

UNIVERSIDAD DE SONORA

DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS QUÍMICO BIOLÓGICAS

Estimación de la α -2,6 Sialiltransferasa y su Relación con los Niveles de Ácido Siálico Plasmático de Pacientes con Prediabetes

TESIS PROFESIONAL PRÁCTICA

Que para obtener el Título de

QUÍMICO BIOLÓGO CLÍNICO

Presenta:

Luz María Cano Rochín

Hermosillo, Sonora

Febrero 2016

Universidad de Sonora

Repositorio Institucional UNISON



“El saber de mis hijos
hará mi grandeza”



Excepto si se señala otra cosa, la licencia del ítem se describe como openAccess

AGRADECIMIENTOS

A mi directora de tesis la Dra. Maria del Carmen Candia Plata, por aceptarme como su estudiante de tesis, por el apoyo y el tiempo que me brindo. Por la experiencia de trabajar y aprender de usted. Por ser para mí, un gran ejemplo de profesionalismo, dedicación y responsabilidad. Muchas Gracias.

A la Dra. Ana Mata por ser mi guía, maestra y amiga durante este proyecto. Muchas gracias.

Agradezco al Laboratorio de Bioquímica Clínica en el Departamento de Medicina y Ciencias de la Salud y todo su personal, por brindarme su atención, confianza, apoyo y su disponibilidad. Especialmente a M. en C. Karla Alejandra Mongue Villegas y M. en C. Miriam Denisse García villa.

A mis sinodales: M. en C Lucía Castellón Campaña, M. en C. Antonio Rascón y Dr. Enrique Bolado Martínez, por su gran apoyo y sus aportaciones para este proyecto de tesis.

A mi familia y a todos mis seres queridos, por acompañarme durante mi camino.

DEDICATORIA

Con esfuerzo, cariño y amor para mi mamá, familia y seres queridos.

CONTENIDO

LISTA DE TABLAS	7
LISTA DE FIGURAS	8
RESUMEN.....	10
INTRODUCCIÓN.....	11
OBJETIVOS	12
Objetivo General	12
Objetivos Particulares	12
REVISIÓN DE LA LITERATURA	13
Definición de Prediabetes.....	13
Factores de Riesgo de Prediabetes	16
Factores de Riesgo no Controlables	16
Factores de Riesgo Controlables.....	18
Criterios de Diagnóstico de la Prediabetes.....	19
Glucosa Plasmática en Ayuno	19
Prueba de Tolerancia Oral a la Glucosa	20
Prueba de la Hemoglobina Glicada.....	22
Alteraciones Metabólicas de la Prediabetes	23
Ácido Siálico y su Relación con Prediabetes.....	24
Descripción de Ácido Siálico.....	24
Función Metabólica del Ácido Siálico.....	25
Importancia Biológica del Ácido Siálico.....	28
Ácido Siálico y su Posible Relación con la Prediabetes	29
α -2,6 Sialiltransferasa y su Relación con Prediabetes.....	33
Descripción de la Enzima α -2,6 Sialiltransferasa.	33
Clasificación	33
Ubicación.....	35
Estructura.....	36
Mecanismo enzimático.....	42
Función Metabólica e Importancia Biológica de la Enzima α -2,6 Sialiltransferasa	43
α -2,6 Sialiltransferasa y su Posible Relación con los Niveles de Ácido Siálico Plasmático Presentes en la Prediabetes.....	44

Planteamiento Metodológico y Experimental	46
Evaluación Clínica de los Sujetos.....	46
Obtención de Muestra	47
Cuantificación de Ácido Siálico Plasmático	47
Estimación de la Actividad de la Enzima α -2,6 Sialiltransferasa	47
Análisis Estadístico	49
RESULTADOS	50
DISCUSIÓN.....	54
CONCLUSIONES	58
RECOMENDACIONES	59
REFERENCIAS	60

LISTA DE TABLAS

Tabla		Página
1	Prevalencia de diabetes mellitus tipo 2 y prediabetes en grupos étnicos en Estados Unidos de Norteamérica.....	17
2	Puntos de corte de la prueba glucosa plasmática en ayuno, para el diagnóstico de prediabetes y diabetes.....	19
3	Puntos de corte de la prueba de tolerancia a la glucosa, para el diagnóstico de la prediabetes y diabetes.....	21
4	Puntos de corte de la prueba de HbA1c para el diagnóstico de la prediabetes y diabetes.....	23
5	Concentraciones de ácido siálico sérico en mujeres y hombres sanos por estrato de edad.....	30
6	Niveles de ácido siálico total sérico en diversas enfermedades inflamatorias.....	31
7	Niveles de ácido siálico total y ligado a proteínas en sujetos obesos prediabéticos y sujetos controles.....	33
8	Estado prediabético: variables clínicas, bioquímicas y antropométricas de los sujetos con prediabetes y sin prediabetes.....	50

LISTA DE FIGURAS

Figura		Página
1	Mapa representado la prevalencia (%) de tolerancia a la glucosa en el 2013 a nivel mundial en personas de 20 a 79 años de edad.....	14
2	Número de personas con tolerancia anormal de la glucosa por edad (20-79 años) durante el 2013 y el pronóstico para el 2035 a nivel mundial.....	14
3	Número de sujetos con intolerantes a la glucosa en hombres y mujeres en México.....	15
4	Tolerancia anormal a la glucosa por edad (20-79 años) y sexo a nivel mundial.....	18
5	Estructura química del ácido siálico.....	25
6	Metabolismo del ácido siálico.....	26
7	Sialiltransferasas.....	34
8	Representación de la organización de los genes codificadores de la sialiltransferasas humanas.....	36
9	Representación de la enzima sialiltransferasa.....	37
10	Comparación estructural de los sialomotivos de ST6Gal I de rata, ST3 Gal I de cerdo y CstII de <i>C. jejuni</i>	39
11	Simulación de la interacción del sitio activo de la enzima sialiltransferasa ST6Gal I de rata con el disacárido aceptor.....	40
12	Comparación de los residuos del sitio catalítico aceptor del azúcar activado de ST6Gal I de rata, humana, ST3Gal I de cerdo y CstII de <i>C. jejuni</i>	41
13	Contribución de tres enzimas piruvato aldolasa, CMP-Sia sintetasa y sialiltransferasa para el mecanismo de sialilación.....	42
14	Modelo ELISA tipo sándwich para la estimación de la actividad de α -2,6 sialiltransferasa.....	48
15	Correlación entre la concentración de ácido siálico total y la concentración de α -2,6 sialiltransferasa de adultos prediabéticos y normoglicémicos.....	52

16	Correlación entre la concentración de ácido siálico ligado y la concentración de α -2,6 sialiltransferasa de adultos prediabéticos y normoglicémicos (controles).....	53
----	--	----

RESUMEN

La prediabetes es un estado que precede al diagnóstico de diabetes mellitus tipo 2. Esta condición se caracteriza por la elevación en la concentración de glucosa en sangre más allá de los niveles normales sin alcanzar los valores diagnósticos de la diabetes. El estado prediabético es una condición subclínica, proinflamatoria, de la que es parte el aumento del carbohidrato ácido siálico plasmático. Aún se desconoce el origen de tal elevación, pero probablemente está relacionada con alteraciones en la actividad y/o concentración de la enzima α -2,6 sialiltransferasa. Por lo cual el objetivo de este estudio fue estimar la concentración de la enzima α -2,6 sialiltransferasa y del ácido siálico total y ligado a proteínas para demostrar que el aumento de ácido siálico plasmático se relaciona con el incremento de la concentración de la enzima. La población de estudio estuvo integrada por dos grupos de sujetos, un grupo de pacientes prediabéticos y un grupo de sujetos normoglicémicos. Los resultados obtenidos en este trabajo, mostraron que la concentración de ácido siálico plasmático total en los sujetos prediabéticos es superior (77.25 mg/dL) que la de sujetos normoglicémicos pareados por índice de masa corporal, edad y género (69.25 mg/dL). El aumento en la concentración de ácido siálico total y ligado, correlacionó con el incremento en la concentración de la enzima α -2,6 sialiltransferasa en los pacientes con prediabetes incluidos en este estudio, lo que podría sugerir que la tasa de sialilación de las globulinas está incrementada a expensas del aumento de α -2,6 sialiltransferasa en los pacientes con prediabetes, ya que la concentración de α -2,6 sialiltransferasa en los pacientes con prediabetes fue significativamente superior [1.73 (0.01,0.05) ng/mL] a la de los controles [1.72 (0.00, 0.001) ng/mL]. No obstante los resultados anteriores, es importante considerar que en este estudio fueron incluidos únicamente 28 pacientes con prediabetes, por lo que es necesario realizar investigaciones con poblaciones mayores para confirmar esta información.

