



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SINALOA
FACULTAD DE MEDICINA
MAESTRÍA EN CIENCIAS EN BIOMEDICINA MOLECULAR

**ANÁLISIS METABOLÓMICO DE ORINA EN INDIVIDUOS BAJO EL
CONTEXTO DE LA CONDICIÓN DE SÍNDROME DE DOWN**

TESIS

QUE PRESENTA
L.N. CAROLINA GASTÉLUM GUERRERO

PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRA EN CIENCIAS EN BIOMEDICINA MOLECULAR

DIRECTORES
DR. JAVIER ABEDNEGO MAGAÑA GÓMEZ
DR. YAIR CRUZ NARVÁEZ

ASESORES
DR. JULIO MONTES ÁVILA
DR. SAÚL ARMANDO BELTRÁN ONTIVEROS

CULIACÁN, SINALOA, MÉXICO ABRIL DE 2026



Universidad Autónoma de Sinaloa

Dirección General de Bibliotecas

Repositorio Institucional Buelna

Restricciones de uso



Todo el material contenido en la presente tesis está protegido por la Ley Federal de Derechos de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

Queda prohibido la reproducción parcial o total de esta tesis. El uso de imágenes, tablas, gráficas, texto y demás material que sea objeto de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente correctamente mencionando al o los autores del presente estudio empírico. Cualquier uso distinto, como el lucro, reproducción, edición o modificación sin autorización expresa de quienes gozan de la propiedad intelectual, será perseguido y sancionado por el Instituto Nacional de Derechos de Autor.

Esta obra está bajo una Licencia [Creative Commons Attribution-NonCommercial-NoDerivatives 4.0 International](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/)



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS



Dirección General de Bibliotecas
Ciudad Universitaria
Av. de las Américas y Blvd.
Universitarios
C.P. 80010 Culiacán Sin. Méx.
Tel (667) 713 78 32 y
(667) 712 50 57
dgbuas@uas.edu.mx

Este trabajo fue realizado en el laboratorio 1 de la Facultad de Ciencias de la Nutrición y Gastronomía, adjunto a la Maestría en Ciencias en Biomedicina Molecular de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de Sinaloa, así como en el Laboratorio de Posgrado e Investigación de Operaciones Unitarias de la Escuela Superior de Ingeniería Química e Industrias Extractivas del Instituto Politécnico Nacional, bajo la dirección del Dr. Javier Abednego Magaña Gómez y del Dr. Yair Cruz Narváez y la asesoría del Dr. Julio Montes Ávila y del Dr. Saúl Armando Beltrán Ontiveros. Carolina Gastélum Guerrero recibió beca de la Secretaría de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco formalmente a la Secretaría de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación por el apoyo económico otorgado. De igual manera, agradezco a la Universidad Autónoma de Sinaloa y a la Facultad de Medicina por su gran labor en brindar la infraestructura y condiciones necesarias para esta formación académica. Particularmente reconozco el trabajo y esfuerzo del cuerpo administrativo y claustro académico del Posgrado en Ciencias en Biomedicina Molecular para armonizar de la mejor manera las implicaciones de cursar y concluir este programa de posgrado.

Durante el desarrollo de esta tesis, he tenido el privilegio de contar con el apoyo y respaldo de numerosas personas, cuyas acciones, palabras de aliento, consejos, charlas y compañía, han influido tanto de manera directa como indirecta en la culminación de este trabajo. En este breve espacio, resalto tan sólo algunas de las más significativas durante los últimos dos años.

Al Dr. Javier Magaña, de quien espero algún día poder equiparar la perspectiva humana y pasión por la ciencia que le caracterizan, y que considero un mentor dentro del mundo académico. Su labor como tutor me ha inspirado a seguir cultivando ideas y a explorar nuevos trayectos.

A Wendy, Kenia, Caro A, Diana y Manuel, que iniciaron como compañeros de laboratorio, estuvieron presentes durante la mayor parte de este proceso, y se han convertido en valiosas amistades con las que comparto los altibajos que conlleva la investigación, y cuya calidad humana admiro.

A las integrantes recientes del laboratorio, Karem, Karen y Melissa, que, con sus personalidades y deseos de aprender más, me hacen recordar los inicios de mi camino y me motivan a seguir esforzándome.

A mis compañeros y amigos de posgrado, con quienes tuve la experiencia de cursar una maestría y compartir espacios, anécdotas y perspectivas de nuestros caminos; en especial a Hugo, Dariana y Lizbeth, personas cuya amistad aprecio y agradezco enormemente.

Al equipo del Laboratorio de Posgrado e Investigación de Operaciones Unitarias, principalmente al Dr. Yair, Bryan y Laura, por su calidez durante mi estancia en CDMX, la cual recuerdo con gusto.

A mi gatita, Perchita, compañera de desvelos que hasta el día de hoy espero poder ver nuevamente por mi ventana.

Finalmente, a mi familia, que me ha acompañado y apoyado de manera incondicional a lo largo de los años. Mamá, papá, hermanos, tíos, primos, todos representan un soporte sin el cual no habría sido posible seguir este camino.

ÍNDICE

Índice de Figuras	iv
Índice de Cuadros	v
I Resumen	1
Abstract.....	3
II Antecedentes.....	4
2.1 El síndrome de Down	4
2.1.1 Generalidades	4
2.1.1 Epidemiología.....	6
2.1.2 Etiología	8
2.1.3 El cromosoma 21	12
2.1.4 Los fenotipos del síndrome de Down	15
2.1.5 Complicaciones	19
2.1.6 Implicaciones metabólicas del síndrome de Down	20
2.2 Metabolómica	22
2.2.1 Generalidades	22
2.2.2 Diseño de los estudios metabolómicos	25
2.2.3 Los metabolitos	27
2.2.4 Técnicas analíticas.....	31
2.2.5 Análisis de datos metabolómicos	36

2.2.6	Aplicaciones de la metabolómica	37
III	Planteamiento del Problema.....	39
IV	Justificación	42
V	Hipótesis	43
VI	Objetivos.....	44
6.1	Objetivo general	44
6.2	Objetivos específicos.....	44
VII	Materiales y métodos	45
7.1	Diseño de estudio.....	45
7.2	Población de estudio	45
7.3	Preparación de las muestras de orina	46
7.3.1	Análisis por espectrometría de masas	46
7.3.2	Procesamiento e identificación de metabolitos	47
7.4	Análisis de datos	49
7.4.1	Entorno computacional.....	49
7.4.2	Preprocesamiento de los datos.....	50
7.4.3	Análisis estadístico univariado	51
7.4.4	Análisis estadístico multivariado	51
7.4.5	Análisis funcional.....	53
VIII	Resultados	54

8.1	Descripción de la población de estudio	54
8.2	Separación multivariada de los perfiles metabólicos entre grupos	55
8.3	Análisis de abundancia diferencial	59
8.4	Análisis Funcional.....	63
IX	Discusión	67
X	Conclusiones	74
XI	Bibliografía.....	76
	Abreviaturas.....	91
	Anexos	92
	Anexo A. Figuras y tablas complementarias	92

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 Fotografías de los cariotipos humanos examinados por el equipo de Lejeune, Gautier y Turpin	5
Figura 2 Formas en las que se presenta la trisomía 21.....	7
Figura 3 Relación entre la edad materna y la incidencia de síndrome de Down.....	10
Figura 4 Ideograma del cromosoma 21	13
Figura 5 Manifestaciones clínicas relacionadas con el síndrome de Down.....	16
Figura 6 Características fenotípicas comunes del infante con síndrome de Down ...	18
Figura 7 Flujo de la información en un sistema biológico	24
Figura 8 Ejemplos de la clasificación de compuestos orgánicos.....	29
Figura 9 Esquema de los componentes de un espectrómetro de masas.....	35
Figura 10 Gráficos de dispersión de los modelos multivariados.....	58
Figura 11 Gráfico de volcano de las abundancias diferenciales de los metabolitos del grupo síndrome de Down respecto al grupo control	61
Figura 12 Gráfico stem de los metabolitos anotados con abundancias diferenciales	62
Figura 13 Gráfico de burbujas de las rutas metabólicas identificadas a partir de los compuestos empíricos detectados por <i>mummichog</i>	64
Figura 14 Gráfico UpSet de la interacción entre las vías metabólicas detectadas en el análisis funcional.....	66

ÍNDICE DE CUADROS

Tabla 1	Resumen del contenido de genes de HSA21	14
Tabla 2	Comparativa de las características generales de los tipos de análisis metabolómicos	26
Tabla 3	Polaridad y volatilidad de diferentes biomoléculas	30
Tabla 4	Condiciones generales para el procesamiento de espectros	48
Tabla 5	Descripción de las dependencias del entorno virtual para el análisis de resultados	49
Tabla 6	Características demográficas de los grupos de estudio	54
Tabla 7	Características antropométricas de los grupos de estudio	55
Tabla 8	Resumen del comportamiento de los modelos de reducción de dimensionalidad utilizados para el análisis multivariado.....	56
Tabla 9	Número de metabolitos clasificados según los resultados del análisis de abundancias diferenciales	60
Tabla 10	Correspondencia entre el identificador de compuestos del algoritmo <i>mummichog</i> y el identificador KEGG	65

I RESUMEN

El síndrome de Down (SD) es la condición genética más prevalente en la población, con más de un millón de casos a nivel mundial, y constituye la principal causa de discapacidad intelectual. En conjunto con el aumento progresivo de la esperanza de vida de las personas con SD, se ha reportado una mayor incidencia de enfermedades crónico-degenerativas que influyen en la morbilidad y la mortalidad en este grupo poblacional. Sin embargo, los mecanismos moleculares asociados al desarrollo y la progresión de patologías relacionadas con el SD siguen sin estar plenamente definidos. En la actualidad, las ciencias ómicas permiten estudiar en profundidad los mecanismos fisiopatológicos implicados en el desarrollo de enfermedades. Particularmente, la metabolómica facilita el estudio del estado fisiopatológico de un organismo, lo que favorece el desarrollo y mejora de procesos diagnósticos y tratamientos clínicos. En el contexto de la condición del SD, disponer de estrategias de intervención oportunas representa un punto de inflexión crítico en la progresión patológica. El presente estudio analizó el perfil metabolómico urinario de un grupo de personas con SD con el objetivo de identificar signos distintivos que den indicios del estado fisiopatológico de los individuos. Se realizó un análisis de espectrometría de masas por infusión directa de muestras de orina de un grupo SD (n = 56) y un grupo control (n = 75). El análisis reveló que existen huellas metabólicas distintivas en el grupo SD, donde se identificaron un total de 46 metabolitos anotados con abundancias diferenciales. Estos compuestos comprenden principalmente a lípidos, ácidos orgánicos, benzenoides, compuestos nitrogenados, heterocíclicos y organosulfurados.

Adicionalmente, se identificaron alteraciones significativas en ocho rutas metabólicas involucradas en procesos relacionados con el metabolismo sistémico, la función mitocondrial, los procesos inflamatorios y los neurodegenerativos. Estos resultados muestran el potencial de los análisis metabolómicos enfocados en la orina para explorar las alteraciones metabólicas específicas del SD. Al describir estos cambios metabólicos, esta investigación contribuye al desarrollo y mejora de estrategias de seguimiento clínico dirigidas a la población con SD.

ABSTRACT

Down syndrome (DS) is the most prevalent genetic cause of intellectual disability worldwide, affecting over one million individuals. As the lifespan of people with DS has increased, a higher incidence of chronic and degenerative diseases has been reported, influencing morbidity and mortality rates in this population. However, the underlying molecular mechanisms have yet to be clearly defined. Metabolomics allows to insight into the physiological state of an organism, providing opportunities to refine diagnostic processes and clinical interventions. In the context of DS, having opportune intervention strategies may represent a pivotal point in disease progression. In this study, the urinary metabolomic profiles of a cohort of people with DS were analyzed with the purpose of identifying distinct signatures indicative of the pathophysiological state of the individuals. A direct-infusion mass spectrometry analysis of urine samples belonging to a DS group (n = 56) and a control group (n = 75) was performed. The analysis revealed distinct metabolic signatures in the DS group, identifying 46 annotated metabolites with differential abundances. These compounds primarily belonged to lipids, organic acids, benzenoids, nitrogenated, heterocyclic and organosulfur compounds. Furthermore, eight significantly altered metabolic pathways linked to systemic metabolism, mitochondrial function, as well as inflammatory and neurodegenerative processes were identified. These findings underscore the potential of urine-based metabolomics to explore DS-specific metabolic profiles. By mapping these metabolic perturbations, this research contributes to the development of enhanced monitoring and clinical-follow up strategies tailored to individuals with DS.

II ANTECEDENTES

2.1 El síndrome de Down

2.1.1 Generalidades

El síndrome de Down (SD) es una condición genética caracterizada por la presencia total o parcial de tres copias del cromosoma 21 y constituye la principal causa de discapacidad intelectual (1). Su nombre es un epónimo del médico John Langdon Down quien, inspirado en uno de los libros de Friedrich Blumenbach, describió por primera vez en el año de 1866 una serie de rasgos físicos que compartían un grupo de personas con discapacidad intelectual que radicaban bajo su responsabilidad en un asilo en Earlswood, Inglaterra (2,3). Durante esa época, Down teorizaba que la aparición de este conjunto de rasgos podría deberse a un contagio de tuberculosis por parte de los padres de las personas afectadas, de cualquier grupo étnico, lo que desembocaría en afecciones del desarrollo en etapas tempranas de la vida (2,4).

A pesar de la teoría propuesta inicialmente por Down, así como otras que surgieron durante la época, la causa que da origen a la condición permanecería oculta por un largo periodo. Numerosos avances en el área de genética, como la identificación de los cromosomas humanos por parte de Walther Flemming y la subsecuente determinación, en 1956, de los 46 cromosomas en las células somáticas, en lugar de los 48 que se creía, precedieron el descubrimiento de la etiología del SD (5–7). Tres años después, al inicio de 1959, el equipo de investigación francés conformado por el médico genetista Jérôme Lejeune, la

pediatra Marthe Gautier y liderado por Raymond Turpin, publicó su hallazgo de la presencia de tres copias del entonces descrito como “cromosoma Vh” (Figura 1), posteriormente conocido como tipo G y actualmente nombrado cromosoma 21 (HSA21), en fibroblastos provenientes de niños con SD (8–10). Este suceso fue también reportado independientemente por un grupo de investigadores con sede en Reino Unido en cuestión de unos pocos días de haberse dado a conocer el primer reporte (11). De esta manera, el término de trisomía 21 comenzó a utilizarse también para referirse al SD.

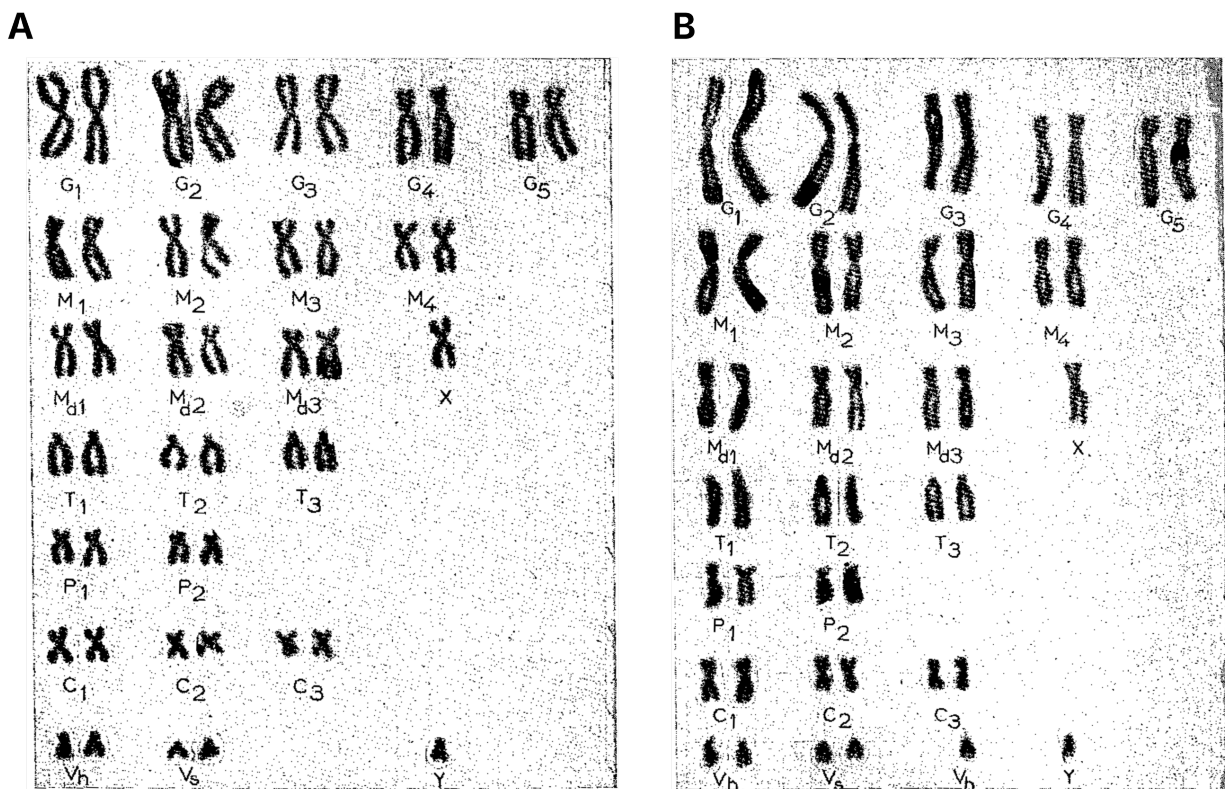


Figura 1 Fotografías de los cariotipos humanos examinados por el equipo de Lejeune, Gautier y Turpin
 A: Cariotipo de una célula euploide. B: Cariotipo de una célula trisómica.
 Adaptación de Lejeune y cols., 1959 (10).

Existen tres formas principales que dan origen a la trisomía 21 en los individuos con SD (ver Figura 2). La más común es a) la trisomía 21 constitutiva; en ella, tres copias completas del cromosoma 21 se presentan en todas las células somáticas de los individuos; b) la trisomía parcial, que deriva de la translocación de una porción del cromosoma 21 por una recombinación entre los brazos largos de dos cromosomas acrocéntricos como el 14 y 21, generalmente del tipo robertsoniana y c) el mosaicismo, en el que el individuo presenta dos líneas celulares distintas, una con trisomía 21 y otra euploide (1,12,13). Tanto las trisomías constitutivas como las parciales suelen presentar similitudes en las manifestaciones clínicas de los individuos afectados, mientras que el mosaicismo suele asociarse con una menor severidad de estas (1,13).

2.1.1 Epidemiología

El SD ocurre en alrededor de 1 a 2 casos por cada 700 a 1000 nacimientos vivos (1,12,14). Se estima que en el 2023 vivían 1.6 millones de personas con SD alrededor del mundo, lo que representó una baja del 0.34% en su prevalencia, desde 1990 (15). Su incidencia mundial se estima de 0.63 a 0.88 casos por cada 100 000 personas (15).

En México, la prevalencia estimada del SD es de 1 caso por cada 650 nacimientos, con 1 caso por cada 300 embarazos en mujeres mayores de 35 años, 1 por cada 100 en mujeres de 40 años y 1 por cada 25 en mujeres de 50 años (16,17). Este comportamiento refuerza la evidencia de que la edad materna constituye un factor

de riesgo importante para el desarrollo del SD (18). Por otra parte, el número de personas con SD en la escala nacional se estima que ronda en 31,719 casos en total (15).

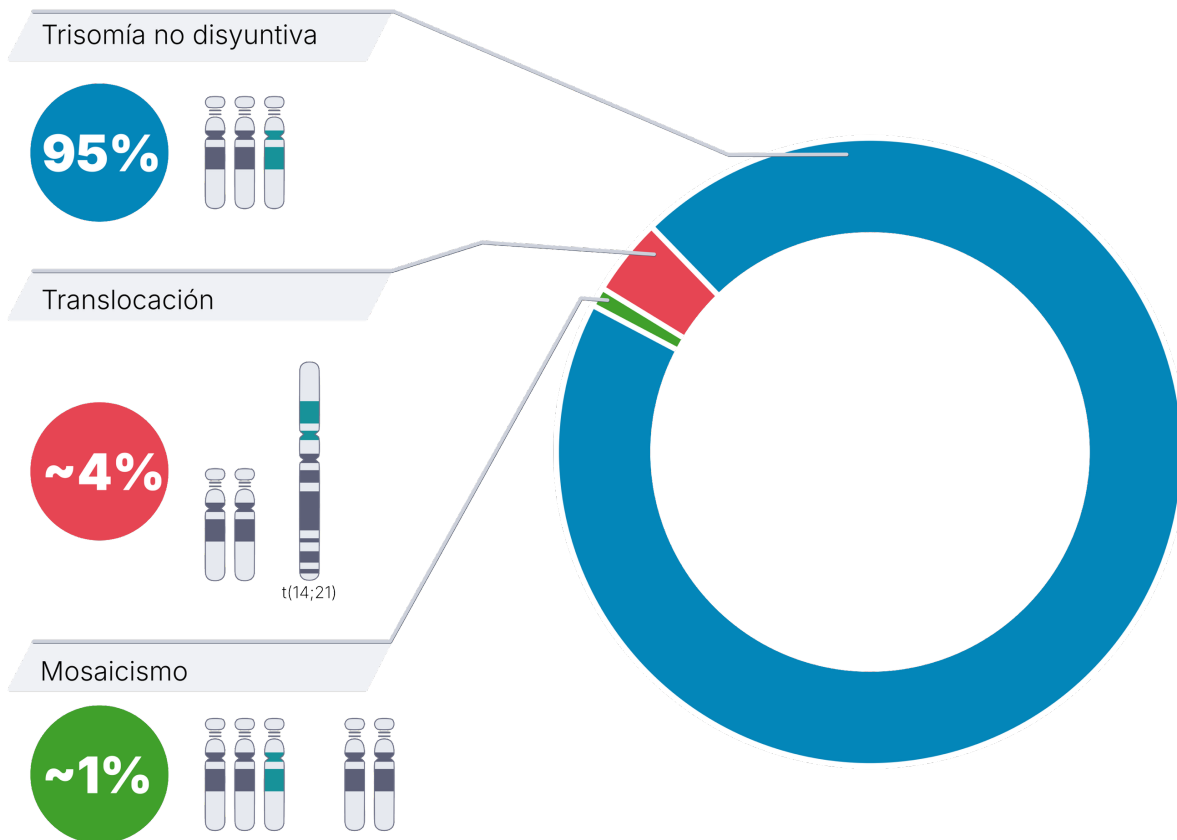


Figura 2 Formas en las que se presenta la trisomía 21

La coloración distintiva en los cromosomas hace referencia al cromosoma o región triplicada. Los porcentajes representan la proporción de casos atribuidos a cada una.

De manera regional, se estimó una prevalencia de 1,041 personas con la condición para el año 2023 (15). Esto coloca a Sinaloa entre los primeros cinco lugares de

los estados con mayor incidencia de SD, estimada en 1.02 casos por cada 100 000 personas, por encima de la tasa nacional de 0.81 (15).

2.1.2 Etiología

El SD se debe a una aneuploidía del cromosoma 21, un tipo de anomalía cromosómica que resulta de un desequilibrio en el número habitual de cromosomas de las células (19,20). De acuerdo con el número de cromosomas ganados o perdidos, las aneuploidías pueden nombrarse utilizando diferentes términos (e.g. monosomía, trisomía, tetrasomía).

La mayoría de las aneuploidías constitutivas son incompatibles con la vida y suelen conducir al término del embarazo, como ocurre con las monosomías autosómicas (19). En cuanto a las trisomías, las más comunes corresponden a las de los cromosomas 13, 18, 21 y aquellas que involucran a los cromosomas sexuales; de éstas, la trisomía 21 presenta los mejores pronósticos de esperanza de vida para quienes resultan afectados (19,21).

Las trisomías pueden clasificarse según el tamaño del material genético triplicado. En primera instancia, las trisomías completas o constitutivas son aquellas en las que el cromosoma completo se encuentra triplicado en las células somáticas. Las trisomías parciales o de segmento involucran una región duplicada de una o más bandas cromosómicas que suele ser mayor a 5 Mb (22). Otro tipo de trisomías de segmento son las micro trisomías, donde el contenido genético extra suele ser

menor de 3 o 5 Mb y generalmente no son detectables mediante análisis citogenéticos rutinarios (22). Finalmente, aunque no podrían ser consideradas dentro de la definición habitual de trisomías, las duplicaciones de un solo gen también pueden dar lugar a alguna manifestación clínica (22).

Diversos factores, tanto dependientes de la edad como independientes de ella, incrementan el riesgo de incidencia de la trisomía 21. El más referido y estudiado corresponde a edades maternas avanzadas, que se correlacionan positivamente con la incidencia de SD (Figura 3) (12,18). De manera similar, haber tenido previamente un hijo con SD también aumenta el riesgo de que el suceso vuelva a ocurrir, independientemente de la edad de los padres (23). También algunos factores ambientales podrían estar relacionados con la aparición de la trisomía 21; sin embargo, resulta complicado definir la dosis, el tiempo y la exposición de cada factor que se quiera analizar (12).

