadamente y relacionándose mayoritariamente con el fenotipo clásico. El gen *SMC1A* (OMIM# 300040)<sup>14</sup> se ha identificado en el 5% de los individuos con SCdL, mostrando en la mayoría un fenotipo no clásico. En general se observan rasgos faciales menos marcados, menos efectos sobre el crecimiento y la carencia de anomalías en extremidades<sup>1,13</sup>.

Los genes *SMC3* (OMIM# 606062)<sup>14</sup>, *RAD21* (OMIM# 606462)<sup>14</sup>, *HDAC8* (OMIM# 300269)<sup>14</sup>, *BRD4* (OMIM# 608749)<sup>14</sup>, *ANKRD11* (OMIM# 611192)<sup>14</sup> y *MAU2* (OMIM# 614560)<sup>14</sup>, recientemente descubierto<sup>15</sup>, se encuentran en una gran minoría de pacientes<sup>1</sup>, destacando el fenotipo de la variante *ANKRD11* (OMIM# 611192)<sup>14</sup> ya que se caracteriza principalmente por la "Gestalt" facial del SCdL<sup>16</sup>.

En la búsqueda de más causas de SCdL, se han identificado variantes en varios genes adicionales por secuenciación del exoma, como las variantes de novo en *EP300* y en *AFF4*, variantes en *NAA10* y variantes recesivas de *TAF6*. Sin embargo, estas se detectaron en individuos que presentan características clínicas limitadas del SCdL en lugar de en individuos que cumplen los criterios clínicos de diagnóstico para SCdL<sup>1</sup>.

### 1.1.3. Diagnóstico clínico y genético del SCdL

Se puede realizar un diagnóstico prenatal. Las principales indicaciones para este diagnóstico son un niño previo con SCdL, un nuevo embarazo en una familia con una alteración conocida en un gen de SCdL o, como ocurre con mayor frecuencia, sin antecedentes familiares, pero con características que sugieren SCdL en la ecografía fetal. El hallazgo más común es la restricción del crecimiento intrauterino simétrico con inicio en el segundo trimestre, siendo también frecuentes las anomalías en miembros superiores y la micrognatia, así como la disminución de PAPP-A y el aumento de la translucencia nucal. Se suele realizar una biopsia corial, amniocentesis o análisis de células embrionarias mediante fertilización in vitro<sup>1</sup>.

Debido a la amplia heterogeneidad en el diagnóstico, atención y tratamiento y a la gran variabilidad fenotípica en el SCdL, se han establecido una serie de criterios diagnósticos, gracias al Grupo Internacional de Consenso de SCdL formado por expertos internacionales<sup>1</sup>.

Estos criterios diagnósticos se basan en una combinación de signos y síntomas que definen el fenotipo clásico de SCdL. Se clasifican en características cardinales, siendo estas las más significativas del SCdL y en características sugerentes, que se suman al diagnóstico, pero son menos específicas (Anexo, tabla 2). Una puntuación  $\geq 11$  indica SCdL clásico si están presentes al menos tres características cardinales; una puntuación de 9 a 10 indica SCdL no clásico si están presentes al menos dos características cardinales; una puntuación  $\geq 4$  es suficiente para justificar la prueba molecular de SCdL si al menos hay una característica cardinal presente; una puntuación  $< 4$  es insuficiente para indicar dicha prueba. Además, una puntuación  $\geq 11$  confirma el diagnóstico de SCdL independientemente de que la variante en el gen causante se encuentre o no<sup>1</sup>.

Para el diagnóstico genético, se realizan pruebas genéticas moleculares. La secuenciación en panel es la forma más eficaz para detectar variantes causales en cualquiera de los genes que se sabe que causan el SCdL y las pruebas moleculares de primera línea deben utilizar un panel que contenga, al menos, los ocho genes conocidos. La mayoría de los laboratorios de diagnóstico incluyen varios genes adicionales que pueden causar un fenotipo similar a SCdL como *CREBBP* o *EP300*<sup>1</sup>.

Si la secuenciación de panel no está disponible, la secuenciación de Sanger de *NIPBL* en un individuo con fenotipo clásico sería el enfoque elegido en primer lugar para las pruebas moleculares. Para las personas con fenotipos no clásicos, la evaluación del fenotipo puede permitir a los médicos experimentados determinar cuál de los otros genes candidatos debería ser secuenciado primero<sup>1</sup>.

Si el panel o la secuenciación de Sanger no detectan variantes causales, se debe considerar un estudio dirigido a detectar mosaicismo, preferiblemente utilizando fibroblastos no cultivados, aunque también se pueden usar células bucales o células epiteliales de la vejiga. Si es negativo, se debe considerar la posibilidad de realizar pruebas de deleciones o duplicaciones de *NIPBL* utilizando amplificación de sonda dependiente de ligadura múltiple (MLPA)<sup>1</sup>.

## 1.2. Síndromes progeroides

El envejecimiento es un fenómeno biológico general que afecta a todos los seres humanos y da como resultado un deterioro funcional de los sistemas fisiológicos acompañado de un mayor riesgo de enfermedades crónicas con el avance de la edad cronológica<sup>17</sup>.

Los síndromes con envejecimiento prematuro o síndromes progeroides muestran muchas características clínicas de patologías asociadas al envejecimiento y signos similares al envejecimiento fisiológico. Sin embargo, ocurren a edades más tempranas y a menudo progresan rápidamente<sup>17</sup>.

Los procesos de envejecimiento prematuro son en su mayoría segmentarios porque involucran a uno o más órganos, pero no exhiben todos los aspectos asociados con el envejecimiento fisiológico<sup>17, 18</sup>.

Los principales signos de envejecimiento precoz son alopecia, encanecimiento del cabello, contracturas articulares, lipodistrofia, hipoacusia, cataratas, diabetes mellitus tipo 2, osteoporosis, aterosclerosis, enfermedades cardiovasculares y neoplasias a una edad temprana. Estos síndromes también pueden ir acompañados de discapacidad intelectual, retraso del crecimiento y retraso en el desarrollo<sup>17, 18</sup>.

Los signos y síntomas iniciales de los síndromes progeroides segmentarios (SPS) suelen ser inespecíficos, lo que dificulta relacionarlos con un síndrome concreto. Además, hasta ahora se han identificado más de 100 genes asociados a estos síndromes. Por tanto, es aconsejable realizar un análisis genético basado en Secuenciación de Nueva Generación (NGS)<sup>18</sup>.

Los SPS son, tanto clínica como genéticamente, un grupo de enfermedades muy heterogéneo. Según la edad de inicio de la enfermedad, se diferencia entre formas de SGS congénitas, infantiles y juveniles / adultas<sup>18</sup>.

Se describen los síndromes progeroides más característicos que se han encontrado tras una búsqueda selectiva de la base de datos PubMed. Se explica la edad de aparición, las características clínicas y genéticas y la herencia de cada síndrome<sup>17, 18</sup> (Anexo, tabla 3).

Merece mención aparte un síndrome conocido mundialmente, el Síndrome de Down (SD) o trisomía 21. Este síndrome se caracteriza principalmente por discapacidad intelectual variable (se considera la principal causa de discapacidad intelectual), hipotonía muscular y laxitud articular, rasgos faciales característicos y defectos gastrointestinales, cardíacos, neurosensoriales o endocrinos<sup>19</sup>.

Se ha observado que los individuos con la trisomía 21 comienzan a envejecer prematuramente y presentan precozmente características de la población geriátrica. Además, se cree que dicho envejecimiento es atípico y segmentario ya que recapitula muchos signos y síntomas clásicos del envejecimiento, pero no todos<sup>20</sup>.

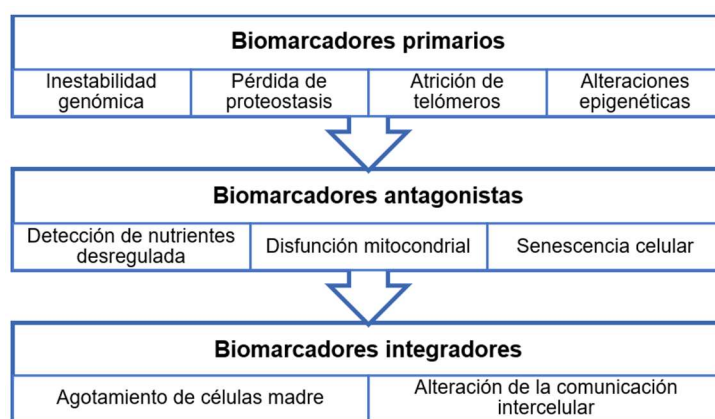
Clínicamente, los sujetos con SD presentan signos de envejecimiento precoz que afectan especialmente al sistema neurológico, con una prevalencia extremadamente alta de demencia de tipo Alzheimer. También afecta de forma prematura a los sistemas dermatológico, sensorial, endocrino y musculoesquelético, lo que lleva a altos niveles de mortalidad y morbilidad en esta población<sup>20</sup>.

### **1.3. Biomarcadores de envejecimiento**

La acumulación de daño celular dependiente del tiempo es ampliamente considerada la causa general del envejecimiento. Cada marcador debe cumplir idealmente los siguientes criterios: (1) debe manifestarse durante el envejecimiento normal; (2) su agravamiento experimental debería acelerar el envejecimiento; y (3) su mejora experimental debería retrasar el proceso de envejecimiento normal y, por lo tanto, aumentar la esperanza de vida saludable<sup>21</sup>.

Carlos López-Otín et al.<sup>21</sup> propusieron nueve biomarcadores del envejecimiento: (1) inestabilidad genómica; (2) atrición de telómeros; (3) alteraciones epigenéticas; (4) pérdida de proteostasis; (5) detección de nutrientes desregulada; (6) disfunción mitocondrial; (7) senescencia celular; (8) agotamiento de células madre; (9) alteración de la comunicación intercelular.

Estos biomarcadores se clasifican en tres categorías (Figura 3). En la parte superior, las que se consideran las principales causantes de daño celular; en la parte central, las que se consideran respuestas compensatorias o antagónicas al daño, que intentan mitigarlo, pero con la cronicidad o exacerbación se vuelven perjudiciales; y en la parte inferior, las que se consideran el resultado final de las dos anteriores y las responsables del deterioro funcional asociado al envejecimiento<sup>21</sup>.



**Figura 3.** Clasificación de los biomarcadores del envejecimiento según sus interconexiones funcionales. Los nueve sellos del envejecimiento propuestos se agrupan en tres categorías. Imagen modificada de Carlos López-Otín et al. <sup>21</sup>

Un denominador común del envejecimiento es la acumulación de daño genético a lo largo de la vida. Además, numerosas enfermedades del envejecimiento prematuro, como el síndrome de Werner y el síndrome de Bloom, son la consecuencia de una mayor acumulación de daño en el ADN<sup>21</sup>.

Los sistemas de estabilidad genómica incluyen mecanismos específicos para mantener la longitud y la funcionalidad adecuadas de los telómeros y para asegurar la integridad del ADN mitocondrial. Además de estas lesiones directas en el ADN, defectos en la arquitectura nuclear, conocidos como laminopatías, pueden causar inestabilidad del genoma y producir síndromes de envejecimiento prematuro<sup>21, 22</sup>.

Los telómeros, conocidos como las puntas de cromatina responsables de prevenir la degradación en los extremos cromosómicos, se acortan y se vuelven cada vez más susceptibles al daño con la edad. El agotamiento de los telómeros explica la limitación de la capacidad proliferativa de algunos tipos de células cultivadas in vitro, la llamada senescencia replicativa, o límite de Hayflick. De hecho, la expresión ectópica de la telomerasa es suficiente para conferir inmortalidad a otras células mortales sin causar transformación oncogénica<sup>21</sup>.

Los cambios epigenéticos se conocen como cambios hereditarios en el fenotipo independientes de las mutaciones de la secuencia de ADN. Implican alteraciones en los patrones de metilación del ADN, modificación postraduccional de histonas y remodelación de cromatina<sup>21</sup>.

A diferencia del daño acumulativo del ADN y muchas otras características del envejecimiento, las alteraciones epigenéticas son aparentemente reversibles y encarnan

dianas farmacológicas prometedoras para las terapias diseñadas para promover un envejecimiento saludable<sup>23</sup>.

Muchos estudios han demostrado que la proteostasis se altera con el envejecimiento. Además, la expresión crónica de proteínas desplegadas, mal plegadas o agregadas contribuye al desarrollo de algunas patologías relacionadas con la edad, como la enfermedad de Alzheimer, la enfermedad de Parkinson y las cataratas<sup>21</sup>.

La evidencia disponible actual apoya firmemente la idea de que la señalización anabólica acelera el envejecimiento y la disminución de la señalización de nutrientes prolonga la longevidad. Además, una manipulación farmacológica que imita un estado de la disponibilidad limitada de nutrientes, como la rapamicina, puede extender la longevidad en ratones, tal y como se ha demostrado en diversos estudios<sup>21</sup>.

La función mitocondrial tiene un profundo impacto en el envejecimiento. La disfunción mitocondrial puede acelerar el envejecimiento en mamíferos, pero está menos claro si la mejora de la función de la mitocondria, por ejemplo, a través de la mitohormesis, puede extender la vida útil en los mamíferos, aunque existen evidencias sugestivas en este sentido<sup>21</sup>.

La senescencia celular se puede definir como una detención estable del ciclo de la célula acoplado a cambios fenotípicos estereotipados. Hoy en día sabemos que la senescencia observada por Hayflick está causada por el acortamiento de los telómeros, pero existen otros estímulos asociados al envejecimiento que desencadenan la senescencia independientemente de este proceso telomérico. Más notablemente, el daño del ADN no telomérico y la desrepresión del locus INK4 / ARF, los cuales ocurren progresivamente con el envejecimiento cronológico<sup>21</sup>.

Debido a que el número de células senescentes aumenta con el envejecimiento, se ha asumido ampliamente que la senescencia contribuye al envejecimiento. Sin embargo, este punto de vista subestima lo que posiblemente sea el principal propósito de la senescencia, que es prevenir la propagación de células dañadas y desencadenar su desaparición por parte del sistema inmunológico<sup>21</sup>.