INTRODUCCIÓN

La prediabetes se caracteriza por hiperglicemia crónica, en una concentración intermedia entre las concentraciones completamente normales de glucosa en sangre y la diabetes mellitus (ADA, 2015). La prediabetes es el principal factor de riesgo de la diabetes y engloba tanto la alteración de la glucosa en ayuno como la intolerancia a la glucosa (González., 2011). La prevalencia mundial de prediabetes en 2013 fue de 316 millones de personas (Federación Internacional de Diabetes, 2013). En México se pronostica que para el año 2030 el número de individuos con intolerancia a la glucosa incrementará en un 60% (González, 2011).

En la prediabetes se presentan diversos cambios metabólicos; además de la alteración en la glicemia, se encuentran comúnmente la resistencia a la insulina, dislipidemia y estrés oxidativo (Bergman, 2013). Por consiguiente, el estado prediabético es una condición proinflamatoria en el cual usualmente se encuentra elevada la concentración de ácido siálico sérico (Rajappa y col., 2013). El ácido siálico (SA, por sus siglas en inglés) es la molécula con la que se identifica a todos los N-acil derivados del ácido neuramínico; se encuentra ligado en más del 70% del total de proteínas de fase aguda así como a la mayoría de las glicoproteínas séricas (Browning y col., 2004). La enzima sialiltransferasa es la encargada de la adición de ácido siálico a las glicoproteínas, en el Aparato de Golgi (Li y col., 2012).

Rajappa y col., en el 2013, reportaron una mayor concentración de ácido siálico sérico, total y ligado a proteínas, en pacientes que no fueron diagnosticados con prediabetes pero que de acuerdo con los criterios de la ADA 2015 tendrían que serlo. Estos datos son relevantes porque fueron los primeros reportados en la literatura y permiten proponer la hipótesis de que la elevación del ácido siálico ligado, y por ende del ácido siálico total, están relacionados con el aumento en la concentración y/o actividad de la enzima α -2,6 sialiltransferasa. Por lo tanto, la demostración de esta relación es necesaria para profundizar en el origen metabólico de la hipersialilación de las glicoproteínas y el aumento del ácido siálico sérico, pero también para iniciar estudios que permitan conocer el valor diagnóstico y pronóstico de estas biomoléculas en el manejo de la prediabetes.

OBJETIVOS

Objetivo General

Estimar la concentración de la enzima α -2,6 sialiltransferasa plasmática y del ácido siálico total y ligado a proteínas en pacientes con prediabetes, para demostrar que el aumento en la concentración de ambas fracciones de ácido siálico se relaciona con el incremento en la concentración de la enzima.

Objetivos Particulares

- Estimar y comparar los niveles de ácido siálico plasmático total y ligado a proteínas entre un grupo de pacientes prediabéticos y un grupo control de sujetos normoglicémicos.
- Estimar y comparar la concentración de la enzima α -2,6 sialiltransferasa plasmática entre los pacientes y el grupo control.
- Determinar si la concentración de la enzima α -2,6 sialiltransferasa plasmática está relacionada con los niveles de ácido siálico plasmático total y ligado a proteínas.

REVISIÓN DE LA LITERATURA

Definición de Prediabetes

La prediabetes es el estado disglucémico que precede a la aparición de la diabetes tipo 2 (DT2) (Bishop y col., 2010; Rosas y col., 2009). Se caracteriza por la elevación de la concentración de glucosa sanguínea por arriba de los niveles normales, sin alcanzar los valores diagnósticos de la diabetes tipo 2 (ADA, 2014; Rosas y col., 2009; Tabak y col., 2012). La definición se ajusta adecuadamente al concepto de enfermedad e incluye a aquellos pacientes que presentan glucemia basal alterada y pacientes que presentan intolerancia a la glucosa (Bishop y col., 2010; Eldwin y col., 2008). Por lo tanto su presencia se asocia con el incremento en la mortalidad y morbilidad (Eldwin y col., 2008). Es decir, con relación a la normoglicemia, el padecer prediabetes incrementa la probabilidad, entre el tres y el 10% de desarrollar diabetes en el futuro (Eldwin y col., 2005; González, 2011).

El número de pacientes prediabéticos, es cada vez mayor en el mundo. En el 2013, la Federación Internacional de la Diabetes (FID) estimó la prevalencia global de prediabetes en 316 millones de personas, principalmente en Europa, Asia y América del Norte (Figura 1). Además, la FID estima que para el 2030 esta cifra aumentará a 471 millones de personas (FID, 2014).

La mayoría de las personas que padecen prediabetes tienen en promedio 50 años de edad; se estima que en este grupo la prevalencia aumentará significativamente hacia el año 2035 (Figura 2) (FID, 2014). En el caso de México, se calcula que para 2030 el número de individuos con intolerancia a la glucosa se habrá incrementado en un 60% (Figura 3) (González, 2011). En Sonora la prevalencia de prediabetes en 2012 por la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición en la población de 40 a 59 años de edad fue de 8.9% para hombres y 10.9% para mujeres, aumentando en la población de 60 años o más, 21.4% para hombres y 22.7% para mujeres.

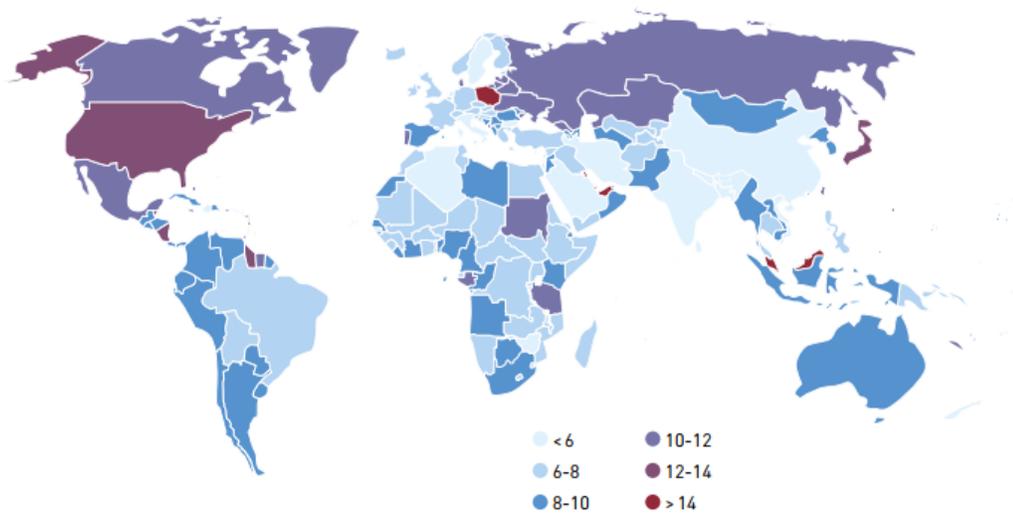


Figura 1. Mapa representando la prevalencia (%) de la tolerancia a la glucosa en el 2013 a nivel mundial en personas de 20 a 79 años de edad. (Fuente: Federación Internacional de la Diabetes, 2013).

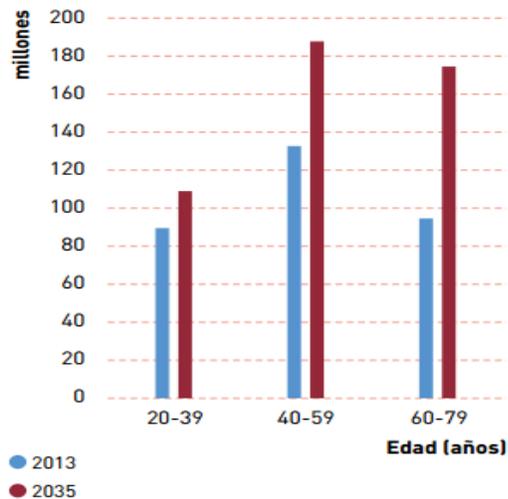


Figura 2. Número de personas con tolerancia anormal a la glucosa por edad (20-79 años) durante el 2013 y el pronóstico para el 2035 a nivel mundial. (Fuente: Federación Internacional de Diabetes, 2013).