El mecanismo más común que conlleva a la aparición de la trisomía 21 corresponde a errores durante la segregación de los cromosomas homólogos en el proceso de formación de los gametos, por lo general involucrando una no disyunción durante la meiosis I o II de la ovogénesis (12,24). La razón por la cual se suele atribuir un origen materno a las aneuploidías radica en que los errores que predisponen una segregación cromosómica incorrecta se incrementan en el ovocito, además de diferencias en los mecanismos regulatorios del ciclo celular entre los gametos femeninos y masculinos (24,25).

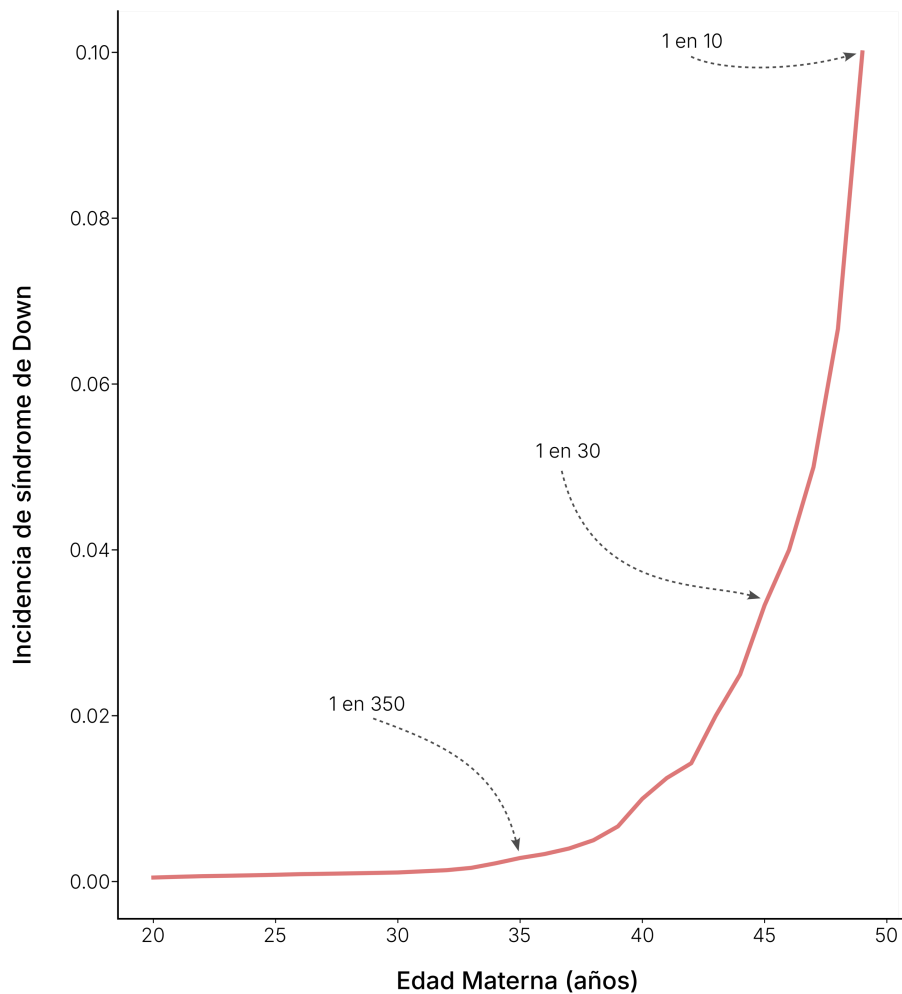


Figura 3 Relación entre la edad materna y la incidencia de síndrome de Down

Las flechas resaltan puntos donde se observa un mayor incremento de casos. Adaptación de NDSS (13).

Dada la relevancia de la edad materna en la incidencia de aneuploidías en general y, por ende, de la trisomía 21, se ha intentado dilucidar los mecanismos afectados por este factor (12,18,25). En primera instancia, la primera división meiótica (meiosis I) en las células germinales femeninas inicia en el periodo prenatal donde,

tras concluir el paquiteno, sucede un arresto meiótico que no permite a la célula abandonar un estado tardío de la profase hasta que la mujer alcanza la madurez sexual e inicia un periodo de ovulación (24,25). Adicionalmente, una posible pérdida de la cohesión de las cromátides hermanas en ovocitos, atribuida a la edad, se ha relacionado con mecanismos que conducen a una no disyunción meiótica (25).

Los puntos de control de paquiteno y de la formación del huso meiótico suelen ser menos robustos en células femeninas, especialmente en ovocitos de edad avanzada, aunado a posibles mecanismos de disfunción mitocondrial, acortamiento de telómeros y alteraciones en patrones de recombinación cromosómica (12,25–27). En conjunto, estos factores permiten que el ovocito mantenga su fertilidad, pero, en consecuencia, reduzca su calidad.

Los factores ambientales que suponen un riesgo de mayor incidencia de trisomía 21 por la no disyunción de HSA21, involucran el consumo materno de tabaco en diversas formas, la suplementación de ácido fólico y alteraciones en su metabolismo, el uso de anticonceptivos orales, así como la exposición a bisfenol A (BPA) (12,28). Así, la edad materna afecta en gran medida diversos mecanismos clave para una segregación y recombinación adecuadas de los cromosomas durante la ovogénesis. Si a esto sumamos la influencia de factores externos que disminuyen aún más la integridad de los procesos involucrados, el riesgo de aneuploidía aumenta significativamente, lo que incrementa el riesgo de trisomía 21.

2.1.3 El cromosoma 21

El cromosoma 21 (HSA21), representado en la Figura 4, es el autosoma humano más pequeño. Se trata de un cromosoma acrocéntrico, cuyo contenido génico representa del 1 al 1.5% del genoma humano (29,30). Debido a sus características y relevancia en la condición del SD, HSA21 ha sido uno de los cromosomas más estudiados históricamente.

La secuenciación formal de HSA21 comenzó a raíz de los esfuerzos internacionales referentes al proyecto del genoma humano. El primer cromosoma en secuenciarse casi por completo fue el 22 en 1999 (31). Cinco meses después, durante el primer trimestre del año 2000, la secuencia de una parte del brazo corto (21p) y de la mayoría del brazo largo (21q) de HSA21 se hizo pública (32). La propuesta inicial de la secuenciación encontró 225 genes codificantes de proteínas y 59 pseudogenes, dentro de 33.8 Mb de material genómico (32).

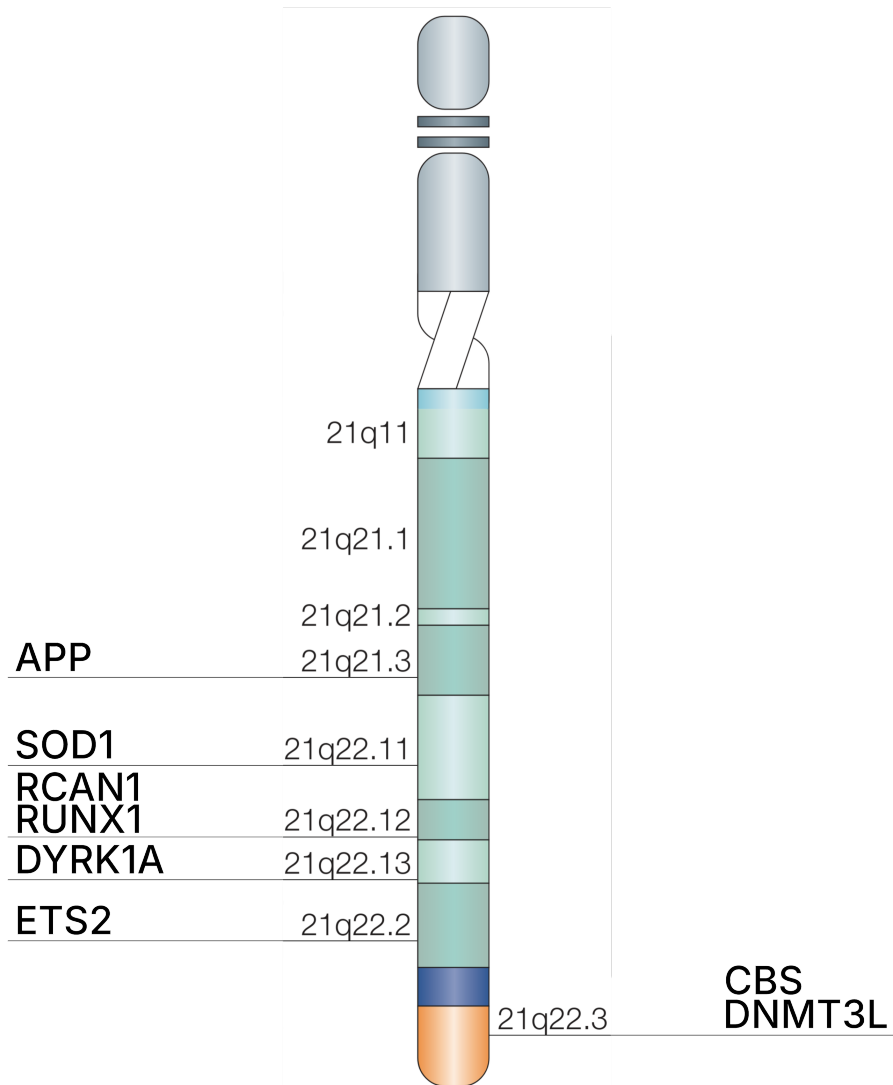


Figura 4 Ideograma del cromosoma 21

Alineados con las regiones cromosómicas, algunos genes de relevancia están codificados en ellas. Adaptación de Antonarakis y cols., 2004 (22).

Los avances en genómica permitieron profundizar en la determinación de la secuencia de HSA21. De esta manera, actualmente sabemos que HSA21 codifica más de 400 genes en aproximadamente 46.7 Mb de material genético, que puede consultarse en la Tabla 1 en una agrupación simplificada (33).

Tras su secuenciación, comenzó a referirse a HSA21 como un cromosoma relativamente bajo en contenido de genes, especialmente al compararlo con otros de tamaño similar, como el 22 (32). Esta característica de HSA21 llevó a la hipótesis de que, debido a la baja densidad génica observada, la trisomía 21 es una de las pocas compatibles con la vida (32).

Tabla 1 Resumen del contenido de genes de HSA21

	Número		
	NCBI	Ensembl	Swiss-Prot
Genes codificantes de proteínas	254	222	213
Genes no codificantes	640	683	-
Pseudogenes	245	184	-

Información recopilada de los sitios web oficiales de cada organización (33–35).

Después de la identificación del mecanismo causal del SD, es decir, la trisomía 21, comenzaron a observarse individuos con trisomía 21 con las características propias del SD, y casos sin dichas características a pesar de contar también con la trisomía (7). Los avances en técnicas de bandeo de cromosomas, permitieron identificar que las células de individuos con trisomía 21 parcial que sí presentaban características fenotípicas del SD portaban la parte distal de 21q, específicamente la banda 21q22 (7,36). Estudios posteriores identificaron y delimitaron una región de 17.4 Mb con locus en 21q22, eventualmente denominada “región crítica del SD” (DSCR) (37,38). Recientemente, se caracterizó una región de 34 Kb con locus en

21q22.13 que se encuentra en todos los sujetos con trisomía 21 parcial y diagnóstico de SD, ubicada dentro de la DSCR original y, dado a la restricción del tamaño ahora identificado, se denominó como “región crítica altamente restringida del SD” (30,39,40). El estudio de la DSCR supuso el inicio de las asociaciones entre el genotipo y fenotipo de las personas con SD; un concepto que después se extendería hacia la hipótesis de que ciertas variables fenotípicas propias del SD estarían asociadas con regiones específicas de HSA21, mientras que habría otras que no se comportarían de la misma forma (7).

2.1.4 Los fenotipos del síndrome de Down

Las personas con SD suelen presentar características fenotípicas variables entre sí. Las manifestaciones fenotípicas que se presentan con mayor frecuencia y se asocian fuertemente con el SD son la discapacidad intelectual, los retrasos en el desarrollo y los rasgos faciales característicos (1,12,41). Adicional a las características físicas previamente descritas, el SD se relaciona también con afecciones en diversos sistemas del organismo, haciendo de la condición un factor de riesgo para el desarrollo de comorbilidades que impactan la calidad de vida (1,12,42). En la Figura 5 y la Figura 6 pueden consultarse con mayor detalle las manifestaciones más comunes asociadas con el SD.

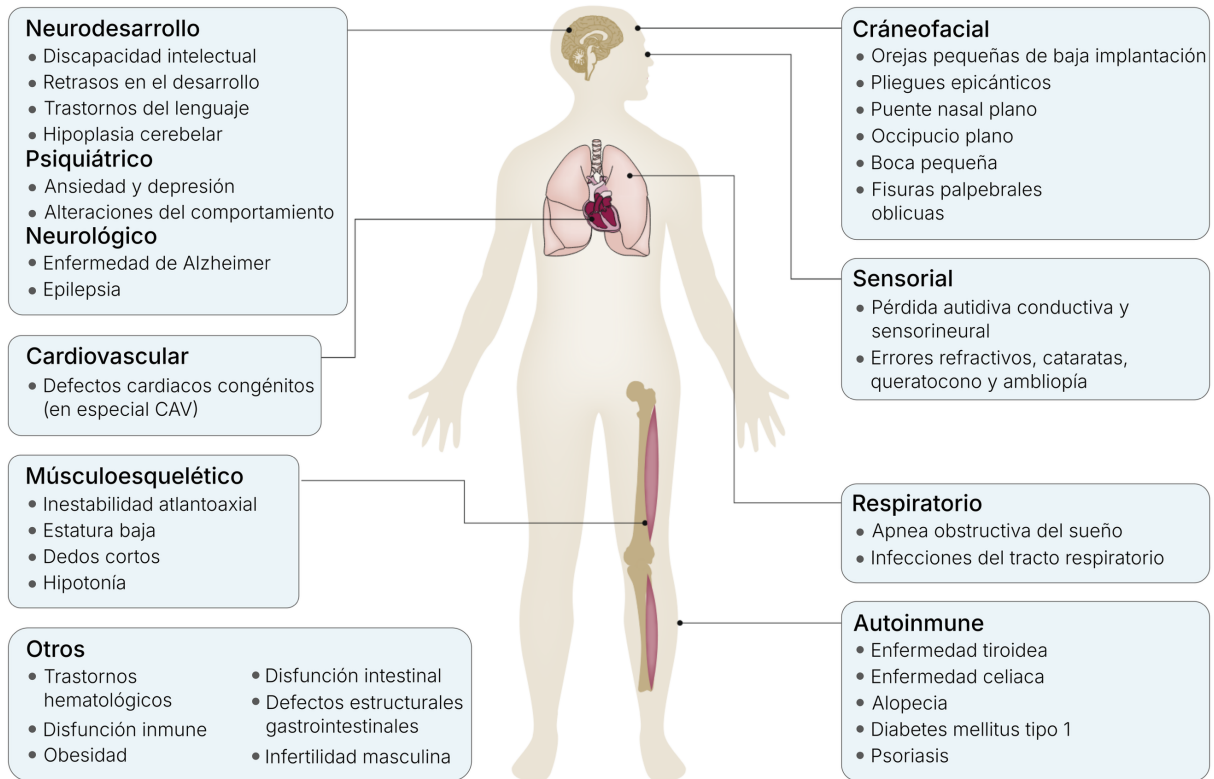


Figura 5 Manifestaciones clínicas relacionadas con el síndrome de Down

CAV: Comunicación auriculoventricular. Adaptación de Antonarakis y cols., 2020 (12).

Los tres mecanismos principales que dan origen a los distintos tipos de SD se relacionan, en mayor o menor medida, con variaciones en las manifestaciones clínicas. Al observar estos patrones de comportamiento, junto con las propuestas de mecanismos genéticos implicados, surgieron diversas hipótesis para explicar la variabilidad fenotípica en las personas con SD (43).

La teoría más aceptada respecto a la variabilidad fenotípica en las personas con SD establece que la sobreexpresión de genes de HSA21 altera la homeostasis de

distintos procesos celulares y, como consecuencia, se desarrollan sus manifestaciones características (12,21). Al estar triplicado el HSA21, la expresión de los genes codificados en el mismo debería, teóricamente, estar en una proporción 1.5 veces mayor respecto a las células euploides. Sin embargo, esto no ocurre de igual manera en todos los genes involucrados en la trisomía, volviendo el problema mucho más complejo que lo inicialmente propuesto (44).

Pese a la importancia intrínseca de la trisomía 21 en los fenotipos del SD, otros factores también contribuyen a la aparición de estas manifestaciones. Dentro de éstos podemos resaltar la influencia de la variabilidad nucleotídica tanto de HSA21 como de otros cromosomas (como pudiera suponer la presencia de polimorfismos, mutaciones y variaciones en el número de copias), la topología y composición de la cromatina, modificaciones epigenéticas, variables ambientales, e incluso eventos estocásticos (42,44).

Al tomar en cuenta todas las posibles variables que pueden influir en la expresión y variabilidad fenotípicas del SD, podemos observar que el origen de dichos fenotipos se debe a una compleja interacción molecular entre mecanismos intrínsecos del organismo y factores ambientales que, finalmente, repercuten en el estado de salud de quienes presentan la condición. Pensar en una población tan diversa como la de las personas con SD, como un grupo relativamente homogéneo que tiene una copia extra de material genético, resulta en una visión reduccionista del abordaje de la condición (42,44).

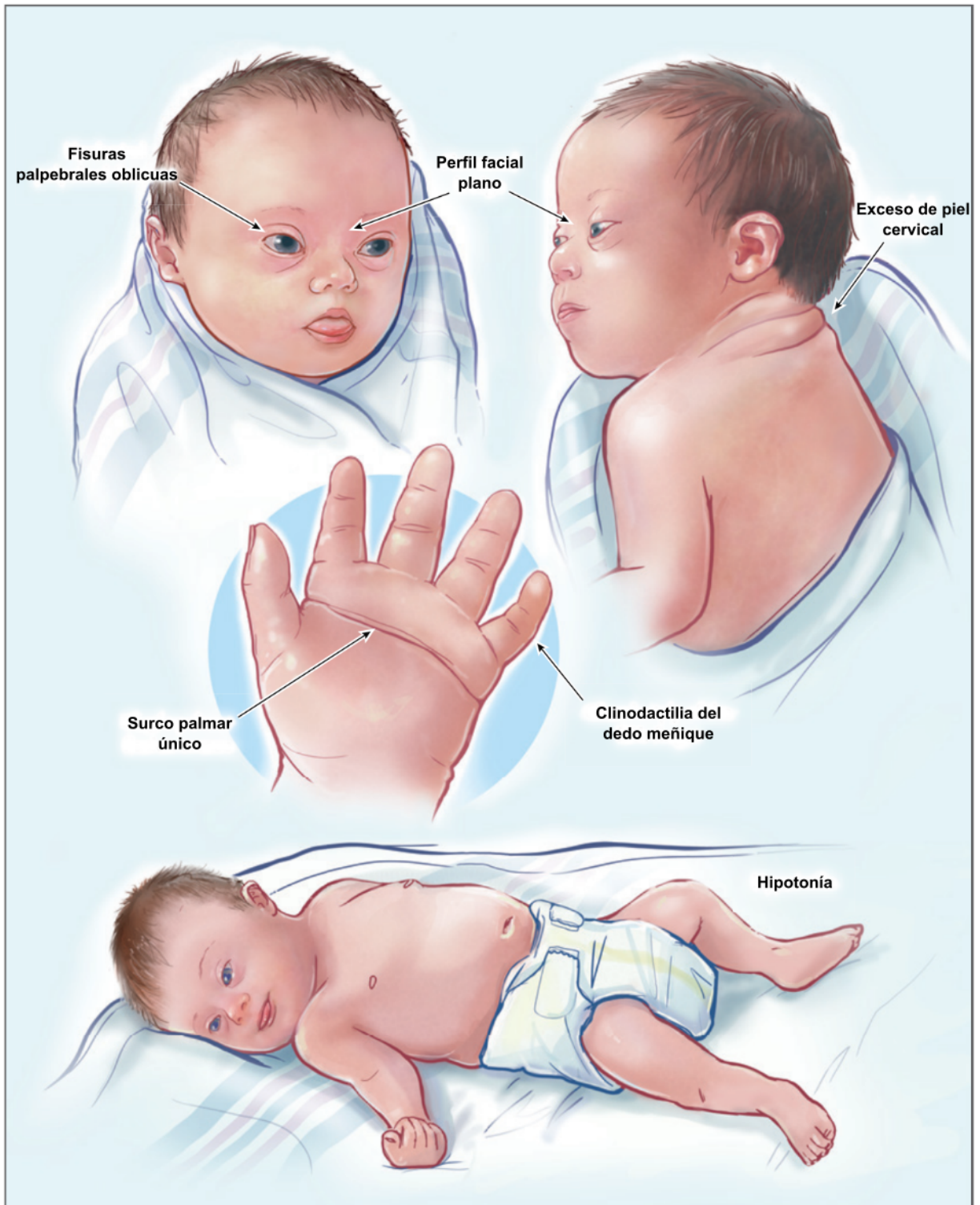


Figura 6 Características fenotípicas comunes del infante con síndrome de Down

Adaptación de Bull, 2020 (1).

2.1.5 Complicaciones

En las últimas décadas se ha observado un incremento en la esperanza y calidad de vida de las personas con SD, sobre quienes actualmente se estima una esperanza de vida media de 60 años, un aumento de aproximadamente 40 años en comparación con las estimaciones de hace 50 años (45–47). El hecho de que las personas con SD alcancen edades cada vez más avanzadas, finalmente conlleva la aparición de complicaciones que afectan múltiples sistemas del cuerpo y que se encuentran asociadas con el fenotipo de esta condición (48,49).

Entre las enfermedades más comúnmente asociadas con el SD se encuentran los defectos cardíacos congénitos, enfermedad de Alzheimer, leucemia, problemas gastrointestinales, complicaciones visuales y auditivas, epilepsia, apnea obstructiva del sueño e hipotiroidismo (14,47,49). De demencia se ha reportado una prevalencia de 9-90%, razón de tasas de incidencia (IRR) de 94.71, hipotiroidismo con una prevalencia de 39-61%, (IRR: 10.63), convulsiones y epilepsia con prevalencia de 2-13% (IRR: 9.65), leucemia con prevalencia de 2-10% (IRR: 4.66), cataratas con IRR: 8.70, apnea obstructiva del sueño con IRR: 5.96, enfermedad renal con IRR: 3.71, entre otras afecciones (1,47,50). Además, muchas de estas patologías se asocian con una mayor mortalidad en esta población. En 2021 se reportó al SD como causa de 29 400 muertes a nivel global en personas de todas las edades (51). Las causas más comunes durante la niñez son los defectos cardíacos congénitos, mientras que en infantes y adultos fueron las infecciones respiratorias (1,52).

2.1.6 Implicaciones metabólicas del síndrome de Down

Desde el descubrimiento de la etiología del SD, el estudio de sus diversas manifestaciones clínicas, especialmente aquellas relacionadas con comorbilidades, se ha centrado principalmente en el abordaje de la relación genotipo-fenotipo a través el estudio de los efectos de la dosis génica de la trisomía 21 (53). La idea de que la condición del SD involucra alteraciones metabólicas fue explorada en primer instancia por la misma persona a quien se atribuye el descubrimiento de su causa genética, el médico Jérôme Lejeune (54).

Lejeune dedicó una parte de sus trabajos a analizar las alteraciones metabólicas que podrían estar implicadas en los procesos fisiopatológicos de la discapacidad intelectual. Él hipotetizaba que tenía su origen en la interrupción de los procesos bioquímicos implicados en el metabolismo neuronal (55–57). A través de analogías, comparaba la complejidad de los efectos de la trisomía 21 sobre el desarrollo de la discapacidad intelectual con la de una orquesta o de una máquina de engranes. Explicaba que, al haber modificaciones del comportamiento de los elementos funcionales (e.g. músicos tocando a destiempo, o engranes girando con mayor rapidez), los productos de los mismos se verían afectados de manera global (55,58).

La visión de Lejeune de que el SD presenta alteraciones metabólicas características, ha llevado a proponer esta condición como una enfermedad metabólica (53). Se ha reportado que las personas con SD suelen presentar alteraciones en el metabolismo central del carbono, de los aminoácidos, de los

polioles, de un carbono y en la elongación y oxidación de lípidos (54,59–62). Las implicaciones fisiológicas de estos desequilibrios son diversas. Por una parte, las alteraciones del metabolismo de aminoácidos y polioles se han relacionado con la reducción de la capacidad cognitiva, la inestabilidad de las membranas, la inflamación glial y posibles desregulaciones de procesos de señalización celular mediados por neurotransmisores (63,64). En cuanto al metabolismo energético, las alteraciones puedan ser derivadas de un posible defecto mitocondrial predispuesto por la condición del SD, cuya presencia se relaciona con características distintivas de envejecimiento (65–67). Adicional a esto, existen reportes de estados crónicos de estrés oxidativo y procesos pro-inflamatorios en personas con SD, lo que puede predisponer a esta población a desarrollar prematuramente comorbilidades como la enfermedad de Alzheimer y a una alta incidencia de patologías autoinmunes como las inmunodeficiencias primarias, tiroiditis de Hashimoto, enfermedad celiaca y diabetes mellitus tipo 1 (68–70).