La disminución del potencial regenerativo de los tejidos, relacionado con el agotamiento de las células madre, es una de las características más obvias del envejecimiento. Por ejemplo, la hematopoyesis disminuye con la edad, lo que resulta en una disminución de la producción de células inmunes adaptativas, un proceso denominado inmunosenescencia y en una mayor incidencia de anemia y neoplasias mieloides<sup>21</sup>.

Más allá de las alteraciones de las células autónomas, el envejecimiento también implica cambios a nivel de comunicación intercelular, ya sea endocrina, neuroendocrina o neuronal<sup>24</sup>. Por tanto, la señalización neurohormonal (p. ej. eje renina-angiotensina, vía de señalización insulina-IGF1 y la adrenérgica) tiende a desregularse en el envejecimiento a medida que aumentan las reacciones inflamatorias, disminuye la inmunovigilancia contra patógenos y células premalignas y la composición del entorno peri y extracelular cambia<sup>21</sup>.



## 2. OBJETIVOS

El objetivo principal de este trabajo es valorar si existe un envejecimiento prematuro en los pacientes con Síndrome de Cornelia de Lange.

Para llevarlo a cabo, se han establecido una serie de objetivos secundarios:

1. Analizar los parámetros bioquímicos que suelen modificarse con el envejecimiento fisiológico en una cohorte española de individuos con Síndrome de Cornelia de Lange (n=24, 9 hombres y 15 mujeres) a fin de observar si existen variaciones precoces de los mismos.
2. Dividir los 24 parámetros a analizar en 8 categorías según su función en el organismo para una mejor comprensión.
  - El eje adrenal se estudiará mediante el cortisol y la ACTH, más la hormona adenohipofisaria prolactina por tratarse de una hormona del estrés.
  - En el metabolismo lipídico se analizarán colesterol total, colesterol LDL, colesterol HDL y triglicéridos.
  - Para la función cardiaca se estudiarán marcadores de daño miocárdico como troponina T ultrasensible y NT-ProBNP.
  - El metabolismo glucídico se valorará mediante glucosa, insulina e índice HOMA-IR.
  - En el eje tiroideo se analizarán TSH y T4L.
  - El eje de crecimiento será estudiado mediante IGF-1 e IGF-BP3.
  - En la función renal se examinarán creatinina, urea y ácido úrico.
  - El metabolismo mineral óseo se valorará mediante el análisis de PTH, 25 (OH) vitamina D, calcio, fósforo y fosfatasa alcalina.
3. Realizar una revisión bibliográfica sobre las variaciones de los parámetros bioquímicos y hormonales encontradas dentro de la normalidad tanto en la edad pediátrica y adolescencia como en la edad adulta y senectud.
4. Realizar gráficas según edad y si fuese necesario, sexo, que permitan comparar los parámetros del Síndrome de Cornelia de Lange, con los valores de normalidad de los laboratorios del Hospital Clínico Universitario Lozano Blesa y el Hospital Universitario Miguel Servet (Zaragoza), así como, los valores de normalidad obtenidos en la revisión bibliográfica de sujetos sanos de diferentes edades.
5. Determinar si existe deterioro funcional en los ejes analizados y valorar la necesidad o no de realizar pruebas complementarias para un estudio más exhaustivo.



## 3. MATERIAL Y MÉTODOS

### 3.1. Bases de datos

#### 3.1.1. PubMed

Para llevar a cabo la documentación de la introducción se ha empleado principalmente la base de datos PubMed (<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/>), un recurso gratuito que apoya la búsqueda y recuperación de literatura biomédica y de ciencias de la vida y que contiene más de 32 millones de citas y resúmenes de literatura biomédica<sup>25</sup>.

PubMed está disponible para el público en línea desde 1996. Fue desarrollado y mantenido por el Centro Nacional de Información Biotecnológica (NCBI), en la Biblioteca Nacional de Medicina de EE. UU (NLM), situada en los Institutos Nacionales de Salud (NIH). PubMed facilita la búsqueda en varios recursos bibliográficos de NLM como Medline, PubMed Central (PMC) y Bookshelf<sup>25</sup>.

#### 3.1.2. Human Phenotype Ontology

The Human Phenotype Ontology (HPO) (<https://hpo.jax.org/app/>), traducida como Ontología del Fenotipo Humano, proporciona un vocabulario estandarizado de anomalías fenotípicas encontradas en enfermedades humanas. Cada término del HPO describe una anomalía fenotípica. HPO se está desarrollando actualmente utilizando la literatura médica Orphanet, DECIPHER y OMIM. HPO contiene actualmente más de 13.000 términos y más de 156.000 anotaciones a enfermedades hereditarias<sup>3</sup>.

El proyecto HPO y otros han desarrollado un software para realizar diagnósticos diferenciales basados en fenotipos, diagnósticos genómicos e investigación traslacional. Es un producto insignia de la iniciativa Monarch, un consorcio internacional apoyado por los NIH dedicado a la integración semántica de datos biomédicos y de organismos modelo con el objetivo final de mejorar la investigación biomédica. La HPO, como parte de la iniciativa Monarch, es un componente central de uno de los 13 proyectos impulsores de la hoja de ruta estratégica de la Alianza Global para la Genómica y la Salud (GA4GH)<sup>3</sup>.

#### 3.1.3. OMIM

OMIM (Online Mendelian Inheritance in Man) (<https://omim.org/>), traducido como Herencia Mendeliana en Línea en el Hombre, es un compendio completo y autorizado de genes humanos y fenotipos genéticos que está disponible de forma gratuita. Las descripciones generales de texto completo referenciadas en OMIM contienen información sobre todos los trastornos mendelianos conocidos y más de 15.000 genes. OMIM se centra en la relación entre fenotipo y genotipo. Se actualiza a diario y las entradas contienen numerosos enlaces a otros recursos genéticos. OMIM está escrito y editado en el Instituto de Medicina Genética McKusick-Nathans, Facultad de Medicina de la Universidad Johns Hopkins, bajo la dirección de la Dra. Ada Hamosh<sup>14</sup>.

Esta base de datos se inició a principios de la década de 1960 por el Dr. Victor A. McKusick como un catálogo de rasgos y trastornos mendelianos, titulado Herencia Mendeliana en el Hombre (MIM). Se publicaron doce ediciones de libros de MIM entre 1966 y 1998. La versión en línea, OMIM, fue creada en 1985 por una colaboración entre la Biblioteca Nacional de Medicina y la Biblioteca Médica William H. Welch en Johns Hopkins. Se puso a disposición general en Internet a partir de 1987. En 1995, OMIM fue desarrollado para la World Wide Web por NCBI, el Centro Nacional de Información Biotecnológica<sup>14</sup>.

## 3.2. Participantes

Los datos de los pacientes con SCdL han sido obtenidos en el Grupo de Genética Clínica y Genómica Funcional (GIIS062) del Instituto de Investigación Sanitaria de Aragón (IIS Aragón). La evaluación de los pacientes y la recogida de información se han realizado en el Servicio de Pediatría del Hospital Clínico Universitario Lozano Blesa, durante el XIII Congreso Nacional Científico-Familiar del Síndrome Cornelia de Lange, que se celebró en Zaragoza del 25 al 28 de octubre de 2018. En este estudio se han incluido 24 pacientes, 15 mujeres y 9 hombres, con edades comprendidas entre 2 y 37 años.

Se obtuvo el consentimiento informado por escrito de los padres o tutores. Se siguieron las directrices éticas para la investigación en seres humanos esbozadas por la Declaración de Helsinki (revisión de Fortaleza 2013) y la Declaración de Taipei. Las muestras biológicas e información clínica están recogidas en la colección de muestras inscrita con el código C.0005514 cuyo titular es el Dr. Feliciano J. Ramos. El protocolo de trabajo está aprobado por el Comité de Ética de Investigación Clínica del Gobierno de Aragón (CEICA: PI16/225).

### 3.2.1. Evaluación Clínica

La información clínica de los pacientes fue obtenida de la Historia Clínica y de las consultas realizadas por los distintos especialistas durante la realización del XIII Congreso Nacional Científico-Familiar del Síndrome Cornelia de Lange en Zaragoza. Para el cálculo de la puntuación clínica se han utilizado los criterios descritos por Kline et al<sup>1</sup>.

### 3.2.2. Análisis de muestras

#### 3.2.2.1. Análisis Bioquímico

Se extrajeron y centrifugaron muestras de sangre venosa y se separó el plasma o el suero en alícuotas en octubre (otoño). Los análisis se realizaron en ayunas, en situación de reposo durante 20-30 minutos y en ausencia de enfermedades intercurrentes.

Dentro del estudio hormonal, los niveles de insulina, TSH, T4, prolactina, ACTH, cortisol fueron medidos mediante ensayos de electroquimioluminiscencia específicos utilizando el autoanalizador Cobas e601 (Roche Diagnostic, Mannheim, Alemania). Los niveles de IGF-1 e IGF-BP3 se midieron con ensayos inmunométricos quimioluminiscentes (Immulite 2000Xpi; Siemens Healthcare Diagnostics, Los Ángeles, CA). La PTH se midió mediante un kit disponible empleando el autoanalizador Roche Cobas 6000 (Roche Diagnostic, Mannheim, Alemania) y sus niveles se determinaron mediante electroquimioluminiscencia.

Respecto al análisis de bioquímica clínica, la glucosa sérica se analizó mediante un método espectrofotométrico enzimático con el autoanalizador Cobas 8000 (Roche Diagnostic, Mannheim, Alemania). Los niveles de 25-OH-vitamina D, calcio, fósforo y fosfatasa alcalina (FA) se midieron mediante un kit disponible comercialmente utilizando el autoanalizador Roche Cobas 6000 (Roche Diagnostic, Mannheim, Alemania). Los niveles de 25-OH-vitamina D fueron determinados mediante electroquimioluminiscencia. Los niveles de calcio, fósforo y FA se midieron fotométricamente.

#### 3.2.2.2. Diagnóstico molecular

El diagnóstico molecular se realizó por los miembros del grupo de Genética Clínica y Genómica Funcional a partir de ADN extraído de una muestra de sangre. Se realizó un panel de genes dirigido a través de un análisis de secuenciación profunda utilizando los sistemas Ion

Chef e Ion S5 XL (Thermo Fisher Scientific) localizados en los servicios científicos centrales de Secuenciación y Genómica funcional del Instituto Aragonés de Ciencias de la Salud (IACS).

El panel de SCdL personalizado fue diseñado usando la herramienta en línea Ion AmpliSeq™ Designer. El panel diseñado abarcaba 249,25 kb de la secuenciación genómica seleccionada, incluyendo: NIPBL (NM\_133433.3), SMC1A (NM\_006306.3), SMC3 (NM\_058243.2), RAD21 (NM\_006265.2), HDAC8 (NM\_018486.2), BRD4 (NM\_058243.2) y ANKRD11 (NM\_001256183.1). El análisis se realizó utilizando los programas Ion Reporter e IGV (Broad Institute). Todas las variantes reportadas fueron validadas por secuenciación Sanger.

### 3.3. Valores referencia

Para comparar los datos bioquímicos de los pacientes con SCdL se han utilizado los valores de referencia aportados por el servicio de Bioquímica del Hospital Clínico Universitario Lozano Blesa y el Hospital Universitario Miguel Servet (Zaragoza).

Para la discusión del deterioro asociado a la edad de cada uno de los parámetros, se han buscado valores de referencia por edad para tener una comparativa más global de los mismos. Todos los estudios consultados en la realización de este trabajo se especifican en la Tabla 4 de Anexos.

Los valores de referencia aportados por el HCU Lozano Blesa son los siguientes: ACTH 0-46 pg/mL; cortisol basal 5-25 µg/dL; prolactina, hombres 4,04-15,2 ng/mL, mujeres 4,79-23,2 ng/mL; colesterol, sin riesgo < 200 ng/dL; LDL (calculado), óptimo <100 mg/dL; HDL, ≥40 mg/dL; triglicéridos < 150 mg/dL; glucosa 60-100 mg/dL; insulina, 2,6-24,9 µUI/mL; HOMA-IR, prepuberal <3,5, puberal <4,5; TSH 0,6-4,84 mUI/L; T4L 0,97-1,67 ng/dL; IGF-1 95-460 ng/mL; IGF-BP3 3,3-10 µg/mL; creatinina 0,32-0,59 mg/dL; urea 0,15-0,36 g/L; ácido úrico 2-5,1 mg/dL; PTH 15-65 pg/mL; 25 (OH) vitamina D 30-150 ng/mL; calcio 9,4-10,8 mg/dL; fósforo 4,5-6,5 mg/dL.

Los valores de referencia aportados por el HUMS son troponina T ultrasensible, hombres ≤ 19,8 ng/L, mujeres ≤11,6 ng/L; NT-ProBNP < 300 pg/mL; fosfatasa alcalina <30 días, hombres 75-316 UI/L, mujeres 48-406 UI/L; 1 mes - 1 año, hombres 82-383 UI/L, mujeres 124-341 UI/L; 1-4 años, hombres 104-345 UI/L, mujeres 108- 317 UI/L; 4-7 años, hombres 93-309 UI/L, mujeres 96-297 UI/L; 7-10 años, hombres 86-315 UI/L, mujeres 69-325 UI/L; 10-13 años, hombres 42-362 UI/L, mujeres 51-332 UI/L; 13-16 años, hombres 74-390 UI/L, mujeres 50-162 UI/L; 16-18 años, hombres 52-171 UI/L, mujeres 47-119 UI/L; >18 años 30-120 UI/L.

### 3.4. Gráficas y Análisis estadísticos

Las gráficas se han realizado con Excel 2016. Para el análisis de datos se ha realizado una regresión lineal simple con el objetivo de analizar si existe una relación entre la edad y la variable bioquímica estudiada. Se ha separado por sexo (hombres y mujeres) en aquellos parámetros que presentan valores de normalidad diferentes según el sexo (prolactina, troponina T ultrasensible, fosfatasa alcalina).

Los valores de referencia utilizados para la representación de las gráficas han sido los del HCU Lozano Blesa; excepto para los valores de troponina T ultrasensible, NT-ProBNP y fosfatasa alcalina que se han utilizado los valores de referencia del HUMS.