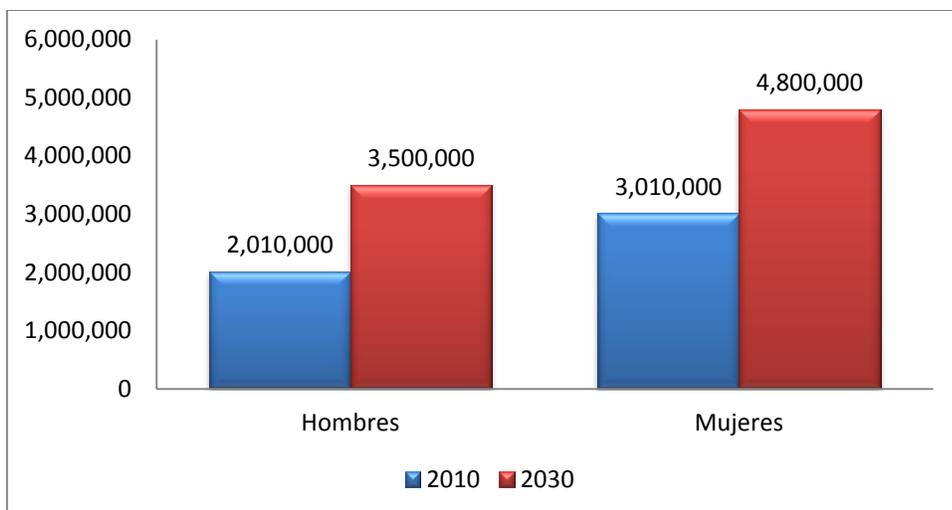


Figura 3. Número de sujetos con intolerancia a la glucosa en hombres y mujeres en México. (Fuente: Atlas de Diabetes de la Federación Internacional de Diabetes, 2009).

En estudios realizados en la población indígena mexicana se ha encontrado que la prevalencia de intolerancia a la glucosa es del 9.9% y la de alteración de la glucosa en ayuno es del 4.7%. Por otra parte se calcula que por cada seis o siete de estos adultos indígenas, uno de ellos padece prediabetes. Considerando estas últimas cifras sumadas a la prevalencia de diabetes, estimada en un 8.2% en esta población, se hace evidente que existe una problemática en la población mexicana en cuanto a alteraciones en el metabolismo de la glucosa (González, 2011).

La Asociación de Diabetes Americana (ADA), la Asociación Americana de Endocrinólogos Clínicos (AACE, por sus siglas en inglés) y la OMS (Organización Mundial de la Salud), han aceptado que el estado prediabético (o prediabetes) es una entidad nosológica debido a su elevada frecuencia y su valor predictivo en la morbilidad y mortalidad poblacional (Calderín y col., 2011).

El estado prediabético se caracteriza por fenómenos como la resistencia a la insulina y la intolerancia a la glucosa (Grundy, 2012). La resistencia a la insulina se define como la dificultad en los tejidos para responder a la acción de esta hormona, presentándose disminución en la captación de glucosa, alteraciones en su metabolismo y en su almacenamiento (Kumar y col., 2008). La resistencia puede ser de dos tipos, resistencia a la insulina hepática y resistencia de tipo periférica. Esta última puede manifestarse a nivel del músculo esquelético y tejido

adiposo. Cuando se presenta la resistencia a la insulina, el páncreas es capaz de aumentar la secreción de la hormona (hiperinsulinemia) para mantener los niveles de glucosa normales en el suero (Tabak y col., 2012). Este periodo de adaptación puede durar por algún tiempo, pero si la enfermedad evoluciona las células β pancreáticas se vuelven incapaces de compensar la resistencia y la producción de la hormona disminuye (Tabak y col., 2012). La intolerancia a la glucosa es un proceso asociado con la resistencia a la insulina (González y col., 2011) y se define como el aumento de la glicemia entre 140 y 199 mg/dL (ADA, 2015), que se presenta en condiciones posprandiales dos horas después de la ingesta de una cantidad estandarizada de glucosa anhidra (González, 2011; Nathan y col., 2007; Rubio, 2004). La resistencia a la insulina también puede expresarse mediante la alteración de la glicemia en ayuno entre 100 y 125 mg/dL (ADA, 2015).

Así, la prediabetes puede diagnosticarse mediante la determinación de los niveles glucosa sanguínea en ayuno, la realización de una prueba de tolerancia a la glucosa y la cuantificación de la hemoglobina glicada en sangre (porque mide indirectamente la glicemia preprandial promedio de 120 días) (ADA, 2015; González, 2011).

Factores de Riesgo de Prediabetes

Según la Organización Mundial de Salud (OMS), un factor de riesgo para la salud es cualquier rasgo, característica o exposición de un individuo que aumente su probabilidad de sufrir una enfermedad. En el caso de la prediabetes, los factores de riesgo se clasifican en dos grupos en función de su origen: controlables y no controlables.

Factores de Riesgo no Controlables

Entre los factores de riesgo no controlables se encuentra la predisposición por grupo étnico (predisposición genética) (ADA, 2005a; ADA, 2015b; AMDJ; González, 2011; Rosas y col., 2009), ya que se ha observado que las poblaciones más susceptibles de padecer diabetes son los americanos, africano-americanos, asiático-americanos, isleños del pacífico y mexicano-americanos, entre otros en Estados Unidos (González, 2011). Cowie y col., (2009) reportaron datos de la NHANES (National Health and Nutrition Examination Survey) 2009, que muestran que la prevalencia más alta de prediabetes de la población estadounidense se encuentra en el grupo mexicano-americano, seguido por blancos no hispanos y en último lugar en negros no hispanos (Tabla 1). En ese país, la población con mayor prevalencia de prediabetes sumada con la prevalencia de diabetes fue la población mexicana-americana (Tabla 1) (Cowie y col., 2009).

Tabla 1. Prevalencia de diabetes mellitus tipo 2 y prediabetes en grupos étnicos en Estados Unidos de Norteamérica.

Raza/Etnia por edad (años)	Diabetes (%)	Prediabetes (%)	Total de diabetes y prediabetes (%)
Blancos no hispanos			
≥ 12	5.2 (4.3–6.1)	26.2 (23.1–29.3)	35.7 (32.0–39.5)
≥ 20	6.0 (5.0–7.0)	27.7 (24.4–31.0)	38.7 (34.8–42.5)
Negros no hispanos			
≥ 12	12.0 (10.4–13.7)	23.3 (20.7–25.9)	39.4 (36.8–42.0)
≥ 20	13.9 (12.0–15.9)	25.4 (22.5–28.2)	44.1 (41.2–46.9)
Mexicanos americanos			
≥ 12	10.9 (8.7–13.1)	29.9 (25.2–34.5)	47.3 (41.0–53.6)
≥ 20	12.6 (10.0–15.2)	32.0 (26.5–37.4)	52.0 (44.5–59.6)

*Nota: Se consideraron como prediabéticos sujetos que presentaron intolerancia a la glucosa o alteración de la glucosa en ayuno. (Fuente: NHANES, 2009; Cowie y col., 2009)

El sexo y la edad se incluyen dentro de los factores no controlables. Según la FID, la prevalencia y el riesgo de padecer prediabetes aumentan al incrementarse la edad, principalmente a partir de los 40 años, en ambos sexos. Sin embargo, las mujeres presentan mayor probabilidad de prediabetes con respecto a los hombres (Figura 4) (FID, 2014). El peso al nacer superior a 4 kg y menor de 2.5 kg, es otro factor de riesgo no controlable de enfermedad cardiovascular (FID, 2014).

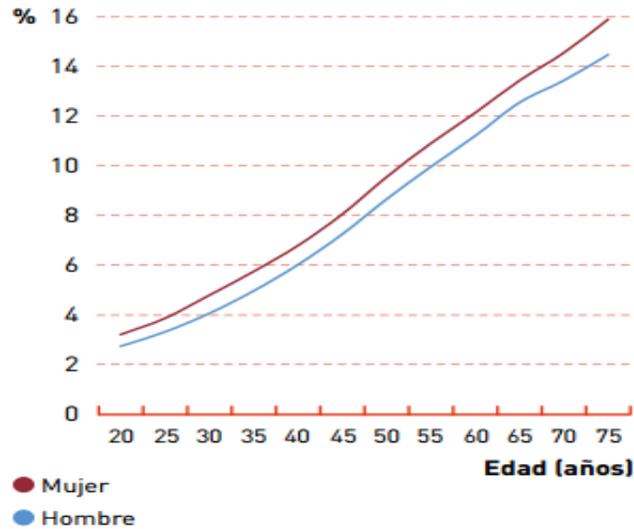


Figura 4. Tolerancia anormal a la glucosa por edad (20-79 años) y sexo a nivel mundial.
(Fuente: Federación Internacional de Diabetes, 2013)

Factores de Riesgo Controlables

Estos factores se relacionan con el estilo de vida, entre ellos se encuentran el sobrepeso y la obesidad central (circunferencia de cintura >90 cm en hombres y >80 cm en mujeres) (ADA, 2005; AMDJ; González, 2011; Rosas y col., 2009). Estos suelen acompañarse por otro factor modificable, el índice de masa corporal, que incrementa la posibilidad de padecer prediabetes cuando se alcanza un valor superior a 25 kg/m² (Rosas y col., 2009; ADA, 2015). La obesidad o el sobrepeso, provocan desequilibrios entre la producción y la liberación endógena de insulina, además de disminución en la sensibilidad a la insulina en los tejidos periféricos. Estas manifestaciones clínicas son esenciales para el desarrollo del estado prediabético. Otros factores de riesgo modificables que se suman a la lista son la dislipidemia (triglicéridos >250 mg/dL ó 2.82 mmol/dL y HDL <35 mg/dL ó 0.90 mmol/L) (ADA, 2009a; ADA, 2015b; Rosas y col., 2009), la mala alimentación, el sedentarismo (ADA, 2009a; ADA, 2015b; González, 2011) el tabaquismo y el consumo de alcohol (Asociación Mexicana de Diabetes en Jalisco).