La detección precisa de cambios en la homeostasis metabólica era una tarea difícil cuando comenzó a hablarse de las repercusiones de la trisomía 21 sobre el metabolismo celular, debido a las limitaciones tecnológicas. En ese tiempo, los estudios para detectar estos cambios solían utilizar técnicas colorimétricas, como la cromatografía de papel, para examinar compuestos de interés (57,71,72). En la actualidad, la innovación tecnológica ha permitido desarrollar herramientas con un alto poder de resolución, con las cuales es posible detectar moléculas con precisión y rapidez. A esta área del conocimiento se le conoce como metabolómica. Sus implicaciones en el estudio de los mecanismos moleculares la

convierten en una herramienta ideal para indagar en profundidad en el trasfondo de los fenotipos asociados al SD.

2.2 Metabolómica

2.2.1 Generalidades

La idea de que cambios en tejidos y fluidos biológicos puedan indicar el desarrollo de enfermedades se remonta a la antigua Grecia, donde Hipócrates sostenía que las enfermedades, contrario a la creencia popular de que eran atribuciones divinas, tenían un origen racional y fisiológico (73). La influencia de la visión hipocrática de la medicina perduró a lo largo de la historia occidental. En la Edad Media, era posible encontrar “diagramas de orina” donde se describían diferentes características organolépticas (e.g. sabor, olor, color) del fluido y se asociaban con ciertas condiciones médicas (74).

El descubrimiento de la estructura del DNA y la posterior definición del dogma central de la biología molecular en la década de 1950, encaminaron el actual entendimiento de cómo se maneja el flujo de la información bioquímica en los sistemas biológicos (ver Figura 7) (75). Los avances en las tecnologías de secuenciación derivaron en que los datos genómicos fueran el foco principal de las investigaciones en biología molecular (75,76). Sin embargo, tras la publicación del primer borrador del genoma humano, fue necesario profundizar en las demás áreas del flujo de información del dogma central de la biología molecular. Esto se

reflejó en la subsecuente generación de datos transcriptómicos, proteómicos y de otras moléculas pequeñas (75,77).

Hoy en día, al conjunto de técnicas que busca examinar a detalle grupos de moléculas de relevancia biológica (e.g. DNA, RNA, proteínas) se le conoce como ciencias ómicas. Éstas comparten el objetivo de generar conocimientos biológicos a través de análisis comprensivos del estudio de todas las moléculas involucradas en las diferentes funciones celulares (76,78).

Durante el periodo de 1950-1960, las moléculas intermediarias de las reacciones metabólicas, los metabolitos, no fueron consideradas primordiales dentro del dogma central. Suponían, más bien, una clase de “espectadores” bioquímicos con poca o nula participación en los procesos de orden superior (75). En la actualidad, los metabolitos se han convertido en una parte integral para entender cómo ocurre la transferencia de información en los sistemas biológicos (Figura 7), puesto que los resultados transcriptómicos y proteómicos muestran tan sólo la posibilidad de que se realicen ciertos procesos fisiopatológicos, donde la relación con diversas manifestaciones fenotípicas se refleja mejor en la metabolómica (75,77,79).

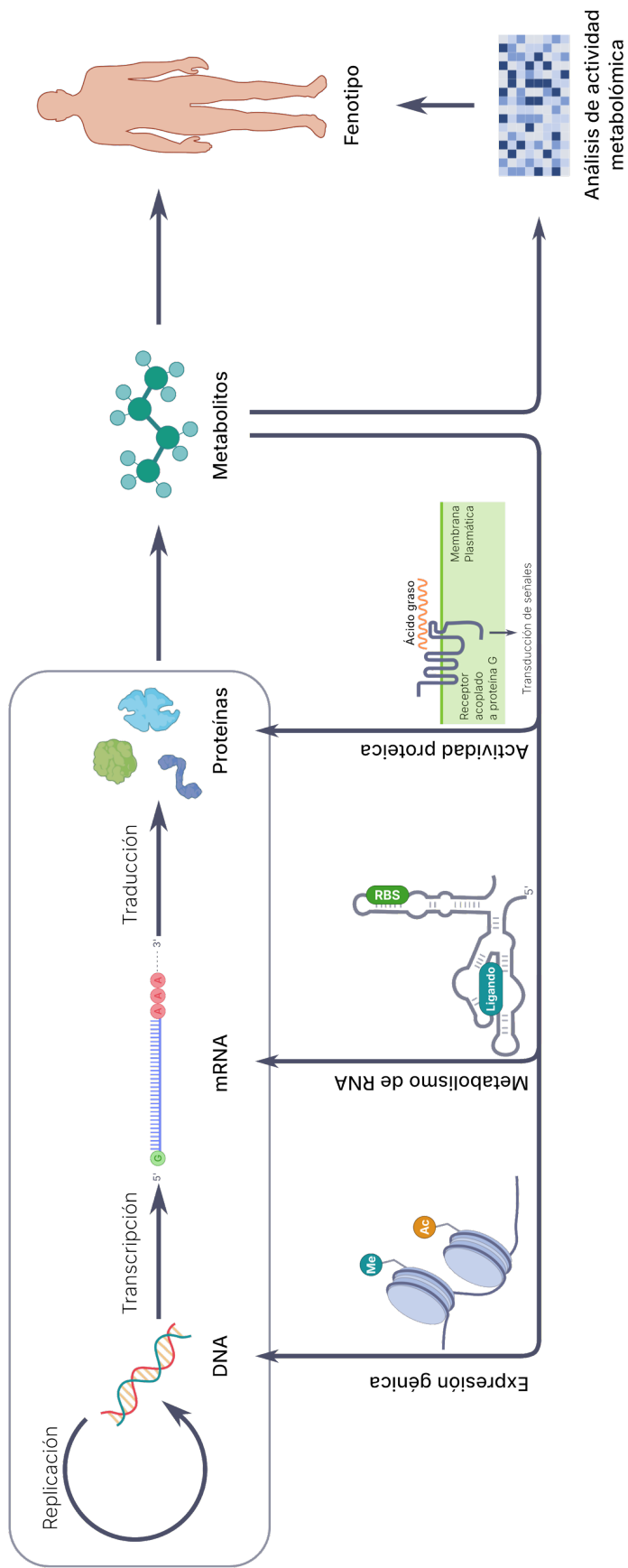


Figura 7 Flujo de la información en un sistema biológico

En la parte superior izquierda, dentro del recuadro, se encuentra una representación del dogma central de la biología molecular. La parte inferior de la figura muestra el rol de los metabolitos en la modulación de la actividad génica y proteica. Adaptación de Rinschen y cols., 2019 (78).

El término metabolómica hace referencia al conjunto de herramientas que analizan los metabolitos presentes en un fluido, célula, tejido u organismo en un momento determinado (80,81). Dada su capacidad para identificar variaciones en la homeostasis de una gran diversidad de moléculas, un análisis metabolómico refleja el estado fisiológico del organismo en el momento del estudio (82). En sus inicios, la metabolómica se centraba en el descubrimiento de biomarcadores que pudieran relacionarse con enfermedades o ciertas exposiciones ambientales (81). Sin embargo, la tendencia actual es extrapolar estos descubrimientos hacia un conocimiento integral de los mecanismos metabólicos que subyacen a los fenotipos de diversas afecciones (83).

2.2.2 Diseño de los estudios metabolómicos

Un estudio metabolómico se clasifica según la manera de identificar los metabolitos de una muestra. Las categorías más comunes son la metabolómica dirigida, la no dirigida y la de imagen o espacial (ver Tabla 2). Para ello, es importante considerar el número de metabolitos que se desea analizar para definir el diseño más adecuado.

Cuando el objetivo principal del estudio es analizar un número específico de metabolitos, en especial si corresponden a una vía específica, la metabolómica dirigida es la herramienta ideal. En este tipo de análisis, se busca cuantificar los metabolitos de interés, que corresponden a moléculas ya identificadas y

seleccionadas a partir de la evidencia disponible (81,84). Para una cuantificación precisa, se optimizan curvas de referencia de los compuestos purificados, seguidas de su comparación con las muestras (81,84,85). Por lo general, la metabolómica dirigida responde a una pregunta específica o hipótesis que involucre a una vía metabólica concreta y puede ser utilizada para validar y expandir los resultados de un análisis no dirigido (81).

Tabla 2 Comparativa de las características generales de los tipos de análisis metabolómicos

	Metabolómica Dirigida	Metabolómica No Dirigida	Metabolómica de Imagen
Objetivo principal	Cuantificación absoluta y precisa de un número limitado de metabolitos.	Descubrimiento e identificación de la mayor cantidad de metabolitos.	Localización espacial (mapeo) de metabolitos dentro de tejidos biológicos.
Número de metabolitos analizados	Decenas	Cientos o miles	Decenas
Requiere conocimiento previo de metabolitos	Sí	No	No
Cuantificación	Absoluta y rigurosa	Relativa	Generalmente relativa

Si no se requiere identificar un grupo predefinido de metabolitos, o si se busca analizar la mayor cantidad de metabolitos sin necesidad de tener conocimiento previo de los mismos, se puede emplear la metabolómica no dirigida. Su característica principal es su capacidad de detectar una gran diversidad de

moléculas, ofreciendo una perspectiva global del metaboloma (81,84). Aunque los resultados son cuantitativos, las abundancias son relativas, ya que no se cuenta con una curva de referencia del compuesto, como en el caso de la metabolómica dirigida (86). Pese a esto, es una herramienta de gran utilidad, puesto que permite identificar moléculas no descritas con anterioridad y generar hipótesis (85,87).

Más recientemente, ha habido un auge de nuevas tecnologías que permiten mapear las ubicaciones de los metabolitos en un organismo. Esta perspectiva se llama metabolómica de imagen o metabolómica espacial (81,84). Sus características la hacen útil en muestras celulares o de tejidos, donde la adquisición de espectros se realiza de manera simultánea sobre cada pixel de la superficie de interés, resultando en la visualización de los compuestos (88).

2.2.3 Los metabolitos

El metabolismo es el conjunto de procesos bioquímicos que ocurren dentro de un organismo. Sus productos e intermediarios corresponden a una gran diversidad de moléculas orgánicas, generalmente de tamaños menores a los 1 500 Da, denominadas metabolitos (89). Desde una perspectiva físico-química, los metabolitos son una serie de compuestos con estructuras altamente variables entre sí, donde sus átomos pueden enlazarse de múltiples maneras; por ejemplo, de manera lineal, formando anillos, por medio de enlaces dobles, o a través de combinaciones de ellos (90). Esta complejidad química hace que su clasificación bioquímica sea extensa como se representa en la Figura 8.

Los metabolitos pueden subdividirse en primarios y secundarios según la función biológica que desempeñan. Los primarios son aquellos intermediarios metabólicos cuyo rol recae en la participación en procesos esenciales del organismo, involucrando crecimiento, desarrollo y reproducción (91). Los metabolitos secundarios abarcan aquellos compuestos no indispensables en las funciones previamente descritas, pero con funciones ecológicas que mejoran la supervivencia del organismo, como la generación de pigmentos en plantas, producción de antibióticos en bacterias, o productos de la metabolización de fármacos en animales (91,92). Debido a su rol secundario, generalmente se encuentran en concentraciones menores que las de los metabolitos primarios.

El metaboloma de un organismo se define como el conjunto completo de sus metabolitos. Diferentes organismos pueden tener metabolomas distintos, especialmente si pertenecen a especies o taxonomías diferentes, y constituyen una parte importante de lo que los diferencia entre sí. Este enfoque en humanos permite estudiar y comprender las variaciones en el metaboloma derivadas de procesos fisiopatológicos, factores ambientales e intervenciones, y analizar distintas matrices biológicas. Entre las más estudiadas se encuentran los biofluidos como plasma, suero, orina y heces, aunque también se pueden analizar células y tejidos (93). Cada matriz puede presentar variaciones en sus metabolitos detectables, lo que ha llevado a desarrollar bases de datos específicas para ciertos organismos o biofluidos (94–99). Tal es el caso de la Human Metabolome Database (HMDB), enfocada en recopilar datos relevantes del metaboloma

humano, que incluye secciones que abordan los metabolitos presentes en distintos biofluidos (100).

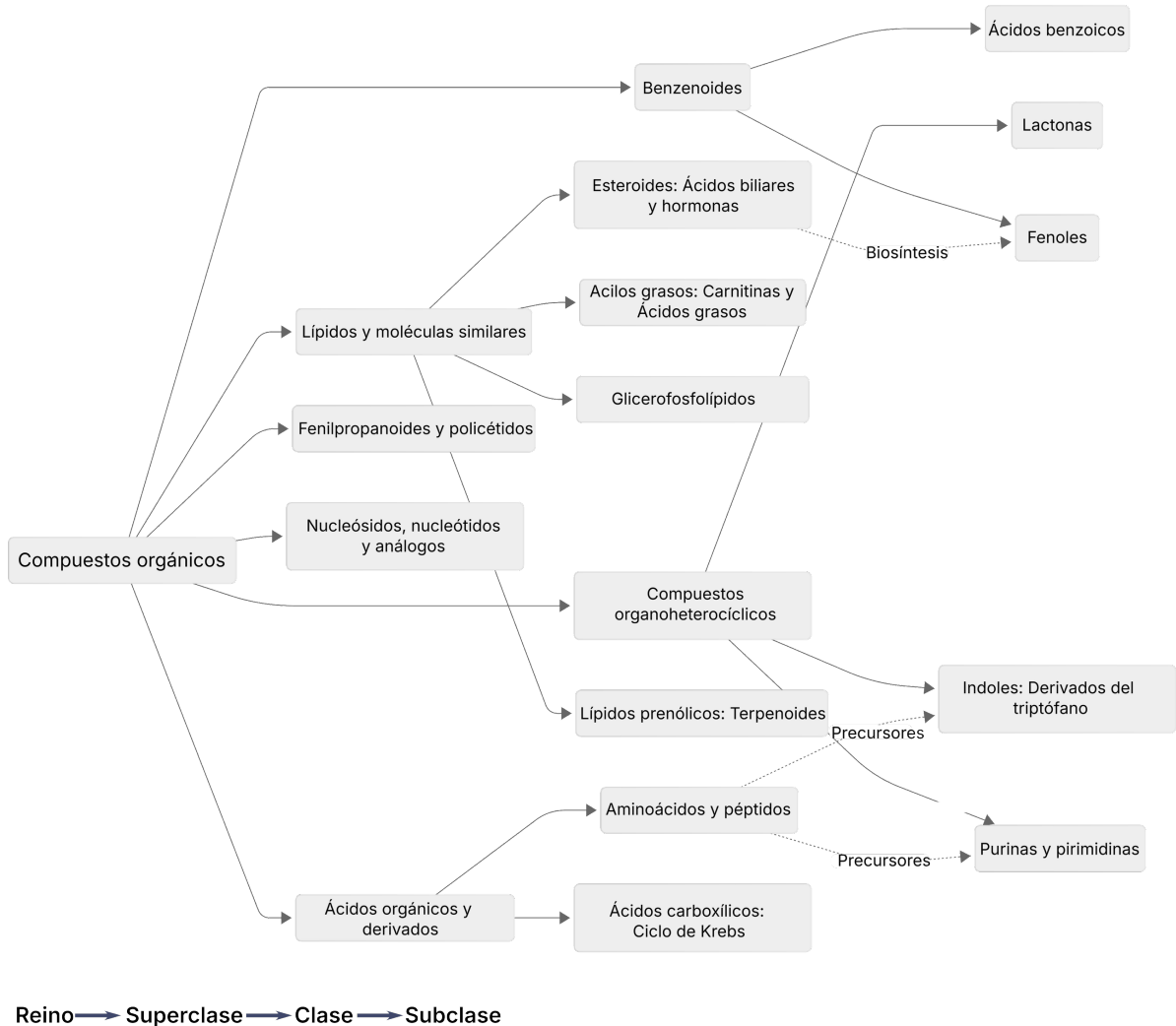


Figura 8 Ejemplos de la clasificación de compuestos orgánicos

El diagrama ubicado en la parte inferior de la figura muestra el orden de seguimiento de la clasificación. Información disponible en el [sitio web de ClassyFire](#) (101).

Dada la diversidad química de los metabolitos, se han desarrollado metodologías específicas según la clase a la que pertenecen los metabolitos de interés. Para

fines analíticos, los metabolitos pueden agruparse de acuerdo con su polaridad y volatilidad (ver Tabla 3), lo que facilita la elección de la metodología de extracción y detección de estos.

Tabla 3 Polaridad y volatilidad de diferentes biomoléculas

Tipo de molécula	No polar y No volátil	No polar y Volátil	Polar y No volátil	Polar y Volátil
Hidratos de carbono			•	
Proteínas			•	
Ácidos nucleicos			•	
Ácidos grasos	•			
Triacilglicéridos	•			
Fosfolípidos	•*		•*	
Esteroides	•			
Aminoácidos			•	
Ácidos orgánicos		•	•	•
Alcoholes		•	•	•
Cetonas		•	•	•
Aldehídos		•	•	•
Ésteres		•	•	•
Amidas			•	
Aminas		•	•	•
Hidrocarburos	•	•		•
Compuestos	•**	•	•**	•

*Considerando su naturaleza anfipática y su cabeza polar.

**Depende del compuesto específico o del nivel de halogenación.

Adaptación de Hartman y Lees 2023 (78).

2.2.4 Técnicas analíticas

El estudio de diversos metabolitos ya se realizaba con técnicas clásicas como los ensayos basados en colorimetría, cristalografía, o análisis enzimáticos. Sin embargo, el desarrollo de herramientas de mayor resolución y precisión en la detección de moléculas le permitió a la metabolómica convertirse en la ciencia que conocemos actualmente (75,102). En términos generales, los dos procedimientos más utilizados en los análisis metabolómicos son la espectrometría de masas (EM) y la resonancia magnética nuclear (RMN). Su elección depende de las características de las moléculas que se deseen analizar (78).

2.2.4.1 Resonancia magnética nuclear

La RMN se basa en el principio de interacción de los momentos magnéticos de los núcleos de diversos átomos con campos magnéticos externos; en otras palabras, la absorción y reemisión de la radiación electromagnética en una frecuencia específica (103). Los núcleos atómicos que suelen utilizarse para la RMN son ^1H y ^{13}C , pero también se ha reportado el uso de otros elementos, como ^{15}N , ^{19}F , ^{31}P , ^{113}Cd y ^{195}Pt . La particularidad de estos átomos es que contienen un número impar de protones y neutrones que les confiere un momento magnético y angular, un *spin* mayor a 0, que les permite interactuar con el campo magnético del espectrómetro (103,104). Son esenciales dos pasos en la detección de una RMN 1) la polarización de los *spins* nucleares en un campo magnético y 2) la alteración del *spin* nuclear por la acción de pulsos de radiofrecuencia de un campo electromagnético (104). La alteración del *spin* resulta en la emisión de una respuesta electromagnética, conocida como desplazamiento químico, en la que el alineamiento experimental se

realiza de modo que ambos campos magnéticos (tanto el del núcleo atómico como el del espectrómetro) sean perpendiculares entre sí, maximizando la intensidad de la señal detectada (104).

Al aplicar la RMN a muestras biológicas, es posible determinar la cantidad de metabolitos a partir de los valores de desplazamiento químico detectados, expresados en partes por millón (ppm). Según el desplazamiento químico, es posible inferir la estructura de las moléculas detectadas, lo que resulta de gran utilidad para la caracterización funcional de los metabolitos en una muestra (105,106).

Una de las desventajas de la RMN es su relativamente baja sensibilidad, especialmente al compararla con la de la espectrometría de masas, pero tiene las ventajas de requerir menos procesamiento previo de las muestras, mayor eficiencia de costos y detección rápida, reproducible y cuantitativa de metabolitos. Además, al ser una técnica no destructiva, es posible realizar análisis *in vivo* o recuperar las muestras para otros análisis, algo que no es posible con la espectrometría de masas (105–107).

2.2.4.2 Espectrometría de masas

La EM tiene como objetivo principal identificar un compuesto a partir de la masa molecular o atómica de sus constituyentes (108). El principio que rige los análisis por EM es la generación de iones derivados de los compuestos de interés, su

separación según su relación masa-carga (m/z) y su detección de acuerdo con la m/z obtenida y la abundancia (108).

Todos los espectrómetros de masas contienen los mismos elementos constituyentes (ver Figura 9): una fuente ionizante, un analizador de masas y un detector, los cuales operan dentro de un sistema de vacío (78,108). Contrario a la RMN, la EM es una técnica destructiva que termina por consumir al analito en respuesta a su ionización y movilización a través del espectrómetro (108).

La ionización de las moléculas puede clasificarse en 1) ionización dura y 2) ionización blanda. La ionización dura sucede cuando la carga aplicada a la molécula proviene de electrones generados por la fuente de ionización. Este tipo de ionización puede llegar a romper los enlaces covalentes de la molécula analizada y usualmente se utiliza sobre materiales inorgánicos (78).

Para el análisis de moléculas de origen biológico, las técnicas de ionización blandas suelen ser las más adecuadas, puesto que la fragmentación que produce la ionización dura genera interferencias que oscurecen la identidad de los compuestos de interés (78). Entre los distintos métodos de ionización blanda, el de mayor uso y cuyo desarrollo impulsó el avance de las ciencias ómicas es el electrospray (ESI). Esta técnica consiste en el bombeo de una solución de un solvente volátil con el analito en bajas concentraciones a través de una aguja a una temperatura de entre 220 y 500°C, y con un voltaje de 2 a 4 kV, que resulta en un *spray* fino que se evapora fácilmente formando gotas cargadas cuyos solventes se

evaporan, dejando sólo las moléculas protonadas o desprotonadas, según el modo de ionización empleado (78,108). Otras técnicas de ionización blanda incluyen a la ionización química (CI), y la desorción/ionización láser asistida por matriz (MALDI), esta última también es altamente empleada en los análisis metabolómicos (78).

El análisis de muestras biológicas por medio de EM puede realizarse introduciendo la muestra por infusión directa o posterior a una técnica de separación. La infusión directa de biofluidos presenta un buen potencial de alto rendimiento en la detección de metabolitos, con algunas desventajas (105,106). A pesar de que las técnicas actuales de EM pueden detectar y asignar la gran mayoría de metabolitos con una buena precisión, especialmente si se hace uso de herramientas de alta o ultra alta resolución, también es posible que se generen patrones de fragmentación idénticos entre moléculas estructuralmente similares. Esto, junto con la presencia de isómeros y compuestos isobáricos, genera interferencias en los resultados y complica la asignación correcta de identificadores de los metabolitos (78,109). Para solucionarlo, pueden separarse las moléculas de acuerdo con algunas de sus propiedades físicas como el tamaño o la carga.

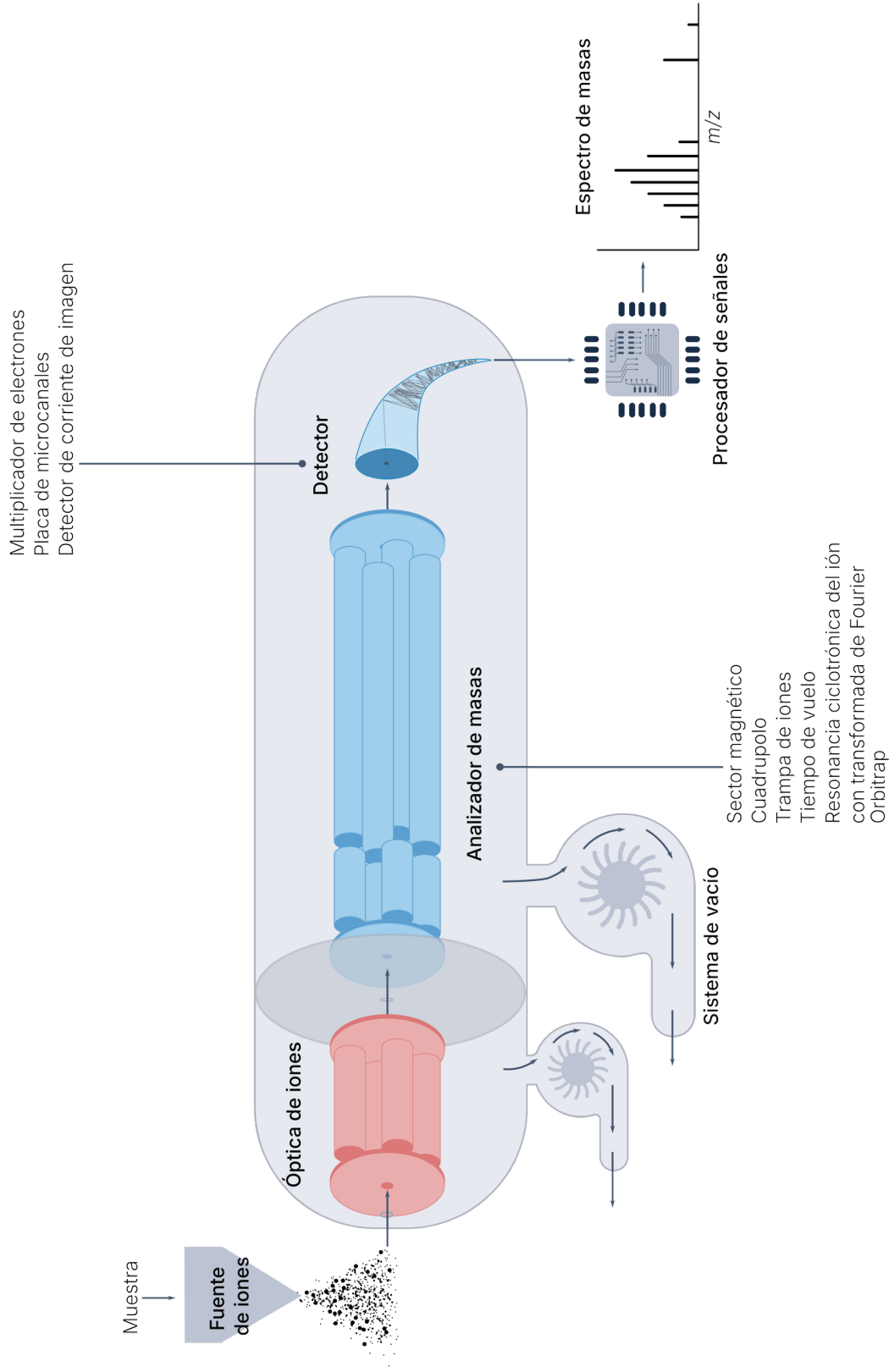


Figura 9 Esquema de los componentes de un espectrómetro de masas

Se tomó como referencia un espectrómetro de masas de tipo cuadrupolo con fuente de ionización por electrospray. Adaptación de Prabhu y cols., 2023 (108).