El análisis estadístico se ha llevado a cabo mediante el software GraphPad Prism 8. Se ha utilizado el test estadístico F para realizar el contraste de regresión, que contrasta la hipótesis nula de que la pendiente de la recta es cero, es decir, que no existe relación o dependencia lineal entre las dos variables. Las diferencias consideradas como significativas son aquellas que presentan un p-valor inferior a 0.05.

## 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se ha analizado un total de 24 parámetros bioquímicos que han sido agrupados según su función en ocho categorías para:

1. Eje Adrenal: ACTH y cortisol (también prolactina por tratarse de una hormona del estrés)
2. Metabolismo lipídico: Colesterol, HDL, LDL y triglicéridos
3. Función cardiaca: Troponina T ultrasensible y NT-proBNP
4. Metabolismo glucídico: Glucosa, insulina y HOMA-IR
5. Eje tiroideo: TSH y T4L
6. Eje de crecimiento: IGF-1 e IGF-BP3
7. Función renal: Creatinina, urea y ácido úrico
8. Metabolismo mineral óseo: PTH, 25 (OH) vitamina D, calcio, fósforo, fosfatasa alcalina

Para cada una de estas categorías se ha realizado una descripción fisiológica, se han explicado los cambios producidos con el envejecimiento y, por último, se ha analizado el comportamiento en la cohorte de individuos con SCdL analizados.

### 4.1. Eje adrenal

#### 4.1.1. Fisiología del envejecimiento del eje adrenal

El envejecimiento normal está asociado a numerosos cambios endocrinos como los cambios en la estructura y función de la glándula suprarrenal. Se producen alteraciones en la producción hormonal, un aumento gradual sostenido de la secreción de glucocorticoides y una disminución de los niveles de andrógenos suprarrenales, así como cambios sutiles tanto en la secreción de ACTH como en la de cortisol<sup>26</sup>.

El cortisol está regulado por el eje hipotálamo-hipofisario-adrenal, el cual es fundamental para la homeostasis, actuando como regulador de la respuesta al estrés. Concretamente, el cortisol se produce en respuesta a la estimulación de ACTH producida en la hipófisis que, a su vez, es estimulada por la CRH producida en el hipotálamo, siendo regulado por un ciclo de retroalimentación negativa. El aumento de los niveles circulantes del cortisol en personas mayores es de gran interés debido al impacto que tiene en diversos sistemas y a su relación con el estrés crónico ya que la evidencia disponible sugiere fuertemente que el estrés crónico puede acelerar el envejecimiento<sup>26</sup>.

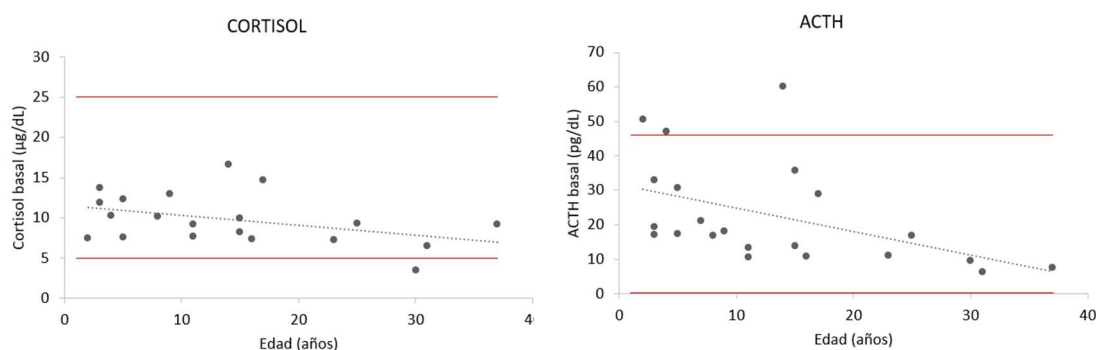
A medida que las funciones fisiológicas disminuyen gradualmente durante el envejecimiento, se produce una reducción de la actividad de dicho eje debido a una alteración de la sensibilidad del mismo. El patrón de secreción de cortisol por la zona fasciculada de la corteza adrenal también sufre modificaciones con la edad. A diferencia de la mayoría de las hormonas cuyos niveles disminuyen a lo largo de los años, las concentraciones medias de cortisol aumentan, mostrando patrones generalmente irregulares y un perfil circadiano aplanado. Asimismo, las concentraciones basales de ACTH en personas mayores se suelen elevar ligeramente con la edad<sup>26</sup>.

#### 4.1.2. Evaluación del eje adrenal en individuos con SCdL

Para estudiar el eje adrenal, se han analizado los niveles basales de ACTH y cortisol en 24 pacientes con SCdL (Tabla Suplementaria 1). Según el HCU Lozano Blesa, los valores de referencia del cortisol y ACTH son 5-25 µg/dL y 0-46 pg/mL, respectivamente, tanto para hombres como para mujeres, y sin hacer diferencias por edad. En cambio, según un estudio

basado en una cohorte alemana (n=4678) en la que se han establecido valores según rangos de edad, se observa un aumento del cortisol con la edad. Cabe destacar que en la cohorte alemana femenina se observa un ascenso pronunciado de los niveles de cortisol a partir de los 15 años de edad. Este hecho parece ser debido a la toma de anticonceptivos en algunas de estas mujeres, ya que se encuentran grandes variaciones entre las mujeres que toman anticonceptivos y las que no en el rango de 15-40 años de edad<sup>27</sup>.

Dentro de los rangos de normalidad y sin ser patológico se observa una cierta caída de los niveles de cortisol y ACTH con la edad que no parece guardar relación con la población control, sin evidenciarse diferencias estadísticamente significativas (cortisol,  $p = 0.0785$ ; ACTH,  $p = 0.1232$ ). Bien es cierto que el mayor aumento de estas concentraciones en las edades tempranas de la vida podría deberse al estrés producido en el momento de la extracción de sangre (Figura 4).

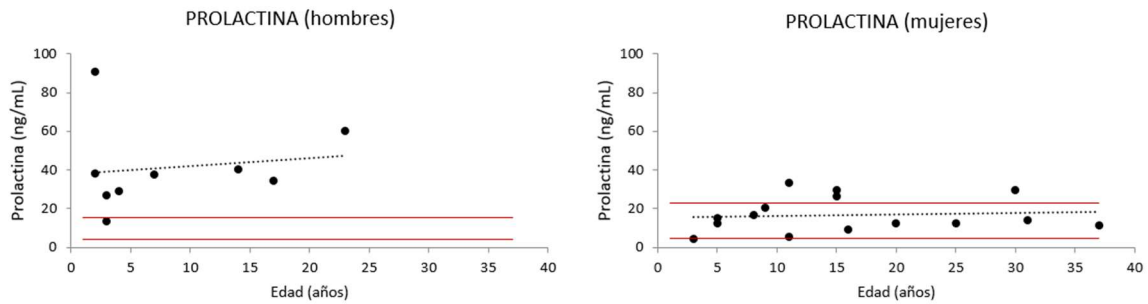


**Figura 4.** Niveles basales de cortisol y ACTH en individuos con SCdL. Cada punto corresponde a un individuo (cortisol,  $n=20$ ; ACTH,  $n=22$ ). La línea discontinua negra muestra la regresión lineal: cortisol,  $p = 0.0785$ ; ACTH,  $p = 0.1232$ . Las líneas rojas indican los límites superiores e inferiores de los valores de referencia del HCU Lozano Blesa.

Para determinar el efecto del estrés en los valores obtenidos de ACTH y cortisol basal, se evaluaron los niveles de prolactina en estos pacientes. La prolactina es una hormona peptídica secretada principalmente por la adenohipófisis y liberada a sangre periférica de manera pulsátil<sup>28</sup>.

Por tanto, también se han analizado los niveles basales de prolactina en 24 pacientes con SCdL (Tabla Suplementaria 1). Según el HCU Lozano Blesa, los valores de referencia de la prolactina son 4,04-15,2 ng/mL en hombres y 4,79-23,2 ng/mL en mujeres. Los niveles basales de prolactina se suelen mantener constantes a lo largo de los años. Actualmente no se conoce que haya correlación entre el envejecimiento y las concentraciones de prolactina<sup>28</sup>. No obstante, según los valores de referencia del Hospital Infantil La Paz (Madrid) los niños y niñas menores de 1 año de edad, tienen niveles elevados de prolactina que comienzan a descender y estabilizarse a partir de dicha edad, especialmente en los varones<sup>29</sup>.

La concentración de esta hormona en mujeres con SCdL se encuentra dentro de la normalidad, sin una marcada tendencia ascendente o descendente. En cambio, es llamativo como los niveles en los varones son superiores a los de la población control, hecho que podría estar relacionado con el estrés o con la toma de neurolépticos, como es el caso de los cuatro varones de mayor edad analizados. No obstante, no se observa una relación significativa entre la edad del individuo y los valores de prolactina, ni en hombres ( $p = 0.7073$ ) ni en mujeres ( $p = 0.7599$ ) (Figura 5).



**Figura 5.** Niveles basales de prolactina divididos según el sexo. Cada punto corresponde a un individuo ( $n=24$ , 9 hombres y 15 mujeres). La línea discontinua negra muestra la regresión lineal: prolactina (hombres,  $p = 0.7073$ ; prolactina (mujeres)  $p = 0.7599$ ). Las líneas rojas indican los límites superiores e inferiores de los valores de referencia del HCU Lozano Blesa para estos parámetros.

Aparentemente, el cortisol y ACTH tienen una cierta caída, sin ser significativa, que parece relacionarse con la edad. Sin embargo, el estudio de la prolactina revela que los niños de 2-5 años tienen una prolactina muy elevada, que coincide con el aumento de ACTH y cortisol, lo que parece ser una respuesta a una situación de estrés.

En resumen, según los datos obtenidos, ni los niveles de cortisol ni de ACTH de los individuos con SCdL reflejan un envejecimiento prematuro, ya que no se observa la tendencia al alza de dichas concentraciones, tal y como sí se evidencia en la población control. Asimismo, la prolactina no parece tener relación con el envejecimiento normal y tampoco se observan cambios llamativos en los niveles de prolactina de los individuos con SCdL.

## 4.2. Metabolismo lipídico

### 4.2.1. Fisiología del envejecimiento del metabolismo lipídico

El envejecimiento a menudo se acompaña de una desregulación de todo el metabolismo lipídico del cuerpo. Principalmente se manifiestan niveles plasmáticos elevados de colesterol LDL, teniendo un impacto significativo en el riesgo de enfermedad cardiovascular, debido a su asociación con la placa aterosclerótica, así como a niveles elevados de triglicéridos. Por el contrario, los niveles de colesterol HDL suelen disminuir con la edad aproximadamente un 1% por año, relacionándose también con la enfermedad cardiovascular<sup>30</sup>.

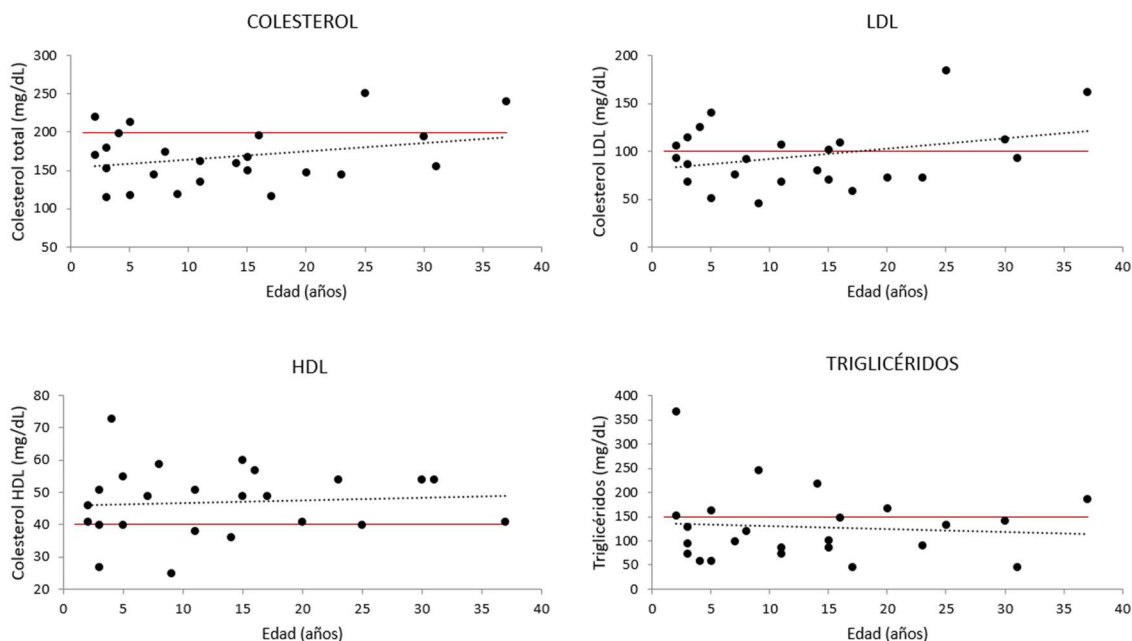
### 4.2.2. Evaluación del metabolismo lipídico en individuos con SCdL

Para estudiar el metabolismo lipídico, se han analizado los niveles basales de colesterol total, colesterol LDL, colesterol HDL y triglicéridos de 24 pacientes con SCdL (Tabla suplementaria 1). Según el HCU Lozano Blesa, los valores de referencia óptimos son colesterol total  $< 200$  mg/dL, LDL  $< 100$  mg/dL, HDL  $\geq 40$  mg/dL y triglicéridos  $< 150$  mg/dL, sin hacer diferencias entre edad o sexo.