Criterios de Diagnóstico de la Prediabetes

La Asociación Americana de Diabetes (ADA) en el 2015, actualizó los criterios de diagnóstico para la prediabetes y diabetes. La detección temprana de estas enfermedades puede realizarse mediante tres pruebas de laboratorio que son: la cuantificación de glucosa en ayuno en plasma (Fasting plasma glucose, FPG por sus siglas en inglés), la prueba de tolerancia oral a la glucosa (Oral glucose tolerance test, OGTT por sus siglas en inglés) y la hemoglobina glicada (Hemoglobin A1c, HbA1c por sus siglas en inglés). Una vez que ha sido diagnosticada la prediabetes es recomendable realizar el monitoreo anual de al menos uno de los tres indicadores (FPG, OGTT o HbA1c) para prevenir el desarrollo de la diabetes tipo 2 (ADA, 2015). A continuación se explicará el fundamento y los puntos de corte de las tres pruebas para el diagnóstico y control de la prediabetes.

Glucosa Plasmática en Ayuno

La prueba de glucosa en ayuno consiste en cuantificar la concentración de glucosa en sangre en ayuno de al menos ocho horas. La ADA establece que para realizar el diagnóstico de prediabetes, los niveles de FPG deben encontrarse en un rango de 100 a 125 mg/dL (5.6 a 6.9 mmol/L). Por debajo de este intervalo se considera que el valor de la glicemia es normal y por arriba de este rango (>126 mg/dL o su equivalente 6.9 mmol/L) se establece el diagnóstico de diabetes (Tabla 2) (ADA, 2015).

Tabla 2. Puntos de corte de la prueba de glucosa plasmática en ayuno, para el diagnóstico de prediabetes y diabetes.

Interpretación	Resultados de la Prueba Glucosa Plasmática en Ayuno
Normal	<100 mg/dL (5.6mmol/L)
Prediabetes	100 mg/dL (5.6 mmol/L) a 125 mg/dL (6.9mmol/L)
Diabetes	≥126 mg/dL (7.0 mmol/L)

(Fuente: Asociación Americana de Diabetes, 2015)

Los individuos que presentan alteración de la glucosa en ayuno, exhiben niveles de glucosa y de insulina en ayuno superiores a los valores normales ($<20 \mu\text{U/ml}$) (Rubio y col., 2005; Wallach, 2003). Es importante recordar que durante el ayuno, los requerimientos energéticos del metabolismo celular son suministrados por la glucosa procedente del hígado (glucogenólisis y gluconeogénesis), por ácidos grasos (lipólisis) y cuerpos cetónicos en menor grado (oxidación de ácidos grasos) (Pallardo y col., 2010). Los sujetos con alteración de la FPG suelen presentar aumento acelerado de la glicemia después de ingerir alimento, pero después de dos horas los valores de glucosa vuelven a la normalidad. Esto es porque a nivel hepático se presenta una marcada resistencia a la insulina, pero en el tejido muscular la sensibilidad a la insulina se encuentra normal (González, 2011).

Por otra parte, recordemos que la insulina se libera en dos fases, la primera fase llamada rápida o temprana y la segunda fase llamada tardía (González, 2011). La primera fase dura de cinco a 10 min y corresponde a la liberación de la insulina almacenada en las células β pancreáticas. La segunda fase de secreción tiene una duración de alrededor de dos horas (si el estímulo glucémico está presente) para liberar la insulina sintetizada *in situ* (González, 2011). En los sujetos con alteración de la FPG está reducida la secreción de insulina sólo en la primera fase, pero la segunda fase es supranormal (González, 2011). La resistencia a la insulina hepática y la disminución de la secreción de la insulina en la fase temprana, conllevan a la producción excesiva de glucosa, produciendo así la hiperglucemia en ayuno (Nathan y col., 2007). En la prediabetes, tanto la hiperglicemia como la disminución en la sensibilidad a la insulina hepática son leves sin embargo, si estas alteraciones se vuelven persistentes, la prediabetes puede evolucionar a diabetes en el transcurso de cinco a diez años (González, 2011).

Prueba de Tolerancia Oral a la Glucosa

Esta prueba se utiliza para evaluar la tolerancia a la glucosa de aquellos individuos que en ayuno presentan una concentración de glucosa en el plasma en el intervalo de 100 mg/dL (5.6mmol/L) a 125 mg/dL (6.9 mmol/L), para definir con mayor precisión el estado prediabético (ADA, 2014; ADA, 2015; Wallach, 2003).

La prueba de tolerancia oral a la glucosa consiste en administrar al paciente una carga de glucosa anhidra de 75 g diluida en 300 mL de agua, que debe ingerirse en menos de cinco minutos (Arriaga y col., 2007; Rosas y col., 2009). Para realizar esta prueba el paciente debe presentarse al examen con un periodo de ayuno de 10-12 h aproximadamente (Arriaga, 2007).

Después se toman muestras de sangre a intervalos regulares de tiempo a partir de la toma basal en ayuno, por ejemplo, se toma la segunda muestra después de transcurrida una hora y una tercera muestra a las dos horas o, en el mejor de los casos, cada 30 min hasta las dos horas (cinco muestras en total incluyendo la basal) (ADA, 2014a; ADA, 2015b; Arriaga, 2007). La ADA recomienda establecer el diagnóstico de prediabetes si la glicemia a las dos horas se encuentra en el rango de 140 a 199 mg/dL (11.0 mmol/L a 7.8 mmol/L) como se muestra en la Tabla 3. Si el resultado es inferior a 140 mg/dL, la glicemia posprandial se considera normal, pero si el valor es superior a ≥ 200 mg/dL (11.1 mmol/L) se realiza el diagnóstico de diabetes (ADA, 2015).

Tabla 3. Puntos de corte de la prueba de tolerancia a la glucosa, para el diagnóstico de la prediabetes y diabetes.

Interpretación	Resultados de la Prueba de Tolerancia Oral a la Glucosa
Normal	<140 mg/dL (7.8 mmol/L)
Prediabetes	140 mg/dL (7.8 mmol/L) a 199 mg/dL (11.0 mmol/L)
Diabetes	≥ 200 mg/dL (11.1 mmol/L)

(Fuente: Asociación Americana de Diabetes, 2015)

En los individuos con intolerancia a la glucosa, la glicemia se eleva de manera rápida en el torrente circulatorio y continúa después del consumo de alimentos, sin descender a los valores normales (<140 mg/dl) después de transcurridas las dos horas (González, 2011). Esto se debe a que presentan resistencia a la insulina muscular moderada o severa a pesar de que la sensibilidad a la insulina hepática está ligeramente reducida o normal (González, 2011; Nathan y col., 2007) combinada con la resistencia a la insulina, provoca la disminución de la captación de glucosa en el tejido muscular (Nathan y col., 2007).

Además, los pacientes con prediabetes presentan alteración en la secreción de la insulina en la fase temprana y déficit grave de la secreción de insulina en la fase tardía. La secreción defectuosa de insulina en la fase tardía (González, 2011).

En los individuos con intolerancia a la glucosa, la glicemia se eleva de manera rápida en el torrente circulatorio y continúa después del consumo de alimentos, sin descender a los valores normales (<140 mg/dl) después de transcurridas las dos horas (González, 2011). Esto se debe a que presentan resistencia a la insulina muscular moderada o severa a pesar de que la sensibilidad a la insulina hepática está ligeramente reducida o normal (González, 2011; Nathan y col., 2007). Además, presentan alteración en la secreción de la insulina en la fase temprana y déficit grave de la secreción de insulina en la fase tardía. La secreción defectuosa de insulina en la fase tardía, combinada con la resistencia a la insulina, provoca la disminución de la captación de glucosa en el tejido muscular (Nathan y col., 2007).