Las técnicas de separación más utilizadas corresponden a la cromatografía de líquidos (LC), cromatografía de gases (GC), y electroforesis capilar, así como variaciones como la RPLC, HPLC, o UPLC (106). Cada una emplea la separación de metabolitos de acuerdo con alguna característica fisicoquímica como la polaridad o hidrofobicidad. En el caso de las técnicas cromatográficas, el principio de separación consiste en tener una fase estacionaria y una fase móvil, donde las moléculas de interés tienen afinidad con la fase estacionaria, generando diferentes tiempos de retención (78).

A pesar de sus diferencias, la EM y la RMN son técnicas complementarias. Hasta la fecha, no existe una plataforma analítica capaz de identificar y cuantificar el metaboloma completo de una muestra (110).

2.2.5 Análisis de datos metabolómicos

El análisis de los datos obtenidos mediante experimentos de metabolómica puede resultar complejo, especialmente si se pretende analizar patrones de comportamiento o integrar datos de otras ciencias ómicas, como la transcriptómica o la proteómica. Los resultados de los análisis metabolómicos pueden generar archivos demasiado pesados (en términos informáticos) para procesarse en software estadístico de uso general, como las ampliamente conocidas hojas de cálculo. En su lugar, se emplean herramientas importadas de la ciencia de datos, como los lenguajes de programación Python y R, así como diversas librerías especializadas para el análisis de datos biológicos diseñadas para trabajar en

conjunto con dichos lenguajes. Estas herramientas tienen la ventaja de poder amoldarse a necesidades específicas del usuario, además de permitir la generación de modelos estadísticos complejos y visualizaciones personalizables. Desafortunadamente, pese a las múltiples ventajas descritas anteriormente, aprender a utilizar adecuadamente estas herramientas puede consumir una cantidad considerable de tiempo y la curva de aprendizaje suele ser elevada, especialmente para personas poco familiarizadas con la informática. Con esto en mente, han surgido implementaciones más amigables de paquetería inicialmente diseñada para uso bioinformático, que permiten realizar los análisis necesarios en interfaces gráficas a través de sitios web (111).

2.2.6 Aplicaciones de la metabolómica

El metaboloma se considera la representación más cercana y sensible de un fenotipo a nivel molecular. Gracias a los avances tecnológicos y bioinformáticos de los últimos 20 años, la caracterización metabolómica de múltiples enfermedades es una vía prometedora para mejorar los diagnósticos y los tratamientos, lo que nos acerca cada vez más a la medicina de precisión (83,102,112).

Entre las enfermedades mejor caracterizadas, se encuentran la diabetes mellitus, enfermedades cardiovasculares y diferentes tipos de cáncer. Se han identificado grupos de aminoácidos como potenciales predictores del riesgo de desarrollar diabetes mellitus tipo 2 (102,112). También se ha descrito una asociación significativa entre los niveles plasmáticos elevados de N-óxido de trimetilamina

(TMAO) en humanos con eventos adversos al miocardio, así como con alteraciones en los niveles de colesterol que, eventualmente contribuyen a la formación de placas ateroscleróticas (102,113).

La metabolómica también tiene potencial para el diagnóstico de ciertas condiciones genéticas, como los errores innatos del metabolismo. Se han implementado estrategias de EM para una detección rápida y específica de metabolitos asociados a estas enfermedades, lo que abre la posibilidad de brindar diagnósticos más oportunos y rápidos en caso de ser adoptadas clínicamente (114,115).

El reciente auge de la metabolómica ha llevado a considerar al análisis y caracterización del metaboloma como una posible estrategia de monitoreo continuo de la salud. Esto a través de los análisis de EM, dado que se ha propuesto que los análisis de los metabolitos presentes en la orina pueden ofrecer información valiosa acerca de los fenotipos metabólicos, de una manera cuantitativa y altamente personalizable (116,117).

III PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El análisis del perfil metabólico de las personas con SD es aún un área poco explorada. El estudio de las alteraciones de diversos metabolitos en el SD se remontan hasta la década de 1960, donde comenzaban a analizarse variaciones en los niveles de metabolitos específicos que pudieran estar implicados en los mecanismos moleculares de las diversas complicaciones asociadas al SD, especialmente sobre el desarrollo de la deficiencia intelectual (55–58). En 2018, se realizó el primer análisis metabólico de personas con SD basado en RMN, donde se analizaron muestras de plasma y orina en un grupo de 67 personas con SD y un grupo control de 29 participantes. Los resultados reportaron alteraciones en diversos metabolitos producidos durante etapas tempranas del ciclo de Krebs, relacionándose de esta manera al SD con alteraciones en el metabolismo mitocondrial (54).

Estudios posteriores centraron sus avances en indagar sobre los mecanismos involucrados en ciertas manifestaciones clínicas del SD utilizando las técnicas de EM y RMN para analizar muestras de plasma y suero (60,61,118–120). Particularmente, durante 2019, se realizó un análisis metabólico en muestras de plasma y líquido cefalorraquídeo provenientes de un grupo de 75 participantes con la condición de SD y un grupo control con 49 participantes. El análisis reveló que existen alteraciones en la vía de la quinurenina asociadas a la presencia del SD, lo que pudiera desembocar en un efecto inmunosupresor y neurotóxico en esta población (60).

Por otra parte, en 2023, se realizó un estudio donde se evaluaron muestras de heces de 17 individuos con SD, así como de un grupo control de 23 participantes, donde se encontró una relación entre la microbiota intestinal con un estado de inflamación crónica y desórdenes del comportamiento propios del SD (62).

De manera integrada, los estudios disponibles a la fecha han revelado que existen alteraciones en vías metabólicas centrales como el ciclo del ácido tricarbóxico, transaminación de aminoácidos, oxidación de ácidos grasos, y donación de grupos metilo, todos ellos asociados con diversas alteraciones en el funcionamiento celular que podrían tener implicaciones sobre el desarrollo y progresión de las patologías comúnmente asociadas con el SD (121).

Con los avances en el área de la medicina personalizada, el paradigma de desarrollar y ofrecer tratamientos a un grupo de personas con rasgos comunes como si fuesen una población homogénea ha cambiado al abordaje basado en las necesidades específicas de cada individuo (122). Recientemente, una perspectiva similar ha surgido sobre el SD, donde se propone que la condición tiene la posibilidad de ser tratada, rechazando que no sean necesarios los esfuerzos de investigación que buscan minimizar el impacto en la calidad de vida derivado de las comorbilidades asociadas al SD (123).

En conjunto, estos avances conllevan a reconsiderar al SD como una condición compleja donde interactúan distintos órdenes del flujo de información biológica, y no únicamente como un fenotipo producto de la dosis génica. A pesar de que la

evidencia contiene una variedad de estudios metabolómicos aplicados en individuos con SD, el enfoque de éstos se ha centrado principalmente en analizar muestras de plasma y tejido cerebral, donde el estudio de otras matrices biológicas se ha mantenido en segundo plano. El desarrollo de nuevas estrategias de monitoreo clínico debe dirigirse hacia la implementación de técnicas de muestreo mínimamente invasivas que, a su vez, ofrezcan mejores perspectivas del estado de salud, así como permitir la detección de nuevos blancos terapéuticos potenciales.

IV JUSTIFICACIÓN

La adopción de las técnicas de EM para caracterizar los fenotipos relacionados con diversas patologías ha abierto el camino a su aplicación en la caracterización de individuos con SD, quienes presentan un riesgo aumentado de desarrollar enfermedades crónico-degenerativas. Por otra parte, a pesar de los avances generados en la elaboración de guías clínicas en esta población, la investigación en materia de monitoreo clínico que sustente lo establecido en las guías mencionadas, es un área que continúa madurando. Sin embargo, los estudios en esta área se han enfocado principalmente en las alteraciones de diversos metabolitos en muestras de plasma pertenecientes a individuos con SD y sus posibles implicaciones sobre el fenotipo. Considerando que la orina como matriz biológica es un biofluido altamente disponible, de fácil procesamiento y de una recolección sencilla y mínimamente invasiva, siendo esto un factor importante para establecer estrategias de seguimiento médico, y dada la poca información disponible respecto a la caracterización del metaboloma urinario en población con SD, se propone el realizar un análisis metabolómico en muestras de orina de individuos con SD. Dicho análisis contempla la identificación de metabolitos y una estrategia de análisis bioinformático que permita identificar patrones en el perfil metabolómico con el fin de confirmar resultados previos y de contribuir a la caracterización del perfil metabolómico sistémico del SD, repercutiendo en el desarrollo y mejora de estrategias de seguimiento clínico dirigidas a esta población.

V HIPÓTESIS

El estado fisiopatológico de los individuos con síndrome de Down altera procesos metabólicos endógenos que pueden ser detectados en los perfiles metabólicos de la orina.

VI OBJETIVOS

6.1 Objetivo general

Analizar el perfil metabolómico de individuos con la condición de síndrome de Down en muestras de orina.

6.2 Objetivos específicos

1. Identificar los metabolitos presentes en muestras de orina en un grupo con síndrome de Down y un grupo control.
2. Establecer los metabolitos diferenciales de las muestras de orina entre el grupo con síndrome de Down y el grupo control.
3. Identificar patrones que discriminen el perfil metabolómico de los individuos con la condición de síndrome de Down del grupo control por medio de análisis bioinformáticos.

VII MATERIALES Y MÉTODOS

7.1 Diseño de estudio

El presente estudio tuvo un enfoque cuantitativo, con diseño observacional, analítico y retrospectivo. Se utilizaron muestras de orina previamente recolectadas y resguardadas en el biobanco del Centro de Investigación Aplicado a la Salud Pública (CIASaP), Facultad de Medicina.

7.2 Población de estudio

Se eligieron 56 muestras de orina de personas con la condición de SD, con un intervalo de edades de 2 hasta 65 años. De igual manera, se obtuvieron 75 muestras provenientes de un grupo de población euploide con rango de edades similares, al que se le denominó grupo control. Las muestras fueron obtenidas mediante un biobanco perteneciente al CIASaP de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de Sinaloa, donde se mantuvieron almacenadas y congeladas en tubos Falcon de 15 mL hasta el momento de su recolección para análisis. Las muestras fueron seleccionadas con base en criterios de disponibilidad y calidad preanalítica, y se encontraban debidamente codificadas para garantizar la confidencialidad de los datos. El protocolo de recolección de las muestras se realizó con previa aprobación del Comité de Ética en Investigación de la Facultad de Medicina, contando con el número de registro CONBIOÉTICA-25-CEI-003-20181012, y adheriéndose a los principios bioéticos estipulados en la Declaración de Helsinki.

7.3 Preparación de las muestras de orina

Previo a la implementación de cualquier método de procesamiento, la muestra se descongeló a temperatura ambiente, se mezcló por agitación vigorosa y se recolectó 1 mL de las muestras anteriormente descritas. Las alícuotas fueron depositadas en tubos eppendorf con volumen de 1.5 mL para su posterior análisis.

Para el aislamiento y obtención de los metabolitos presentes en las muestras, a 100 μL de las mismas, se añadieron 800 μL de metanol (MeOH) de grado HPLC y se agitó vigorosamente durante 5–10 segundos para asegurar la resuspensión de los componentes. Una vez homogenizadas, se refrigeraron a 10°C durante 10 minutos y se centrifugaron a 14,000 x g por 10 minutos para precipitar las proteínas presentes. Finalmente, se recuperó el sobrenadante obtenido de la centrifugación con jeringas estériles y se filtró en membrana de nylon de 13 mm de diámetro con tamaño de poro de 0.22 μm . Las muestras procesadas se mantuvieron a 4°C hasta el momento de ser analizadas.

7.3.1 Análisis por espectrometría de masas

Se realizó un análisis metabolómico no dirigido por medio de la técnica de espectrometría de masas por resonancia ciclotrónica de iones con transformada de Fourier, en un equipo Bruker solarix XR 7T ubicado en el Laboratorio de Investigación y Posgrado en Operaciones Unitarias de la Escuela Superior de Ingeniería Química e Industrias Extractivas perteneciente al Instituto Politécnico Nacional.

Para el análisis, se recuperaron alrededor de 20 μL de muestra previamente procesada y se ingresaron al espectrómetro de masas por medio de infusión directa con una jeringa Hamilton. Se utilizó una fuente de ionización por electrospray acoplada al espectrómetro de masas para ionizar las moléculas previamente extraídas, la cual se calibró en modalidad positiva y negativa con una solución de trifluoroacetato de sodio.

Los parámetros para la detección de metabolitos definidos en la configuración del equipo fueron los siguientes: rango de escaneo con límite inferior de 42.99 y límite superior de 3,000 m/z , con un promedio de 100 escaneos, en un tiempo de acumulación de iones de 0.310 segundos, la resolución del espectro se estableció en 2 millones de puntos. Por cada muestra analizada, se realizaron lecturas por triplicado en ambas polaridades para asegurar que la detección del perfil metabolómico obtenido en los espectros se realizara debidamente.

7.3.2 Procesamiento e identificación de metabolitos

El compendio de espectros obtenidos por espectrometría de masas se importó al software MetaboScape 2022b versión 9.0.1 para la obtención de la matriz de datos a analizar estadísticamente. Este proceso se realizó de manera independiente para las muestras pertenecientes al grupo SD y al grupo control, así como para las muestras obtenidas en polaridad positiva y negativa; obteniendo finalmente un total de cuatro matrices de datos. En el software se seleccionó el algoritmo T-ReX 2D, versión 1.159,

para procesar los espectros obtenidos y determinar también los niveles de ruido de cada grupo de espectros (ver Tabla 4).

Tabla 4 Condiciones generales para el procesamiento de espectros

Grupo	Polaridad	Nivel de ruido establecido (intensidad)	Presencia mínima en muestras (n)
Síndrome de Down	Positiva	1,500,000	18
	Negativa	1,200,000	18
Control	Positiva	1,200,000	22
	Negativa	1,200,000	22

Presencia mínima en muestras: número de muestras mínima en el que debía estar presente un metabolito para incluirse en la matriz de datos generada (calculado como ~10% del total de lecturas incluidas).

Una vez procesados y obtenidos los datos de las mediciones m/z de cada posible molécula detectada en los espectros, se contrastaron con la base de datos HMDB (www.hmdb.ca) para anotar los metabolitos identificados. Para ello, se usó una tolerancia de 5.0 mDa al comparar la m/z obtenida con la m/z de la base de datos. Finalmente, se exportaron los resultados de cada matriz de datos en formato CSV para su análisis estadístico.

7.4 Análisis de datos

7.4.1 Entorno computacional

Se creó y utilizó un entorno virtual con el lenguaje de programación Python, junto con un conjunto de librerías, para diseñar un *pipeline* estadístico aplicable a la matriz de datos obtenidos mediante espectrometría de masas. Las especificaciones del conjunto de dependencias del entorno se resumen en la Tabla 5.

Los cuatro archivos CSV generados durante el procesamiento de los espectros experimentales y anotación de metabolitos, fueron importados al entorno virtual, y leídos en él, haciendo uso de la librería Polars para convertirlos en *Data Frames* compatibles con el programa.

Tabla 5 Descripción de las dependencias del entorno virtual para el análisis de resultados

Nombre	Versión	Función
Python	3.13.9	Lenguaje de programación
Polars	1.36.1	Librería (Procesamiento de <i>Data Frames</i>)
Numpy	2.4.1	Librería (Computación numérica)
SciPy	1.16.3	Librería (Computación científica)
Sci-kit Learn	1.8.0	Librería (Aprendizaje automático / Machine learning)
Mummichog	2.7.0	Librería / Software (Análisis funcionales)
Matplotlib	3.10.8	Librería (Visualización de datos)
Catppuccin	2.5.0	Tema / Esquema de colores

7.4.2 Preprocesamiento de los datos

En una primera etapa se depuró cada *Data Frame*, eliminando las columnas no necesarias para el análisis estadístico. Posteriormente, se seleccionaron las mejores lecturas por muestra, según un sistema de puntaje en función de la abundancia relativa del conjunto de metabolitos detectados. Para ello, todas las lecturas de una misma muestra iniciaron con un puntaje de cero; posteriormente, para cada metabolito se compararon las abundancias registradas entre las lecturas y se asignó un punto a aquella que presentara el valor más alto. Al finalizar el proceso, el puntaje acumulado más alto se consideró el representativo de la muestra, al reflejar el comportamiento más consistente en las abundancias de metabolitos.

Debido a las características intrínsecas de la orina y a la variabilidad asociada a su grado de dilución, se aplicó un factor de corrección mediante normalización por cocientes probabilísticos (PQN, por sus siglas en inglés), para hacer comparables las abundancias relativas entre las distintas muestras analizadas (124–126).

Finalmente, para evitar interferencias en los análisis estadísticos posteriores, se realizó un proceso de imputación de los valores de abundancia originalmente obtenidos como cero, sustituyéndolos por valores iguales o inferiores a la mitad del valor mínimo observado para cada metabolito.

7.4.3 Análisis estadístico univariado

Para detectar las diferencias entre los resultados de las abundancias relativas de los metabolitos identificados entre los grupos de estudio, se realizó un análisis univariado mediante una diferencia de medias por la prueba estadística t de Welch para grupos independientes, considerando un valor de $p < 0.05$ como resultado estadísticamente significativo. Con estos mismos valores de p , se aplicó una prueba de tasa de descubrimiento falso (FDR) por el método de corrección de Benjamini-Hochberg para obtener valores de p ajustados, minimizando así el riesgo de obtener resultados falsos positivos.

Se realizó también un análisis de abundancia diferencial calculando el cambio relativo logarítmico con base 2 (LFC, por sus siglas en inglés) de las abundancias obtenidas de los metabolitos, considerando los puntos de corte de $p < 0.05$ y valor absoluto de $LFC \geq 1$ para establecer los metabolitos diferenciales entre ambos grupos de estudio. El LFC fue, además, convertido a cambio relativo (Fold Change) para mejorar su interpretabilidad.

7.4.4 Análisis estadístico multivariado

Para detectar diferencias en el comportamiento de agrupación de los datos entre los grupos analizados, se implementaron dos tipos de análisis de reducción de dimensionalidad. De manera exploratoria se utilizó un modelo de análisis de componentes principales (PCA) para explicar la varianza de los datos de una manera no supervisada y observar si existen diferencias de agrupación. En contraste, se

implementó también un modelo de análisis discriminante de mínimos cuadrados parciales (PLS-DA), al cual se entrenó con aproximadamente un 30% de los datos etiquetados (es decir, marcados con el grupo del cual provenían) y posteriormente, se evaluó su capacidad para clasificar correctamente el grupo de origen con base en los valores de los metabolitos.

Ambos modelos se implementaron en distintas condiciones de tratamiento de la matriz de datos para evaluar la elección óptima del escenario durante el análisis. Primeramente, se consideró el escalamiento de datos, estándar o de Pareto; en ambos escenarios se realizaron también dos pruebas adicionales, transformación logarítmica de los datos y valores no transformados, resultando un total de cuatro escenarios comparables: escalamiento estándar simple, escalamiento estándar con transformación logarítmica, escalamiento de Pareto simple, y escalamiento de Pareto con transformación logarítmica.

Considerando que PLS-DA es un modelo de tipo predictivo, de acuerdo con los resultados de las métricas R^2 y Q^2 obtenidas, se evaluó la posibilidad de sobreajuste sobre el modelo con mejor rendimiento entre los escenarios anteriormente descritos con pruebas de permutación para verificar que el valor predictivo del modelo no se debiera al mismo. Para ello, se estableció un parámetro de 1,000 permutaciones para las pruebas, contrastando los valores de Q^2 obtenidos del modelo original con la media de los valores de Q^2 obtenidos de la prueba de permutación, considerando un valor empírico de $p < 0.05$ como estadísticamente significativo.

7.4.5 Análisis funcional

Para obtener una predicción de las rutas metabólicas que pudieran encontrarse alteradas, se utilizó el algoritmo *mummichog* (127). Para ello, se consideran las funciones de análisis de módulos y rutas metabólicas, se estima y predice la actividad funcional de los metabolitos a partir de una tabla de características provenientes de espectros (metabolitos, a manera de m/z). Con la finalidad de reducir interferencias durante el análisis, se catalogaron únicamente los metabolitos diferenciales estadísticamente significativos (de acuerdo con el análisis de LFC) para introducir al algoritmo.

VIII RESULTADOS

8.1 Descripción de la población de estudio

Las características demográficas y antropométricas de los grupos de estudio se resumen en la Tabla 6 y la Tabla 7, respectivamente. El grupo control estuvo compuesto principalmente por integrantes del sexo femenino (54.7%), mientras que el grupo SD presentó un mayor porcentaje de integrantes masculinos (58.7%). El rango de edades de los participantes del grupo SD fue más amplio en comparación al grupo control; sin embargo, la media fue similar entre grupos, situándose entre niños y adolescentes.

Tabla 6 Características demográficas de los grupos de estudio

	Síndrome de Down	Control
Sexo (n)		
Femenino	19	41
Masculino	37	34
Total	56	75
Edad (años)		
Rango	4 – 64	3 – 32
Media \pm D.E.	14.9 \pm 11.1	11.0 \pm 4.7

D.E.: Desviación estándar

Las características antropométricas entre ambos grupos fueron similares. La estatura de los participantes del grupo SD fue ligeramente menor a la del grupo control,

mientras que el peso corporal fue mayor. Estos cambios se reflejaron también en el IMC, cuya media se situó aproximadamente 5 unidades por encima de la del grupo control; sin embargo, ambos grupos se encuentran dentro de la categoría de peso normal (128).

Tabla 7 Características antropométricas de los grupos de estudio

	Síndrome de Down	Control
Estatura (cm)	131.4 ± 18.8	139.4 ± 17.8
Peso (kg)	42.4 ± 19.9	38.9 ± 19.2
IMC (kg/m ²)	23.3 ± 6.5	18.6 ± 4.4
ICC	0.88 ± 0.19	0.85 ± 0.22

Unidades expresadas como media ± desviación estándar. IMC: Índice de masa corporal, ICC: Índice cintura-cadera

8.2 Separación multivariada de los perfiles metabólicos entre grupos

Con el objetivo de evaluar si el perfil metabólico urinario permitía distinguir entre personas con síndrome de Down y el grupo control, se realizaron análisis multivariados de reducción de dimensionalidad mediante modelos no supervisados (PCA) y supervisados (PLS-DA). Estos enfoques permiten explorar patrones globales de agrupación entre las muestras, así como estimar la capacidad discriminante del conjunto de metabolitos analizados.

Previo al ajuste de los modelos, se compararon distintos escenarios de preparación de los datos, considerando el tipo de escalamiento (estándar o Pareto) y la aplicación de transformación logarítmica. El comportamiento general de los modelos bajo estos escenarios se resume en la Tabla 8. En términos generales, el comportamiento de los modelos PLS-DA fue similar entre el escalamiento estándar y el de Pareto; sin embargo, la transformación logarítmica de los datos sí condujo a una mejoría en el valor predictivo. En particular, los valores de Q^2 pasaron de estar cerca del umbral de sobreajuste, a denotar comportamiento confiable, lo que sugiere una representación más adecuada de la variabilidad biológica subyacente.