Sin embargo, en un estudio realizado por Khosrow Adeli et al.<sup>31</sup> basado en una cohorte canadiense ( $n=11.999$ ) de edades comprendidas entre 3 y 79 años se observa que tanto las concentraciones de colesterol total como las de LDL y triglicéridos aumentan desde la primera infancia hasta la edad adulta, siendo ligeramente superiores los niveles de LDL y triglicéridos en el sexo masculino. Esto podría indicar la creciente demanda de síntesis hormonal asociada con el crecimiento y desarrollo, así como estar relacionado con la dieta, estilo de vida sedentario, obesidad, resistencia a la insulina y enfermedades metabólicas. Por el contrario, las concentraciones de HDL de esta población disminuyen con la edad. No obstante, en las mujeres se produce un aumento de dichas concentraciones, lo que apoya el papel de los

estrógenos en modular el HDL, un mecanismo que se cree que podría explicar, en parte, la protección contra las enfermedades cardiovasculares en mujeres.

Los niveles de los lípidos analizados en los individuos con SCdL se encuentran dentro de los rangos de normalidad. Tanto el colesterol total como el LDL parecen tener una tendencia a aumentar con la edad, aunque la relación no es significativa ( $p = 0.1744$ ,  $p = 0.1248$ , respectivamente), siguiendo la dinámica natural según la edad. En cambio, los niveles de colesterol HDL se mantienen estables, con una ligera tendencia al alza, y los niveles de triglicéridos parece que tienden a disminuir ligeramente con la edad. No obstante, no se observan diferencias significativas ni en HDL ( $p = 0.7218$ ) ni en triglicéridos ( $p = 0.6973$ ) (Figura 6).



**Figura 6.** Niveles basales de colesterol total, colesterol LDL, colesterol HDL y triglicéridos individuos con SCdL. Cada punto corresponde a un individuo ( $n=24$ , 9 hombres y 15 mujeres). La línea discontinua negra muestra la regresión lineal; colesterol,  $p = 0.1744$ ; LDL,  $p = 0.1248$ ; HDL,  $p = 0.7218$ ; triglicéridos,  $p = 0.6973$ . Las líneas rojas indican los límites superiores de los valores de referencia del HCU Lozano Blesa para estos parámetros, a excepción del HDL que indica el límite inferior.

A la vista de estos datos podemos concluir que el metabolismo lipídico de las personas con SCdL sigue la tendencia normal según la edad. No se evidencian alteraciones relevantes ni signos de envejecimiento prematuro en este aspecto.

### 4.3. Función cardiaca

#### 4.3.1. Fisiología del envejecimiento de la función cardiaca

Uno de los principales marcadores de la función cardiaca es la troponina T, utilizada principalmente para estudiar el infarto agudo de miocardio ya que se considera un biomarcador específico de daño miocárdico. En diversos estudios, como el estudio realizado por Denis Monneret et al.<sup>32</sup> ( $n=2707$ ) se ha observado que las concentraciones de troponina aumentan con la edad, encontrándose también diferencias significativas entre hombres y mujeres. Sin embargo, existe controversia sobre si este aumento de troponina T se debe a la edad o a las comorbilidades asociadas a las personas mayores<sup>33</sup>.

Estos niveles de troponina varían de forma diferente en la población pediátrica, de 0 a 19 años aproximadamente. En estas edades, se observan unos niveles muy elevados de



troponina T en los niños y niñas menores de 1 año. Esto podría ser un resultado parcial de hipoxia transitoria en el parto y/o expresión de troponina fetal en el músculo esquelético. Después del año de edad, las concentraciones de troponina disminuyen considerablemente y se estabilizan<sup>34</sup>.

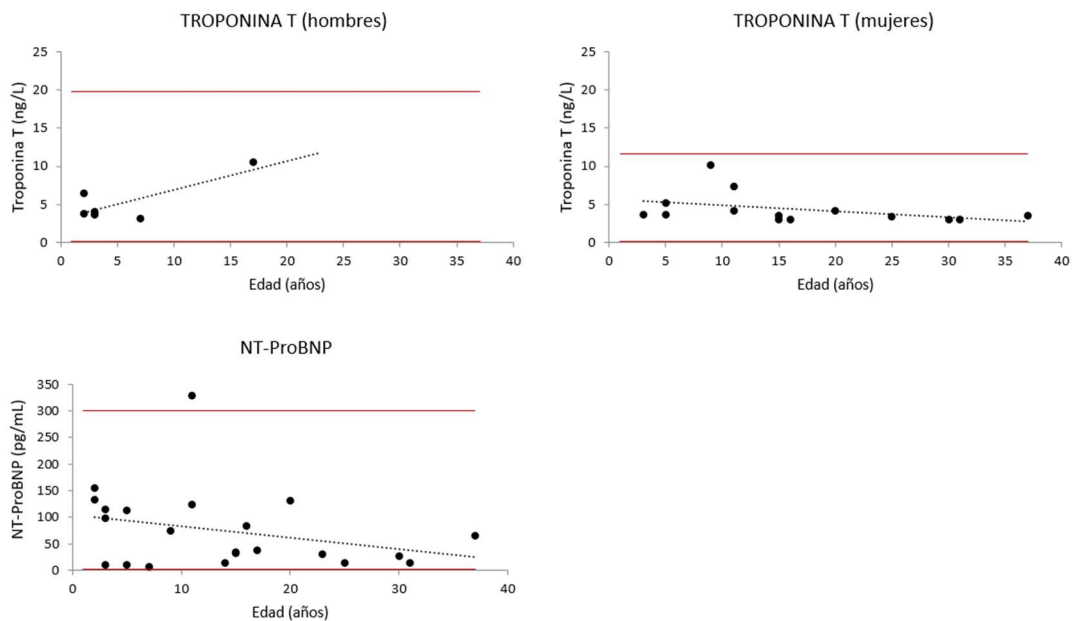
El término NT-proBNP se corresponde con el segmento N-terminal del péptido natriurético de tipo B. Este péptido es sintetizado en los ventrículos como respuesta al estiramiento de los miocitos y/o sobrecarga de presión. Su principal función reside en el diagnóstico y seguimiento de insuficiencia cardiaca y de distintos síndromes coronarios<sup>35</sup>.

A pesar de estar extremadamente ligado a las patologías cardiacas, también se han visto variaciones en sujetos sanos, según el género y la edad. Se ha demostrado como los valores de NT-proBNP aumentan con la edad, siendo mayores en mujeres que en hombres. Estos niveles también difieren según la genética, la etnia, la función renal y el índice de masa corporal, entre otros<sup>35</sup>.

Los niveles de NT-proBNP en niños con enfermedades cardiacas son similares a los estudios en adultos. Los valores normales de este péptido, en población pediátrica sana, se muestran elevados inmediatamente después del nacimiento, seguidos de una drástica disminución en los primeros días y posteriormente una disminución gradual, igual que ocurre con la troponina T. Los niveles difieren según el sexo en el grupo de 10-14 años, siendo superiores en el sexo femenino<sup>36</sup>.

#### 4.3.2. Evaluación de la función cardiaca en individuos con SCdL

Para estudiar la función cardiaca, se han analizado los niveles basales de Troponina T ultrasensible y NT-ProBNP en 24 pacientes con SCdL (Tabla suplementaria 1). Según el HUMS, los valores de referencia de la Troponina T son  $\leq 11,6$  ng/L en mujeres y  $\leq 19,8$  ng/L en hombres, encontrándose diferencias entre sexos. Sin embargo, los valores de referencia del NT-ProBNP son  $< 300$ pg/mL para ambos sexos.



**Figura 7.** Niveles basales de Troponina T ultrasensible y NT-ProBNP en individuos con SCdL. Cada punto corresponde a un individuo (troponina, n=20; NT-ProBNP, n=22). La línea discontinua negra muestra la regresión lineal: troponina T (hombres),  $p = 0.0628$ ; troponina T (mujeres),  $p = 0.1563$ ; NT-ProBNP,  $p = 0.1795$ . Las líneas rojas indican los límites superiores e inferiores de los valores de referencia del HUMS para estos parámetros.

A pesar de no observarse variaciones en los valores de referencia del HUMS según la edad en las gráficas, existe evidencia científica sobre el aumento de los niveles de Troponina T ultrasensible con la edad, a partir de los 20 años aproximadamente<sup>32</sup>. Bien es cierto que, hasta los 19 años, las concentraciones de este péptido suelen ser bajas y estables. En las mujeres con SCdL, sin ser significativo, se observa una ligera caída de los valores de troponina T en la edad adulta ( $p = 0.1563$ ), al contrario de lo que sería esperable según la evidencia científica. En hombres, aunque parece observarse una tendencia al alza en los primeros años de vida ( $p = 0.0628$ ), no hay un número suficiente de individuos analizados como para poder extraer conclusiones (Figura 7).

Las concentraciones de NT-ProBNP en las personas con SCdL sigue una tendencia similar a la de la troponina T, se observa una caída gradual de dichas concentraciones, sin ser estadísticamente significativa ( $p = 0.1795$ ) lo que difiere en cierta manera de la tendencia a aumentar con el envejecimiento en población normal (Figura 7).

En conclusión, los niveles de troponina T y NT-ProBNP, no reflejan un deterioro prematuro de la función cardíaca. No obstante, serían necesarios estudios funcionales para valorar en detalle la funcionalidad cardíaca.

## **4.4. Metabolismo glucídico**

### **4.4.1. Fisiología del envejecimiento del metabolismo glucídico**

El envejecimiento se caracteriza por una reducción del metabolismo de los carbohidratos en todo el cuerpo. La tolerancia a la glucosa disminuye con la edad, normalmente a partir de la tercera década de vida<sup>37</sup>. Al mismo tiempo, la hiperglucemia, como resultado de la tolerancia reducida a la glucosa, exacerba y acelera los procesos de envejecimiento, como los involucrados en el daño oxidativo, la reparación del ADN, la reticulación del colágeno y el engrosamiento de la membrana basal capilar<sup>38</sup>.

La pérdida de masa y función de las células beta puede atribuirse a varios mecanismos, y entre ellos, destacan la sobrecarga de glucosa y de lípidos. En un modelo in vitro de islotes humanos, la edad se correlaciona con la apoptosis de las células beta inducida por glucosa y la función de estas células disminuye alrededor de un 1% por año con la edad en individuos caucásicos tolerantes a la glucosa. Sin embargo, en el envejecimiento, la masa de células alfa y beta parece ser bastante estable. Por tanto, es probable que un aumento compensatorio en la secreción de insulina pueda deberse a un proceso funcional más que anatómico<sup>38</sup>.

Existe gran controversia sobre la alteración de la secreción de insulina con el envejecimiento, diversos estudios han demostrado que se produce un deterioro de la secreción de insulina en personas de edad avanzada, así como una desregulación en los patrones del ritmo de liberación de insulina<sup>38</sup>. En cambio, en muchos otros estudios, no se observan variaciones con la edad o incluso se observan incrementos de la misma<sup>37</sup>. Sin embargo, existe un consenso generalizado respecto a que el envejecimiento se acompaña de un aumento de la resistencia a la insulina del tejido periférico, principalmente a nivel del músculo esquelético<sup>38</sup>.

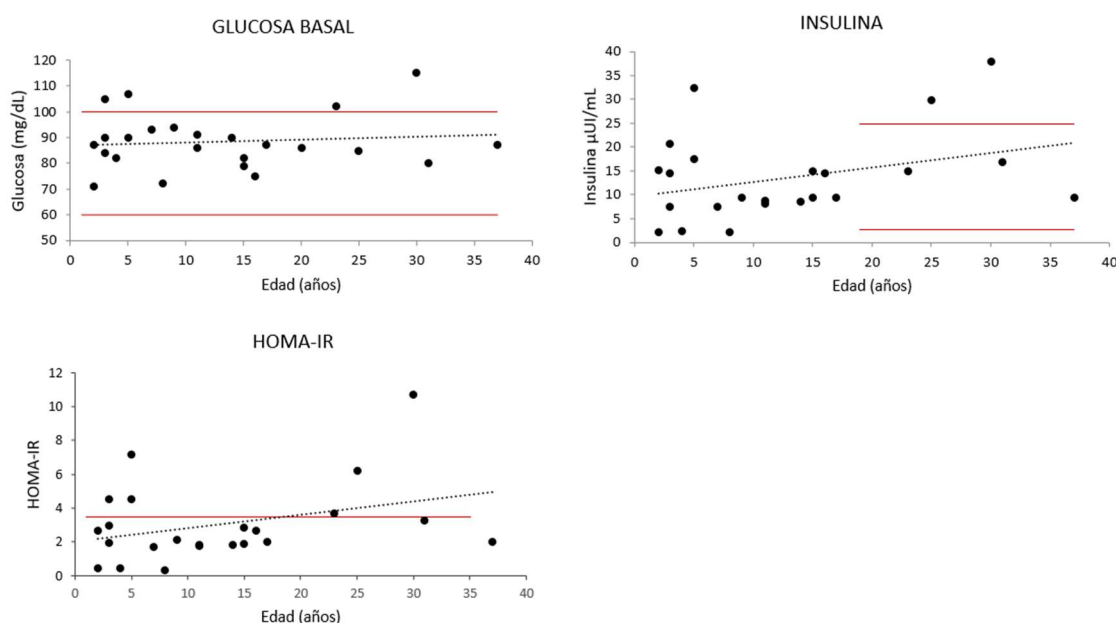
### **4.4.2. Evaluación del metabolismo glucídico en individuos con SCdL**

Para estudiar el metabolismo glucídico, se han analizado los niveles basales de glucosa e insulina y se ha calculado el índice HOMA-IR en 24 pacientes con SCdL (Tabla Suplementaria 1). Según el HCU Lozano Blesa, los valores de referencia de la glucosa son 60-100 mg/dL tanto para hombres como para mujeres. Los rangos de normalidad de la insulina en

niños están divididos según el estadio de Tanner: Tanner I: 0,62-11,57  $\mu\text{UI/mL}$ ; Tanner II: 0,69-13,75  $\mu\text{UI/mL}$ ; Tanner III: 3,42-16,28  $\mu\text{UI/mL}$ ; Tanner IV-V: 2,02-20,76  $\mu\text{UI/mL}$ ; en adultos se sitúan entre 2,6-24,9  $\mu\text{UI/mL}$ , sin encontrarse diferencias entre sexos. Por último, los valores de normalidad del índice HOMA se dividen en prepuberales < 3,5 y puberales < 4,5.