Prueba de la Hemoglobina Glicada

La medición de la hemoglobina glicada permite estimar la glicemia de los últimos dos o tres meses. La cuantificación de la HbA1c tiene la ventaja de que se puede realizar en muestras sanguíneas tomadas a cualquier hora del día (Bishop y col., 2010). En esta prueba se mide el producto que se forma cuando la valina N-terminal de la hemoglobina (proteína) reacciona espontáneamente con la glucosa (azúcar reductor) formando una cetoamina, que tras rearrreglos internos se estabiliza haciendo la unión irreversible entre la hemoglobina y la glucosa. La tasa de formación de la HbA1c depende de la concentración de glucosa en el torrente circulatorio y de la vida de los eritrocitos, por ello es una medida retrospectiva confiable de la glicemia cuando la supervida eritrocitaria no está afectada (Bishop y col., 2010).

La prediabetes se diagnóstica cuando los niveles de HbA1c se encuentran en un rango de 5.7 a 6.4%. La diabetes se establece cuando los valores son mayores a 6.5% y se dice que un sujeto es normoglucémico cuando la HbA1c es inferior a 5.7%. En la Tabla 4 se muestran los puntos de corte para el diagnóstico de prediabetes y diabetes establecidos por la ADA.

Tabla 4. Puntos de corte de la prueba de HbA1c para el diagnóstico de la prediabetes y diabetes.

Interpretación	Resultados de la Prueba de Hemoglobina Glicada
Normal	<5.7%
Prediabetes	5.7% a 6.4%
Diabetes	≥6.5%

(Fuente: Asociación Americana de Diabetes, 2015)

Alteraciones Metabólicas de la Prediabetes

En el estado prediabético se presentan diversos cambios metabólicos entre los cuales se encuentran la alteración del metabolismo de la glucosa, la resistencia a la insulina, la alteración en el metabolismo de lípidos y el estrés oxidativo. Estas modificaciones repercuten principalmente en el riesgo de diabetes y de enfermedades cardiovasculares. Para comprender mejor las alteraciones metabólicas asociadas a la prediabetes, revisaremos brevemente los aspectos relevantes de la homeostasis de la glicemia.

Los combustibles metabólicos más importantes para el organismo son la glucosa y los ácidos grasos. La glucosa es utilizada preferentemente por el cerebro y los músculos. Por lo tanto, para asegurar un suministro continuo y seguro de glucosa a ambos tejidos, esta molécula es almacenada temporalmente en forma de glucógeno en el hepatocito (Kawahito y col., 2009). Los lípidos son almacenados en forma de acilglicéridos en los adipocitos y sólo son removidos de sus sitios de almacenamiento cuando hay un déficit crítico de glucosa (Arner, 2003).

La homeostasis de la glucosa se mantiene por la interacción coordinada de tres procesos fisiológicos: la secreción de insulina, la captación de glucosa en los tejidos y su producción y liberación a nivel plasmático. El cuerpo trata de mantener un suministro constante de energía para las células manteniendo relativamente constantes los niveles de glucosa que se encuentran en sangre. El balance normal de la glucosa, está representado por el equilibrio entre diferentes procesos: absorción de la glucosa en el intestino, la utilización de la misma por

parte de los tejidos (glucólisis, la vía de las pentosas fosfato, el ciclo de los ácidos tricarboxílicos, y la síntesis de glucógeno) y su formación endógena (glucogenolisis y gluconeogénesis) (Kawahito y col., 2009) La alteración sostenida de cualquiera de estos procesos contribuye al desarrollo de un estado disglucémico que puede traducirse, de acuerdo con su etapa evolutiva, en prediabetes o diabetes.

Ácido Siálico y su Relación con Prediabetes

Descripción de Ácido Siálico

El término “ácido siálico” etimológicamente proviene del griego «sialos» cuyo significado es saliva. El compuesto fue descubierto por Blix en 1936, cuando lo aisló de la mucina bovina de las glándulas submaxilares y por Klenk, en 1941, al aislar un derivado del ácido neuramínico a partir de glicolípidos del cerebro de pacientes que habían muerto por la enfermedad de Tay-Sachs (Reglero y col., 2009). El ácido siálico es una molécula de gran importancia dentro del reino animal y cumple importantes funciones en el metabolismo de algunos microorganismos. Hoy en día el término ácido siálico comprende una familia de más de 50 compuestos naturales que tienen en común un esqueleto de nueve carbonos (ácido neuramínico). El ácido siálico más común es el ácido N-acetilneuramínico abreviado habitualmente como Sia, Neu5Ac, NeuNAc, NeuAc o NANA (Reglero y col., 2009).

El ácido siálico exhibe en su estructura un anillo piranósico constituido por cinco carbonos y un oxígeno formado por un enlace hemiacetal en conformación de silla como se muestra en la Figura 5. El ácido siálico presente en los glicoconjugados que existen en la naturaleza, se encuentra sólo en configuración alfa (α), excepto en un donador rico en energía, el CMP-ácido siálico, que tiene el carbono anomérico en configuración beta (β) (Reglero y col., 2009) Este carbohidrato se localiza comúnmente en el extremo terminal de las cadenas de oligosacáridos de todos los tipos de células. Este azúcar ácido suele decorar las superficies de las células y las proteínas que son secretadas por vertebrados e invertebrados, mediando y modulando diversos procesos fisiológicos y patológicos (Varki, 2008).

En las cadenas de oligosacáridos de los glicoconjugados, el ácido siálico puede estar unido en posición α -2,3 ó α -2,6 a residuos de galactosa (Gal); en enlace α -2,6 a residuos de N-acetil galactosamina (GalNac) y ligado en forma α -2,8 a otros residuos de ácido siálico.

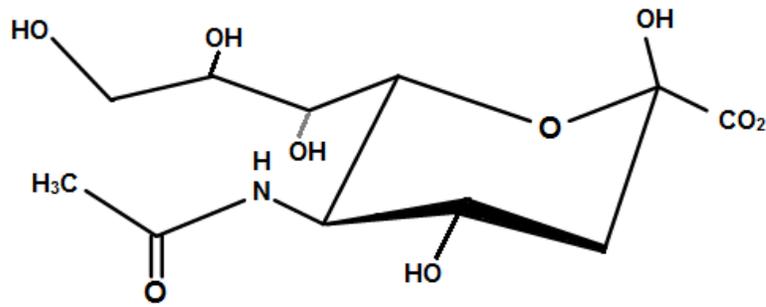


Figura 5. Estructura química del ácido siálico. (Fuente: Buschiazzo y col., 2008)

Los diferentes tipos de enlace que puede formar esta molécula así como la variedad de formas que existen en la familia de este carbohidrato dan origen a una diversidad de glicoconjugados (López y col., 2007).

La transferencia del ácido siálico a los oligosacáridos (sialilación) ocurre a partir del azúcar donador activado CMP-NeuAc. La reacción es catalizada por una familia de enzimas llamadas sialiltransferasas (STs) que se encuentran ancladas a la membrana del Aparato de Golgi. Actualmente se conocen 20 isoformas de sialiltransferasa, que presentan diferencias en la afinidad por el sustrato que reconocen y se clasifican en función del tipo de enlace que forman (Li y col., 2012; López y col., 2007).

Función Metabólica del Ácido Siálico

La expresión de estructuras con ácido siálico está regulada en espacio y tiempo, la presencia de este carbohidrato en un momento particular, es el resultado del balance total entre las actividades de las sialiltransferasas y las sialidasas (neuraminidasas) que eliminan el ácido siálico de los oligosacáridos, así como de la competencia con otras glicosiltransferasas en el Aparato de Golgi, en donde se lleva a cabo el proceso de sialilación. Las estructuras sialiladas se expresan de manera específica en cada tejido y modulan diferentes fenómenos celulares como la activación y diferenciación celular (López y col., 2007).

En la Figura 6, se muestra una visión general del metabolismo del ácido siálico. La ruta biosintética del ácido siálico, acoplada a la sialilación, tiene lugar a través de las siguientes reacciones: a) síntesis de ManNAc, b) síntesis de ManNAc-6P, c) síntesis de Neu5Ac, d)

activación del monómero CMP-Neu5Ac y por último e) transferencia del Neu5Ac a un aceptor (Reglero y col., 2009).