Tabla 8 Resumen del comportamiento de los modelos de reducción de dimensionalidad utilizados para el análisis multivariado

Escenario	PCA		PLS-DA	
	Varianza del componente 1	Varianza acumulada*	R^2	Q^2
Escalamiento estándar	18.1%	35.1%	0.959	0.721
Escalamiento estándar y transformación logarítmica	8.5%	16.2%	0.997	0.895
Escalamiento de Pareto	18.9%	38.9%	0.959	0.721
Escalamiento de Pareto y transformación logarítmica	8.9%	16.8%	0.997	0.895

*Representa la suma de la varianza explicada por cuatro componentes principales. PCA: Análisis de componentes principales, PLS-DA: Análisis discriminante de mínimos cuadrados parciales, R^2 : Coeficiente de determinación, Q^2 : Relevancia predictiva.

En el caso del PCA, el primer componente explicó entre 8.5% y 18.9% de la varianza total, mientras que la varianza acumulada de los cuatro primeros componentes alcanzó hasta 38.9%, según el tratamiento de los datos (Tabla 8). Los diagramas de dispersión generados para los modelos de PCA y PLS-DA (Figura 10) permiten visualizar una tendencia de agrupación particular para cada grupo, con una mayor dispersión en el grupo SD. Los resultados del modelo de PCA (Figura 10A), muestran que, a pesar de existir diferencias notorias entre ambos grupos de estudio, las elipses que representan los intervalos de confianza (I.C. 95%), llegan a superponerse, e incluso se pueden observar ciertos individuos del grupo control que cruzan hacia el espacio dominado por el grupo SD. Esto indica que existe un espacio en el perfil metabólico compartido entre ambos grupos. En cuanto al modelo supervisado PLS-DA (Figura 10B), además de una separación más definida entre las poblaciones estudiadas, se observa una mayor dispersión de los individuos con SD, quienes abarcan una parte importante de la superficie del gráfico.

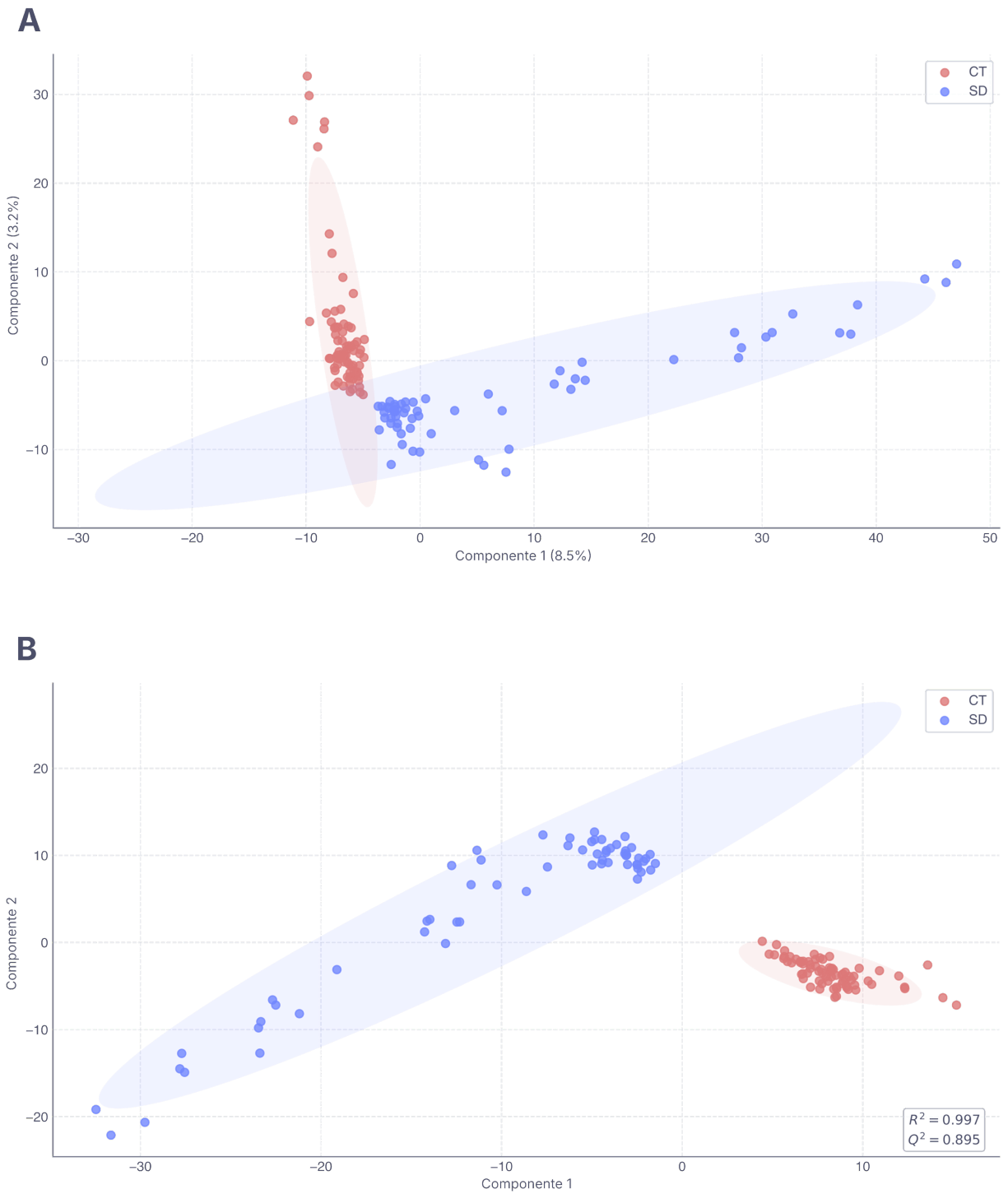


Figura 10 Gráficos de dispersión de los modelos multivariados

Los datos se prepararon aplicando escalamiento estándar y transformación logarítmica. A: Resultados del modelo de PCA, la varianza explicada está expresada como porcentaje en cada componente. B: Resultados del modelo PLS-DA. CT: Control, SD: síndrome de Down, R^2 : Coeficiente de determinación, Q^2 : Relevancia predictiva

8.3 Análisis de abundancia diferencial

Con el objetivo de identificar metabolitos cuya abundancia relativa difiriera entre el grupo SD y el control, se realizó un análisis univariado mediante la prueba *t* de Welch. A partir de este análisis, se identificaron 1,607 metabolitos con diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$), de los cuales 252 contaban con anotación en bases de datos públicas. Tras aplicar el ajuste del valor de p mediante una tasa de falsos positivos por el método de Benjamini-Hochberg, 1,556 metabolitos mantuvieron su significancia estadística ($p_{\text{FDR}} < 0.05$), siendo 244 metabolitos anotados.

Los metabolitos con abundancias diferenciales se identificaron partiendo de los resultados del análisis univariado, considerando los criterios de puntos de corte de $p_{\text{FDR}} < 0.05$ y cambios relativos expresados como $\text{LFC} \geq 1$ o ≤ -1 . Las diferencias observadas se interpretaron como cambios en la abundancia de los metabolitos del grupo SD en comparación con el grupo control.

La Tabla 9 resume el conteo global de metabolitos obtenidos de acuerdo con las clasificaciones derivadas del análisis de abundancia diferencial. Se observó una mayor cantidad de metabolitos con abundancias elevadas en el grupo SD respecto al grupo control. Los resultados en términos de metabolitos totales (incluyente de metabolitos anotados y no anotados) pueden visualizarse en la Figura 11.

La Figura 12 muestra la dirección y magnitud de los cambios metabólicos identificados, de acuerdo con el Fold Change de los 46 metabolitos anotados que

tuvieron abundancia diferencial significativa a partir de los criterios de selección establecidos. Esto sugiere la existencia de alteraciones sistemáticas en el perfil metabolómico urinario del grupo con SD, las cuales se exploran con mayor detalle en el análisis funcional de rutas metabólicas.

Tabla 9 Número de metabolitos clasificados según los resultados del análisis de abundancias diferenciales

Clasificación	Criterio	Metabolitos totales (n)	Metabolitos anotados (n)
<i>Según el análisis de abundancia diferencial</i>			
Alto	$LFC \geq 1, p_{FDR} < 0.05$	195	33
Bajo	$LFC \leq -1, p_{FDR} < 0.05$	93	13
No significativo	No cumplir algún criterio previo	1561	244
<i>Según la magnitud* del cambio de LFC</i>			
Intenso	≥ 2.00	37	4
Fuerte	1.00 – 1.99	257	42
Moderado	0.58 – 0.99	610	97
Leve	0.26 – 0.57	642	99
Insignificante	< 0.26	303	48

* Magnitud medida en números absolutos. LFC: Log₂ Fold Change

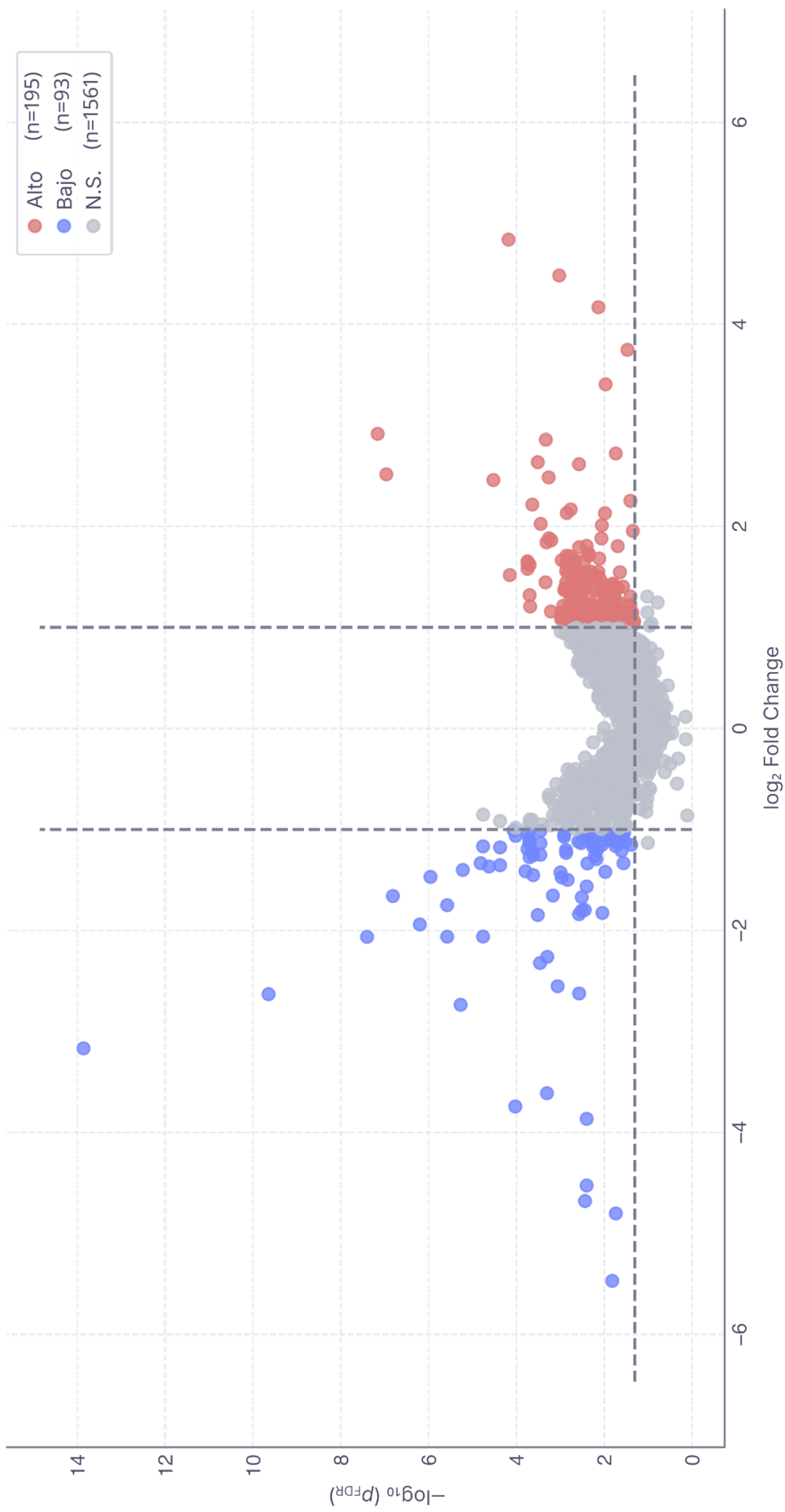


Figura 11 Gráfico de volcano de las abundancias diferenciales de los metabolitos del grupo síndrome de Down respecto al grupo control

Los marcadores coloreados representan los metabolitos con abundancias diferenciales significativas. p_{FDR} : p-valor ajustado, N.S.: No significativo.

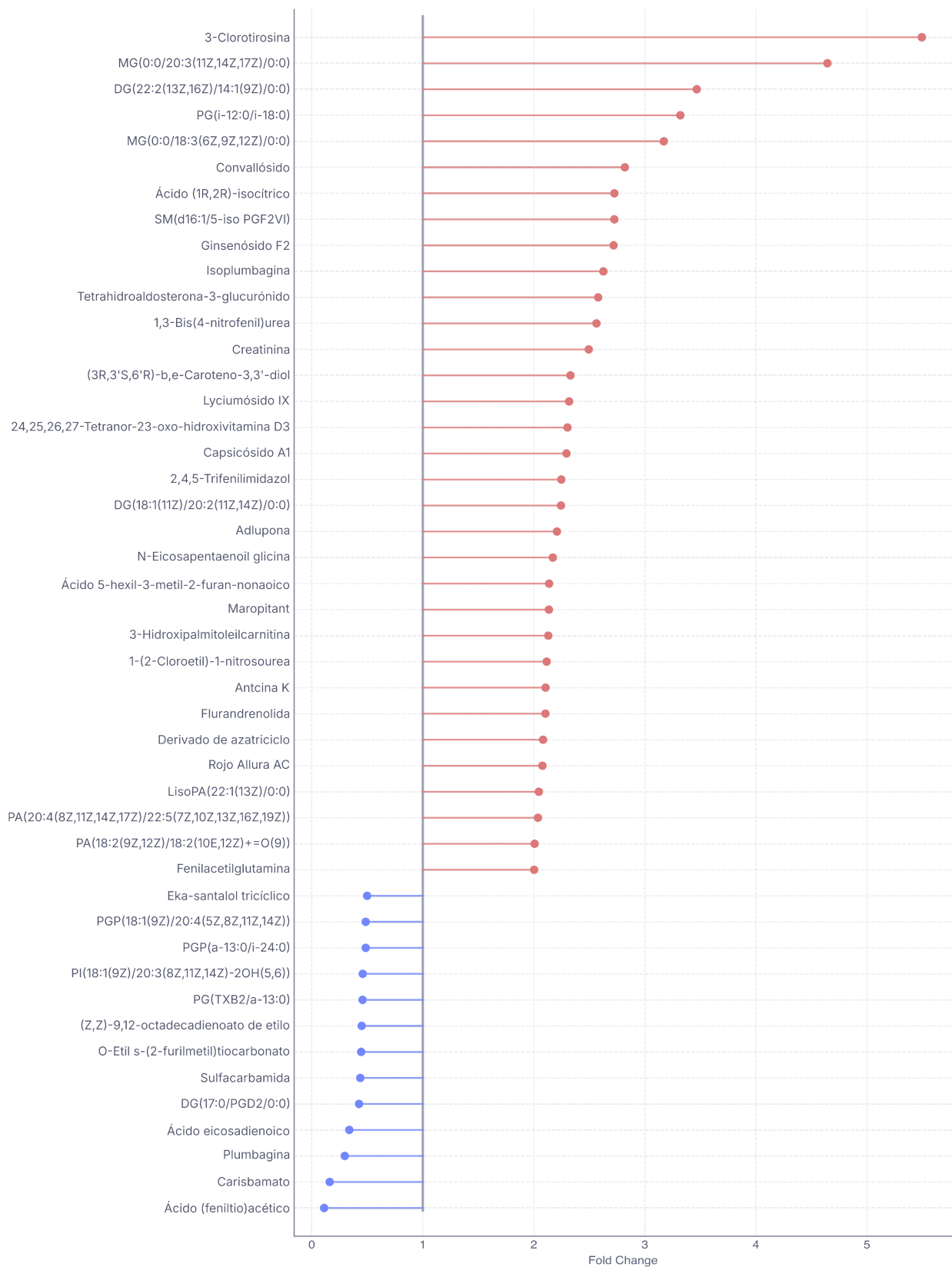


Figura 12 Gráfico stem de los metabolitos anotados con abundancias diferenciales

La magnitud de cambio está expresada como Fold Change.

8.4 Análisis Funcional

Con el fin de explorar el posible significado biológico de los metabolitos con abundancia diferencial entre grupos, se realizó un análisis funcional de rutas metabólicas a través del algoritmo *mummichog*. Esto permitió evaluar la asociación conjunta del conjunto de metabolitos diferenciales con procesos metabólicos conocidos. Como resultado se identificó una participación significativa de los metabolitos en 11 vías metabólicas distintas.

De acuerdo con el análisis de significancia estadística, ocho vías mostraron una asociación significativa (Figura 13), las cuales están identificadas con burbujas de colores en escala rojiza. Estas rutas representan los procesos metabólicos con mayor evidencia de alteración funcional en el grupo con SD. Adicionalmente, a pesar de no considerarse estadísticamente significativas, las vías del metabolismo de amino azúcares, retinol y fosfatidilinositol fosfato presentaron razones de enriquecimiento mayores a 1.5, indicando una sobrerrepresentación de metabolitos asociados a estas rutas en el grupo SD.

Con el objetivo de explorar la conectividad funcional entre las vías metabólicas detectadas, se analizó la intersección de metabolitos empíricos (Figura 14) entre las vías consideradas significativas por el análisis funcional. Dado que el algoritmo *mummichog* utiliza su propia nomenclatura de identificación de compuestos, los metabolitos se describen con los identificadores del propio algoritmo; adicionalmente, en la Tabla 10 se pueden consultar los identificadores KEGG correspondientes a cada uno.

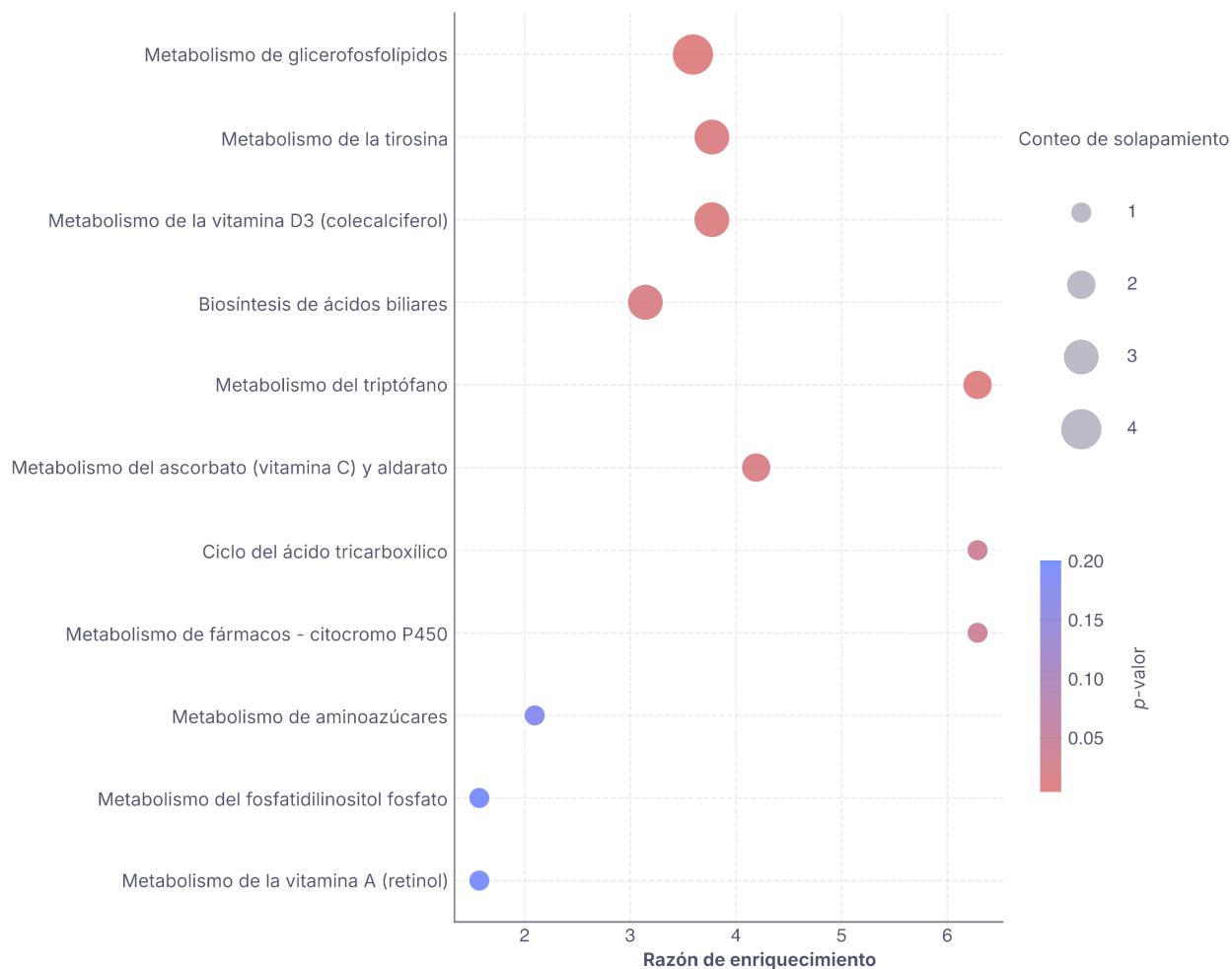


Figura 13 Gráfico de burbujas de las rutas metabólicas identificadas a partir de los compuestos empíricos detectados por *mummichog*

El tamaño de la burbuja denota el número de compuestos significativos con evidencia de participación en la ruta. Una razón de enriquecimiento > 1 simboliza rutas sobrerrepresentadas y < 1 a rutas subrepresentadas.

El compuesto con mayor número de interacciones entre vías metabólicas fue el `positive_E33`, el cual estuvo presente en el metabolismo de vitamina A, fosfatidilinositol fosfato y en el metabolismo de glicerofosfolípidos. Las rutas del

metabolismo de tirosina y triptófano obtuvieron 2 metabolitos compartidos (positive_E4, negative_E25); de manera similar, las rutas de biosíntesis de ácidos biliares y metabolismo de vitamina D3 compartieron 2 metabolitos (negative_E14, positive_E51). Por otra parte, las rutas del metabolismo de vitamina C y el ciclo del ácido tricarbóxico coincidieron en el compuesto negative_E3; mientras que el compuesto negative_E22 se encontró en el metabolismo de amino azúcares y glicerofosfolípidos.

Tabla 10 Correspondencia entre el identificador de compuestos del algoritmo *mummichog* y el identificador KEGG

ID Empírico	ID KEGG
positive_E4	C04148;C05642
positive_E33	C00416
positive_E51	C05457;C01673;CE2201;C17336;C17331;C17333;C17332
negative_E3	C00158;C04575;C00311
negative_E14	CE2202;C17335
negative_E22	C05673
negative_E25	C04148;C05642

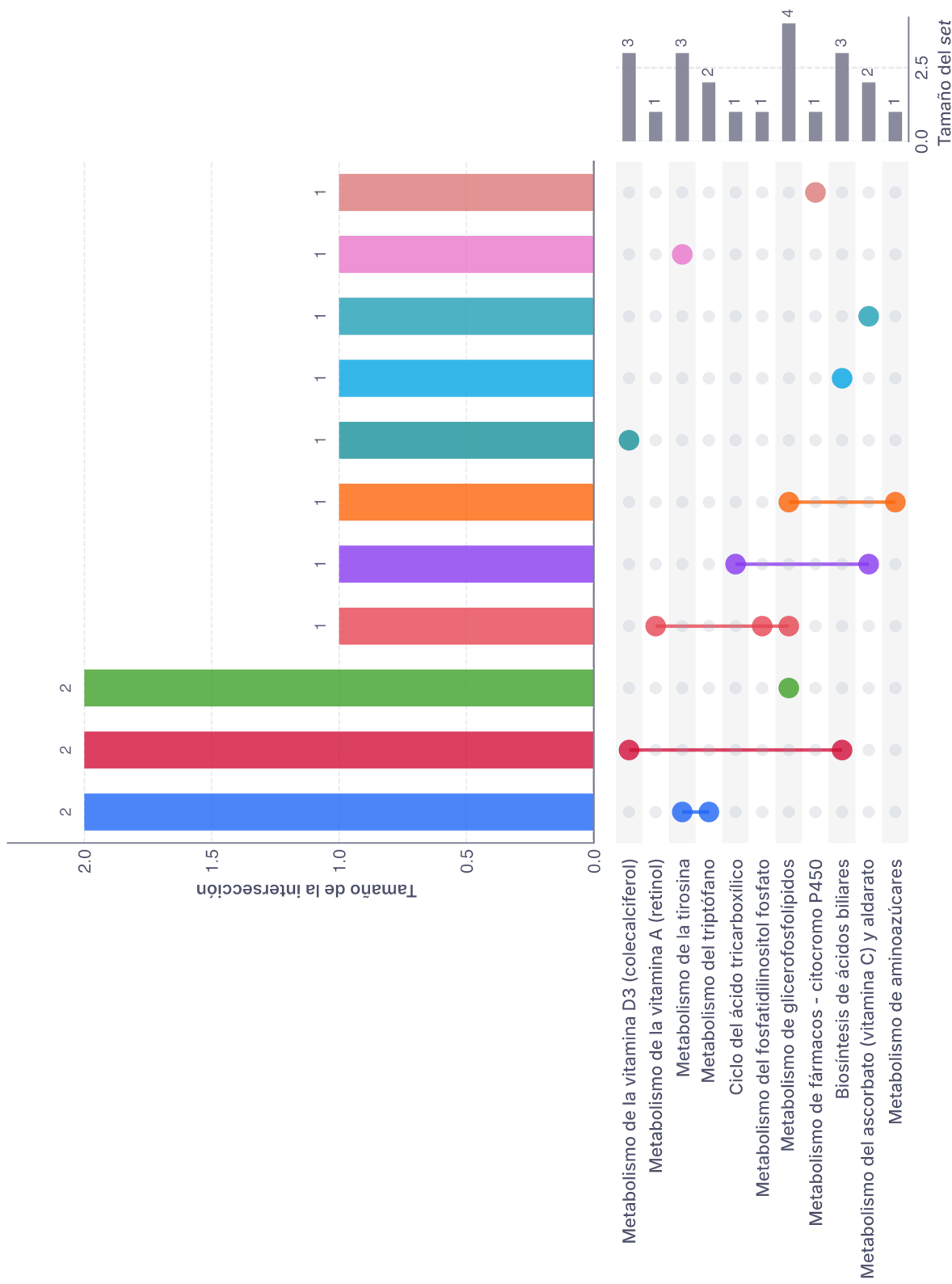


Figura 14 Gráfico UpSet de la interacción entre las vías metabólicas detectadas en el análisis funcional

El tamaño de la intersección hace referencia al número de compuestos que participan en la intersección. El tamaño del set hace referencia al número de compuestos empíricos identificados en cada vía provenientes del análisis funcional.