El índice HOMA-IR se utiliza ampliamente en estudios epidemiológicos y en la práctica clínica para estimar la resistencia a la insulina. Pilar Gayoso-Diz et al.<sup>39</sup>, en un estudio realizado con una cohorte española (n = 2246) comprendida entre 20 y más de 80 años analizaron los valores del índice HOMA-IR y se ha observado como los niveles medios de HOMA-IR son más altos en hombres que en mujeres. Además, en las mujeres se mostró una asociación no lineal significativa ( $p = 0.006$ ), encontrándose niveles significativamente más altos ( $p = 0.04$ ) en el sexo femenino a partir de la quinta década de edad. En cambio, en los hombres no existe evidencia que sugiera dicha asociación ( $p = 0.14$ ), a pesar de que sí que aumentaron los valores con la edad hasta los 80 años. Estas diferencias pueden reflejar el efecto de los cambios menopáusicos (disminución de los niveles de estrógenos y aumento del tejido adiposo visceral) sobre la resistencia a la insulina.

Blegina Shashaj et al.<sup>40</sup> analizaron en una cohorte caucásica (n=2753) de edades comprendidas entre 2 y 17,8 años los rangos de referencia del índice HOMA-IR. En dicho estudio observaron como el índice HOMA-IR aumenta progresivamente con la edad, estabilizándose entre los 13 y 15 años de edad y disminuyendo ligeramente posteriormente. No hay duda de que el estado puberal influye en el grado de resistencia a la insulina.



**Figura 8.** Niveles basales de glucosa, insulina y HOMA-IR en individuos con SCdL. Cada punto corresponde a un individuo (glucosa, n=24; insulina, n=23; HOMA-IR, n=23). La línea discontinua negra muestra la regresión lineal: glucosa,  $p = 0.6174$ ; insulina,  $p = 0.1224$ ; HOMA-IR,  $p = 0.1174$ . Las líneas rojas indican los límites superiores e inferiores de los valores de referencia del HCU Lozano Blesa para estos parámetros.

Tanto glucosa como insulina se encuentran dentro del rango de normalidad. Las concentraciones de glucosa se mantienen estables, sin grandes variaciones, en todo el rango de edad ( $p = 0.6670$ ). Parece que los niveles de insulina tienen una tendencia ascendente, sin ser estadísticamente significativa ( $p = 0.1224$ ), aunque es difícil de interpretar esta tendencia ya que existe gran controversia sobre los niveles de insulina y el envejecimiento, además sería necesario analizar un mayor número de individuos para valorar las diferentes pendientes según rangos de edad. (Figura 8).

El parámetro más útil para valorar la resistencia a la insulina en relación al envejecimiento es el índice HOMA-IR. En los individuos con SCdL no se observa una relación significativa de los valores de este índice con la edad ( $p = 0.1174$ ). Sin embargo, hay que destacar que 5 de los 23 pacientes analizados (21,7%) presentan un índice HOMA patológico, y que esta alteración se observa ya en individuos de menos de 5 años de edad no obesos. Por tanto, estos datos sugieren una mayor predisposición a desarrollar diabetes en los individuos con el SCdL (Figura 8).

En conclusión, el hecho de observarse niveles de HOMA-IR patológicos en más del 20% de los individuos con SCdL, apoya la teoría y sugiere un posible aumento de resistencia a la insulina en las personas con SCdL y un posible deterioro acelerado del metabolismo glucídico.

## 4.5. Eje tiroideo

### 4.5.1. Fisiología del envejecimiento del eje tiroideo

El envejecimiento provoca diversos cambios fisiológicos y morfológicos en la glándula tiroidea. Sin embargo, ciertos cambios en la homeostasis de la hormona tiroidea parecen contribuir a la longevidad<sup>41</sup>.

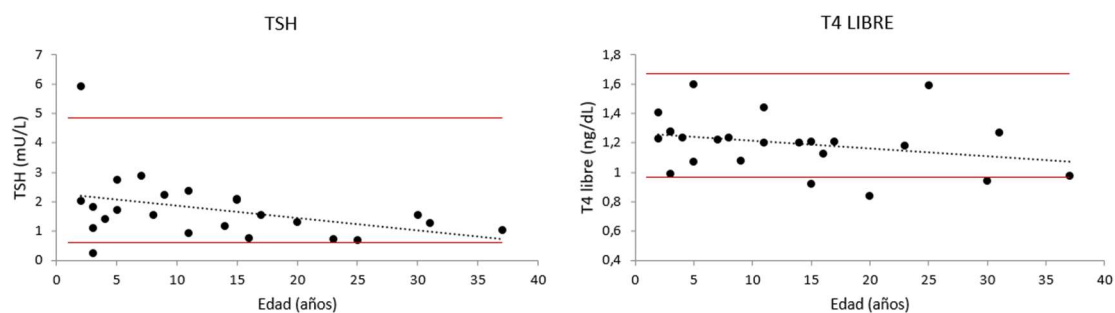
Las concentraciones séricas de TSH aumentan gradualmente en el envejecimiento saludable, aunque la secreción de T4 tiroidea y las concentraciones de T4L permanecen sin cambios. Por el contrario, la degradación de T4 por desyodación del anillo externo disminuye con la edad. El punto de ajuste hipofisario de la supresión por retroalimentación de TSH se restablece gradualmente en las personas mayores, aunque esto se hace evidente solo en la senescencia extrema. Además, el hecho de que el aumento nocturno de TSH disminuya con la edad también apunta a la presencia de disfunción hipotalámica en los ancianos<sup>41</sup>.

### 4.5.2. Evaluación del eje tiroideo en individuos con SCdL

Para estudiar la función tiroidea, se han analizado los niveles basales de TSH y T4L en 24 pacientes con SCdL (Tabla Suplementaria 1). Según el HCU Lozano Blesa, los valores de referencia de TSH y T4L son 0,6- 4,84 mUI/L y 0,97- 1,67 ng/dl, respectivamente, sin encontrarse diferencias entre sexo ni entre edad.

Sin embargo, según David Strich et al.<sup>42</sup> en un estudio basado en una cohorte de Jerusalén ( $n = 27940$ ) en el que se obtuvieron datos de personas de edades comprendidas entre 1 y más de 80 años de edad se observó como la TSH disminuye hasta los 40-50 años y después aumenta en ambos sexos. En cambio, la T4L disminuye ligeramente hasta los 40-50 años y después comienza a elevarse en mujeres mientras que en hombres continúa descendiendo. No obstante, en otros estudios, el aumento de TSH se produce a partir de los 30 años de edad, lo que puede deberse a diferencias en el suministro de yodo.

Gunapalasingham, G et al.<sup>43</sup> realizaron un estudio en una cohorte danesa ( $n = 2410$ ) de niños y adolescentes de 6 a 19 años de edad. Se encontró una correlación dependiente de la edad para ambos sexos ya que tanto T3L como T4L disminuyen ligeramente con la edad, siendo más notable este descenso entre los 10-15 años, coincidiendo con el desarrollo puberal. Las concentraciones de TSH, en cambio, se mantienen estables. Por el contrario, según los valores de referencia del Hospital Infantil La Paz (Madrid), tanto los niveles de T4L como los de TSH disminuyen de 1 a 18 años, evidenciándose concentraciones ligeramente superiores de T4L en mayores de 18 años<sup>44</sup>.



**Figura 9.** Niveles basales de TSH y T4 libre en individuos con SCdL. Cada punto corresponde a un individuo ( $n=24$ , 9 hombres y 15 mujeres). La línea discontinua negra muestra la regresión lineal: TSH,  $p = 0.0689$ ; T4 libre,  $p = 0.1959$ . Las líneas rojas indican los límites superiores e inferiores de los valores de referencia del HCU Lozano Blesa para estos parámetros.

Encontrándose dentro del rango de normalidad, en los datos obtenidos de los individuos con SCdL se observa una tendencia descendente tanto en los niveles de TSH como en los de T4L ( $p = 0.0689$ ;  $p = 0.1959$ , respectivamente), sin llegar a ser significativa con el número de individuos analizados (Figura 9).

Tal y como ya se ha mencionado, tanto en la edad pediátrica como al comienzo de la edad adulta sana, los niveles basales de TSH y T4 libre -suelen disminuir hasta los 40-50 años, ascendiendo posteriormente, por tanto, se concluye que estas hormonas en el SCdL siguen la tendencia natural según la edad correspondiente y no se relacionan con un deterioro acelerado.

## 4.6. Eje de crecimiento

### 4.6.1. Fisiología del envejecimiento del eje de crecimiento

Los factores de crecimiento similar a la insulina (IGF) representan una familia de proteohormonas con una alta homología de secuencia con la proinsulina. Sus efectos biológicos están mediados y modificados por un complejo sistema formado por dos IGF (IGF-1, IGF-2) y una familia de seis proteínas de unión a IGF de alta afinidad (IGFBP), de los cuales IGF-BP3 es la más abundante en sangre postnatal. El IGF-1 se sintetiza predominantemente en el hígado en respuesta a la GH hipofisaria y es el principal mediador de los efectos periféricos de la GH. A pesar de que la secreción de GH sigue un patrón pulsátil, las concentraciones de IGF-1 e IGF-BP3 circulantes son en gran parte estables durante el transcurso de un día y en periodos mayores, por lo tanto, se considera que reflejan el estado a largo plazo de la secreción de GH<sup>45</sup>.

Normalmente, los niveles de IGF-1 disminuyen desde el nacimiento hasta los seis meses de edad, con un aumento subsiguiente en la infancia tardía. Las concentraciones de IGF-1 muestran un aumento más pronunciado en la pubertad con niveles máximos a los 14,5 años en las niñas y a los 15,5 años en los niños o en los estadios III-IV de Tanner en niñas y IV en niños. Los niveles de IGF-BP3 exhiben cambios similares a los de IGF-1 aunque son menos acentuados en la etapa puberal. Tras la pubertad, los niveles de IGF-1 e IGF-BP3 disminuyen notablemente de manera casi lineal con el aumento de la edad. Por tanto, la edad en sí parece influir en las concentraciones de IGF-1 e IGF-BP3, no obstante, la composición corporal, la actividad física, los hábitos de vida y los cambios en los niveles de esteroides sexuales también regulan estas concentraciones<sup>46</sup>.

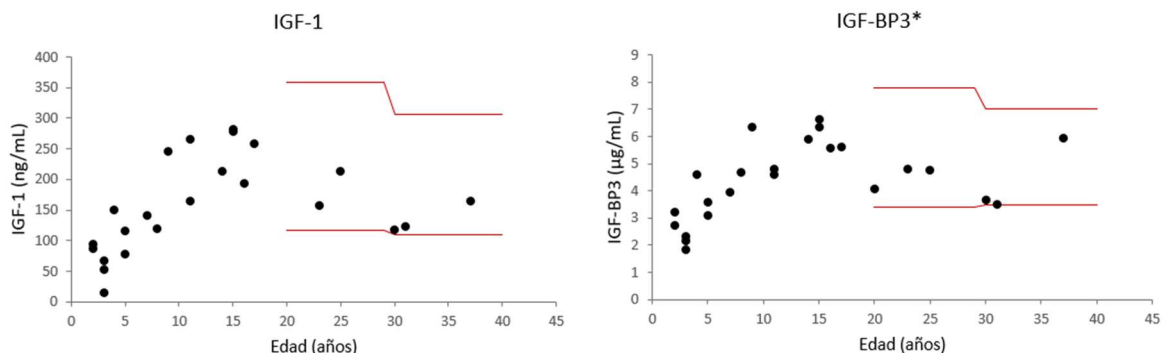
#### 4.6.2. Evaluación del eje de crecimiento en individuos con SCdL

Para estudiar el eje del crecimiento, se han analizado los niveles basales de IGF-1 e IGF-BP3 en 24 pacientes con SCdL (Tabla Suplementaria 1). Según el HCU Lozano Blesa, los valores de referencia tanto de IGF-1 como de IGF-BP3 difieren entre la edad pediátrica y la adulta. Los valores de IGF-1 en la edad pediátrica se han dividido según el estadio de Tanner, siendo dichos valores: Tanner I 53-332 ng/ml, Tanner II 84-431 ng/ml, Tanner III 114-773 ng/ml, Tanner IV 217-843 ng/ml, Tanner V 147-842 ng/ml. En cambio, los valores en adultos de 20 a 30 años son 116-358 ng/ml y de 30 a 40 años oscilan entre 109-307 ng/ml. Los valores de IGF-BP3, en la edad pediátrica, también se dividen según el estadio de Tanner siendo Tanner I 1,3-6,3 µg/mL, Tanner II 2,4-6,7 µg/mL, Tanner III 3,3-9,1 µg/mL, Tanner IV 3,5-8,6 µg/mL, Tanner V 2,7-8,9 µg/mL. En adultos de 20 a 30 años los valores son 3,4-7,8 µg/mL y en el caso de 30 a 40 años, 3,5-7 µg/mL.

Según el estudio de Nele Friedrich et al.<sup>45</sup> basado en 11 cohortes de diferentes países de Europa, Canadá y EE. UU y divididas por edad en recién nacidos, edades pediátricas y adultos (n = 14970). Se observó que las concentraciones de IGF-BP3 e IGF-1 están fuertemente relacionadas con la edad, sin grandes variaciones entre sexos. En la infancia, los niveles más bajos se observan al nacer, seguidos de un rápido aumento durante las primeras semanas de vida y posteriormente un aumento gradual hasta los 22 años de edad, alcanzándose las concentraciones máximas de IGF-BP3 más tarde que las de IGF-1. En la edad puberal se evidencia un pico pronunciado de las concentraciones de IGF-1 y de IGF-BP3. Al mismo tiempo, los niveles de IGF-1 disminuyen rápidamente y los de IGF-BP3 descienden lentamente formándose una meseta en las edades de entre 15 y 25 años. A la edad de 30 años, las concentraciones de IGF-BP3 son similares en ambos sexos, seguidas de una disminución más marcada en hombres que en mujeres.

Además, para reflejar con más exactitud los cambios puberales, también analizaron los rangos de referencia según los estadios de Tanner en la edad pediátrica, observándose concentraciones más altas de estos parámetros en los estadios IV/V de Tanner<sup>45</sup>.