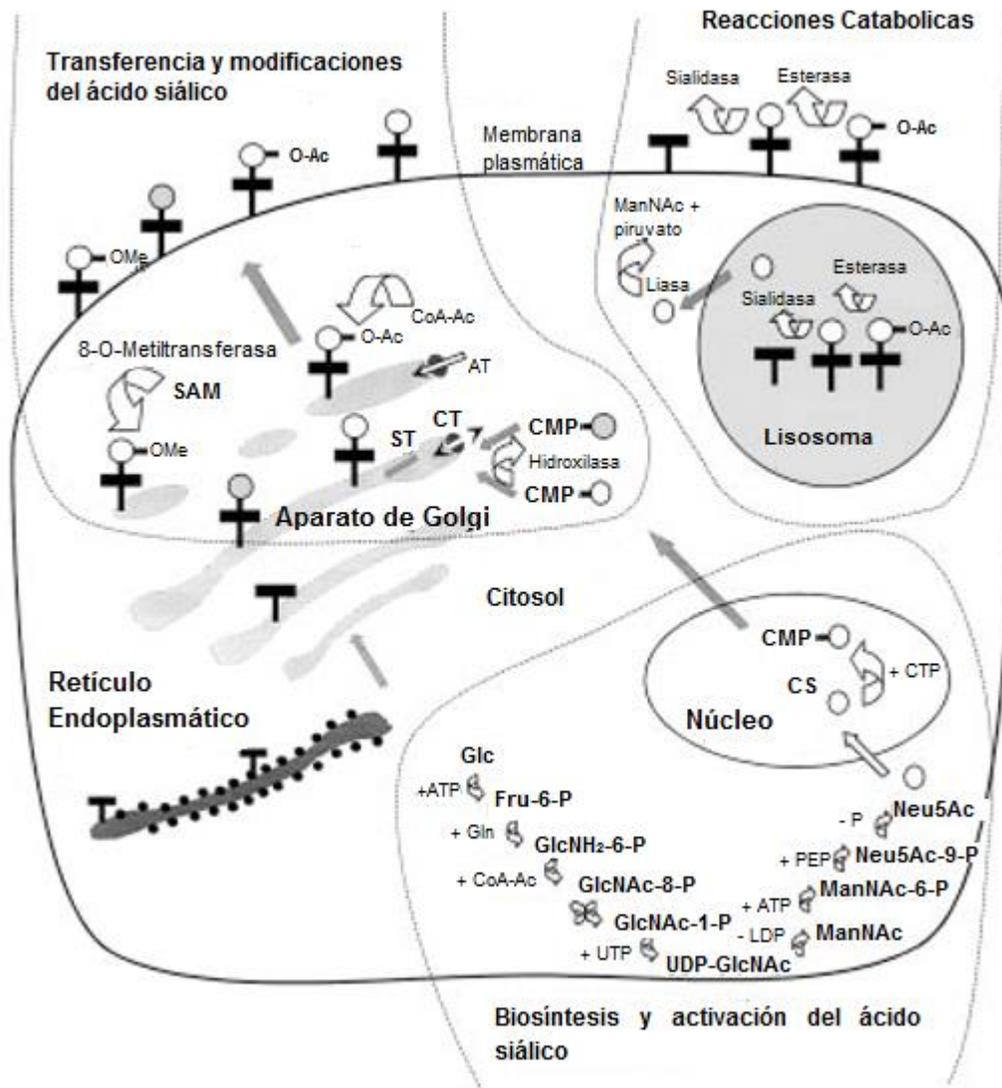


Figura 6. Metabolismo del ácido siálico. Se resume en el orden de las siguientes reacciones: síntesis de ManNAc, síntesis de ManNAc-6O, síntesis de Neu5Ac, activación del monómero CMP-Neu5Ac y por último la transferencia del Neu5Ac a un aceptor (Reglero y col., 2009).

(Fuente: Schauer, 2000)

Tal como se muestra en la Figura 6, la síntesis de Neu5Ac (ácido siálico) comienza con la fosforilación de ManNAc, por la acción de la enzima ManNAc cinasa obteniéndose N-acetil-D-manosamina-6-fosfato (ManNAc-6P). El sustrato ManNAc fue previamente sintetizado a partir de glucosa, que por reacciones enzimáticas se transformó en UDP-N-acetil-glucosamina (UDP-GlcNAc) y luego, por acción de la enzima UDP-GlcNAc-2-epimerasa, se transformó en el producto ManNAc en el citosol (Reglero y col., 2009).

Al ser fosforilado ManNAc, se obtiene ManNAc-6P que tras condensarse con una molécula de fosfoenol piruvato da origen al ácido N-acetilneuraminico-9-fosfato (Neu5Ac-9P), mediante la acción de la enzima Neu5Ac-9P sintetasa. En el siguiente paso, el ácido Neu5Ac-9P es desfosforilado por la enzima Neu5Ac-9P fosfatasa para la obtención de Neu5Ac (ácido siálico) (Reglero y col., 2009).

La forma activa de ácido siálico, CMP-ácido siálico, se produce por la reacción entre el citidín trifosfato (CTP) y el Neu5Ac en el núcleo de la célula por acción de la enzima CMP-sintetasa. Cabe destacar que durante su biosíntesis, el CMP-Neu5Ac puede sufrir diferentes modificaciones, por ejemplo, transformarse en CMP-NeuGc por acción de la enzima CMP-NeuAc hidroxilasa en el citosol. Finalmente, el proceso de sialilación (incorporación del ácido siálico a la cadena oligosacárida en crecimiento) se produce cuando la enzima sialiltransferasa incorpora al ácido siálico en su forma activa (CMP-Neu5Ac) a las cadenas de oligosacáridos de las glicoproteínas y glicolípidos en el Aparato de Golgi (Reglero y col., 2009; Schauer, 2004a; Schauer, 2000b).

Por otro lado, la degradación de sialoconjugados es realizada por la acción de enzimas llamadas sialidasas o neuraminidasas que pueden ser de tipo extracelular o intracelular. Las sialidasas intracelulares son llamadas endosialidasas y cumplen la función de hidrolizar los enlaces de ácido siálico en posición α -2,8 (Reglero y col., 2009). Las sialidasas extracelulares reciben el nombre de exosialidasas y se encargan de remover el ácido siálico terminal en posición α -2,3, α -2,6 y α -2,8 de las glicoproteínas, glicopéptidos, gangliósidos, oligosacáridos y polisacáridos (Reglero y col., 2009). El ácido siálico puede presentar sustituyentes en su estructura, que pueden ser removidos por otras enzimas. Por ejemplo, los grupos O-acetilo pueden ser eliminados por la acción de esterasas, las cuales se encuentran distribuidas en una variedad de tejidos (Reglero y col., 2009; Schauer, 2004).

A nivel fisiológico el ácido siálico modula la vida media de las glicoproteínas del torrente sanguíneo y glicoproteínas circulantes, de la siguiente manera: El hígado normalmente produce

glicoproteínas que se encuentran sialiladas y las segrega a la circulación sanguínea (Varki, 2008). Posteriormente cuando estas proteínas han cumplido su tiempo de vida media este mismo órgano se encarga de degradarlas y catabolizarlas (Meijer y col., 1982). Esto se logra primeramente por la acción de la neuraminidasa, que libera al ácido siálico terminal de las cadenas de oligosacáridos provocando la exposición de residuos β -galactosa. Al exponerse, la β -galactosa actúa como ligando de los receptores de asialoglicoproteínas que se encuentran de manera abundante en la membrana de las células de Kupffer. Una vez que se da la interacción entre el residuo de β -galactosa del oligosacárido con el receptor hepático, la asialoglicoproteína es internalizada dentro de la célula logrando su remoción del torrente circulatorio (Meijer y col., 1982; Sorensen y col., 2009).

Por lo tanto las concentraciones relativas de células sanguíneas, glicoproteínas y glicolípidos en el torrente sanguíneo, están determinadas por la exposición de los residuos de β -galactosa tras el proceso de desialilación, así como también por la tasa de captación por parte de los receptores de asialoglicoproteínas que realizan el proceso de aclaramiento (Lutz y col., 2013; Sorensen y col., 2009). En consecuencia, no es sorprendente que algunas patologías estén relacionadas con cambios en el patrón de glicosilación de los glicanos (Varki y col., 2009).

Importancia Biológica del Ácido Siálico

El ácido siálico terminal presente en las glicoproteínas y gangliósidos de las membranas celulares tiene gran importancia en la biología celular, ya que participa en múltiples eventos de reconocimiento celular al interactuar con los componentes de otras superficies celulares, sustancias extracelulares y efectores (Reglero y col., 2009). Por ejemplo, el ácido siálico aporta acidez e influye en la microheterogeneidad de glicoconjugados. Además, les concede una serie de propiedades específicas que en muchos casos les permiten actuar como receptores de moléculas como interferón, toxinas bacterianas e incluso moléculas de patógenos. Además su presencia contribuye a la antigenicidad de grupos sanguíneos específicos. El ácido siálico también interviene en las interacciones célula-célula vinculadas con la diferenciación celular y el desarrollo organogénico (Reglero y col., 2009; Varki, 2008).