IX DISCUSIÓN

El presente estudio del perfil metabolómico de personas con SD reveló alteraciones significativas en el perfil metabolómico urinario, respecto al grupo control, evidenciando cambios tanto a nivel de metabolitos individuales como de procesos metabólicos globales. El análisis funcional sugirió la participación de estos mismos metabolitos en 11 rutas metabólicas, lo que apunta a una reorganización metabólica asociada a esta condición. En conjunto, estos hallazgos indican que las diferencias observadas reflejan modificaciones coordinadas en diversas vías bioquímicas.

Al analizar los perfiles metabolómicos del grupo SD y del grupo control, en el plano multivariado, se observó que, tanto en los resultados obtenidos del PCA como del PLS-DA, el agrupamiento de los individuos con SD presentó mayor dispersión en comparación con los individuos del grupo control. Este comportamiento podría ser un reflejo de la diversidad fenotípica característica del SD, atribuible a diferentes factores. Se sabe que la diversidad etaria, la presencia de distintas patologías (e.g. hipotiroidismo, enfermedades gastrointestinales), así como la variabilidad nucleotídica de HSA21, y factores epigenéticos afectan la expresión génica y repercuten directamente sobre el perfil metabolómico (59,80,129,130). Además, existe la posibilidad de que factores externos como el consumo de medicamentos, dieta, variables sociales, o exposiciones ambientales, también aumenten la heterogeneidad metabolómica en el grupo SD (131,132).

El análisis univariado reveló un total de 288 metabolitos con abundancias diferenciales, tanto altas como bajas; sin embargo, únicamente 46 contaban con una referencia externa para su identificación (anotación), es decir, 242 metabolitos no contaban con algún tipo de identificación. Lo anterior es un posible producto tanto del equipo usado (EM de ultra alta resolución), capaz de detectar miles y decenas de miles de compuestos, como de la falta de identificación de intermediarios del metaboloma humano, ocasionando que la mayoría del listado de elementos de m/z detectados por el equipo permanezcan sin una anotación directa (132). Adicionalmente, la técnica empleada (EM por infusión directa) presenta posibles limitaciones, donde, pese a la alta resolución del equipo y el estricto criterio de tolerancia utilizado para la anotación, no contar con los parámetros de tiempo de retención del metabolito complica la determinación certera de cada metabolito detectado, al no poder resolver con claridad los posibles compuestos isoméricos (o isobáricos muy cercanos) presentes en las muestras (133).

De los 46 metabolitos anotados según HMDB y con abundancia diferencial, 27 pertenecen a la superclase de lípidos y moléculas de tipo lipídico, siete a benzenoides, seis a ácidos orgánicos, y el resto se repartió en múltiples categorías (e.g. alcaloides, compuestos nitrogenados, heterocíclicos, organosulfurados) en grupos de uno a dos compuestos. Interesantemente, la proporción de moléculas lipídicas encontradas durante el análisis fue mucho mayor en comparación con cualquier otro tipo de compuestos. Dado que la diversidad de compuestos lipídicos es elevada, los compuestos incluidos e identificados dentro de esta categoría pueden

subdividirse en glicerofosfolípidos, acilos grasos (comprende a ácidos grasos y otros derivados), esteroides y derivados, isoprenoides, glicerolípidos y endocannabinoides. Estos resultados se relacionan directamente con lo reportado en el análisis funcional, donde se detectaron alrededor de cinco rutas metabólicas distintas sobrerrepresentadas donde están directamente involucrados estas clases de compuestos. Recientemente, se encontró que existen asociaciones entre el envejecimiento y el incremento de niveles de lípidos como esfingomielinas, ceramidas, ésteres de colesterol y ciertos tipos de ácidos grasos (134).

Entre la diversidad de lípidos identificados, se observó una cantidad predominante de fosfolípidos y derivados de ácidos grasos, generalmente identificados como componentes estructurales de las membranas celulares (135). La excreción urinaria de lípidos generalmente se da una vez que éstos han sido oxidados mediante reacciones enzimáticas mediadas por ciclooxigenasas, lipooxigenasas, o por el citocromo P450, donde los lípidos oxidados suelen presentarse de tanto de manera libre como conjugada (136,137). De esta manera, las abundancias predominantemente elevadas en el grupo SD podrían sugerir una mayor actividad de procesos de peroxidación, proceso que se utiliza para la evaluación de estados de estrés oxidativo dada su vinculación con la generación de especies reactivas de oxígeno y nitrógeno, y cuyos productos interfieren con la integridad de las membranas y organelos celulares (137–139). Particularmente, la peroxidación de lípidos se ha asociado con el desarrollo de diversas patologías del sistema nervioso

central, donde se ha descrito su rol en el desarrollo de la enfermedad de Alzheimer (140–142).

Los resultados también resaltan la sobrerrepresentación del ciclo del ácido tricarbóxico, parte primordial del metabolismo energético, y estrechamente relacionado con el funcionamiento mitocondrial. Las disfunciones mitocondriales preceden a un estado tentativo de estrés oxidativo, donde el bloqueo de aconitasa es uno de los mecanismos involucrados en este estado, el cual deriva en un incremento de citrato mitocondrial (143,144). Lo anterior podría explicar el origen del citrato/isocitrato durante el análisis funcional y la subsecuente sobrerrepresentación de la vía mediada por la abundancia de este compuesto. Al encontrarse el metabolito en orina, un fluido destinado a la excreción en abundancias elevadas, podríamos suponer que existe una disfunción mitocondrial importante que impide la correcta utilización de la molécula en los individuos con SD (145–147). De manera similar, las abundancias diferenciales provenientes de los ácidos grasos y sus derivados podrían estar relacionadas con un estado mitocondrial disfuncional, afectando también los procesos de β -oxidación (148).

Conjuntamente, las implicaciones de las posibles alteraciones mitocondriales podrían ser indicativas de un estado de estrés oxidativo presente en la población con SD, cuya presencia crónica se ha relacionado con procesos de envejecimiento y un riesgo incrementado de desarrollo prematuro de patologías como la enfermedad de Alzheimer (66,70,144).

Dos metabolitos interesantes en la perspectiva de los mecanismos moleculares del envejecimiento incluyen al N-óxido de trimetilamina (TMAO) y a la fenilacetilglutamina (PAGln), directamente relacionados con la microbiota intestinal, enfermedades asociadas a la edad y cardiovasculares (149–151). Pese a que los resultados de este trabajo no identificaron a TMAO como parte del perfil metabolómico del grupo SD, se ha encontrado previamente en orina de personas con la condición (54). En contraste, nuestra población presentó cambios hacia una mayor abundancia de PAGln, un conjugado de glutamina y ácido fenilacético, éste último resultante de la transformación de fenilalanina proveniente de la dieta por la microbiota intestinal (151). Recientemente, se encontró que niveles elevados de PAGln pueden contribuir a un declive funcional sistémico (característico del envejecimiento) a través de la sobreestimulación de la vía de señalización AMPK por receptores adrenérgicos, lo que termina por afectar el funcionamiento mitocondrial y puede conllevar a daños del DNA (152).

La participación de las rutas del metabolismo de la tirosina y, especialmente, de triptófano indican posibles afecciones a nivel de neurotransmisión, donde la síntesis de dopamina, adrenalina, noradrenalina y serotonina (5-HT) se realiza a través de dichas vías (153). Se ha observado que existen alteraciones en el sistema serotoninérgico relacionadas con el SD, afectando la neurogénesis y el desarrollo de células dendríticas, provocando una reducción del tamaño del hipocampo en individuos con SD y causando también modificaciones del comportamiento como

aumentos en la impulsividad y disminución de comportamientos evitativos (154,155). Los sistemas colinérgicos, adrenérgicos y GABAérgicos también se han visto afectados bajo el contexto del SD, por lo que se han evaluado los efectos de múltiples intervenciones a diferentes niveles en los sistemas de neurotransmisión tanto en modelos de ratón, como en individuos con SD, a partir de las cuales se han observado mejoras en el apetito, habilidades motrices, aprendizaje contextual, y atenuación de la pérdida de memoria (154–157).

Adicionalmente, el metabolito clorotirosina es considerado un posible biomarcador de reacciones que promueven el daño tisular, y cuyos niveles elevados se han reportado en casos de lesiones ateroscleróticas y en algunas patologías pulmonares (158).

De acuerdo con diversos reportes, se han identificado alteraciones del metabolismo en la población con SD, particularmente del metabolismo de un carbono, energético, de polioles, aminoácidos y lípidos (54,59–63,118,159–161). Dichas alteraciones se han relacionado con diferentes estados fisiopatológicos comúnmente asociados con el SD, como las afecciones neurocognitivas como el alzhéimer y la discapacidad intelectual (63,64,67,162). Aunque estas relaciones se han establecido a partir de análisis de plasma, suero y tejidos, es relevante corroborarlas en orina. Esto, porque sienta las bases para investigar posibles biomarcadores urinarios capaces de reflejar tanto la presencia de un estado patológico y monitorear su progresión.

Las personas con SD cursan con incidencias elevadas de múltiples comorbilidades que requieren constante monitoreo médico. Por ello, el desarrollo de nuevas estrategias que faciliten este procedimiento repercutirá positivamente sobre la calidad de vida tanto de la población con SD como de sus tutores y familiares cercanos. Esto se debe a que permitirá disponer de métodos menos invasivos para la obtención de muestras en la atención clínica. Finalmente, la integración de los conocimientos de los mecanismos moleculares implicados en el desarrollo de las comorbilidades asociadas con el SD facilitará el identificar los puntos de acción de mayor relevancia, permitiendo una atención oportuna de las patologías, así como el desarrollo de intervenciones con mayor eficacia.

X CONCLUSIONES

El análisis metabolómico no dirigido de muestras de orina de personas con SD permitió identificar alteraciones consistentes en su perfil metabólico, en comparación con el grupo control. En particular, se detectó un conjunto de metabolitos con abundancias diferenciales, de los cuales una proporción relevante correspondió a compuestos lipídicos, lo que se relaciona con la sobrerrepresentación de múltiples rutas metabólicas asociadas al metabolismo de lípidos.

El análisis funcional de los metabolitos diferenciales reveló procesos de alteraciones del metabolismo energético y funcionamiento mitocondrial, especialmente aquel relacionado con el estrés oxidativo, además del ciclo del ácido tricarboxílico y procesos vinculados a la β -oxidación de ácidos grasos. En conjunto, estos hallazgos sugieren la posible disfunción de los mecanismos de envejecimiento, relacionados con el desarrollo de comorbilidades características de esta población. Adicionalmente, se identificaron metabolitos asociados al metabolismo de aminoácidos aromáticos, lo que apunta a una interacción compleja entre metabolismo sistémico, función mitocondrial y procesos inflamatorios o neurodegenerativos. En conjunto, estos resultados apoyan la existencia de una reorganización metabólica coordinada en personas con SD.

Finalmente, este estudio demuestra el potencial de la metabolómica urinaria como una herramienta no invasiva para explorar alteraciones asociadas al SD, sentando las bases para futuras investigaciones orientadas a la identificación de

biomarcadores que permitan el monitoreo de procesos fisiopatológicos y la progresión de comorbilidades en esta población. Esto contribuirá al desarrollo de estrategias de seguimiento clínico, con impacto positivo en la calidad de vida de las personas con SD y sus familias.

XI BIBLIOGRAFÍA

1. Bull MJ. Down Syndrome. Ropper AH, editor. *N Engl J Med.* el 11 de junio de 2020;382(24):2344–52. doi:10.1056/NEJMra1706537
2. Van Robays J. John Langdon Down (1828 - 1896). *Facts Views Vis ObGyn.* el 27 de junio de 2016;8(2):131–6. PubMed PMID: 27909572; PubMed Central PMCID: PMC5130304.
3. Down JLH. Observations on an Ethnic Classification of Idiots. *Lond Hosp Rep.* 1866;3:259–62.
4. Haller JO. Mongolism and Down's syndrome. *Pediatr Radiol.* el 25 de mayo de 2000;30(6):424–5. doi:10.1007/s002470050777
5. Flemming W. Beitrage zur Kenntniss der Zelle und ihrer Lebenserscheinungen. *Arch Für Mikrosk Anat.* diciembre de 1879;16(1):302–436. doi:10.1007/BF02956386
6. Tjio JH, Levan A. The Chromosome Number of Man. *Hereditas.* el 1 de mayo de 1956;42(1–2):1–6. doi:10.1111/j.1601-5223.1956.tb03010.x
7. Patterson D, Costa ACS. Down syndrome and genetics — a case of linked histories. *Nat Rev Genet.* el 1 de febrero de 2005;6(2):137–47. doi:10.1038/nrg1525
8. Lejeune J, Gautier M, Turpin R. Les chromosomes humains en culture de tissus. *Comptes Rendus Hebd Séances Académie Sci.* el 26 de enero de 1959;248(4):602–3.
9. Lejeune J, Gautier M, Turpin R. Étude des chromosomes somatiques de neuf enfants mongoliens. *Comptes Rendus Hebd Séances Académie Sci.* el 16 de marzo de 1959;248(11):1721–2.
10. Lejeune J, Gautier M, Turpin R. Le mongolisme, maladie chromosomique. *Bull Académie Natl Médecine.* el 7 de abril de 1959;143(11–12):256–65.
11. Jacobs P. The somatic chromosomes in mongolism. *The Lancet.* abril de 1959;273(7075):710. doi:10.1016/S0140-6736(59)91892-6
12. Antonarakis SE, Skotko BG, Ruffolo MS, Strydom A, Pape SE, Bianchi DW, et al. Down syndrome. *Nat Rev Dis Primer.* enero de 2020;6(1):9. doi:10.1038/s41572-019-0143-7
13. NDSS. National Down Syndrome Society [Internet]. 2022 [citado el 7 de septiembre de 2022]. About Down Syndrome. Disponible en: <https://ndss.org/about>
14. Diamandopoulos K, Green J. Down syndrome: An integrative review. *J Neonatal Nurs.* octubre de 2018;24(5):235–41. doi:10.1016/j.jnn.2018.01.001

15. Global Burden of Disease Study 2023 (GBD 2023) Data Resources | GHDx [Internet]. [citado el 6 de febrero de 2026]. Disponible en: <https://ghdx.healthdata.org/gbd-2023>
16. Secretaría de Salud. gob.mx [Internet]. 2019 [citado el 7 de mayo de 2024]. Se crea plataforma para registro nacional de personas con síndrome de Down. Disponible en: <https://www.gob.mx/salud/prensa/095-se-crea-plataforma-para-registro-nacional-de-personas-con-sindrome-de-down>
17. Sierra Romero M del C, Navarrete Hernández E, Canún Serrano S, Reyes Pablo AE, Valdés Hernández J. Prevalencia del síndrome de Down en México utilizando los certificados de nacimiento vivo y de muerte fetal durante el periodo 2008-2011. *Bol Méd Hosp Infant México*. el 1 de septiembre de 2014;71(5):292–7. doi:10.1016/j.bmhmx.2014.09.002
18. Blanco-Montañón A, Ramos-Arenas M, Yerena-Echevarría BA, Miranda-Santizo LD, Ríos-Celis AL, Dorantes-Gómez AT, et al. Factores de riesgo en el origen del síndrome de Down. *Rev Médica Inst Mex Seguro Soc*. el 4 de septiembre de 2023;61(5):638–44. doi:10.5281/ZENODO.8316459
19. Orr B, Godek KM, Compton D. Aneuploidy. *Curr Biol*. junio de 2015;25(13):R538–42. doi:10.1016/j.cub.2015.05.010
20. Kojima S, Cimini D. Aneuploidy and Gene Expression: Is there Dosage Compensation? *Epigenomics*. diciembre de 2019;11(16):1827–37. doi:10.2217/epi-2019-0135
21. Krivega M, Stiefel CM, Storchova Z. Consequences of chromosome gain: A new view on trisomy syndromes. *Am J Hum Genet*. el 1 de diciembre de 2022;109(12):2126–40. doi:10.1016/j.ajhg.2022.10.014 PubMed PMID: 36459979.
22. Antonarakis SE, Lyle R, Dermitzakis ET, Raymond A, Deutsch S. Chromosome 21 and Down syndrome: from genomics to pathophysiology. *Nat Rev Genet*. 2004;5(10):725–38. doi:10.1038/nrg1448
23. Morris JK, Mutton DE, Alberman E. Recurrences of free trisomy 21: analysis of data from the National Down Syndrome Cytogenetic Register. *Prenat Diagn*. el 15 de diciembre de 2005;25(12):1120–8. doi:10.1002/pd.1292
24. Hassold T, Hunt P. To err (meiotically) is human: the genesis of human aneuploidy. *Nat Rev Genet*. abril de 2001;2(4):280–91. doi:10.1038/35066065
25. Nagaoka SI, Hassold TJ, Hunt PA. Human aneuploidy: mechanisms and new insights into an age-old problem. *Nat Rev Genet*. julio de 2012;13(7):493–504. doi:10.1038/nrg3245

26. Cimadomo D, Fabozzi G, Vaiarelli A, Ubaldi N, Ubaldi FM, Rienzi L. Impact of Maternal Age on Oocyte and Embryo Competence. *Front Endocrinol.* el 29 de junio de 2018;9:327. doi:10.3389/fendo.2018.00327
27. Wasielak-Politowska M, Kordowitzki P. Chromosome Segregation in the Oocyte: What Goes Wrong during Aging. *Int J Mol Sci.* el 7 de marzo de 2022;23(5):2880. doi:10.3390/ijms23052880
28. Halder P, Pal U, Ganguly A, Ghosh P, Ray A, Sarkar S, et al. Understanding etiology of chromosome 21 nondisjunction from gene × environment models. *Sci Rep.* el 17 de noviembre de 2021;11(1):22390. doi:10.1038/s41598-021-01672-x
29. Letourneau A, Antonarakis SE. Genomic determinants in the phenotypic variability of Down syndrome. En: *Progress in Brain Research* [Internet]. Elsevier; 2012 [citado el 27 de octubre de 2025]. p. 15–28. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780444542991000029> doi:10.1016/B978-0-444-54299-1.00002-9
30. Antonaros F, Pitocco M, Abete D, Vione B, Piovesan A, Vitale L, et al. Structural Characterization of the Highly Restricted Down Syndrome Critical Region on 21q22.13: New KCNJ6 and DSCR4 Transcript Isoforms. *Front Genet.* el 8 de diciembre de 2021;12. doi:10.3389/fgene.2021.770359
31. Dunham I, Hunt AR, Collins JE, Bruskiewich R, Beare DM, Clamp M, et al. The DNA sequence of human chromosome 22. *Nature.* diciembre de 1999;402(6761):489–95. doi:10.1038/990031
32. Hattori M, Fujiyama A, Taylor TD, Watanabe H, Yada T, Park HS, et al. The DNA sequence of human chromosome 21. *Nature.* el 18 de mayo de 2000;405(6784):311–9. doi:10.1038/35012518
33. NCBI. NCBI [Internet]. [citado el 29 de octubre de 2025]. Homo sapiens genome assembly GRCh38.p14. Disponible en: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/datasets/genome/GCF_000001405.40/
34. Ensembl. Chromosome 21: 1-46,709,983 - Chromosome summary - Homo_sapiens - Ensembl genome browser 115 [Internet]. [citado el 27 de octubre de 2025]. Disponible en: https://www.ensembl.org/Homo_sapiens/Location/Chromosome?chr=21;r=21:1-46709983
35. UniProt [Internet]. [citado el 27 de octubre de 2025]. UniProt. Disponible en: <https://www.uniprot.org/uniprotkb?query=%28proteome%3AUP000005640%29+A+ND+%28proteomecomponent%3A%22Chromosome+21%22%29>
36. Caspersson T, Hultén M, Lindsten J, Zech L. Distinction between extra G-like chromosomes by quinacrine mustard fluorescence analysis. *Exp Cell Res.* noviembre de 1970;63(1):240–3. doi:10.1016/0014-4827(70)90363-0

37. McCormick MK, Schinzel A, Petersen MB, Stetten G, Driscoll DJ, Cantu ES, et al. Molecular genetic approach to the characterization of the “Down syndrome region” of chromosome 21. *Genomics*. agosto de 1989;5(2):325–31. doi:10.1016/0888-7543(89)90065-7
38. Rahmani Z, Blouin JL, Creau-Goldberg N, Watkins PC, Mattei JF, Poissonnier M, et al. Critical role of the D21S55 region on chromosome 21 in the pathogenesis of Down syndrome. *Proc Natl Acad Sci*. agosto de 1989;86(15):5958–62. doi:10.1073/pnas.86.15.5958
39. Pelleri MC, Cicchini E, Locatelli C, Vitale L, Caracausi M, Piovesan A, et al. Systematic reanalysis of partial trisomy 21 cases with or without Down syndrome suggests a small region on 21q22.13 as critical to the phenotype. *Hum Mol Genet*. el 22 de abril de 2016;ddw116. doi:10.1093/hmg/ddw116
40. Pelleri MC, Cicchini E, Petersen MB, Tranebjærg L, Mattina T, Magini P, et al. Partial trisomy 21 map: Ten cases further supporting the highly restricted Down syndrome critical region (HR-DSCR) on human chromosome 21. *Mol Genet Genomic Med*. agosto de 2019;7(8):e797. doi:10.1002/mgg3.797
41. Roizen NJ, Patterson D. Down’s syndrome. *The Lancet*. abril de 2003;361(9365):1281–9. doi:10.1016/S0140-6736(03)12987-X
42. Karmiloff-Smith A, Al-Janabi T, D’Souza H, Groet J, Massand E, Mok K, et al. The importance of understanding individual differences in Down syndrome. *F1000Research*. el 23 de marzo de 2016;5:389. doi:10.12688/f1000research.7506.1
43. Antonarakis SE, Lyle R, Deutsch S, Raymond A. Chromosome 21: a small land of fascinating disorders with unknown pathophysiology. *Int J Dev Biol*. enero de 2002;46(1):89–96. PubMed PMID: 11902692.
44. Antonarakis SE. Down syndrome and the complexity of genome dosage imbalance. *Nat Rev Genet*. marzo de 2017;18(3):147–63. doi:10.1038/nrg.2016.154
45. Bittles AH, Glasson EJ. Clinical, social, and ethical implications of changing life expectancy in Down syndrome. *Dev Med Child Neurol*. abril de 2004;46(4):282–6. doi:10.1017/S0012162204000441
46. Bittles AH, Bower C, Hussain R, Glasson EJ. The four ages of Down syndrome. *Eur J Public Health*. el 1 de abril de 2007;17(2):221–5. doi:10.1093/eurpub/ckl103
47. Tsou AY, Bulova P, Capone G, Chicoine B, Gelaro B, Harville TO, et al. Medical Care of Adults With Down Syndrome: A Clinical Guideline. *JAMA*. el 20 de octubre de 2020;324(15):1543. doi:10.1001/jama.2020.17024
48. Torr J, Strydom A, Patti P, Jokinen N. Aging in Down Syndrome: Morbidity and Mortality. *J Policy Pract Intellect Disabil*. 2010;7(1):70–81. doi:10.1111/j.1741-1130.2010.00249.x