En los datos obtenidos de los individuos con SCdL se observa una tendencia al alza hasta los 20 años aproximadamente, relacionándose con la época de crecimiento, y siendo similar al comportamiento observado en los estudios analizados previamente. A partir de esta edad, las concentraciones de IGF-1 y de IGF-BP3 parece que comienzan a disminuir, sin embargo, es necesario la evaluación de más individuos adultos para poder realizar un estudio de regresión a partir de los 20 años de edad (Figura 10).



**Figura 10.** Niveles basales de IGF-1 e IGF-BP3 en individuos con SCdL. Cada punto corresponde a un individuo (IGF-1, n=23; IGF-BP3, n=24). Las líneas rojas indican los límites superiores e inferiores de los valores de referencia del HCU Lozano Blesa para estos parámetros.

En conclusión, como ha sido descrito en población sana, los valores de IGF-1 e IGF-BP3 aumentan significativamente hasta los 20 años de edad en los individuos con SCdL. A partir de esa edad, parece observarse una disminución de la concentración sérica de IGF-1 e IGF-BP3, pero son necesarios estudios en más individuos para poder relacionar la evolución de estos parámetros con un deterioro precoz.

## 4.7. Función renal

### 4.7.1. Fisiología del envejecimiento de la función renal

Macroscópicamente el envejecimiento se suele manifestar en el riñón con rugosidad de la superficie del riñón, formación de quistes simples y disminución del volumen renal total. Microscópicamente se caracteriza por nefrosclerosis, engrosamiento de la membrana basal glomerular, ensanchamiento mesangial y aumento de la acumulación de matriz extracelular<sup>47</sup>.

Los cambios estructurales son concomitantes con una disminución de la función renal, que se evalúa principalmente con la tasa de filtración glomerular total (TFG), la cual disminuye entre 5-10% por década a partir de los 35 años de edad. Este deterioro se cree que puede deberse a la pérdida de nefronas, pero existe gran controversia al respecto. Asimismo, la evidencia sugiere que la función tubular renal también disminuye progresivamente con el envejecimiento<sup>47</sup>.

La creatinina es un compuesto obtenido de la degradación de la creatina en el tejido muscular. La mayor parte de la creatinina es excretada por los riñones y, por ello, la creatinina plasmática es el marcador endógeno más comúnmente utilizado de la TFG. El ácido úrico es el resultado del metabolismo de nitrógeno en el organismo humano y la urea es el producto final de la degradación de las proteínas. Ambos son eliminados por orina. Los tres parámetros permiten valorar la presencia de algún desorden renal o metabólico<sup>48</sup>.

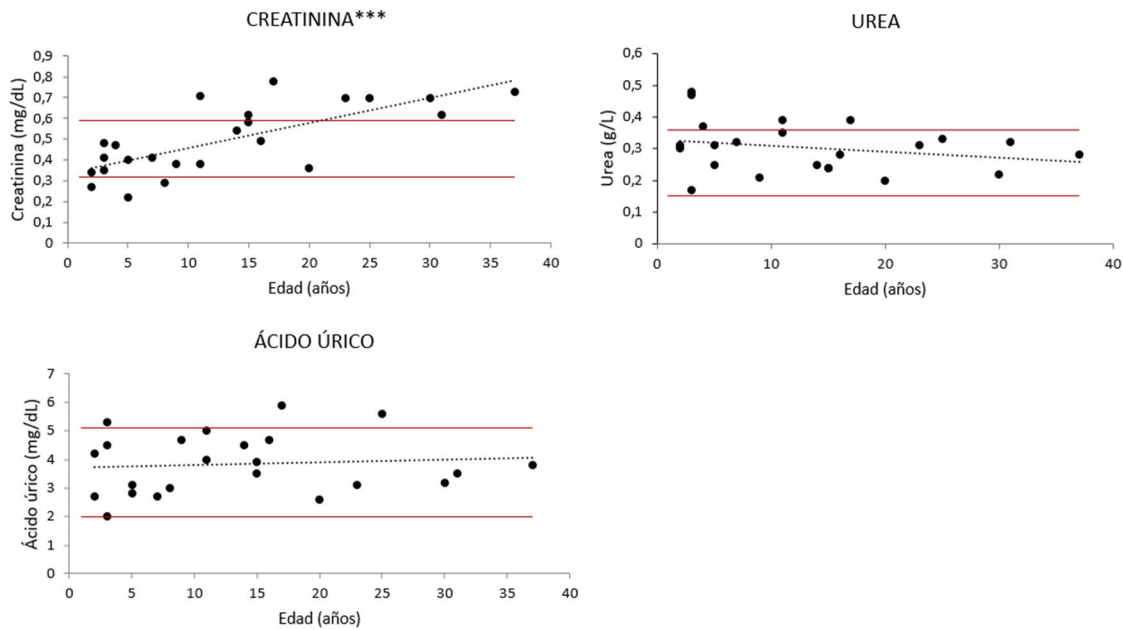
### 4.7.2. Evaluación de la función renal en individuos con SCdL

Para estudiar la función renal, se han analizado los niveles basales de creatinina, urea y ácido úrico en sangre en 24 pacientes con SCdL (Tabla Suplementaria 1). Según el HCU Lozano Blesa, los valores de referencia de creatinina son 0,32-0,59 mg/dL, los de urea, 0,15-0,36g/L y los de ácido úrico, 2-5,1 mg/dL, sin hallarse diferencias entre edades o género.

Según el estudio de Khosrow Adeli et al.<sup>31</sup> (n=11.999) se observan variaciones según la edad y el sexo. Los tres parámetros, creatinina, urea y ácido úrico, aumentan con la edad, siendo más marcado este aumento en hombres que en mujeres y, principalmente, en la edad pediátrica y adolescencia. La cantidad de creatinina producida diariamente a partir de la descomposición de la creatina en el músculo se correlaciona con el aumento de la masa muscular. De manera similar, la urea y el ácido úrico están relacionados con la degradación de proteínas y por ello se espera que aumenten con el crecimiento y desarrollo.

Sin embargo, en un estudio realizado por Carlos Guido Musso et al.<sup>49</sup>, no se observa una diferencia significativa en el valor de creatinina plasmática entre grupos de diferente edad ni se evidencian variaciones en los niveles de urea sérica, a pesar de la TFG reducida. Los niveles séricos de ácido úrico y la excreción fraccionada de ácido úrico tampoco difieren entre personas sanas muy ancianas en comparación con jóvenes sanos.





**Figura 11.** Niveles basales de creatinina, urea y ácido úrico en individuos con SCdL. Cada punto corresponde a un individuo (creatinina, n=24; urea, n=23; ácido úrico, n=23). La línea discontinua negra muestra la regresión lineal: creatinina,  $p < 0.0001$ ; urea,  $p = 0.2630$ ; ácido úrico,  $p = 0.6568$ . Las líneas rojas indican los límites superiores e inferiores de los valores de referencia del HCU Lozano Blesa para estos parámetros. \*  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.001$ , \*\*\*  $p < 0.0001$

En líneas generales, las concentraciones de los tres parámetros se encuentran dentro de los rangos de normalidad. Los niveles de urea y ácido úrico se mantienen estables con la edad, pero se puede observar una ligera tendencia descendente en las concentraciones de urea sin llegar a ser patológica y sin ser significativa (urea,  $p = 0.2630$ ; ácido úrico,  $p = 0.6568$ ) (Figura 11).

Por el contrario, llama la atención la tendencia ascendente de los niveles de creatinina desde la edad pediátrica a la edad adulta, con diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0.0001$ ). El aumento en edad pediátrica probablemente se deba al crecimiento, ya que se correlaciona con el aumento de masa muscular. Sin embargo, es interesante que continúe aumentando en la edad adulta. Esta alteración podría reflejar un fallo en la función renal pero el hecho de que los niveles de urea y ácido úrico se mantengan estables no apoya esta teoría. Además, no ha sido analizada la TFG en los individuos con SCdL, por lo que no podemos valorar correctamente este aspecto, aunque no parece que esta variación sea debida a un deterioro acelerado (Figura 11).

En base a estos datos concluimos que, a pesar de existir evidencia significativa en relación al aumento de la creatinina con la edad, no parece que esta se relacione con un deterioro acelerado de la función renal ya que los valores de ácido úrico y urea se mantienen estables.

## 4.8. Metabolismo mineral óseo

### 4.8.1. Fisiología del envejecimiento del metabolismo mineral óseo

La fosfatasa alcalina (FA) es una enzima asociada a la membrana celular que participa en el proceso de mineralización producida en el hígado, hueso y placenta. Se considera generalmente como marcador de formación ósea, aunque en realidad refleja el proceso de mineralización<sup>50, 51</sup>.



La 25 (OH) vitamina D y la PTH son esenciales en el metabolismo óseo y la homeostasis del calcio y mantienen la concentración de calcio ionizado dentro de los límites precisos necesarios para alcanzar las funciones metabólicas y neuroreguladoras. Actualmente, los niveles de PTH se consideran el mejor marcador disponible no invasivo del recambio óseo<sup>51</sup>.

La 25 (OH) vitamina D se considera el mejor indicador del estado de la vitamina D porque, a diferencia de la 1,25 (OH) vitamina D (calcitriol), no depende de la PTH y refleja directamente la entidad de las reservas de vitamina D. Sin embargo, debido a que la concentración sérica total de 25 (OH) vitamina D se puede obtener de diversas fuentes, la adopción de un rango de valores de referencia es muy complicada. La principal fuente biológica surge de la exposición a los rayos UVB, por lo que existe una amplia variabilidad de concentraciones de vitamina D a lo largo del año<sup>52</sup>. Bien es cierto que, a medida que una persona envejece, la actividad del aparato enzimático de la piel que sintetiza vitamina D es hasta 10 veces menor que en los individuos jóvenes<sup>53</sup>.

Con el aumento de la edad, la hidroxilación de la vitamina D se ralentiza y aumenta la resistencia del tejido diana al calcitriol, lo que conduce a una reducción de la absorción intestinal de calcio y fósforo y una estimulación de la producción y liberación de PTH<sup>53, 54</sup>.

#### 4.8.2. Evaluación del metabolismo mineral óseo en individuos con SCdL

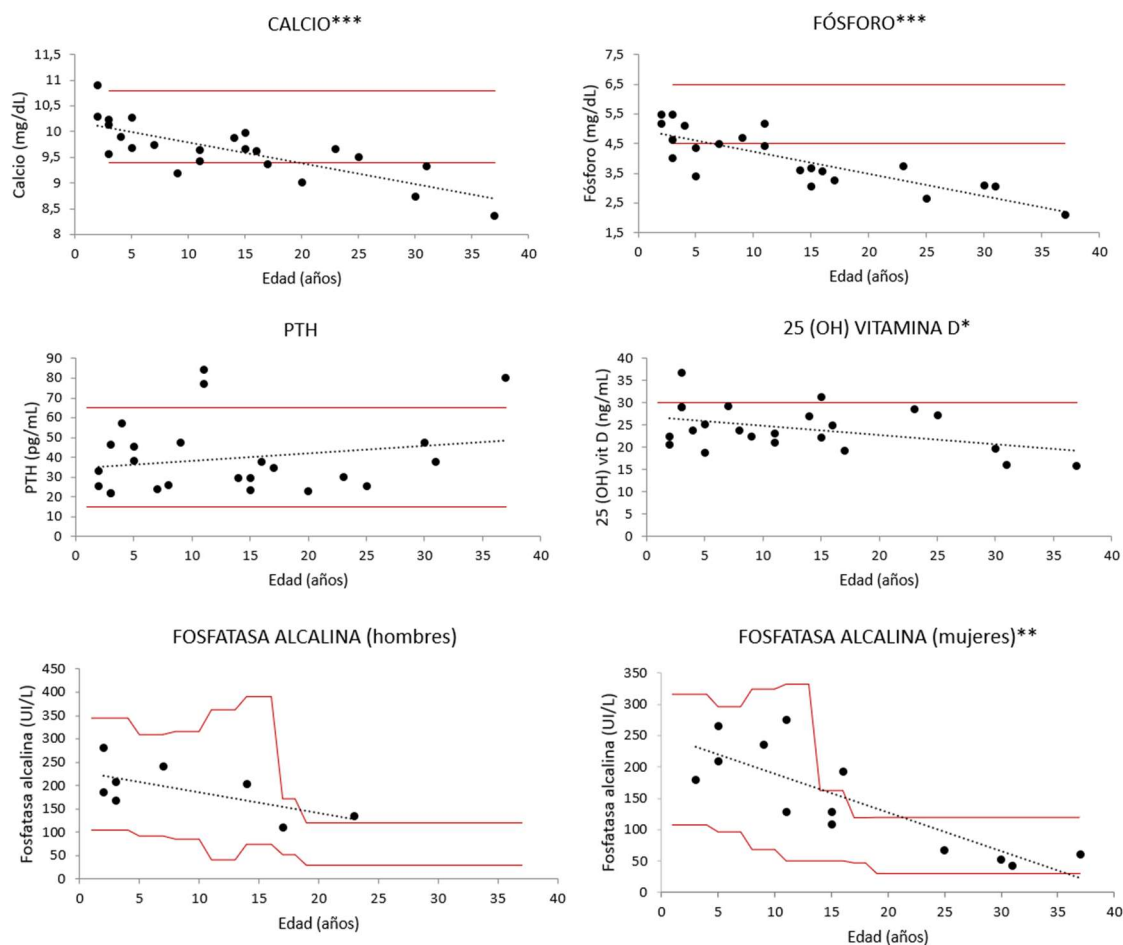
Para estudiar el metabolismo mineral óseo, se han analizado los niveles basales de PTH (basal), 25 (OH) vitamina D, calcio, fósforo y fosfatasa alcalina en 24 pacientes con SCdL (Tabla Suplementaria 1). Según el HCU Lozano Blesa, los valores de referencia son: PTH (basal) 15-65 pg/mL; 25 (OH) vitamina D 30-150 ng/mL; calcio 9,4-10,8 mg/dL; fósforo 4,5-6,5 mg/d, sin encontrarse diferencias entre sexo ni edad. Los valores de referencia de la fosfatasa alcalina han sido obtenidos del HUMS, para poder reflejar de forma más exacta las variaciones que ocurren con la edad pediátrica. Estos valores en mujeres son 1-4 años: 108-317 UI/L, 5-7 años: 96-297 UI/L; 8-10 años: 69-325 UI/L, 11-13 años: 51-332 UI/L, 14-16 años: 50-162 UI/L, 17-18 años: 47-119 UI/L; en los hombres, dichos valores son 1-4 años: 104-345 UI/L, 5-7 años: 93-309 UI/L, 8-10 años: 69-325 UI/L, 11-13 años: 42-362 UI/L, 14-16 años: 74-390 UI/L, 17-18 años: 52-171 UI/L. En mayores de 18 años, los valores para ambos sexos son 30-120 UI/L.

