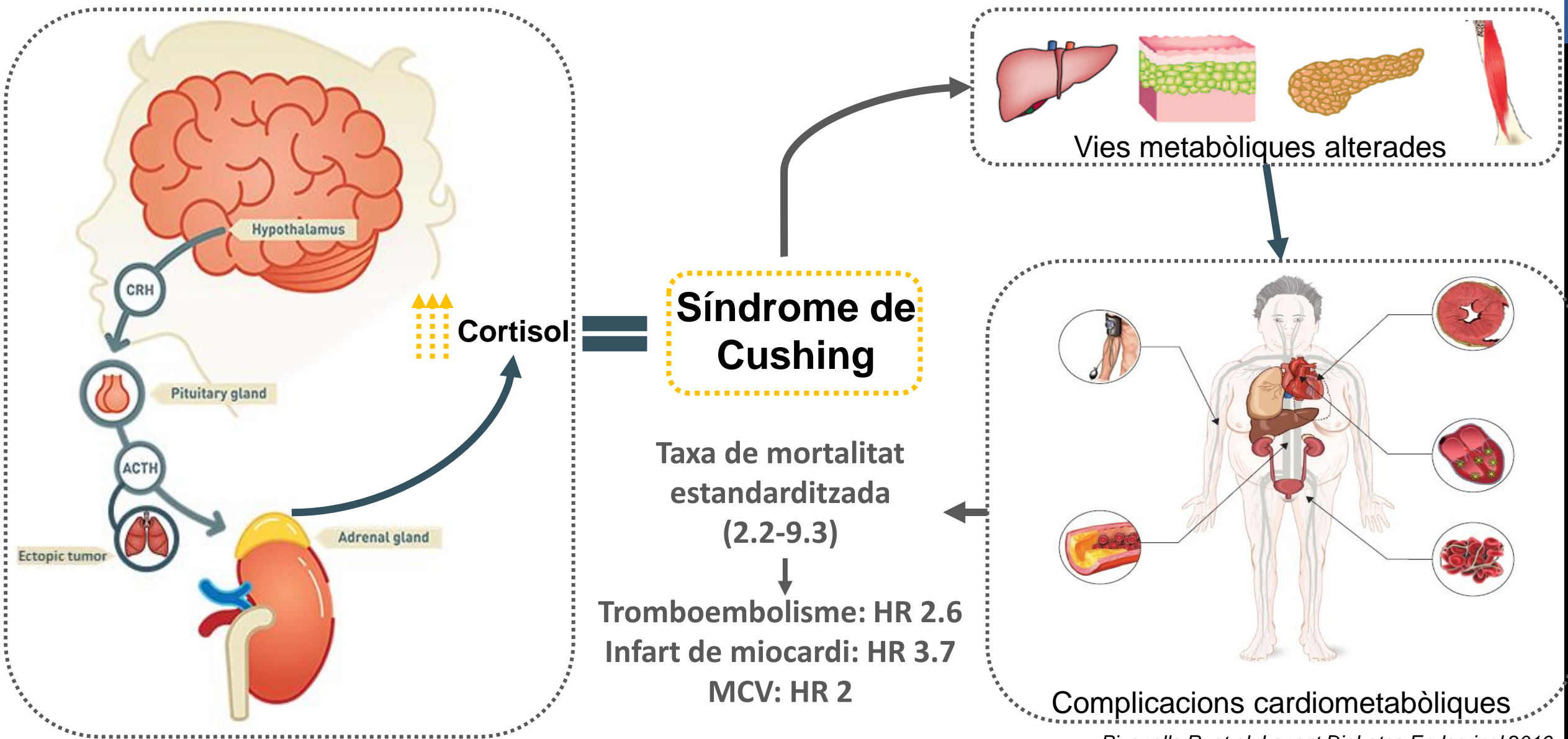


# L'empremta metabolòmica de la síndrome de Cushing activa

**Laura Boswell**<sup>1,2</sup>, Arturo Vega-Beyhart<sup>1</sup>, Vanesa Flores<sup>2</sup>, Marta Iruarrizaga<sup>3</sup>,  
Adriana Pané<sup>2</sup>, Gloria Aranda<sup>1</sup>, Gemma Rojo<sup>4,5</sup>, Mireia Mora<sup>1,2,4</sup>, Irene  
Halperin<sup>1,4</sup>, Felicia A. Hanzu<sup>1,2,4</sup>