49. Capone GT, Chicoine B, Bulova P, Stephens M, Hart S, Crissman B, et al. Co-occurring medical conditions in adults with Down syndrome: A systematic review toward the development of health care guidelines. *Am J Med Genet A*. enero de 2018;176(1):116–33. doi:10.1002/ajmg.a.38512
50. Baksh RA, Pape SE, Chan LF, Aslam AA, Gulliford MC, Strydom A. Multiple morbidity across the lifespan in people with Down syndrome or intellectual disabilities: a population-based cohort study using electronic health records. *Lancet Public Health*. el 1 de junio de 2023;8(6):e453–62. doi:10.1016/S2468-2667(23)00057-9 PubMed PMID: 37119823.
51. GBD. Down syndrome - Level 4 cause [Internet]. Institute for Health Metrics and Evaluation; 2021 [citado el 17 de mayo de 2024]. (Global Health Metrics). Report No. Disponible en: <https://www.healthdata.org/research-analysis/diseases-injuries-risks/factsheets/2021-down-syndrome-level-4-disease>
52. Chen L, Wang L, Wang Y, Hu H, Zhan Y, Zeng Z, et al. Global, Regional, and National Burden and Trends of Down Syndrome From 1990 to 2019. *Front Genet*. el 15 de julio de 2022;13. doi:10.3389/fgene.2022.908482
53. Dierssen M, Fructuoso M, Martínez De Lagrán M, Perluigi M, Barone E. Down Syndrome Is a Metabolic Disease: Altered Insulin Signaling Mediates Peripheral and Brain Dysfunctions. *Front Neurosci*. el 8 de julio de 2020;14:670. doi:10.3389/fnins.2020.00670
54. Caracausi M, Ghini V, Locatelli C, Mericio M, Piovesan A, Antonaros F, et al. Plasma and urinary metabolomic profiles of Down syndrome correlate with alteration of mitochondrial metabolism. *Sci Rep*. el 14 de febrero de 2018;8(1):2977. doi:10.1038/s41598-018-20834-y
55. Lejeune J. On the mechanism of mental deficiency in chromosomal diseases. *Hereditas*. el 12 de febrero de 1977;86(1):9–14. doi:10.1111/j.1601-5223.1977.tb01207.x
56. Lejeune J. Vingt Ans Après. En: Burgio GR, Fraccaro M, Tiepolo L, Wolf U, editores. *Trisomy 21*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; 1981. p. 91–101.
57. Jérôme H, Lejeune J, Turpin R. Étude de l'excrétion urinaire de certains métabolites du tryptophane chez les enfants mongoliens. *Comptes Rendus Hebd Séances Académie Sci*. el 18 de junio de 1960;251:474–6.
58. Lejeune J. Pathogenesis of mental deficiency in trisomy 21. *Am J Med Genet*. el 6 de junio de 1990;37(S7):20–30. doi:10.1002/ajmg.1320370705
59. Biselli JM, Zampieri BL, Goloni-Bertollo EM, Haddad R, Fonseca MFR, Eberlin MN, et al. Genetic polymorphisms modulate the folate metabolism of Brazilian individuals with Down syndrome. *Mol Biol Rep*. octubre de 2012;39(10):9277–84. doi:10.1007/s11033-012-1629-5

60. Gross TJ, Doran E, Cheema AK, Head E, Lott IT, Mapstone M. Plasma metabolites related to cellular energy metabolism are altered in adults with Down syndrome and Alzheimer's disease. *Dev Neurobiol.* julio de 2019;79(7):622–38. doi:10.1002/dneu.22716
61. Galbraith MD, Rachubinski AL, Smith KP, Araya P, Waugh KA, Enriquez-Estrada B, et al. Multidimensional definition of the interferonopathy of Down syndrome and its response to JAK inhibition. *Sci Adv.* el 30 de junio de 2023;9(26):eadg6218. doi:10.1126/sciadv.adg6218
62. Cai S, Lin J, Li Z, Liu S, Feng Z, Zhang Y, et al. Alterations in intestinal microbiota and metabolites in individuals with Down syndrome and their correlation with inflammation and behavior disorders in mice. *Front Microbiol.* el 23 de febrero de 2023;14:1016872. doi:10.3389/fmicb.2023.1016872
63. Shetty HU, Schapiro MB, Holloway HW, Rapoport SI. Polyol profiles in Down syndrome. myo-Inositol, specifically, is elevated in the cerebrospinal fluid. *J Clin Invest.* el 1 de febrero de 1995;95(2):542–6. doi:10.1172/JCI117696
64. Ali F, Manzoor U, Bhattacharya R, Bansal AK, Chandrashekharaiah KS, Singh LR, et al. Brain Metabolite, Myo-inositol, Inhibits Catalase Activity: A Mechanism of the Distortion of the Antioxidant Defense System in Alzheimer's disease. *ACS Omega.* el 19 de abril de 2022;7(15):12690–700. doi:10.1021/acsomega.1c06990
65. Lott IT. Down's Syndrome, Aging, and Alzheimer's Disease: A Clinical Review*. *Ann N Y Acad Sci.* octubre de 1982;396(1):15–27. doi:10.1111/j.1749-6632.1982.tb26840.x
66. Zigman WB. Atypical aging in down syndrome. *Dev Disabil Res Rev.* agosto de 2013;18(1):51–67. doi:10.1002/ddrr.1128
67. Gensous N, Franceschi C, Salvioli S, Garagnani P, Bacalini MG. Down Syndrome, Ageing and Epigenetics. En: Harris JR, Korolchuk VI, editores. *Biochemistry and Cell Biology of Ageing: Part II Clinical Science [Internet]*. Singapore: Springer Singapore; 2019 [citado el 11 de septiembre de 2025]. p. 161–93. (Subcellular Biochemistry). Disponible en: http://link.springer.com/10.1007/978-981-13-3681-2_7 doi:10.1007/978-981-13-3681-2_7
68. Pellegrini FP, Marinoni M, Frangione V, Tedeschi A, Gandini V, Ciglia F, et al. Down syndrome, autoimmunity and T regulatory cells. *Clin Exp Immunol.* el 2 de agosto de 2012;169(3):238–43. doi:10.1111/j.1365-2249.2012.04610.x
69. Ferrari M, Stagi S. Autoimmunity and Genetic Syndromes: A Focus on Down Syndrome. *Genes.* el 13 de febrero de 2021;12(2):268. doi:10.3390/genes12020268
70. Slivšek G, Mijač S, Dolanc I, Fabijanec M, Petković S, Mautner R, et al. Oxidative Stress and Down Syndrome: A Systematic Review. *Antioxidants.* el 2 de julio de 2025;14(7):816. doi:10.3390/antiox14070816

71. Udenfriend S, Titus E, Weissbach H. The Identification of 5-hydroxy-3-indoleacetic Acid in Normal Urine and a Method for its Assay. *J Biol Chem.* octubre de 1955;216(2):499–505. doi:10.1016/S0021-9258(19)81408-4
72. Weissbach H, King W, Sjoerdsma A, Udenfriend S. Formation of Indole-3-acetic Acid and Tryptamine in Animals. *J Biol Chem.* enero de 1959;234(1):81–6. doi:10.1016/S0021-9258(18)70339-6
73. Hippocrates. Hippocrates, volume II: Prognostic. Regimen in acute diseases. The sacred disease. The art. Breaths. Law. Decorum. Dentition. Paul Potter. Cambridge, Mass. London: Harvard University Press; 2023. 336 p. (Hippocrates; vol. II).
74. Nicholson JK, Lindon JC. Metabonomics. *Nature.* octubre de 2008;455(7216):1054–6. doi:10.1038/4551054a
75. Giera M, Ivanisevic J. Introduction. En: Ivanisevic J, Giera M, editores. *A Practical Guide to Metabolomics Applications in Health and Disease* [Internet]. Cham: Springer International Publishing; 2023 [citado el 3 de noviembre de 2025]. p. 3–30. (Learning Materials in Biosciences). Disponible en: https://link.springer.com/10.1007/978-3-031-44256-8_1 doi:10.1007/978-3-031-44256-8_1
76. Vailati-Riboni M, Palombo V, Loor JJ. What Are Omics Sciences? En: Ametaj BN, editor. *Periparturient Diseases of Dairy Cows* [Internet]. Cham: Springer International Publishing; 2017 [citado el 4 de noviembre de 2025]. p. 1–7. Disponible en: http://link.springer.com/10.1007/978-3-319-43033-1_1 doi:10.1007/978-3-319-43033-1_1
77. Schmidt CW. Metabolomics: what’s happening downstream of DNA. *Environ Health Perspect.* mayo de 2004;112(7). doi:10.1289/ehp.112-a410
78. Hartman TE, Lees HJ. Introduction of Metabolomics: An Overview. En: Soni V, Hartman TE, editores. *Metabolomics: Recent Advances and Future Applications* [Internet]. Cham: Springer International Publishing; 2023 [citado el 3 de noviembre de 2025]. p. 1–37. Disponible en: https://doi.org/10.1007/978-3-031-39094-4_1 doi:10.1007/978-3-031-39094-4_1
79. Nicholson JK, Wilson ID. Understanding “Global” Systems Biology: Metabonomics and the Continuum of Metabolism. *Nat Rev Drug Discov.* agosto de 2003;2(8):668–76. doi:10.1038/nrd1157
80. Clish CB. Metabolomics: an emerging but powerful tool for precision medicine. *Mol Case Stud.* octubre de 2015;1(1):a000588. doi:10.1101/mcs.a000588
81. Johnson CH, Ivanisevic J, Siuzdak G. Metabolomics: beyond biomarkers and towards mechanisms. *Nat Rev Mol Cell Biol.* julio de 2016;17(7):451–9. doi:10.1038/nrm.2016.25

82. Peng B, Li H, Peng XX. Functional metabolomics: from biomarker discovery to metabolome reprogramming. *Protein Cell*. septiembre de 2015;6(9):628–37. doi:10.1007/s13238-015-0185-x
83. Fuller H, Zhu Y, Nicholas J, Chatelaine HA, Drzymalla EM, Sarvestani AK, et al. Metabolomic epidemiology offers insights into disease aetiology. *Nat Metab*. octubre de 2023;5(10):1656–72. doi:10.1038/s42255-023-00903-x
84. Patti GJ, Yanes O, Siuzdak G. Metabolomics: the apogee of the omics trilogy. *Nat Rev Mol Cell Biol*. abril de 2012;13(4):263–9. doi:10.1038/nrm3314
85. Bingol K. Recent Advances in Targeted and Untargeted Metabolomics by NMR and MS/NMR Methods. *High-Throughput*. el 18 de abril de 2018;7(2):9. doi:10.3390/ht7020009
86. Ghafari N, Sleno L. Challenges and recent advances in quantitative mass spectrometry-based metabolomics. *Anal Sci Adv*. 2024;5(5–6):e2400007. doi:10.1002/ansa.202400007
87. Muthubharathi BC, Gowripriya T, Balamurugan K. Metabolomics: small molecules that matter more. *Mol Omics*. 2021;17(2):210–29. doi:10.1039/D0MO00176G
88. Vijaya Lakshmi K. Spatial Metabolomics Using Imaging Mass Spectrometry. En: Soni V, Hartman TE, editores. *Metabolomics: Recent Advances and Future Applications* [Internet]. Cham: Springer International Publishing; 2023 [citado el 10 de noviembre de 2025]. p. 423–77. Disponible en: https://doi.org/10.1007/978-3-031-39094-4_13 doi:10.1007/978-3-031-39094-4_13
89. Wishart DS, Godzien J, Gil-de-la-Fuente A, Mandal R, Rajabzadeh R, Pirimoghadam H, et al. CHAPTER 3. Metabolomics. En: Winkler R, editor. *New Developments in Mass Spectrometry* [Internet]. Cambridge: Royal Society of Chemistry; 2020 [citado el 14 de noviembre de 2024]. p. 41–95. Disponible en: <https://books.rsc.org/books/monograph/862/chapter-abstract/625427/> doi:10.1039/9781788019880-00041
90. Harrieder EM, Kretschmer F, Böcker S, Witting M. Current state-of-the-art of separation methods used in LC-MS based metabolomics and lipidomics. *J Chromatogr B*. enero de 2022;1188:123069. doi:10.1016/j.jchromb.2021.123069
91. James KD. Animal Metabolites. En: *Pharmacognosy* [Internet]. Elsevier; 2017 [citado el 5 de noviembre de 2025]. p. 401–11. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780128021040000196> doi:10.1016/B978-0-12-802104-0.00019-6
92. Torres JP, Schmidt EW. The biosynthetic diversity of the animal world. *J Biol Chem*. el 15 de noviembre de 2019;294(46):17684–92. doi:10.1074/jbc.REV119.006130 PubMed PMID: 31604818.

93. Want E. How to Prepare Your Samples for Polar Metabolite Analysis? En: Ivanisevic J, Giera M, editores. *A Practical Guide to Metabolomics Applications in Health and Disease: From Samples to Insights into Metabolism* [Internet]. Cham: Springer International Publishing; 2023 [citado el 5 de noviembre de 2025]. p. 51–79. Disponible en: https://doi.org/10.1007/978-3-031-44256-8_3 doi:10.1007/978-3-031-44256-8_3
94. Wishart DS, Tzur D, Knox C, Eisner R, Guo AC, Young N, et al. HMDB: the Human Metabolome Database. *Nucleic Acids Res.* el 3 de enero de 2007;35(Database):D521–6. doi:10.1093/nar/gkl923
95. Sugimoto M, Ikeda S, Niigata K, Tomita M, Sato H, Soga T. MMMDB: Mouse Multiple Tissue Metabolome Database. *Nucleic Acids Res.* el 1 de enero de 2012;40(D1):D809–14. doi:10.1093/nar/gkr1170
96. Jewison T, Knox C, Neveu V, Djoumbou Y, Guo AC, Lee J, et al. YMDB: the Yeast Metabolome Database. *Nucleic Acids Res.* el 1 de enero de 2012;40(D1):D815–20. doi:10.1093/nar/gkr916
97. Guo AC, Jewison T, Wilson M, Liu Y, Knox C, Djoumbou Y, et al. ECMDB: The E. coli Metabolome Database. *Nucleic Acids Res.* el 1 de enero de 2013;41(D1):D625–30. doi:10.1093/nar/gks992
98. Huang W, Brewer LK, Jones JW, Nguyen AT, Marcu A, Wishart DS, et al. PAMDB: a comprehensive *Pseudomonas aeruginosa* metabolome database. *Nucleic Acids Res.* el 4 de enero de 2018;46(D1):D575–80. doi:10.1093/nar/gkx1061
99. Tian Z, Hu X, Xu Y, Liu M, Liu H, Li D, et al. PMhub 1.0: a comprehensive plant metabolome database. *Nucleic Acids Res.* el 5 de enero de 2024;52(D1):D1579–87. doi:10.1093/nar/gkad811
100. Wishart DS, Guo A, Oler E, Wang F, Anjum A, Peters H, et al. HMDB 5.0: the Human Metabolome Database for 2022. *Nucleic Acids Res.* el 7 de enero de 2022;50(D1):D622–31. doi:10.1093/nar/gkab1062
101. Djoumbou Feunang Y, Eisner R, Knox C, Chepelev L, Hastings J, Owen G, et al. ClassyFire: automated chemical classification with a comprehensive, computable taxonomy. *J Cheminformatics.* el 4 de noviembre de 2016;8(1):61. doi:10.1186/s13321-016-0174-y
102. Wishart DS. Emerging applications of metabolomics in drug discovery and precision medicine. *Nat Rev Drug Discov.* julio de 2016;15(7):473–84. doi:10.1038/nrd.2016.32
103. Mlynárik V. Introduction to nuclear magnetic resonance. *Anal Biochem.* julio de 2017;529:4–9. doi:10.1016/j.ab.2016.05.006

104. Rhodes CJ. Magnetic Resonance Spectroscopy. *Sci Prog.* septiembre de 2017;100(3):241–92. doi:10.3184/003685017X14993478654307
105. Lenz EM, Wilson ID. Analytical Strategies in Metabonomics. *J Proteome Res.* el 1 de febrero de 2007;6(2):443–58. doi:10.1021/pr0605217
106. Zhang A, Sun H, Wang P, Han Y, Wang X. Modern analytical techniques in metabolomics analysis. *The Analyst.* 2012;137(2):293–300. doi:10.1039/C1AN15605E
107. Bjerrum JT. Metabonomics: Analytical Techniques and Associated Chemometrics at a Glance. En: Bjerrum JT, editor. *Metabonomics: Methods and Protocols* [Internet]. New York, NY: Springer; 2015 [citado el 10 de noviembre de 2025]. p. 1–14. Disponible en: https://doi.org/10.1007/978-1-4939-2377-9_1 doi:10.1007/978-1-4939-2377-9_1
108. Gross JH. *Mass Spectrometry* [Internet]. Cham: Springer International Publishing; 2017 [citado el 7 de noviembre de 2025]. Disponible en: <http://link.springer.com/10.1007/978-3-319-54398-7> doi:10.1007/978-3-319-54398-7
109. Habler K, Rexhaj A, Adling-Ehrhardt M, Vogeser M. Understanding isotopes, isomers, and isobars in mass spectrometry. *J Mass Spectrom Adv Clin Lab.* agosto de 2024;33:49–54. doi:10.1016/j.jmsacl.2024.08.002
110. Emwas AHM. The Strengths and Weaknesses of NMR Spectroscopy and Mass Spectrometry with Particular Focus on Metabolomics Research. En: Bjerrum JT, editor. *Metabonomics* [Internet]. New York, NY: Springer New York; 2015 [citado el 7 de noviembre de 2025]. p. 161–93. (Methods in Molecular Biology). Disponible en: https://link.springer.com/10.1007/978-1-4939-2377-9_13 doi:10.1007/978-1-4939-2377-9_13
111. Ewald JD, Zhou G, Lu Y, Kolic J, Ellis C, Johnson JD, et al. Web-based multi-omics integration using the Analyst software suite. *Nat Protoc.* mayo de 2024;19(5):1467–97. doi:10.1038/s41596-023-00950-4
112. Gonzalez-Covarrubias V, Vanessa González-Covarrubias, Martínez-Martínez E, Eduardo Martínez-Martínez, del Bosque-Plata L, Laura del Bosque-Plata. The Potential of Metabolomics in Biomedical Applications. *Metabolites.* el 19 de febrero de 2022;12(2). doi:10.3390/metabo12020194 PubMed PMID: 35208267; PubMed Central PMCID: 8880031.
113. Sin Man Lam, Lam SM, Yuan Wang, Wang Y, Bowen Li, Li B, et al. Metabolomics through the lens of precision cardiovascular medicine. *J Genet Genomics.* el 20 de marzo de 2017;44(3):127–38. doi:10.1016/j.jgg.2017.02.004 PubMed PMID: 28325553.

114. Laura K. M. Steinbusch, Steinbusch LKM, Ping Wang, Wang P, Huub W. A. H. Waterval, Waterval HWAH, et al. Targeted urine metabolomics with a graphical reporting tool for rapid diagnosis of inborn errors of metabolism. *J Inher Metab Dis.* el 11 de abril de 2021;44(5):1113–23. doi:10.1002/jimd.12385 PubMed PMID: 33843072.
115. Mussap M, Zaffanello M, Fanos V. Metabolomics: a challenge for detecting and monitoring inborn errors of metabolism. *Ann Transl Med.* septiembre de 2018;6(17):17. doi:10.21037/atm.2018.09.18
116. Miller IJ, Peters SR, Overmyer KA, Paulson BR, Westphall MS, Coon JJ. Real-time health monitoring through urine metabolomics. *Npj Digit Med.* el 11 de noviembre de 2019;2(1):109. doi:10.1038/s41746-019-0185-y
117. Souhaila Bouatra, Bouatra S, Farid Aziat, Aziat F, Rupasri Mandal, Mandal R, et al. The Human Urine Metabolome. *PLOS ONE.* el 4 de septiembre de 2013;8(9):0–0. doi:10.1371/journal.pone.0073076 PubMed PMID: 24023812; PubMed Central PMCID: 3762851.
118. Orozco JS, Hertz-Picciotto I, Abbeduto L, Slupsky CM. Metabolomics analysis of children with autism, idiopathic-developmental delays, and Down syndrome. *Transl Psychiatry.* el 3 de octubre de 2019;9(1):243. doi:10.1038/s41398-019-0578-3 PubMed PMID: 31582732; PubMed Central PMCID: PMC6776514.
119. Antonaros F, Ghini V, Pulina F, Ramacieri G, Cicchini E, Mannini E, et al. Plasma metabolome and cognitive skills in Down syndrome. *Sci Rep.* el 26 de junio de 2020;10(1):10491. doi:10.1038/s41598-020-67195-z
120. Hetman M, Mielko K, Placzkowska S, Bodetko A, Młynarz P, Barg E. Predisposition to atherosclerosis in children and adults with trisomy 21: biochemical and metabolomic studies. *Pediatr Endocrinol Diabetes Metab.* 2023;29(3):143–55. doi:10.5114/pedm.2023.131162
121. Pecze L, Randi EB, Szabo C. Meta-analysis of metabolites involved in bioenergetic pathways reveals a pseudohypoxic state in Down syndrome. *Mol Med.* diciembre de 2020;26(1):102. doi:10.1186/s10020-020-00225-8
122. McCabe LL, McCabe ERB. Personalized medicine for individuals with Down syndrome. *Mol Genet Metab.* septiembre de 2011;104(1–2):7–9. doi:10.1016/j.ymgme.2011.07.008
123. McCabe LL, McCabe ERB. Down syndrome and personalized medicine: Changing paradigms from genotype to phenotype to treatment. *Congenit Anom.* marzo de 2013;53(1):1–2. doi:10.1111/cga.12000
124. Dieterle F, Ross A, Schlotterbeck G, Senn H. Probabilistic Quotient Normalization as Robust Method to Account for Dilution of Complex Biological Mixtures. Application

- in ^1H NMR Metabonomics. *Anal Chem.* el 1 de julio de 2006;78(13):4281–90. doi:10.1021/ac051632c
125. Brix F, Demetrowitsch T, Jensen-Kroll J, Zacharias HU, Szymczak S, Laudes M, et al. Evaluating the Effect of Data Merging and Postacquisition Normalization on Statistical Analysis of Untargeted High-Resolution Mass Spectrometry Based Urinary Metabolomics Data. *Anal Chem.* el 9 de enero de 2024;96(1):33–40. doi:10.1021/acs.analchem.3c01380
126. Tseng CY, Salguero JA, Breidenbach JD, Solomon E, Sanders CK, Harvey T, et al. Evaluation of normalization strategies for mass spectrometry-based multi-omics datasets. *Metabolomics.* el 1 de julio de 2025;21(4):98. doi:10.1007/s11306-025-02297-1
127. Li S, Park Y, Duraisingham S, Strobel FH, Khan N, Soltow QA, et al. Predicting Network Activity from High Throughput Metabolomics. Ouzounis CA, editor. *PLoS Comput Biol.* el 4 de julio de 2013;9(7):e1003123. doi:10.1371/journal.pcbi.1003123
128. World Health Organization. Body Mass Index (BMI) [Internet]. [citado el 6 de febrero de 2026]. Body mass index (BMI). Disponible en: <https://www.who.int/data/gho/data/themes/topics/topic-details/GHO/body-mass-index>
129. Obeid R, Hartmuth K, Herrmann W, Gortner L, Rohrer TR, Geisel J, et al. Blood biomarkers of methylation in Down syndrome and metabolic simulations using a mathematical model. *Mol Nutr Food Res.* octubre de 2012;56(10):1582–9. doi:10.1002/mnfr.201200162
130. Lee IH, Smith MR, Yazdani A, Sandhu S, Walker DI, Mandl KD, et al. Comprehensive characterization of putative genetic influences on plasma metabolome in a pediatric cohort. *Hum Genomics.* el 8 de diciembre de 2022;16(1):67. doi:10.1186/s40246-022-00440-w
131. Nicholson JK, Lindon JC, Holmes E. “Metabonomics”: understanding the metabolic responses of living systems to pathophysiological stimuli via multivariate statistical analysis of biological NMR spectroscopic data. *Xenobiotica.* enero de 1999;29(11):1181–9. doi:10.1080/004982599238047
132. Vermeulen R, Schymanski EL, Barabási AL, Miller GW. The exposome and health: Where chemistry meets biology. *Science.* el 24 de enero de 2020;367(6476):392–6. doi:10.1126/science.aay3164
133. Habchi B, Alves S, Paris A, Rutledge DN, Rathahao-Paris E. How to really perform high throughput metabolomic analyses efficiently? *TrAC Trends Anal Chem.* diciembre de 2016;85:128–39. doi:10.1016/j.trac.2016.09.005