Normalmente, el nivel sérico de FA cambia con la edad. Se encuentra levemente elevado en relación con los niveles de adultos durante los primeros tres meses de vida, aumenta con la pubertad de dos a tres veces y permanece estable por encima del nivel de los adultos durante 1 o 2 años. Este aumento se relaciona con la aceleración del crecimiento durante la pubertad<sup>51</sup>.

Según un estudio realizado por Sarah Seberg Diemar et al.<sup>50</sup> basado en una cohorte danesa (n = 2308) de edades comprendidas entre 24 y 76 años se han observado niveles elevados de FA en las edades menores de 29,9 años tanto para hombres como para mujeres que disminuyen progresivamente hasta los 49,9 años. A partir de los 50 años se produce un gran aumento de los niveles de FA solo en mujeres. En edades posteriores, en ambos sexos, se sigue observando un descenso progresivo de las concentraciones de FA. Estas variaciones también han sido observadas en el estudio de Khosrow Adeli et al.<sup>31</sup>.

Es llamativa la tendencia descendente de las concentraciones de FA en las personas con SCdL que comienza desde edades tempranas, aunque la relación es estadísticamente significativa solo en mujeres (mujeres,  $p < 0.0005$ ; hombres,  $p = 0.0823$ ), probablemente

debido al menor número de hombres analizados. Al contrario de lo que ocurre en la población pediátrica sana, en la que se observan grandes aumentos de esta enzima en relación con el crecimiento y sobre todo en la adolescencia, se observa como disminuyen drásticamente estos niveles, siendo el descenso más marcado en el sexo masculino (Figura 12).



**Figura 12.** Niveles basales de PTH, 25 (OH) vitamina D, calcio sérico, fósforo sérico y fosfatasa alcalina en individuos con SCdL. Cada punto corresponde a un individuo (PTH, n=24; 25 (OH) vitamina D, n=23; calcio, n=23; fósforo, n=22; FA, n=21). La línea discontinua negra muestra la regresión lineal: PTH,  $p = 0.3352$ ; 25 (OH) vitamina D,  $p = 0.0438$ ; calcio,  $p < 0.0001$ ; fósforo,  $p < 0.0001$ ; FA (hombres),  $p = 0.0823$ ; FA (mujeres),  $p = 0.0005$ . Las líneas rojas indican los límites superiores e inferiores de los valores de referencia del HCU Lozano Blesa para estos parámetros, exceptuando la 25 (OH) vitamina D que solo contiene el límite superior y el FA, cuyos valores de referencia pertenecen al HUMS. \*  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.001$ , \*\*\*  $p < 0.0001$

Stefano Stagi et al.<sup>55</sup> en su estudio basado en una cohorte italiana (n=1580) de 2 a 17,2 años, observaron que los niveles de PTH comienzan a aumentar en edades tempranas de la vida, debido al crecimiento óseo, y alcanzan un pico entre los 8 y 10 años en las mujeres y los 10-12 años en los hombres, existiendo diferencias significativas entre ambos sexos. Tras este pico, los niveles de PTH descienden ligeramente. Christopher-John L. Farrell et al.<sup>56</sup> estudiaron los niveles de PTH sérica en una cohorte australiana (n=33652) de edades comprendidas entre 18 y más de 80 años. En dicho estudio se ha observado la existencia de una asociación independiente entre la edad y las concentraciones de PTH, con un aumento progresivo de dichas concentraciones la edad, sin encontrarse diferencias entre sexos.

Encontrándose dentro de la normalidad, se observa una ligera tendencia al alza de los niveles de PTH en el SCdL, sin ser significativa ( $p = 0.3352$ ), coincidiendo con lo esperado en la edad pediátrica. A pesar de disponer de un tamaño muestral pequeño de SCdL, se puede observar el pico de PTH a la edad de diez años, tal y como se ha reflejado en el estudio de Stefano Stagi et al.<sup>55</sup>, y el ligero descenso posterior. A partir de los 20 años, se observa un

aumento brusco de las concentraciones de PTH, que podría asemejarse al esperado en la edad anciana (Figura 12).

Todos los valores de 25 (OH) vitamina D de las personas con SCdL se encuentran por debajo del límite inferior de la normalidad, según los datos del HCU Lozano Blesa. Las concentraciones tienen una tendencia descendente estadísticamente significativa ( $p = 0.0438$ ). También es llamativo que ningún individuo tenga valores de vitamina D dentro de la normalidad, pero hasta el momento no ha sido correlacionado este déficit con el SCdL (Figura 12).

En el estudio de Khosrow Adeli et al.<sup>31</sup> ( $n=11.999$ ) estudiaron las variaciones con la edad de calcio y de fósforo. Tanto el calcio total como el fósforo muestran una tendencia similar en la que las concentraciones de ambos parámetros disminuyen con la edad, teniendo niveles más altos en la infancia, en relación con el crecimiento y desarrollo óseo. Este ligero descenso de ambas concentraciones, calcio y fósforo, desde edades pediátricas también ha sido observado en el Hospital Infantil La Paz (Madrid)<sup>54, 57</sup>.

Tanto el calcio como el fósforo de los individuos con SCdL tienen una marcada tendencia descendente estadísticamente significativa (calcio,  $p < 0.0001$ ; fósforo,  $p < 0.0001$ ), llegando a situarse las concentraciones por debajo de los valores de referencia. Estos valores comienzan a descender en edades pediátricas, coincidiendo con el descenso de vitamina D. Dada su relación con dicha vitamina, es probable que estas alteraciones se relacionen con la disminución de la vitamina D y el posible deterioro acelerado (Figura 12).

Tras analizar estos parámetros, se concluye que el metabolismo mineral óseo de los individuos con SCdL puede tener un deterioro acelerado ya que tanto la vitamina D, como la FA, la PTH, el calcio y el fósforo, presentan variaciones diferentes a las correspondientes a su edad, siendo estas similares a las esperadas en la población sana más anciana.

## 5. DISCUSIÓN FINAL

El SCdL es un trastorno del desarrollo que en muchos aspectos cursa con un “envejecimiento normal”. Sin embargo, diferentes observaciones clínicas apuntan hacia un deterioro de diferentes órganos y sistemas en individuos con SCdL asociado con la edad. En este trabajo se ha realizado por vez primera un estudio de la evolución que sufren con la edad diferentes parámetros bioquímicos en individuos con SCdL, y su posible relación con un envejecimiento prematuro.

A nivel bioquímico, se ha observado una relación significativa de deterioro asociado a la edad en el metabolismo glucídico y fosfocálcico. Es la primera vez que se describe este fenómeno en individuos con SCdL, por lo tanto, de confirmarse estos hallazgos, supondría un cambio en el manejo y tratamiento de estos pacientes, siendo recomendable la realización de un seguimiento clínico longitudinal para la valoración del índice HOMA-IR y el metabolismo fosfocálcico, y así prevenir posibles complicaciones derivadas de la alteración de estos ejes.

Por el contrario, no se han observado alteraciones significativas que puedan apoyar la teoría de un deterioro acelerado en el eje adrenal, eje tiroideo, eje de crecimiento, metabolismo lipídico, función cardíaca y función renal. Sin embargo, tampoco en otros síndromes progeroides se observan grandes alteraciones de estos parámetros bioquímicos<sup>58, 59</sup>. Aunque los parámetros bioquímicos pueden ser buenos biomarcadores de una alteración funcional concreta, un deterioro funcional progresivo puede no ser detectado inicialmente con estos valores. Por ello, son necesarios estudios funcionales más sensibles de los diferentes sistemas que permitan realizar una evaluación minuciosa de su función.

En este sentido, gracias a una valoración funcional del sistema nervioso de los pacientes con SCdL realizada por el grupo de investigación de Genética Clínica y Genómica Funcional de la Universidad de Zaragoza, se ha descrito una función anormal del sistema nervioso autónomo, con asimetrías en las respuestas simpáticas de las extremidades inferiores y una disfunción sudomotora asociada a la edad<sup>60</sup>. Igualmente se han descrito alteraciones ecocardiográficas y de la función miocárdica relacionadas con el envejecimiento<sup>61</sup>.

Una de las principales limitaciones del estudio bioquímico presentado en este TFG es el tamaño muestral. Si bien una *n* de 24 en el estudio de una enfermedad minoritaria como es el SCdL es todo un éxito, se hace insuficiente para poder hacer estudios de regresión en diferentes rangos de edad, y, separando por sexo. Por ello, ante los resultados tan prometedores obtenidos en este trabajo, actualmente se está trabajando para incluir un mayor número de individuos, sobre todo, individuos mayores de 20 años de edad.

Aunque en la edad pediátrica se suelen analizar las variaciones de los diferentes parámetros bioquímicos y hormonales con mayor exactitud, en la edad adulta y senectud estas variaciones son menos detalladas. Por tanto, dado que la sociedad española es una sociedad envejecida, se considera necesario elaborar un estudio detallado de valores de referencia estratificados por rango de edad y sexo.

El estudio del envejecimiento es complejo, en tanto y cuanto son numerosos los procesos que intervienen en dicho proceso. Por ello, para su evaluación es necesario la combinación de diferentes aproximaciones, que comprendan estudios moleculares, bioquímicos y funcionales. En este trabajo, por medio de estudios bioquímicos hemos demostrado que existe una alteración en el índice de HOMA-IR, indicador de una desregulación en la detección de nutrientes, uno de los nueve signos de envejecimiento descritos por Carlos López-Otín et al<sup>21</sup>. Son necesarios más estudios moleculares que indaguen también en las causas moleculares de las alteraciones del metabolismo fosfocálcico, que puede estar debido a alteraciones a nivel de

comunicación celular o incluso a un agotamiento de las células madre de los osteoclastos. Hay que tener en cuenta que, el SCdL está causado por alteraciones en el complejo de cohesinas, un complejo que juega un papel fundamental en la reparación de ADN. De este modo, los pacientes con SCdL pueden acumular más daño en su ADN, otro de los grandes signos de envejecimiento descritos.

Por todo ello, entender y describir el proceso de envejecimiento en los individuos con SCdL es fundamental para mejorar su calidad de vida. Si bien es cierto que con estos resultados no podemos afirmar que exista un envejecimiento prematuro en el SCdL, sí que se observa un deterioro precoz de diferentes órganos y sistemas, abriendo nuevas vías de investigación en esta enfermedad.

## 6. CONCLUSIONES

1. Los estudios bioquímicos del eje adrenal, eje tiroideo, eje de crecimiento, metabolismo lipídico, función cardíaca y función renal no evidencian un deterioro acelerado de dichas funciones en los individuos con Síndrome de Cornelia de Lange.
2. La determinación de los valores de insulina y glucosa basal en ayunas y el cálculo del índice HOMA-IR, revelan una mayor resistencia a la insulina en individuos con Síndrome de Cornelia de Lange, sugiriendo un posible deterioro acelerado del metabolismo glucídico.
3. Los valores de Vitamina D, PTH, fosfatasa alcalina, calcio y fósforo de los individuos con Síndrome de Cornelia de Lange indican un deterioro acelerado del metabolismo mineral óseo.
4. La no detección de fallo funcional mediante una valoración bioquímica no nos permite descartar un deterioro de dicha función. Es necesario realizar un seguimiento longitudinal a nivel molecular, bioquímico y funcional para estudiar el deterioro de los diferentes órganos y sistemas.
5. Es la primera vez que se describe un deterioro del metabolismo glucídico y fosfocálcico en el Síndrome de Cornelia de Lange, por lo tanto, se recomienda un seguimiento clínico específico en estos pacientes con el fin de prevenir posibles complicaciones derivadas de la alteración de estos ejes.
6. Los valores de referencia de los distintos parámetros bioquímicos y hormonales existentes en la actualidad son limitados para aplicarse en investigación. Se propone elaborar un estudio detallado de valores de referencia estratificados por rango de edad y sexo en una población control.