El ácido siálico le confiere carga negativa a los eritrocitos humanos y a otros tipos de células ocasionando repulsión entre sí mismas y previniendo interacciones no deseadas en el torrente circulatorio. Además, la carga negativa junto con el carácter hidrofílico del ácido siálico, contribuye a las propiedades reológicas del moco de los compartimientos de las vías respiratorias, que son útiles para la lubricación y captura de agentes patógenos o agentes

contaminantes. Por otro lado, el alto contenido de ácido siálico en la membrana basal glomerular tiene un papel crítico en el mantenimiento de la función renal. Sin embargo, las extensas cadenas de ácidos polisiálicos puede afectar la plasticidad neuronal (Varki, 2008).

Muchos de los eventos de reconocimiento celular son favorecidos gracias a que el ácido siálico es un componente de la mayoría de las selectinas, involucradas en los eventos de migración leucocitaria en el endotelio vascular. De igual manera, el ácido siálico también funciona como ligando en la familia Siglecs (Sialic acid-binding immunoglobulin-type lectins), participando en los procesos de adhesión celular implicados en la regulación del sistema inmune y en la activación de leucocitos. La evidencia sugiere que la acción de estas moléculas está regulada por la disminución del contenido de ácido siálico de las superficies celulares, promovido posiblemente por sialidasas específicas (Varki, 2008). Otros eventos fisiológicos parecen facilitarse cuando el ácido siálico aumenta. Es por todo esto que la homeostasis del ácido siálico es crucial para el correcto funcionamiento de muchos procesos metabólicos en el organismo.

Ácido Siálico y su Posible Relación con la Prediabetes

En distintas enfermedades los niveles de ácido siálico en suero pueden modificarse. Aún no se ha establecido el rango normal de ácido siálico sérico pero en diversos trabajos, como el de Pönnio y colaboradores, se presentan avances en la definición de los puntos de corte en personas sanas, por género y por estratos de edad (Tabla 5). En 97 mujeres, se observó que la media y la desviación estándar fue de 634 ± 108.6 mg/L, mientras que en un grupo de 96 hombres fue de 630 ± 106.4 mg/L. A partir de los 45 años de edad, en el sexo femenino los niveles de ácido siálico comienzan a incrementarse, este cambio podría estar asociado con la menopausia. Sin embargo, las elevaciones que se presentan en hombres y mujeres normoglicémicos, de 65 a 74 años, sugieren que los niveles de ácido siálico sérico pueden incrementarse por la influencia de procesos patológicos subclínicos (Pönnio y col., 1999).

Tabla 5. Concentraciones de ácido siálico sérico en mujeres y hombres sanos por estrato de edad.

Grupos por edad Mujeres	N	Ácido siálico mg/L	Grupos por edad Hombres	N	Ácido siálico mg/L
25 - 34	26	613 ± 113.0	25 - 34	27	609 ± 85.1
35 - 44	21	620 ± 118.4	35 - 44	23	639 ± 123.9
45 - 54	19	602 ± 88.6	45 - 54	12	617 ± 150.6
55 - 64	21	655 ± 96.8	55 - 64	25	632 ± 98.6
65 - 74	10	734 ± 82.3	65 - 74	9	677 ± 62.6
N _{total}	97	634 ± 108.6	N _{total}	96	630 ± 106.4

(Fuente: Ponnio y col., 1999)

Numerosas publicaciones sugieren que los niveles de ácido siálico total en el suero pueden predecir el riesgo de diversas enfermedades (Varki, 2008). Esto podría ser debido a que el ácido siálico es parte de las proteínas de fase aguda cuya liberación está asociada con diversos estados inflamatorios (Pachau y col., 2007). Un estudio realizado por Sillanauke y col., (1999) reportó que existe un aumento en los niveles de ácido siálico sérico en varias enfermedades inflamatorias (Tabla 6), incluidas la diabetes tipo 1 y la diabetes tipo 2. En otros estudios se ha observado también el aumento de ácido siálico total sérico en la prediabetes (Gavella y col., 2003), así como el incremento aún mayor del ácido siálico en el grupo de pacientes con diabetes y complicaciones (Abdella y col., 2000; Nayak y col., 2007; Pickup y col., 1995; Powrie y col., 1996). Estos valores indican la alteración progresivamente mayor de los niveles del ácido siálico a medida que avanza el estado disglucémico. Investigaciones como la de Flynn y col., (1991) han planteado la hipótesis de que la resistencia a la insulina es la base fisiopatológica de la prediabetes y la diabetes, y está relacionada con el incremento en los niveles de ácido siálico total.

Tabla 6. Niveles de ácido siálico total sérico en diversas enfermedades inflamatorias.

Tipo de enfermedad	N	Ácido siálico total (TSA) (mmolL⁻¹)	Grupo control (mmolL⁻¹)
Glomerulonefritis crónica	35	2.51 ± 0.20	1.82 ± 0.12
Falla renal	27	2.16 ± 0.17	1.82 ± 0.12
Enfermedad de Behcet	16	2.91 ± 0.47	1.81 ± 0.23
Enfermedad de Crohn (con úlceras activas)	6	2.12 ± 0.29	1.53 ± 0.13
Enfermedad de Crohn (sin úlceras activas)	6	1.67 ± 0.17	1.53 ± 0.13
Tiroiditis granulomatosa subaguda	43	3.20 ± 0.60	1.84 ± 0.21
Diabetes tipo 1	14	1.85 ± 0.26	1.98 ± 0.67
Diabetes tipo 1 (con retinopatía)	6	2.38 ± 0.33	1.98 ± 0.67
Diabetes tipo 2	26	1.90 ± 0.40	1.60 ± 0.10
Hipertrigliceridemia	15	2.19 ± 0.36	1.82 ± 0.31
Infarto de miocardio	19	2.68 ± 0.88	1.89 ± 0.40
Aterosclerosis Carotídea	323	2.28 ± 0.30	2.15 ± 0.27
Alcoholismo	42	2.56 ± 0.56	1.78 ± 0.24

(Fuente: Sillanaukee y col., 1999)

El estado prediabético es una condición proinflamatoria, comúnmente vinculada a la obesidad y resistencia a la insulina. En algunos estudios en prediabéticos se han encontrado niveles elevados de citocinas en presencia de resistencia a la insulina y sobrepeso u obesidad. En dichos pacientes, muy probablemente el estado proinflamatorio es ocasionado por la sobrecarga de ácidos grasos del tejido adiposo atrofiado, que al segregar de manera anormal adipocinas atrae macrófagos. A su vez, los macrófagos liberan más citocinas agravando el entorno proinflamatorio (De Luca y col., 2008).

Además, la muerte de los adipocitos hipertrofiados ocasiona la liberación de su contenido lipídico, originando mayor migración de macrófagos hacia el sitio de la inflamación. La elevación de los ácidos grasos circulantes puede activar también respuestas proinflamatorias en células endoteliales vasculares y células de origen mieloide (De Luca y col., 2008). Además, el incremento de las citocinas produce una respuesta de fase aguda en el hígado que se caracteriza por la liberación de proteínas altamente sialiladas hacia el torrente circulatorio (Pickup, 2004). Entre las proteínas de fase aguda se encuentra la proteína C reactiva, la cual se eleva comúnmente en estados de resistencia a la insulina en humanos (De Luca y col., 2008).

En el estado prediabético también se presenta hiperinsulinemia. La insulina es una hormona anabólica y una de sus acciones es aumentar la síntesis de proteínas de fase aguda (Crook y col., 1998). La elevación de las proteínas de fase aguda en la prediabetes, podría explicar el incremento de ácido siálico, ya que algunas de estas proteínas se encuentran altamente sialiladas (Powrie y col., 1996).

En un estudio realizado por Rajappa y col., (2013) se llevó a cabo la cuantificación de ácido siálico total en suero y ácido siálico ligado a proteínas en un grupo de sujetos obesos que presentaban glucosa en ayuno alterada. Los resultados fueron comparados con los obtenidos en un grupo control de adultos normoglicémicos. Los datos arrojados indicaron que los niveles de ácido siálico total y ligado a proteínas en los sujetos con glicemia en ayuno alterada se encontraban significativamente elevados, en comparación con los niveles del grupo control (Tabla 7), pero no se brindó una explicación de ese incremento.