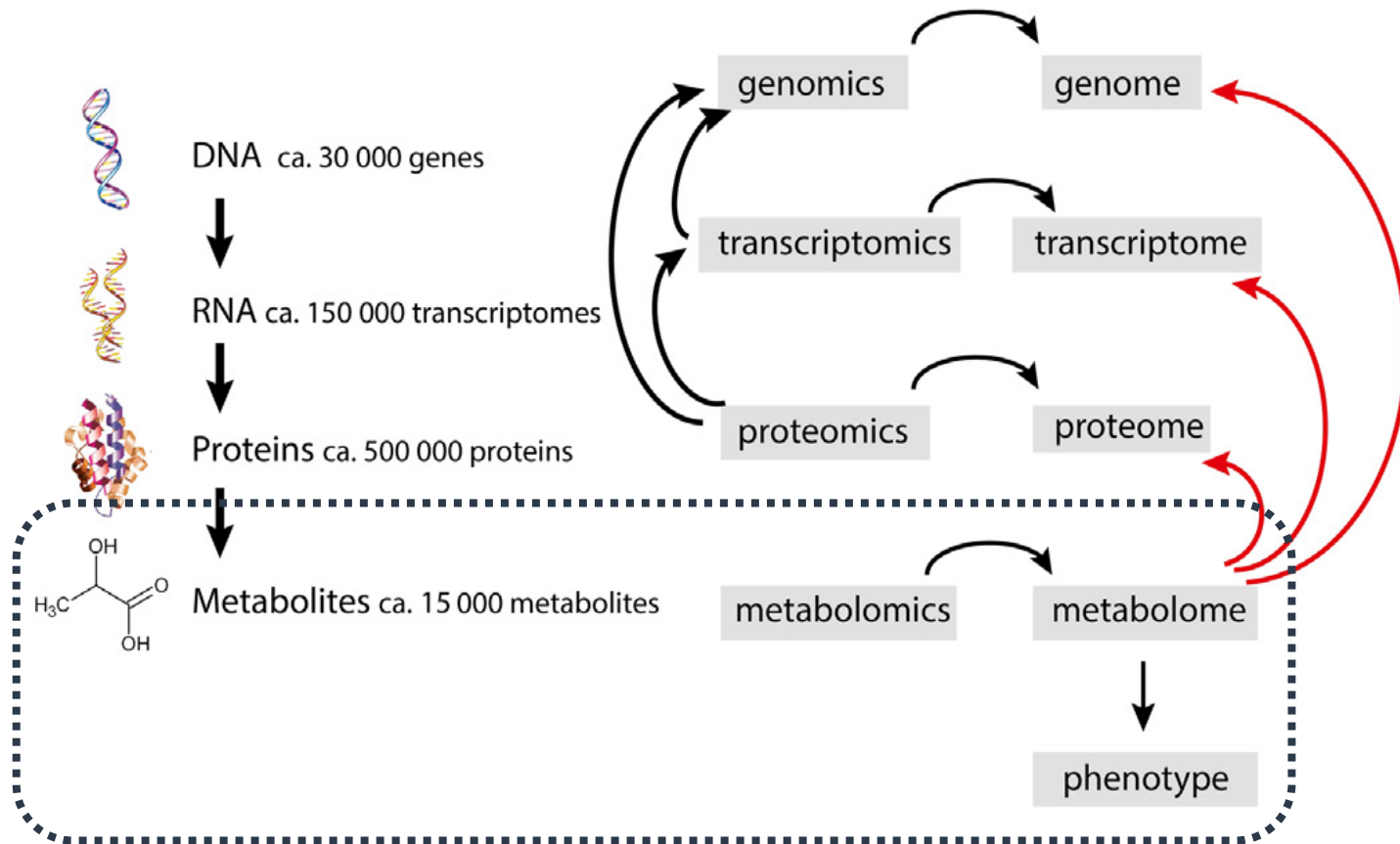
1. Grup de Trastorns Endocrins, Institut d'investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer (IDIBAPS), Barcelona
2. Servei d'Endocrinologia i Nutrició, Hospital Clínic, Barcelona
3. Plataforma de Metabolòmica OWL, Parc Tecnològic de Bizkaia, Derio
4. CIBERDEM, ISCIII, Madrid
5. Servicio de Endocrinología y Nutrición, Hospital Regional Universitario de Málaga, Málaga

# Introducció: Sd. Cushing i morbimortalitat cardiovascular



# Introducció: La metabolòmica

**Metabolòmica:** Estudi sistemàtic dels **metabòlits** (molècules intermediàries i productes finals del metabolisme cel·lular, <1500 Da) en una mostra biològica d'interès.



- Reflex de l'activitat bioquímica actual de l'organisme (**fenotip**)

**Biomarcadors**

- Enllaç entre genotip-fenotip

**Aplicació  
translacional**

- Permet analitzar múltiples metabòlits:

**Vies metabòliques**

# Introducció: Metabolòmica en Sd. Cushing

Clinical Study

G Di Dalmazi and others

Metabolic alterations in  
Cushing's syndrome

177:2

227-237

## Cortisol-related metabolic alterations assessed by mass spectrometry assay in patients with Cushing's syndrome

Guido Di Dalmazi<sup>1,9</sup>, Marcus Quinkler<sup>2</sup>, Timo Deutschbein<sup>3</sup>, Cornelia Prehn<sup>4</sup>,  
Nada Rayes<sup>5</sup>, Matthias Kroiss<sup>6</sup>, Christina M Berr<sup>1</sup>, Günter Stalla<sup>7</sup>,  
Martin Fassnacht<sup>3,6</sup>, Jerzy Adamski<sup>4,8</sup>, Martin Reincke and Felix Beuschlein<sup>1,10</sup>

↓ aminoàcids  
↓ acilcarnitines  
↑ poliamines

31 metabòlits associats a  
cortisol post 1mg DXM

Mètode *targeted* = 188 metabòlits  
(absolute IDQ-p180 Kit)

Absència d'avaluació de diferents classes de lípids i  
àcids biliars

Necessitat d'ajustar variables clíniques confusores  
(edat, dislipèmia, HTA, DM2)

# Objectius

## Objectiu general

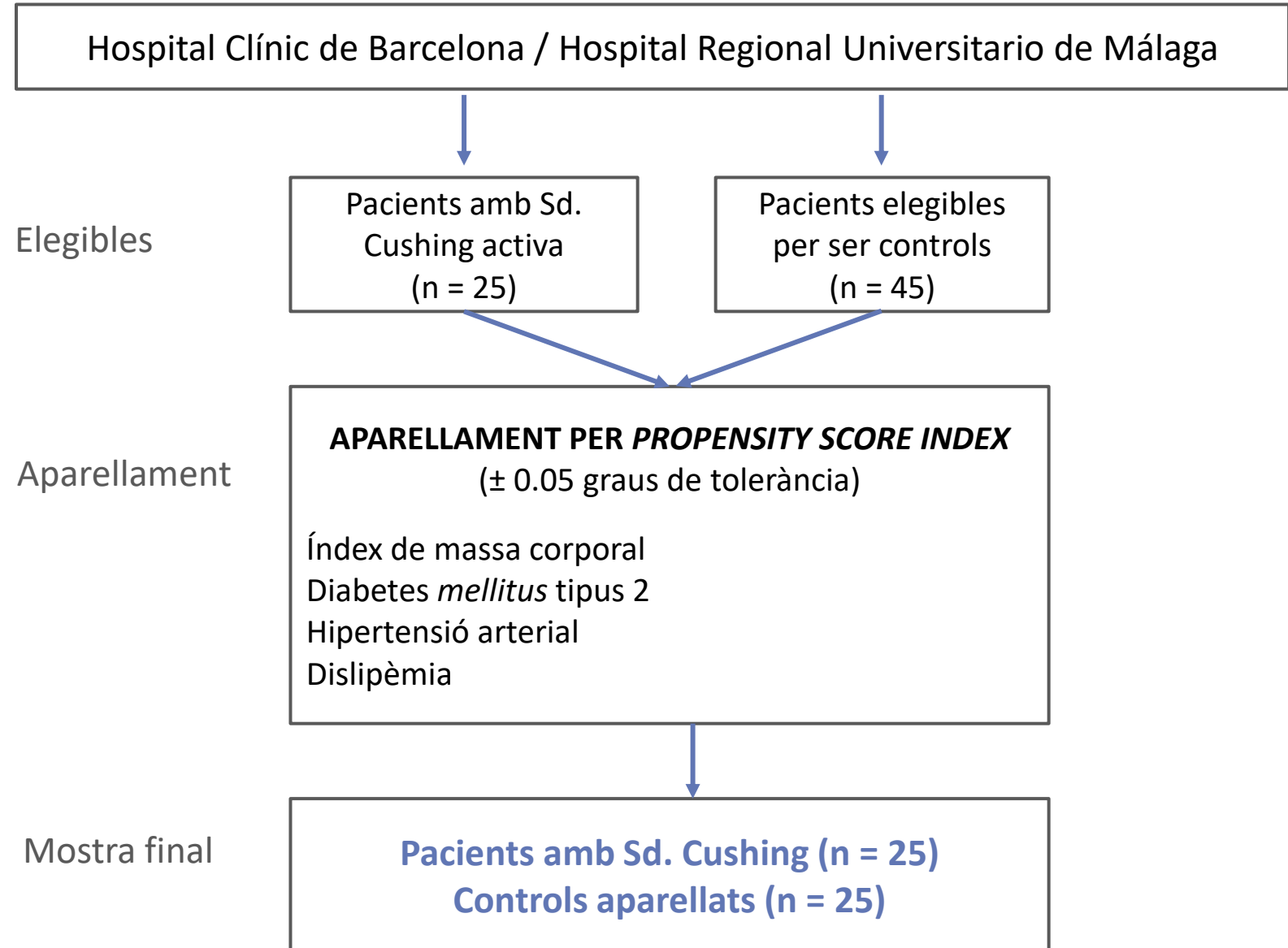
Avaluar el metaboloma sèric i les vies metabòliques alterades en els pacients amb síndrome de Cushing (SC) activa