134. Hornburg D, Wu S, Moqri M, Zhou X, Contrepois K, Bararpour N, et al. Dynamic lipidome alterations associated with human health, disease and ageing. *Nat Metab.* septiembre de 2023;5(9):1578–94. doi:10.1038/s42255-023-00880-1
135. Li X, Nakayama K, Goto T, Akamatsu S, Kobayashi T, Shimizu K, et al. A narrative review of urinary phospholipids: from biochemical aspect towards clinical application. *Transl Androl Urol.* abril de 2021;10(4):1829–49. doi:10.21037/tau-20-1263
136. Buczynski MW, Dumlao DS, Dennis EA. Thematic Review Series: Proteomics. An integrated omics analysis of eicosanoid biology1[S]. *J Lipid Res.* el 1 de junio de 2009;50(6):1015–38. doi:10.1194/jlr.R900004-JLR200
137. Fu J, Schoeman JC, Harms AC, van Wietmarschen HA, Vreeken RJ, Berger R, et al. Metabolomics profiling of the free and total oxidised lipids in urine by LC-MS/MS: application in patients with rheumatoid arthritis. *Anal Bioanal Chem.* el 1 de septiembre de 2016;408(23):6307–19. doi:10.1007/s00216-016-9742-2
138. Montuschi P, Barnes PJ, Roberts LJ. Isoprostanes: markers and mediators of oxidative stress. *FASEB J.* 2004;18(15):1791–800. doi:10.1096/fj.04-2330rev
139. Galano JM, Lee YY, Durand T, Lee JCY. Special Issue on “Analytical Methods for Oxidized Biomolecules and Antioxidants” The use of isoprostanooids as biomarkers of oxidative damage, and their role in human dietary intervention studies. *Free Radic Res.* el 4 de mayo de 2015;49(5):583–98. doi:10.3109/10715762.2015.1007969 PubMed PMID: 25734631.
140. Koppaka V, Paul C, Murray IVJ, Axelsen PH. Early Synergy between A β 42 and Oxidatively Damaged Membranes in Promoting Amyloid Fibril Formation by A β 40. *J Biol Chem.* septiembre de 2003;278(38):36277–84. doi:10.1074/jbc.M301334200
141. Adibhatla RM, Hatcher JF. Lipid Oxidation and Peroxidation in CNS Health and Disease: From Molecular Mechanisms to Therapeutic Opportunities. *Antioxid Redox Signal.* enero de 2010;12(1):125–69. doi:10.1089/ars.2009.2668
142. Butterfield DA. Brain lipid peroxidation and alzheimer disease: Synergy between the Butterfield and Mattson laboratories. *Ageing Res Rev.* diciembre de 2020;64:101049. doi:10.1016/j.arr.2020.101049
143. Borkum JM. The Tricarboxylic Acid Cycle as a Central Regulator of the Rate of Aging: Implications for Metabolic Interventions. *Adv Biol.* julio de 2023;7(7):2300095. doi:10.1002/adbi.202300095
144. Zong Y, Li H, Liao P, Chen L, Pan Y, Zheng Y, et al. Mitochondrial dysfunction: mechanisms and advances in therapy. *Signal Transduct Target Ther.* el 15 de mayo de 2024;9(1):124. doi:10.1038/s41392-024-01839-8

145. Hancock MR. Mitochondrial dysfunction and the role of the non-specialist laboratory. *Ann Clin Biochem Int J Lab Med.* el 1 de septiembre de 2002;39(5):456–63. doi:10.1258/000456302320314467
146. Benderdour M, Charron G, Comte B, Ayoub R, Beaudry D, Foisy S, et al. Decreased cardiac mitochondrial NADP⁺ -isocitrate dehydrogenase activity and expression: a marker of oxidative stress in hypertrophy development. *Am J Physiol-Heart Circ Physiol.* noviembre de 2004;287(5):H2122–31. doi:10.1152/ajpheart.00378.2004
147. Haam JH, Kim YS, Cho DY, Chun H, Choi SW, Lee YK, et al. Elevated levels of urine isocitrate, hydroxymethylglutarate, and formiminoglutamate are associated with arterial stiffness in Korean adults. *Sci Rep.* el 13 de mayo de 2021;11(1):10180. doi:10.1038/s41598-021-89639-w
148. Audano M, Pedretti S, Crestani M, Caruso D, Fabiani ED, Mitro N. Mitochondrial dysfunction increases fatty acid β -oxidation and translates into impaired neuroblast maturation. *FEBS Lett.* el 1 de noviembre de 2019;593(22):3173–89. doi:10.1002/1873-3468.13584
149. Brunt VE, Gioscia-Ryan RA, Casso AG, VanDongen NS, Ziembra BP, Sapinsley ZJ, et al. Trimethylamine-N-Oxide Promotes Age-Related Vascular Oxidative Stress and Endothelial Dysfunction in Mice and Healthy Humans. *Hypertension.* julio de 2020;76(1):101–12. doi:10.1161/HYPERTENSIONAHA.120.14759
150. Nemet I, Saha PP, Gupta N, Zhu W, Romano KA, Skye SM, et al. A Cardiovascular Disease-Linked Gut Microbial Metabolite Acts via Adrenergic Receptors. *Cell.* marzo de 2020;180(5):862-877.e22. doi:10.1016/j.cell.2020.02.016
151. Zhu Y, Dwidar M, Nemet I, Buffa JA, Sangwan N, Li XS, et al. Two distinct gut microbial pathways contribute to meta-organismal production of phenylacetylglutamine with links to cardiovascular disease. *Cell Host Microbe.* enero de 2023;31(1):18-32.e9. doi:10.1016/j.chom.2022.11.015
152. Yang H, Wang T, Qian C, Wang H, Yu D, Shi M, et al. Gut microbial-derived phenylacetylglutamine accelerates host cellular senescence. *Nat Aging.* el 10 de enero de 2025;5(3):401–18. doi:10.1038/s43587-024-00795-w
153. Merino P. *Chemical Biology of Neurodegeneration: A Molecular Approach* [Internet]. 1a ed. Wiley; 2019 [citado el 5 de febrero de 2026]. Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/book/10.1002/9783527813421> doi:10.1002/9783527813421
154. Das D, Phillips C, Hsieh W, Sumanth K, Dang V, Salehi A. Neurotransmitter-based strategies for the treatment of cognitive dysfunction in Down syndrome. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.* octubre de 2014;54:140–8. doi:10.1016/j.pnpbp.2014.05.004

155. Stagni F, Giacomini A, Guidi S, Ciani E, Bartesaghi R. Timing of therapies for Down syndrome: the sooner, the better. *Front Behav Neurosci.* el 6 de octubre de 2015;9. doi:10.3389/fnbeh.2015.00265
156. Contestabile A, Magara S, Cancedda L. The GABAergic Hypothesis for Cognitive Disabilities in Down Syndrome. *Front Cell Neurosci.* el 7 de marzo de 2017;11. doi:10.3389/fncel.2017.00054
157. Alasmari F, Ahmad A, Alsanea S, Hammad AM, Al-Qerem W. Current insights and prospects for the pathogenesis and treatment of clinical manifestations associated with Down syndrome through neurotransmitter, inflammatory, and oxidative stress pathways. *Front Pharmacol.* el 28 de abril de 2025;16:1592277. doi:10.3389/fphar.2025.1592277
158. Buss IH, Senthilmohan R, Darlow BA, Mogridge N, Kettle AJ, Winterbourn CC. 3-Chlorotyrosine as a Marker of Protein Damage by Myeloperoxidase in Tracheal Aspirates From Preterm Infants: Association With Adverse Respiratory Outcome. *Pediatr Res.* marzo de 2003;53(3):455–62. doi:10.1203/01.PDR.0000050655.25689.CE
159. Murata T, Koshino Y, Omori M, Murata I, Nishio M, Horie T, et al. In vivo proton magnetic resonance spectroscopy study on premature aging in adult Down's syndrome. *Biol Psychiatry.* septiembre de 1993;34(5):290–7. doi:10.1016/0006-3223(93)90086-S
160. Berry GT, Wang ZJ, Dreha SF, Finucane BM, Zimmerman RA. In vivo brain myo-inositol levels in children with Down syndrome. *J Pediatr.* julio de 1999;135(1):94–7. doi:10.1016/S0022-3476(99)70334-3
161. Śmigielska-Kuzia J, Sobaniec W. Brain metabolic profile obtained by proton magnetic resonance spectroscopy HMRS in children with Down syndrome. *Adv Med Sci.* el 29 de marzo de 2007;52(Supplement 1).
162. Klemmensen MM, Borrowman SH, Pearce C, Pyles B, Chandra B. Mitochondrial dysfunction in neurodegenerative disorders. *Neurotherapeutics.* el 1 de enero de 2024;21(1). doi:10.1016/j.neurot.2023.10.002 PubMed PMID: 38241161.

ABREVIATURAS

SD	Síndrome de Down
HSA21	Cromosoma 21
EM	Espectrometría de masas
PCA	Análisis de componentes principales
PLS-DA	Análisis discriminante de mínimos cuadrados parciales
LFC	Cambio relativo logarítmico (Log Fold Change)
FDR	Tasa de descubrimientos falsos

ANEXOS

Anexo A. Figuras y tablas complementarias

Tabla A.1 Compuestos clasificados de relevancia moderada según el criterio de clasificación de magnitud de cambio por LFC

Nombre del metabolito	<i>p</i> _{FDR}
Rango de LFC 0.58 – 0.72	
DG(11M5/11D3/0:0)	0.032
Chlorpyrifos-methyl	0.049
19(S)-HETE	0.024
Sulfentrazone	0.029
PA(22:2(13Z,16Z)/15:0)	0.032
PE(18:4(6Z,9Z,12Z,15Z)/P-18:1(11Z))	0.035
PE(18:4(6Z,9Z,12Z,15Z)/20:5(5Z,8Z,11Z,14Z,16E)-OH(18R))	0.035
PGP(20:4(6E,8Z,11Z,13E)-2OH(5S,15S)/i-16:0)	0.032
PGP(i-24:0/20:3(6,8,11)-OH(5))	0.037
PC(20:4(5Z,8Z,11Z,14Z)/PGJ2)	0.015
Lornoxicam	0.031
3beta,15alpha-Diacetoxylanosta-8,24-dien-26-oic acid	0.014
Rango de LFC 0.72 – 0.86	

1,25-Dihydroxy-16-ene-vitamin D3	0.050
2-Chloroacetanilide	0.037
PGP(18:3(9Z,12Z,15Z)/20:4(5Z,8Z,11Z,14Z))	0.024
15beta-Hydroxydesogestrel	0.013
PG(22:6(4Z,7Z,10Z,13Z,16Z,19Z)/18:1(12Z)-2OH(9,10))	0.044
Cepagenin	0.028
Pubesenolide	0.012
Digitoxigenin bisdigitoxide	0.012
PGP(i-12:0/PGD1)	0.012
ent-kaur-16-en-19-oate	0.023
all-trans-Heptaprenyl diphosphate	0.028
Boviquinone 4	0.011
23-O-beta-D-Glucopyranosyl-25-methyldolichosterone	0.020
cis-15-Octadecenoic acid	0.034
PG(20:4(8Z,11Z,14Z,17Z)/18:2(9Z,11E)+=O(13))	0.015
Isazofos	0.006
N(4)-Oleylcytosine arabinoside	0.030
Disobutamide	0.045
Iron(II) carbonate (FeCO ₃)	0.010
MG(0:0/22:4(7Z,10Z,13Z,16Z)/0:0)	0.035

16,16-Dimethylprostaglandin E2	0.006
PGP(i-22:0/20:4(5Z,8Z,11Z,14Z)-OH(17))	0.021
PA(20:4(7E,9E,11Z,13E)-3OH(5S,6R,15S)/8:0)	0.014
Rango de LFC 0.86 – 0.99	
PG(22:6(4Z,7Z,10Z,12E,16Z,19Z)-OH(14)/22:6(4Z,7Z,10Z,13Z,16Z,19Z))	0.022
methyl (4R)-4-((3R,5S,7R,9S,10S,13R,17R)-7-acetoxy-3-hydroxy-10,13-dimethyl-12-oxohexadecahydro-1H-cyclopenta[a]phenanthren-17-yl)pentanoate	0.017
17,23-Epoxy-29-hydroxy-27-norlanost-8-ene-3,15,24-trione	0.031
PA(2:0/18:2(10E,12Z)+=O(9))	0.015
PGP(18:3(6Z,9Z,12Z)/20:4(5Z,8Z,11Z,14Z))	0.023
Hydrocinnamate-(orn-Pro-dcha-Trp-Arg)	0.009
m-Trigallic acid	0.019
(2-Iodo-5-nitrophenyl)(1-((1-methylpiperidin-2-yl)methyl)-1H-indol-3-yl)methanone	0.012
Chaetoglobosin N	0.007
Octadecanedioic acid	0.015
DG(18:1/20:4)	0.014
Asymmetric dimethylarginine	0.028
11,12-DiHETrE	0.020
Uridine 5'-diphosphate	0.041

PGP(i-24:0/PGJ2)	0.024
D-Glucaro-1,4-lactone	0.019
DG(17:0/0:0/PGD2)	0.038
Deoxycholylalanine	0.004
PGP(18:0/18:0)	0.005
PG(20:5(7Z,9Z,11E,13E,17Z)-3OH(5,6,15)/a-17:0)	0.019
tigemonam	0.020
PGP(a-17:0/22:6(4Z,8Z,10Z,13Z,16Z,19Z)-OH(7))	0.015
PC(18:2(9Z,11E)+=O(13)/20:0)	0.017
PE(18:4(6Z,9Z,12Z,15Z)/5-iso PGF2VI)	0.008
PC(20:3(6,8,11)-OH(5)/18:0)	0.001

La magnitud de cambio se consideró en términos absolutos. Los compuestos mostrados corresponden únicamente a aquellos con significancia estadística. LFC: Log₂ Fold Change, p_{FDR} : p-valor ajustado.

Tabla A.2 Correspondencia del identificador KEGG con el nombre del compuesto

KEGG_ID	Nombre asignado
C04148	Phenylacetylglutamine
C05642	Formyl-N-acetyl-5-methoxykynurenamine
C05457	7alpha,12alpha-Dihydroxycholest-4-en-3-one
C01673	Calcitriol
CE2201	23S,25-dihydroxyvitamin D3
C17331	7alpha,24-Dihydroxy-4-cholesten-3-one
C17332	7alpha,25-Dihydroxy-4-cholesten-3-one
C17333	3beta-Hydroxy-5-cholestenoate
C17336	7alpha,26-Dihydroxy-4-cholesten-3-one
C00158	Citrate
C04575	(4R,5S)-4,5,6-Trihydroxy-2,3-dioxohexanoate
C00311	Isocitrate
CE2202	23S,25,26-trihydroxyvitamin D3
C17335	3beta,7alpha-Dihydroxy-5-cholestenoate
C00416	Phosphatidic acid

Tabla A.3 Compuestos empíricos identificados en cada ruta metabólica de acuerdo con el análisis funcional

Ruta metabólica	ID Empírico	Nombre asignado
Glycerophospholipid metabolism	positive_E67	Platelet-activating factor
	negative_E22	CMP-2-aminoethylphosphonate; CMPciliatine
	positive_E68	1-Alkyl-2-lyso-sn-glycero-3-phosphocholine
	positive_E33	Phosphatidic acid (phospholipids)
Tryptophan metabolism	negative_E25	alpha-N-Phenylacetyl-L-glutamine
		Formyl-N-acetyl-5-methoxykynurenamine
	positive_E4	alpha-N-Phenylacetyl-L-glutamine
		Formyl-N-acetyl-5-methoxykynurenamine
Vitamin D3 (cholecalciferol) metabolism	negative_E15	24,25,26,27-tetranor-23-oxo-hydroxyvitamin D3
	positive_E51	7alpha,12alpha-Dihydroxycholest-4-en-3-one
		Calcitriol
		23S,25-dihydroxyvitamin D3
		7alpha,26-Dihydroxy-4-cholesten-3-one
		7alpha,25-Dihydroxy-4-cholesten-3-one
	negative_E14	23S,25,26-trihydroxyvitamin D3/
negative_E25	alpha-N-Phenylacetyl-L-glutamine	

Tyrosine metabolism		Formyl-N-acetyl-5-methoxykynurenamine
	negative_E6	5,6-Dihydroxyindole-2-carboxylate
	positive_E4	alpha-N-Phenylacetyl-L-glutamine
		Formyl-N-acetyl-5-methoxykynurenamine
Bile acid biosynthesis	negative_E30	glycolithocholate
	positive_E51	7alpha,12alpha-Dihydroxycholest-4-en-3-one
		Calcitriol
		23S,25-dihydroxyvitamin D3
		7alpha,26-Dihydroxy-4-cholesten-3-one
		7alpha,25-Dihydroxy-4-cholesten-3-one
	negative_E14	23S,25,26-trihydroxyvitamin D3/
Ascorbate (Vitamin C) and Aldarate Metabolism	negative_E3	Citrate
		Isocitrate
	negative_E5	D-Glucarate
Drug metabolism - cytochrome P450	positive_E19	Didemethylcitalopram
TCA cycle	negative_E3	Citrate
		Isocitrate
Aminosugars metabolism	negative_E22	CMP-2-aminoethylphosphonate; CMPciliatine

Vitamin A (retinol) metabolism	positive_E33	Phosphatidic acid (phospholipids)
-----------------------------------	--------------	-----------------------------------

Phosphatidylinositol phosphate metabolism	positive_E33	Phosphatidic acid (phospholipids)
-------------------------------------------------	--------------	-----------------------------------

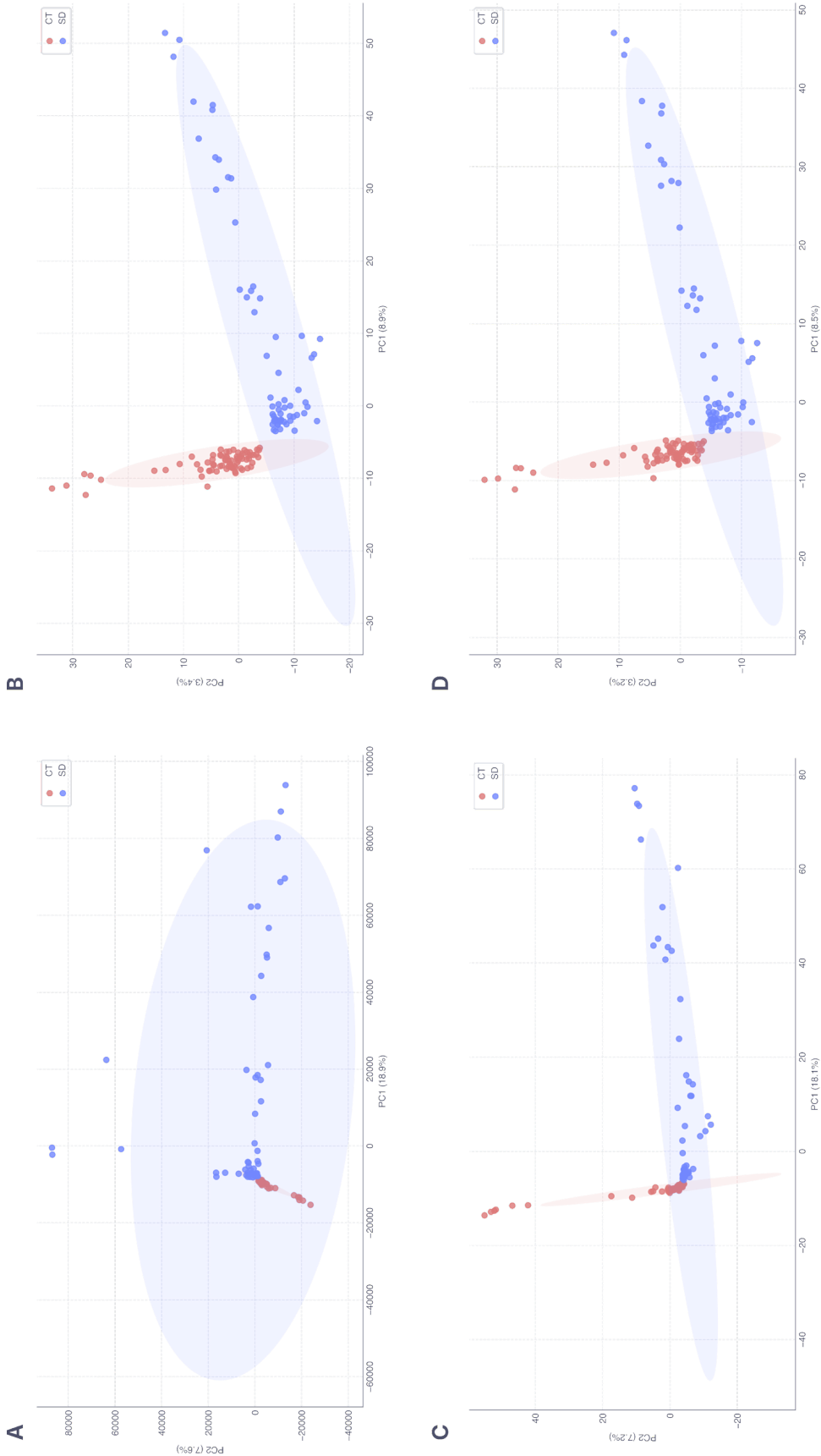


Figura A.1 Gráficos de dispersión de PCA según el tratamiento previo de los datos

A. Escalamiento de Pareto sin transformación logarítmica, B. Escalamiento de Pareto con transformación logarítmica, C. Escalamiento estándar sin transformación logarítmica, D. Escalamiento estándar con transformación logarítmica.

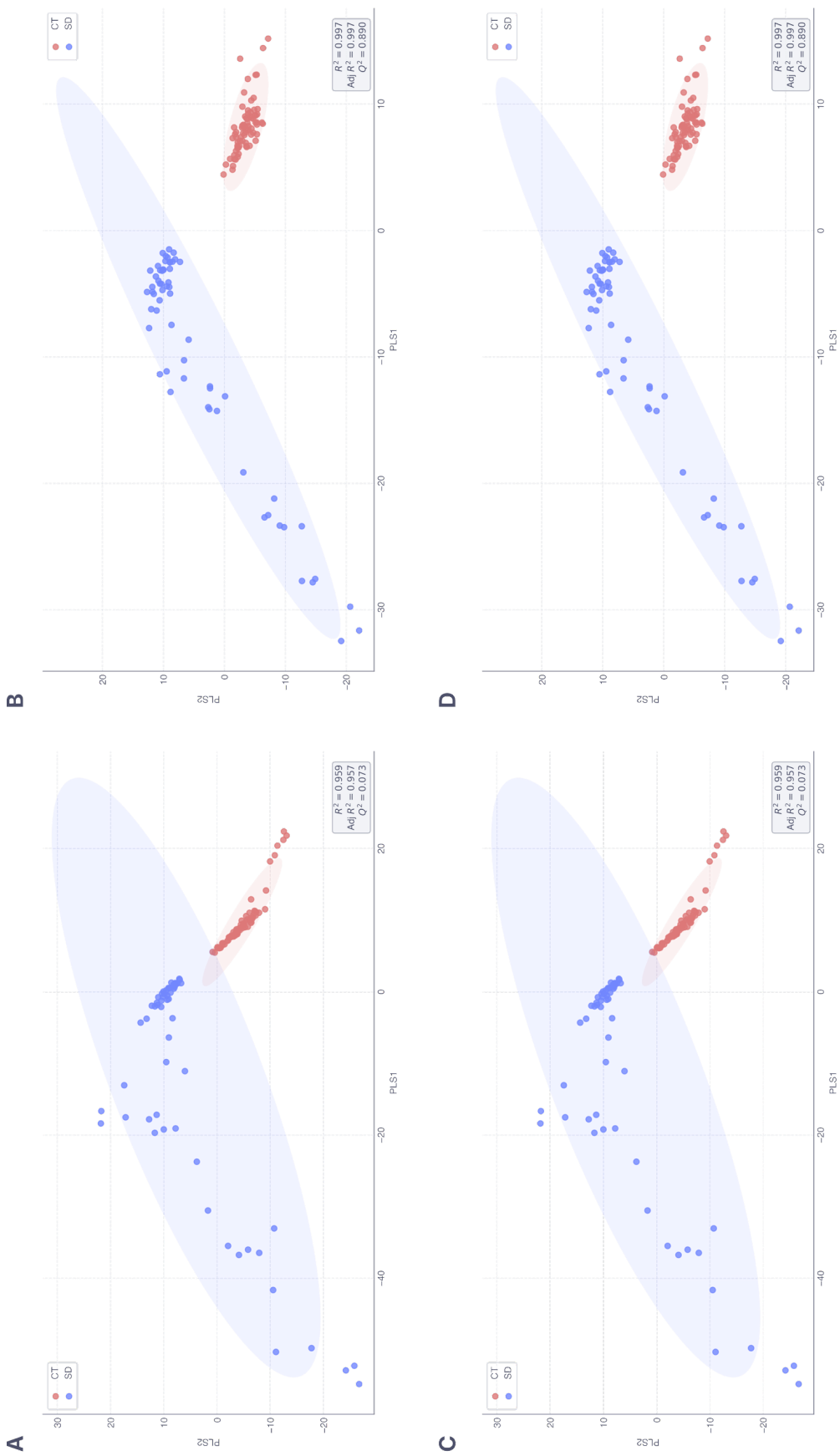


Figura A.2 Gráficos de dispersión de PLS-DA según el tratamiento previo de los datos

A. Escalamiento de Pareto sin transformación logarítmica, B. Escalamiento de Pareto con transformación logarítmica, C. Escalamiento estándar sin transformación logarítmica, D. Escalamiento estándar con transformación logarítmica.