## 7. BIBLIOGRAFÍA

1. Kline, A. D., Moss, J. F., Selicorni, A., et al. Diagnosis and management of Cornelia de Lange syndrome: first international consensus statement. *Nature Reviews Genetics*. 2018;19(10):649–666. <https://doi.org/10.1038/s41576-018-0031-0>
2. Kline, A. D., Grados, M., Sponseller, P., et al. Natural history of aging in Cornelia de Lange syndrome. *Am J Med Genet Part C Semin Med Genet*. 2007;145C:248–260. <https://doi.org/10.1002/ajmg.c.30137>
3. Human Phenotype Ontology [Internet]. [Citado el 23 de febrero de 2021]. Disponible en: <https://hpo.jax.org/app/>
4. Wygnanski-Jaffe, T., Shin, J., Perruzza, E., et al. Ophthalmologic Findings in the Cornelia de Lange Syndrome. *Journal of AAPOS*. 2005. <https://doi.org/10.1016/j.jaapos.2005.05.010>
5. Janek, K. C., Smith, D. F., Kline, A.D., et al. Improvement in hearing loss over time in Cornelia de Lange syndrome. *International Journal of Pediatric Otorhinolaryngology*. 2016;87:203–207. <https://doi.org/10.1016/j.ijporl.2016.06.032>
6. Selicorni, A., Russo, S., Gervasini, S., et al. Clinical score of 62 Italian patients with Cornelia de Lange syndrome and correlations with the presence and type of NIPBL mutation. *Clinical Genetics*. 2007;72:98–108. <https://doi.org/10.1111/j.1399-0004.2007.00832.x>
7. Devanshi, M., Schrier Vergano, S. A., Deardorff, M., et al. Characterization of limb differences in children with Cornelia de Lange Syndrome. *American Journal of Medical Genetics, Part C: Seminars in Medical Genetics*. 2016;172(2):155–162. <https://doi.org/10.1002/ajmg.c.31498>
8. Romano, C., Van Wynckel, M., Hulst, Jet al. European Society for Paediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition Guidelines for the Evaluation and Treatment of Gastrointestinal and Nutritional Complications in Children with Neurological Impairment. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*. 2017;65(2). <https://doi.org/10.1097/MPG.0000000000001646>
9. Toker, A. S., Ay, S., Yeler, H., et al. Dental findings in Cornelia de Lange syndrome. *Yonsei Medical Journal*. 2009;50(2):289–292. <https://doi.org/10.3349/ymj.2009.50.2.289>
10. Ajmone, P. F., Rigamonti, C., Dall'Ara, F., et al. Communication, cognitive development and behavior in children with cornelia de lange syndrome (CdLS): Preliminary results. *American Journal of Medical Genetics, Part B: Neuropsychiatric Genetics*. 2014;165(3):223–229. <https://doi.org/10.1002/ajmg.b.32224>
11. Krantz, I. D., Mccallum, J., DeScipio, C., et al. Cornelia de Lange syndrome is caused by mutations in NIPBL, the human homolog of *Drosophila melanogaster* Nipped-B. 2016;36(6):631–635. <https://doi.org/10.1038/ng1364>
12. Watrin, E., Kaiser, F. J., & Wendt, K. S. Gene regulation and chromatin organization: Relevance of cohesin mutations to human disease. *Current Opinion in Genetics and Development*. 2016;37:59–66. <https://doi.org/10.1016/j.gde.2015.12.004>
13. Huisman, S., Mulder, P. A., Redeker, E., et al. Phenotypes and genotypes in individuals with SMC1A variants. *American Journal of Medical Genetics, Part A*. 2017;173(8):2108–2125. <https://doi.org/10.1002/ajmg.a.38279>
14. OMIM - Online Mendelian Inheritance in Man [internet]. [Citado el 23 de febrero de 2021]. Disponible en: <https://www.omim.org/>
15. Parenti, I., Diab, F., Ruiz Gil, S., et al. MAU2 and NIPBL Variants Impair the Heterodimerization of the Cohesin Loader Subunits and Cause Cornelia de Lange Syndrome. *Cell Reports*. 2020. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2020.107647>
16. Cucco, F., Sarogni, P., Rossato, S., et al. Pathogenic variants in EP300 and ANKRD11 in patients with phenotypes overlapping Cornelia de Lange syndrome. *American Journal of Medical Genetics, Part A*. 2020;182(7):1690–1696. <https://doi.org/10.1002/ajmg.a.61611>
17. Schnabel, F., Kornak, U., & Wollnik, B. Premature aging disorders: A clinical and genetic compendium. 2020;1–26. <https://doi.org/10.1111/cge.13837>
18. Lessel, D., & Kubisch, C. Hereditary Syndromes with Signs of Premature Aging. 2019;489–496. <https://doi.org/10.3238/arztebl.2019.0489>
19. Sanlaville, D., Touraine, R., & De Fréminville, B. Protocole National de Diagnostic et de Soins (PNDS) Trisomie 21. *Haute Autorité de Santé*. 2020.
20. Gensous, N., Bacalini, M. G., Franceschi, C., & Garagnani, P. Down syndrome, accelerated aging and immunosenescence. *Seminars in Immunopathology*. 2020;42:635–645. <https://doi.org/10.1007/s00281-020-00804-1>
21. López-Otín, C., Blasco, M. A., Partridge, L., et al. The hallmarks of aging. *Leading Edge Review: Cell*. 2013;153(6):1194–1217. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2013.05.039>

22. Worman, H. J. Nuclear lamins and laminopathies. 2012;226(2):316–325. <https://doi.org/10.1002/path.2999.Nuclear>
23. Khan, S. S., Singer, B. D., & Vaughan, D. E. Molecular and physiological manifestations and measurement of aging in humans. *Aging Cell*. 2017;16(4):624–633. <https://doi.org/10.1111/ace1.12601>
24. Zhang, G., Li, J., Purkayastha, S., et al. Hypothalamic programming of systemic ageing involving IKK- $\beta$ , NF- $\kappa$ B and GnRH. *Nature*. 2013;497(7448):211–216. <https://doi.org/10.1038/nature12143>
25. PubMed [internet]. [Citado el 23 de febrero de 2021]. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/>
26. Yiallouris, A., Tsioutis, C., Agapidaki, E., et al. Adrenal aging and its implications on stress responsiveness in humans. *Frontiers in Endocrinology*, 2019;10:1–12. <https://doi.org/10.3389/fendo.2019.00054>
27. Bae, Y. J., Zeidler, R., Baber, R., et al. Reference intervals of nine steroid hormones over the life-span analyzed by LC-MS/MS: Effect of age, gender, puberty, and oral contraceptives. *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*. 2019;193. <https://doi.org/10.1016/j.jsbmb.2019.105409>
28. Alvarez, A., Franco, A., & Cacabelos, R. Sistema psiconeuroendocrino y envejecimiento Sistema tiotropinergico (STT). 1990;6(2):115–146.
29. Smith, R.P. Hiperprolactinemia. En: Netter. *Obstetricia, Ginecología y Salud de La Mujer*. 2005;366–369. <https://doi.org/10.1016/b978-84-458-1311-9.50134-8>
30. Morgan, A. E., Mooney, K. M., Wilkinson, S. J., et al. Cholesterol metabolism: A review of how ageing disrupts the biological mechanisms responsible for its regulation. *Ageing Research Reviews*. 2016;27:108–124. <https://doi.org/10.1016/j.arr.2016.03.008>
31. Adeli, K., Higgins, V., Nieuwesteeg, M., et al. Biochemical Marker Reference Values across Pediatric, Adult, and Geriatric Ages: Establishment of Robust Pediatric and Adult Reference Intervals on the Basis of the Canadian Health Measures Survey. 2015;61(8):1049–1062. <https://doi.org/10.1373/clinchem.2015.240515>
32. Monneret, D., Gellerstedt, M., & Bonnefont-Rousselot, D. Determination of age- and sex-specific 99th percentiles for high-sensitive troponin T from patients: An analytical imprecision- and partitioning-based approach. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*. 2018;56(5):818–829. <https://doi.org/10.1515/cclm-2017-0256>
33. Sedighi, S. M., Prud'Homme, P., Ghachem, A., et al. Increased level of high-sensitivity cardiac Troponin T in a geriatric population is determined by comorbidities compared to age. *IJC Heart and Vasculature*. 2019;22:187–191. <https://doi.org/10.1016/j.ijcha.2019.02.015>
34. Bohn, M. K., Higgins, V., Kavsak, P., et al. High-Sensitivity Generation 5 Cardiac Troponin T Sex- and Age-Specific 99th Percentiles in the CALIPER Cohort of Healthy Children and Adolescents. *The American Association for Clinical Chemistry*. 2019;65(4):1–3. <https://doi.org/10.1373/clinchem.2018.299156>
35. Maries, L., & Manitiu, I. Diagnostic and prognostic values of B-type natriuretic peptides (BNP) and N-terminal fragment brain natriuretic peptides (NT-pro-BNP). *Cardiovascular Journal of Africa*. 2013;24(7):286–289. <https://doi.org/10.5830/CVJA-2013-055>
36. Nir, A., Lindinger, A., Rauh, M., et al. NT-pro-B-type natriuretic peptide in infants and children: Reference values based on combined data from four studies. *Pediatric Cardiology*. 2009;30(1):3–8. <https://doi.org/10.1007/s00246-008-9258-4>
37. Lerman-garber, I., & Rosales-calderón, M. Cambios en la tolerancia a la glucosa en el anciano. *Revista de Investigación Clínica*. 2010;62(4):312–317.
38. Boemi, M., Furlan, G., & Luconi, M. P. Glucose Metabolism, Insulin, and Aging: Role of Nutrition. En *Molecular Basis of Nutrition and Aging: A Volume in the Molecular Nutrition Series*. Elsevier Inc. 2016. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-801816-3.00029-7>
39. Gayoso-Diz, P., Otero-González, A., Rodríguez-Álvarez, M. X., et al. Insulin resistance index (HOMA-IR) levels in a general adult population: Curves percentile by gender and age. *The EPIRCE study*. *Diabetes Research and Clinical Practice*. 2011;94(1):146–155 <https://doi.org/10.1016/j.diabres.2011.07.015>
40. Shashaj, B., Luciano, R., Contoli, B., M., et al. Reference ranges of HOMA-IR in normal-weight and obese young Caucasians. *Acta Diabetologica*. 2015;53(2):251–260. <https://doi.org/10.1007/s00592-015-0782-4>
41. Duntas, L. H. Thyroid Function in Aging: A Discerning Approach. *Rejuvenation Research*. 2018;21(1):22–28. <https://doi.org/10.1089/rej.2017.1991>
42. Strich, D., Karavani, G., Edri, S., et al. FT3 is higher in males than in females and decreases over the lifespan. *Endocrine Practice*. 2017;23(7):803–807. <https://doi.org/10.4158/EP171776.0R>
43. Gunapalasingham, G., Frithioff-Bøjsøe, C., Lund, M. A. V., et al. Reference values for fasting serum concentrations of thyroid-stimulating hormone and thyroid hormones in healthy Danish/North-European white children and adolescents. *Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation*. 2019;79(1–2):129–135. <https://doi.org/10.1080/00365513.2019.1581945>



44. Yebra Yebra, J., Oliva Pérez, P., Gómez Llorente, J., et al. Disfunción tiroidea. Interpretación de las pruebas tiroideas. 2020;1:1–10.
45. Friedrich, N., Wolthers, O. D., Arafat, A. M., et al. Age- and sex-specific reference intervals across life span for insulin-like growth factor binding protein 3 (IGFBP-3) and the IGF-I to IGFBP-3 ratio measured by new automated chemiluminescence assays. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 2014;99(5):1675–1686. <https://doi.org/10.1210/jc.2013-3060>
46. Juul, A. Serum levels of insulin-like growth factor I and its binding proteins in health and disease. In *Growth Hormone and IGF Research*. 2003;13(4). [https://doi.org/10.1016/S1096-6374\(03\)00038-8](https://doi.org/10.1016/S1096-6374(03)00038-8)
47. Fang, Y., Gong, A. Y., Haller, S. T., et al. The ageing kidney: Molecular mechanisms and clinical implications. *Physiology & Behavior*. 2016;176(1):139–148. <https://doi.org/10.1016/j.arr.2020.101151>
48. Toalombo, V.A. Determinación y estandarización de valores de referencia de química sanguínea 1 (glucosa, colesterol total, HDL, LDL, triacilglicéridos, ácido úrico, urea creatinina y proteínas totales en base al rango de edades en pacientes de 0 19 años del hospital pediátrico “Alfonso Villagómez Román. 2019.
49. Musso, C. G., Álvarez Gregori, J. Jauregui, J. R., et al. Creatinine, urea, uric acid, water and electrolytes renal handling in the healthy oldest old. *World Journal of Nephrology*. 2012;1(5):123-126. <https://doi.org/10.5527/wjn.v1.i5.123>
50. Diemar, S. S., Møllehave, L. T., Quardon, N., et al. Effects of age and sex on osteocalcin and bone-specific alkaline phosphatase—reference intervals and confounders for two bone formation markers. *Archives of Osteoporosis*. 2020;15(1):1–10. <https://doi.org/10.1007/s11657-020-00715-6>
51. Ridefelt, P., Gustafsson, J., Aldrimer, M., et al. Alkaline phosphatase in healthy children: Reference intervals and prevalence of elevated levels. *Hormone Research in Paediatrics*. 2014;82(6):399–404. <https://doi.org/10.1159/000369205>
52. Ferrari, D., Lombardi, G., & Banfi, G. Concerning the vitamin D reference range: pre-analytical and analytical variability of vitamin D measurement. 2017;27(3):1–14. <https://doi.org/10.11613/BM.2017.030501>
53. Broulík, P. Sarcoporosis Is a Part of Aging. *Prague Medical Report*, 2019;120(2–3):84–94. <https://doi.org/10.14712/23362936.2019.13>
54. Ruiz Hernández, F. Otros trastornos: Hipofosforemia, hiperfosforemia, hipomagnesemia, hipermagnesemia. 2018;1–21.
55. Stagi, S., Cavalli, L., Ricci, S., et al. Parathyroid hormone levels in healthy children and adolescents. *Hormone Research in Paediatrics*. 2015;84(2):124–129. <https://doi.org/10.1159/000432399>
56. Farrell, C. J. L., Nguyen, L., & Carter, A. C. Parathyroid hormone: Data mining for age-related reference intervals in adults. *Clinical Endocrinology*. 2018;88(2):311–317. <https://doi.org/10.1111/cen.13486>
57. Martos, J. M., Alcañiz, P., Menéndez, J. J., et al. Hipocalcemia. Diagnóstico diferencial y tratamiento. 2019;1–15.
58. Trigueros-Motos, L., Jose M. González, J. M., & Rivera, V. A. Hutchinson-Gilford progeria syndrome, cardiovascular disease and oxidative stress. *Frontiers in Bioscience S3*. 2011;1285–1297
59. Arai, Y., Takayama, M., Abe, Y., et al. Adipokines and Aging. *Journal of Atherosclerosis and Thrombosis*. 2011;18(7):545–550. <https://doi.org/10.5551/jat.7039>
60. Pablo, M. J., Pamplona, P., Haddad, M., et al. High rate of autonomic neuropathy in Cornelia de Lange Syndrome (SOMETIDO)
61. Trujillano, L., Ayerza-Casas, A., Puisac, B., et al. Evaluation of subclinical myocardial dysfunction in Cornelia de Lange syndrome using speckle tracking echocardiography. (SOMETIDO)