## Objectius específics

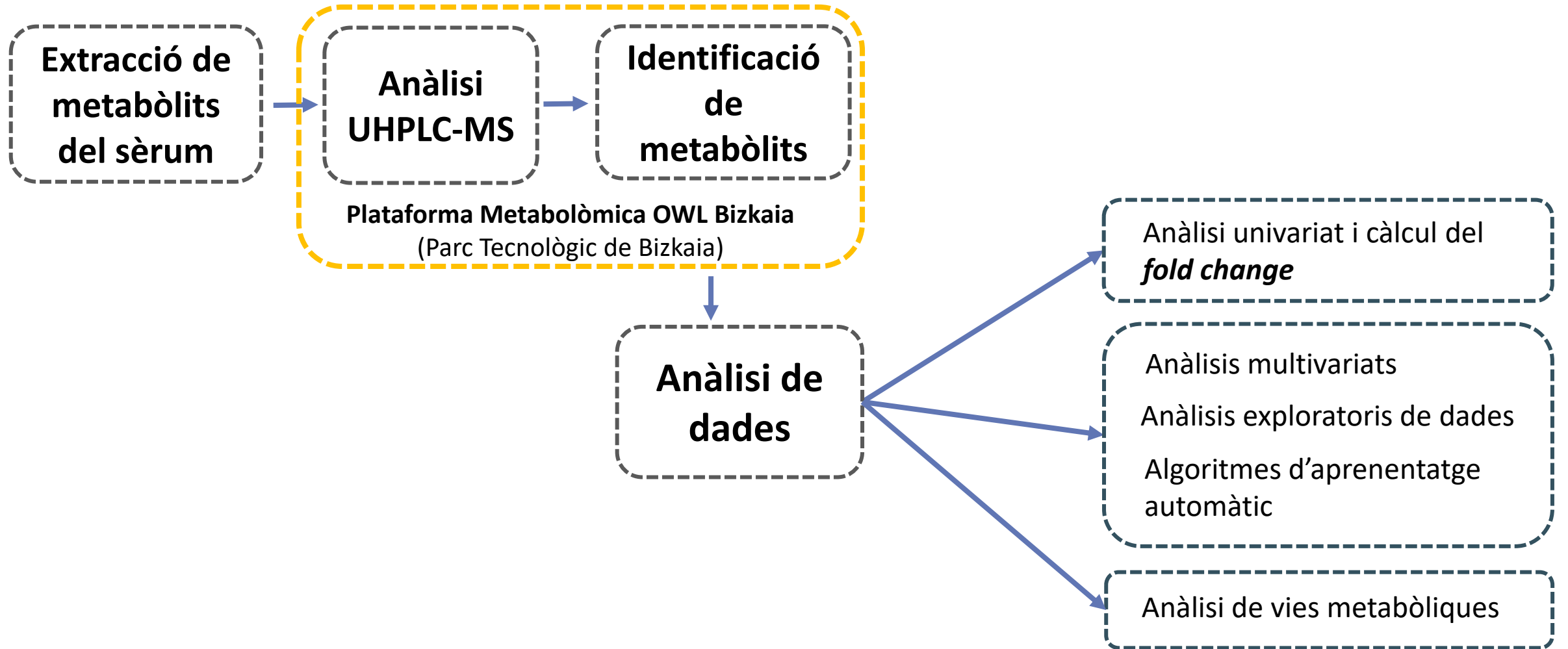
1. Avaluar la magnitud de la diferència en concentracions de metabòlits entre pacients i controls
2. Establir una empremta metabolòmica que permeti discriminar als pacients amb SC
3. Identificar els metabòlits sèrics amb una associació independent amb el cortisol lliure urinari
4. Estudiar les vies metabòliques relacionades amb la SC

# Material i mètodes: Disseny de l'estudi

Estudi de casos i controls



# Material i mètodes: Avaluació i anàlisi metabolòmica



# Resultats: Característiques clíniques

	Síndrome de Cushing (n = 25)	Controls (n= 25)	<i>p</i>
Edat (anys)	44.6 ± 12.1	52.3 ± 13.0	0.065
Gènere (dones)	20 (80%)	16 (64%)	0,345
DM2	6 (24%)	6 (24%)	1.000
Prediabetis	4 (16%)	6 (24%)	0.725
Hipertensió arterial	18 (72%)	17 (68%)	1.000
Dislipèmia	4 (16%)	4 (16%)	1.000
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	28.0 ± 8.3	27.5 ± 4.8	0.826
Glucosa (mg/dL)	114 ± 49	105 ± 14	0.433
HOMA-IR	3.11 ± 2.1	2.44 ± 1.9	0.064
Colesterol total(mg/dL)	190 ± 27	206 ± 31	0.068
C-LDL (mg/dL)	110 ± 27	114 ± 23	0.591
C-HDL (mg/dL)	63 ± 23	55 ± 8	0.166
Triglicèrids (mg/dL)	87 ± 35	95 ± 18	0.407
AST (U/L)	20 ± 5	20 ± 4	0.882
ALT (U/L)	25 ± 17	24 ± 11	0.761
Bilirrubina total (µmol/L)	10.26 ± 5.1	10.26 ± 3.4	0.971
<b>Cortisol sèric 8h am (µg/dL)</b>	27 ± 7	15 ± 2	<b>0.009</b>
Cortisol lliure urinari (µg/24h)	246.5 (165.1 - 335.0)	NA	NA
<b>Cortisol salivar (µg/dL)</b>	7.4 ± 4.1	0.4 ± 0.4	<b>0.021</b>
<i>Propensity score index</i>	0.51 ± 0.3	0.48 ± 0.3	0.608



# Resultats: Metaboloma dels pacients amb SC

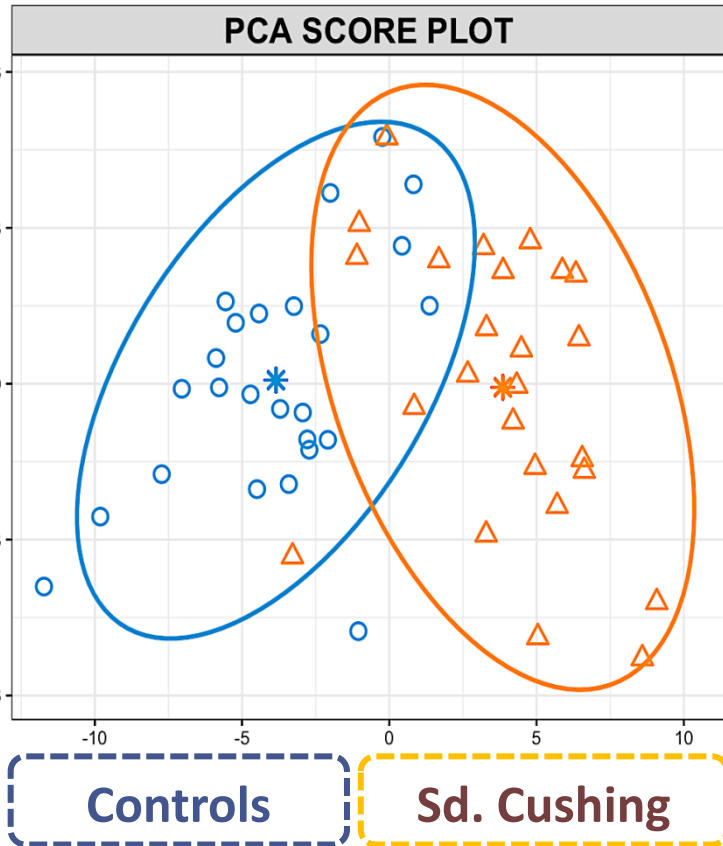
Metabòlits **alterats** 112 (27%)  
Aminoàcids 17/20 (85%)

Metabòlits amb **FC >1.5**: 42 (10.1%)

Metabòlits amb **FC >2**: 12 (2.9%)  
Àcids biliars 5/10 (50%)



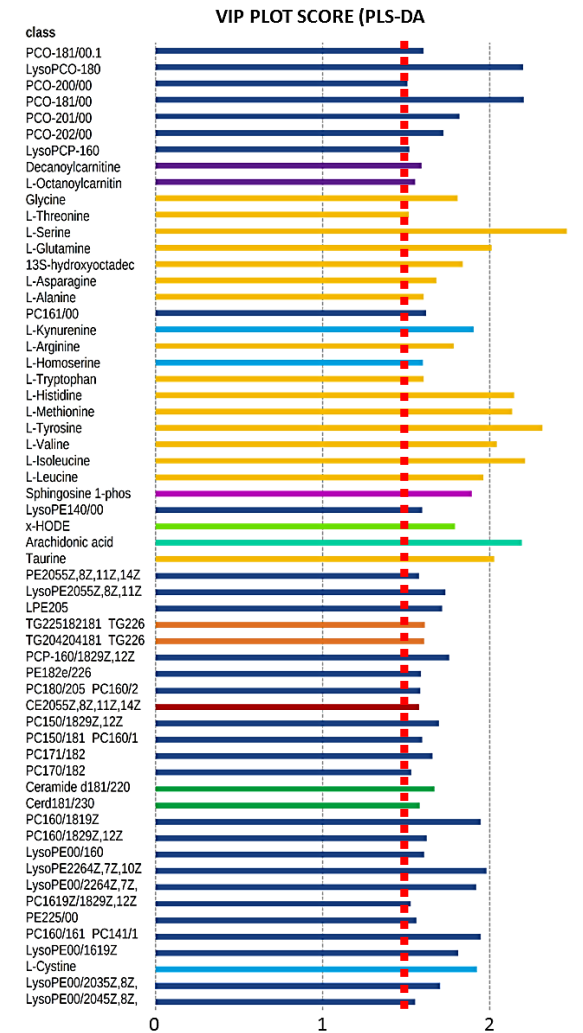
# Resultats: Perfil metabolòmic dels pacients amb SC



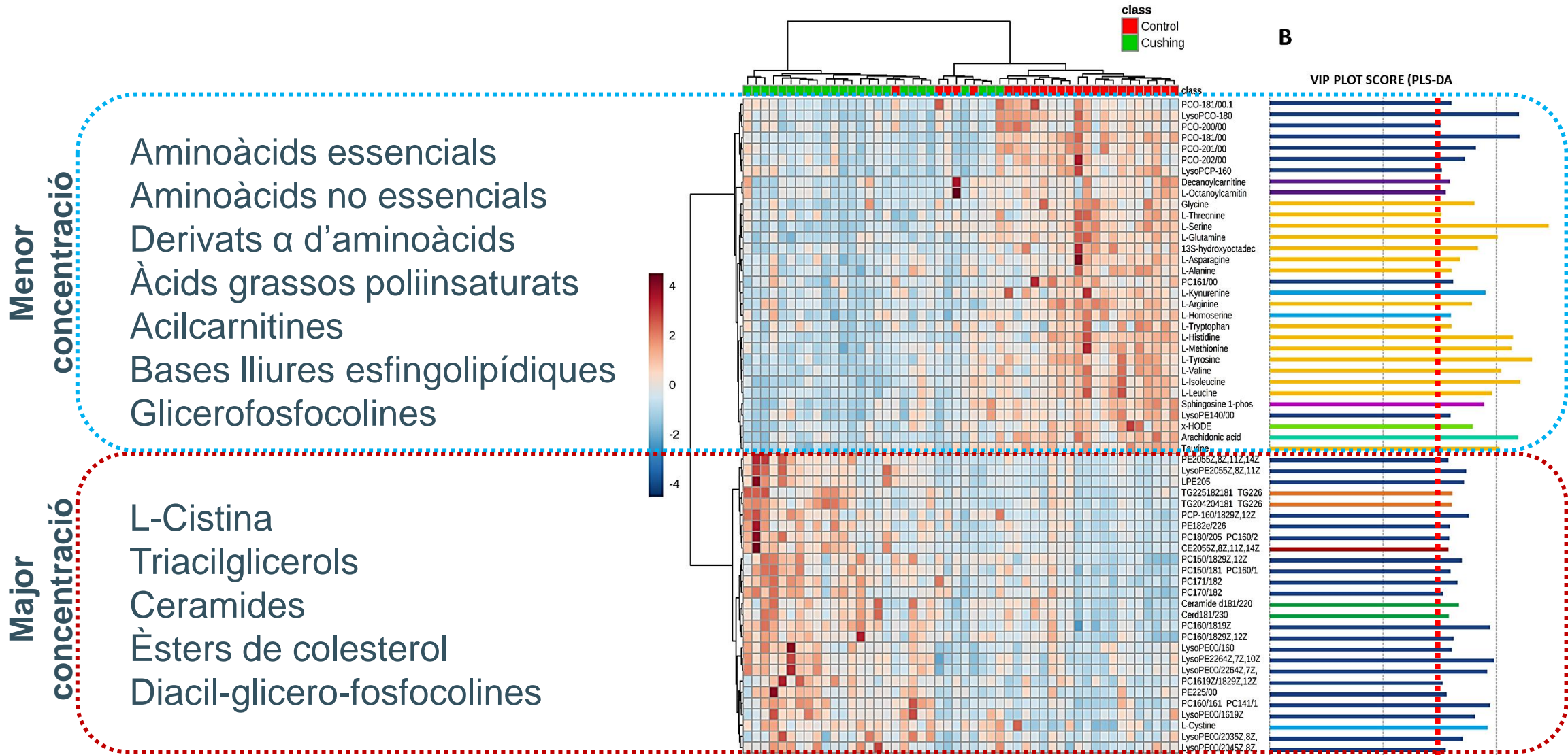
Total metabòlits  
analitzats = **410**

p. ajustada  $<0.05$   
= **112**

PLS-DA VIP  $>1.5$   
= **59**

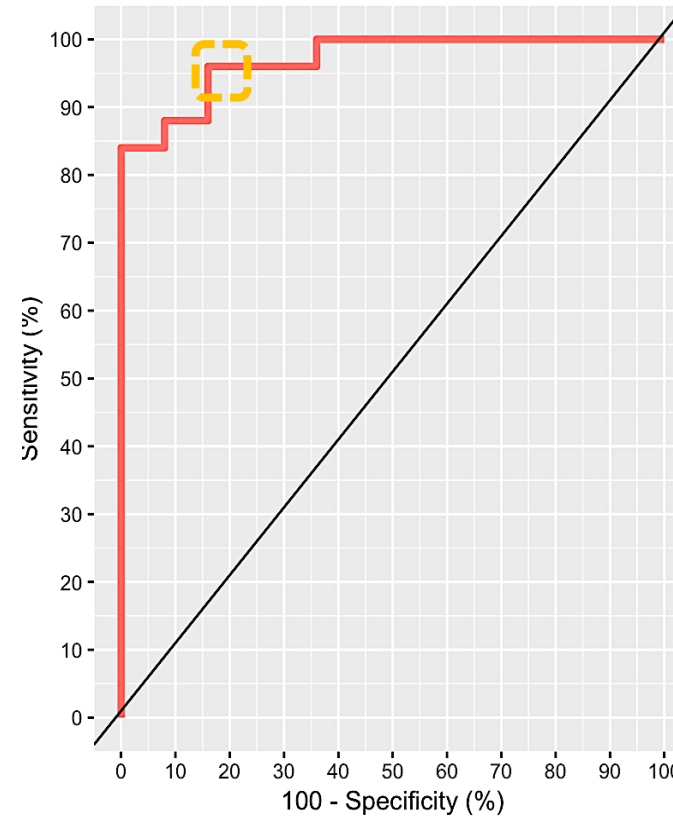
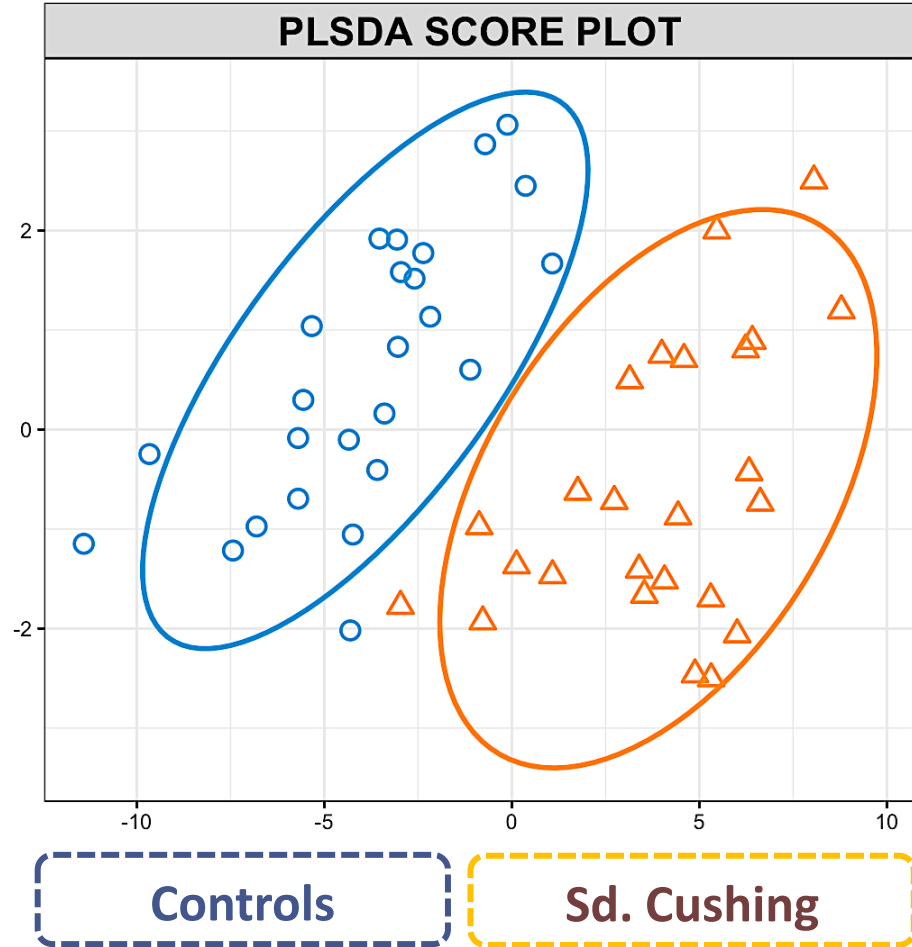


# Resultats: Perfil metabolòmic dels pacients amb SC



# Resultats: Capacitat diagnòstica del perfil metabolòmic

Model PLS-DA basat en el perfil metabolòmic proposat de pacients amb SC



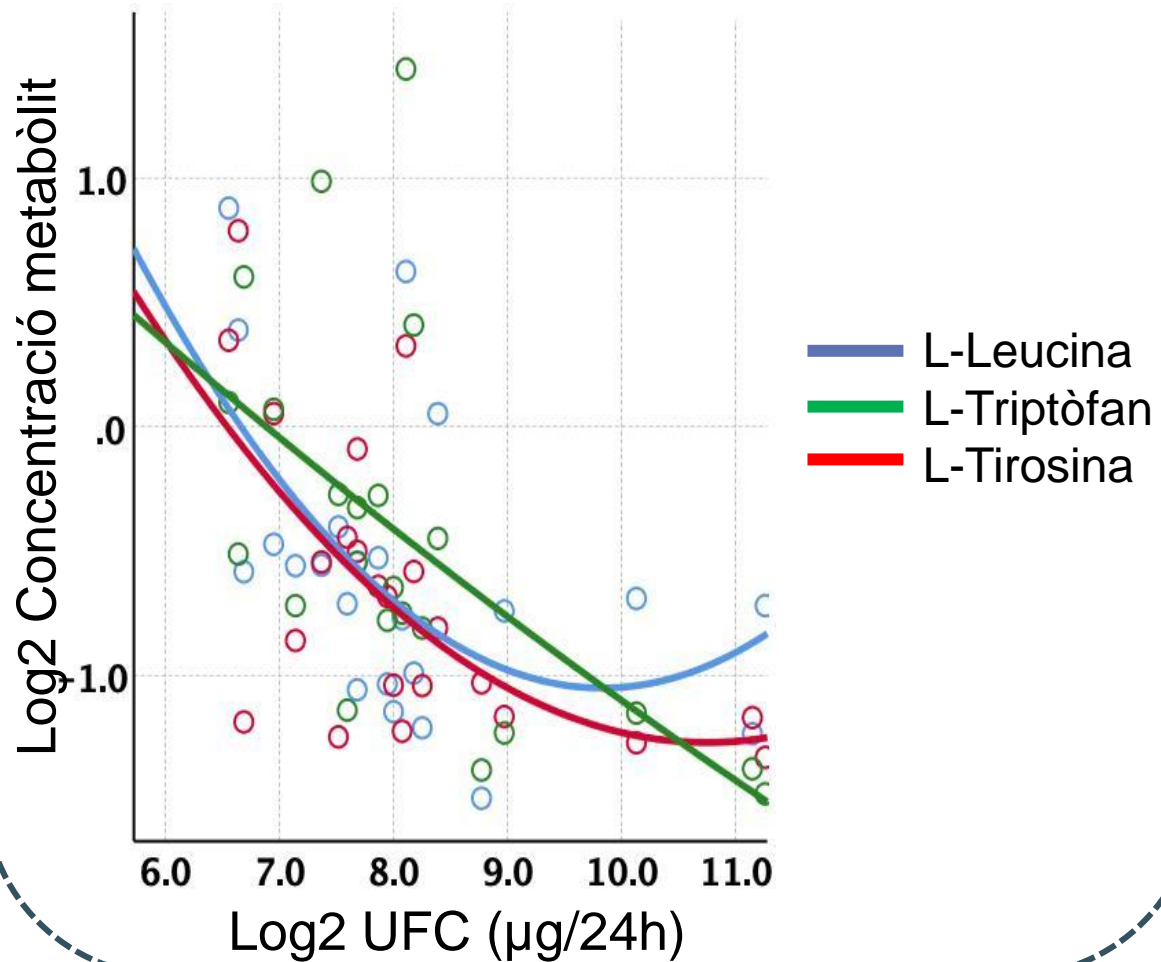
**AUC = 96.9%**

**Sensibilitat  
96%**

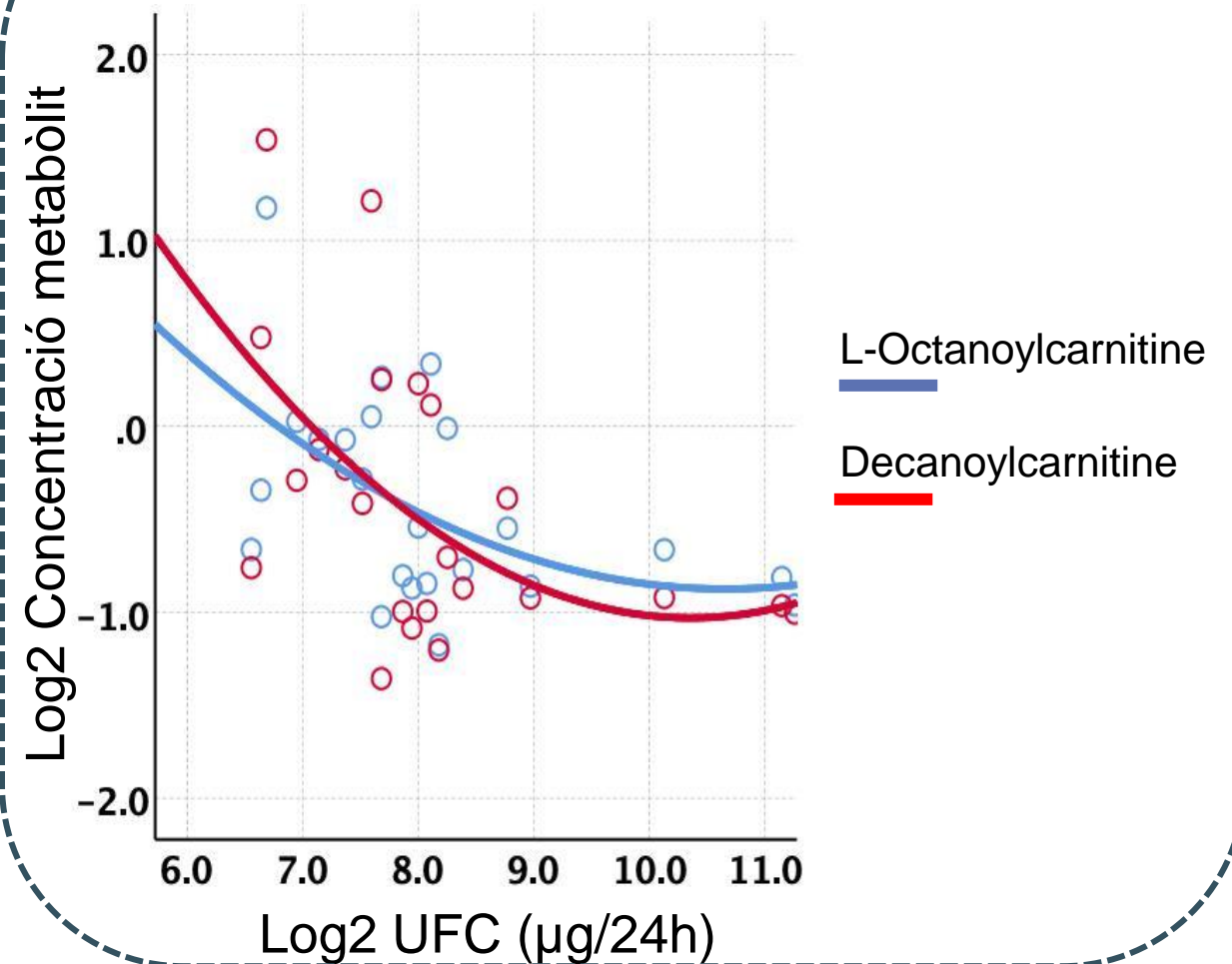
**Especificitat  
80%**

# Resultats: Metabòlits associats independentment a CLU

## Aminoàcids essencials

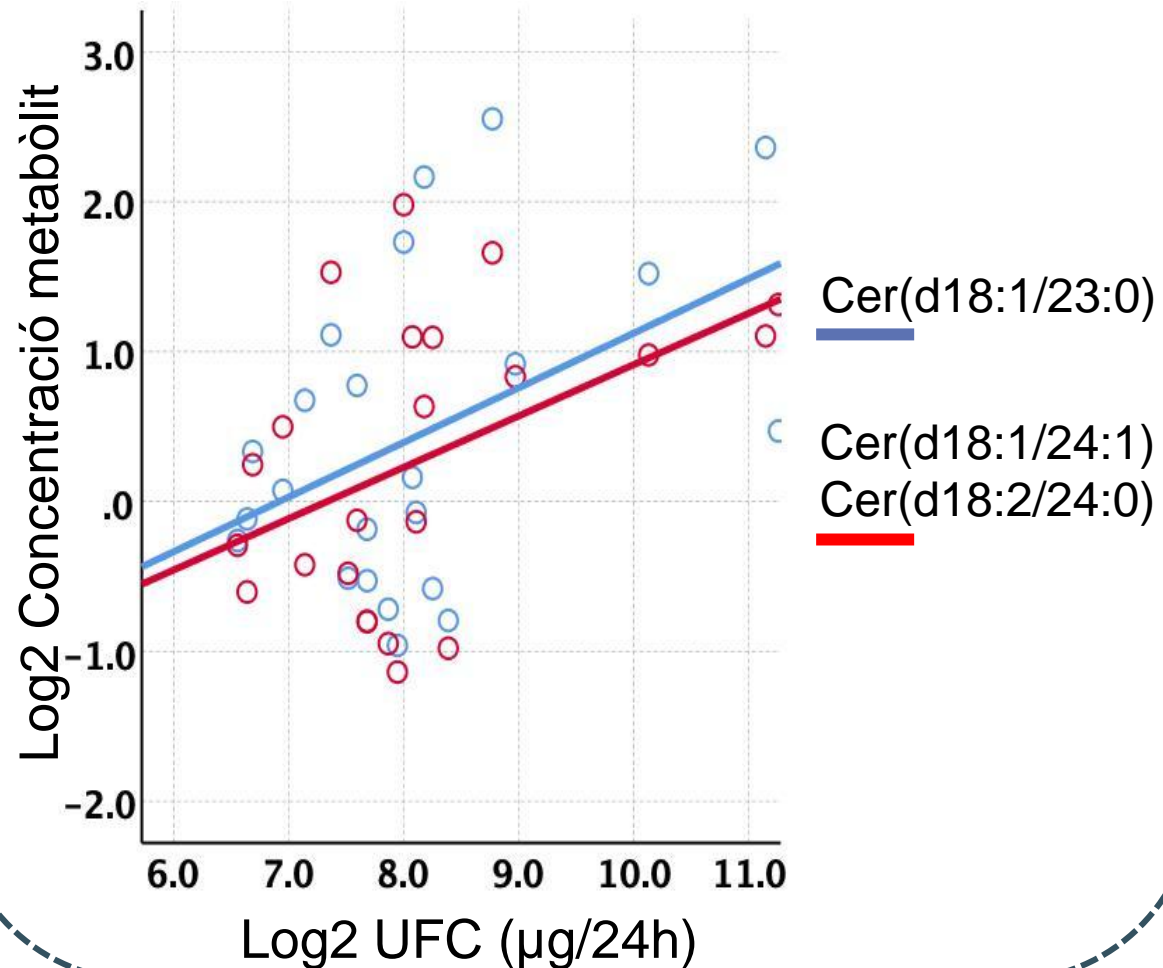


## Acilcarnitines

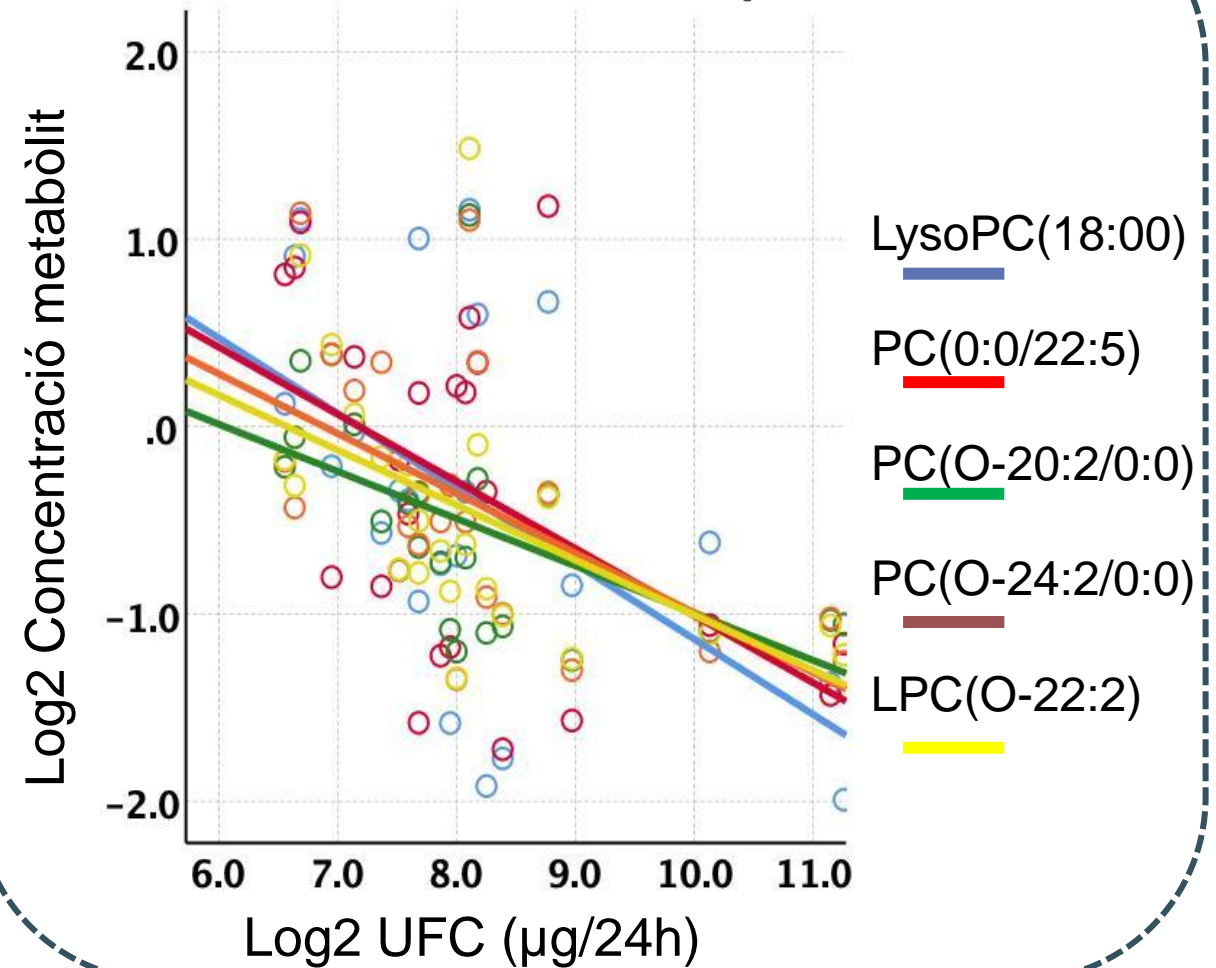


# Resultats: Metabòlits associats independentment a CLU

## Ceramides



## Glicerofosfolípids



# Resultats: Anàlisi de vies metabòliques

Principals 10 vies metabòliques afectades en la Síndrome de Cushing

Via metabòlica	Anàlisi de vies metabòliques				
	Impacte	Total Comp.	Hits	Q	FDR
Metabolisme de l'alanina, aspartat i glutamat	0.853	24	6	19.7	0.000
Metabolisme de l'àcid linoleic	0.656	15	4	10.8	0.003
Metabolisme de la glicina, serina i treonina	0.541	48	7	25.3	0.000
Metabolisme de la taurina i hipotaurina	0.444	20	4	21.9	0.000
Metabolisme dels esfingolípid	0.362	25	5	23.1	0.000
Metabolisme de l'arginina i prolina	0.309	77	8	16.6	0.000
Metabolisme de l'àcid araquidònic	0.216	62	4	14.2	0.000
Metabolisme de l'àcid $\alpha$ -linolènic	0.203	29	2	10.8	0.003
Biosíntesi i degradació de la lisina	0.167	47	4	7.9	0.025
Biosíntesis d'àcids biliars	0.053	65	12	9.4	0.004

Aminoàcids

Àcids grassos  $\Omega$ -6

Àcids biliars

# Resultats: Potencial rellevància clínica

## Aminoàcids

Aminoàcids	Literatura
L-aurina ↓	Modulador vascular protector
L-cistina ↑	Biomarcador d'estrés oxidatiu i mort cardiovascular

## Esfingolípids

Ceramidas	Literatura
Cer(d18:1/23:0) ↑↑	<ul style="list-style-type: none"><li>• Disfunció endotelial (vasoconstricció)</li><li>• Progressió aterosclerosi</li><li>• Predictors d'insulin-resistència</li><li>• Biomarcador d'HTA</li></ul>
Cer(d18:1/24:1) + Cer(d18:2/24:0) ↑↑	

## Glicerofosfolípids

Fosfocolines	Literatura
Lisofosfocolina C18:0 ↓↓↓	+1 DE s'associa a protecció d'esdeveniments coronaris (HR 0.77)
Lisofosfocolina (O-22:2) ↓↓↓	
Glicero-fosfocolines ↑↑ / ↓↓	Component de membrana cel·lular: Aplicació clínica ¿?



# Conclusions

- S'ha validat una nova **empremta metabolòmica** altament discriminant per SC
- Les **principals vies metabòliques** afectades en pacients amb SC impliquen aminoàcids, àcids grassos  $\Omega$ -6 i àcids biliars
- L'alteració de les ceramides, lisofosfolines, àcids biliars i L-cistina denoten l'**alta càrrega cardiometabòlica** de la SC
- Les concentracions d'aminoàcids, acilcarnitines, ceramides i glicerofosfolípids s'alteren progressivament amb l'augment de la CLU-24h, pel que es postulen com a **biomarcadors de severitat** de la malaltia



Hospital Universitario  
Virgen de la Victoria

**owl**

Metabolomics  
Products & Services

*ciberdem*

Centro de Investigación Biomédica en Red  
Diabetes y Enfermedades Metabólicas Asociadas

**CLÍNIC**  
**BARCELONA**

Hospital Universitari



UNIVERSITAT DE  
BARCELONA

**IDIBAPS**

Institut  
D'Investigacions  
Biomèdiques  
August Pi i Sunyer

**Gràcies**