El aumento de ácido siálico sérico en pacientes con disglucemia subclínica podría estar relacionado con eventos proinflamatorios y dismetabólicos subyacentes. Parte de esos eventos podría ser la alteración de la actividad de enzimas como la sialiltransferasa y la neuraminidasa. En particular, el aumento de actividad y/o concentración de la sialiltransferasa podría explicar al menos parcialmente el aumento del ácido siálico observado en los pacientes con prediabetes. De esta hipótesis surgió el interés de realizar el presente estudio, en el que fue comparada la concentración de la sialiltransferasa entre personas normoglicémicas y pacientes con prediabetes con niveles elevados de ácido siálico plasmático.

Tabla 7. Niveles de ácido siálico total y ligado a proteínas en sujetos obesos prediabéticos y sujetos controles.

Parámetros	Sujetos obesos n=30	Sujetos control n=30	Valor de p
Glucosa en ayuno (mg/dL)	107.2 ± 12.2**	97.5 ± 13.23	** = <0.01
Ácido siálico total (µg/mg de proteína)	5.33 ± 3.56***	3.57 ± 0.84	*** = 0.001 comparado con los controles
Ácido siálico ligado a proteínas (µg/mg de proteína)	3.56 ± 0.59**	3.15 ± 0.76	** = <0.01

(Fuente: Rajappa, y col., 2013)

α-2,6 Sialiltransferasa y su Relación con Prediabetes

Descripción de la Enzima α-2,6 Sialiltransferasa.

Clasificación. Las enzimas sialiltransferasas pertenecen a la familia de glicosiltransferasas (GTs) constituida por enzimas implicadas en la biosíntesis de oligosacáridos y polisacáridos que reciben su nombre específico de acuerdo con el tipo de carbohidrato que transfieren, por ejemplo, las sialiltransferasas transfieren ácido siálico (Breton y col., 2001). Múltiples sialiltransferasas son producidas por una sola célula eucariota, hasta hoy han sido identificadas y clasificadas 20 tipos de sialiltransferasas y polisialiltransferasas. Las sialiltransferasas se dividen en cuatro grupos de acuerdo con el tipo de enlace formado y la naturaleza del azúcar aceptor. El primer grupo está conformado por seis enzimas beta-galactósido α-2,3 sialiltransferasas (ST3Gal I-VI); el segundo grupo por dos enzimas beta-galactósido α-2,6 sialiltransferasas (ST6Gal I-II); el tercer grupo por seis enzimas GalNAc α-2,6 sialiltransferasas (ST6GalNAc I-VI); y el cuarto por seis enzimas α-2,8 sialiltransferasas (ST8Sia I-VI entre los cuales ST8Sia-II y ST8Sia-IV son polisialiltransferasas) como se muestra en la Figura 7. Las polisialiltransferasas producidas por bacterias catalizan la reacción en posiciones α-2,8, y/o α-2,9 en polisacáridos de la cápsula bacteriana (Li y col., 2012).

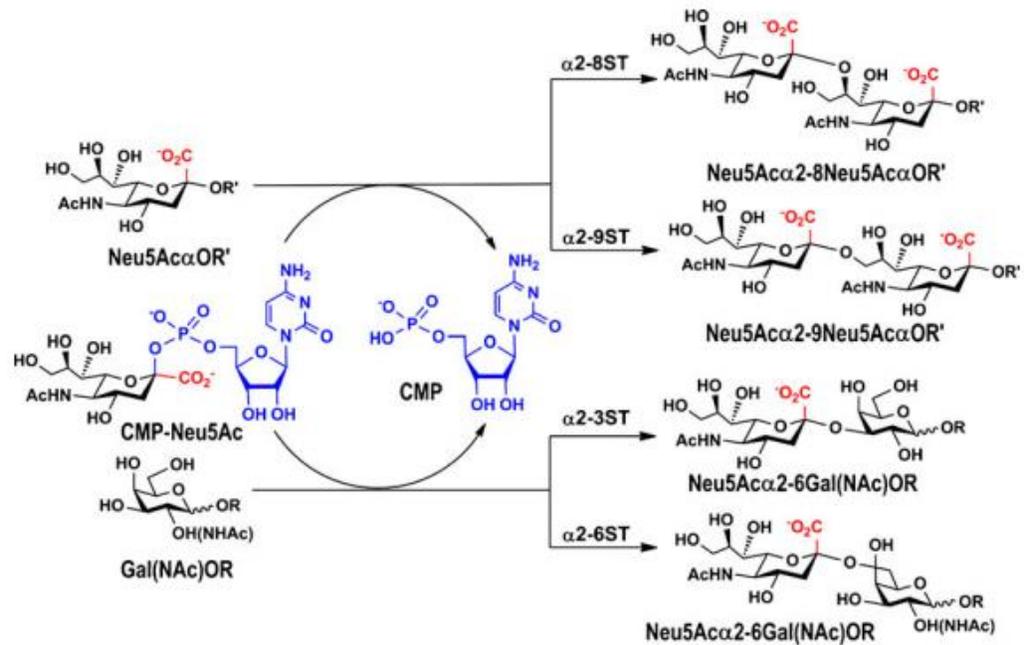


Figura 7. Sialiltransferasas. Catalizan la transferencia de ácido siálico a partir de CMP-Sia a un aceptor, comúnmente Gal, GalNAc o Sia, localizados en las regiones terminales de glicanos o glicoconjugados. (Fuente: Li y col., 2012).

Las enzimas ST6Gal (β -galactósido α -2,6 sialiltransferasa) y ST6GalNAc (α -N-acetilgalactosaminidasa α -2,6 sialiltransferasa) (Audry y col., 2011), se diferencian por el residuo terminal aceptor del sustrato, así como también por la estructura del sustrato (Harduin y col., 2001). La ST6-Gal está constituida por dos miembros (la ST6Gal-I y la ST6Gal-II). Ambas enzimas catalizan la transferencia de ácido siálico al grupo hidroxilo del carbono seis del residuo de galactosa terminal del disacárido tipo dos (Gal β 1-4GlcNAc) y también pueden transferir ácido siálico al residuo de N-acetilgalactosamina (GalNAc) de LacdiNAC (GalNAc β 1-4GlcNAc) (Audry y col., 2011).

En el caso del grupo ST6GalNAc, constituido por seis diferentes miembros (ST6GalNAc-I al VI), tres de los miembros (ST6GalNAc I, II, y IV) catalizan la adición de ácido siálico en posición α -2,6 sobre residuos de GalNAc de O-glicosilproteínas. El resto de las enzimas que pertenecen a este grupo (ST6GalNAc-III, V y VI), catalizan la adición de ácido siálico sobre residuos de gangliósidos (Audry y col., 2011; Takashima y col., 2008). La ST6GalNAc I muestra

especificidad hacia las estructuras: GalNAc α -O-Ser/Tr, Gal β 1-3GalNAc α -O-Ser/Tr y Neu5Ac α 1-3Gal β 1-3GalNAc α -O-Ser/Tr. La enzima ST6GalNAc II utiliza como sustratos a Gal β 1-3GalNAc α -O-Ser/Tr y Neu5Ac α 2-3Gal β 1-3GalNAc α -O-Ser/Tr. Por último, la enzima ST6GalNAc IV es aún más específica ya que utiliza la secuencia trisacárida Neu5Ac α 2-3Gal β 1-3GalNAc encontrada en O-glicosilproteínas y en gangliósidos. Cabe destacar que ocho de las 20 enzimas sialiltransferasas que se han descubierto hasta ahora, forman parte de los grupos de enzimas ST6Gal y ST6GalNAc (Harduin y col., 2001). La existencia de un gran número de sialiltransferasas es un indicativo de que las estructuras que contienen ácido siálico poseen importantes funciones biológicas (Li y col., 2012), así como también de la importancia de la actividad de la enzima en la sialilación de glicoconjugados como glicoproteínas.

Ubicación. Las enzimas sialiltransferasas son proteínas de membrana tipo dos distribuidas a lo largo del Aparato de Golgi, con excepción de la primera parte, la Cis-Golgi (Sears y col., 1998). La enzima α -2,6 sialiltransferasa se localiza en el trans-Golgi y está involucrada en la decoración de la parte terminal de los oligosacáridos (Legaigneur y col., 2001).

En la Figura 8, se presenta el mapa de la organización de los genes codificadores de las sialiltransferasas, publicado por primera vez en el año 2008. El gen que codifica la enzima ST6Gal-I humana se encuentra en el cromosoma tres (Hardiun y col., 2001). Las enzimas ST6GalNAc III y V son codificadas por genes localizados en el cromosoma uno (1p31), mientras que las enzimas STGalNAc IV y VI son codificadas en el cromosoma nueve (9q34) (Takashima y col., 2008).

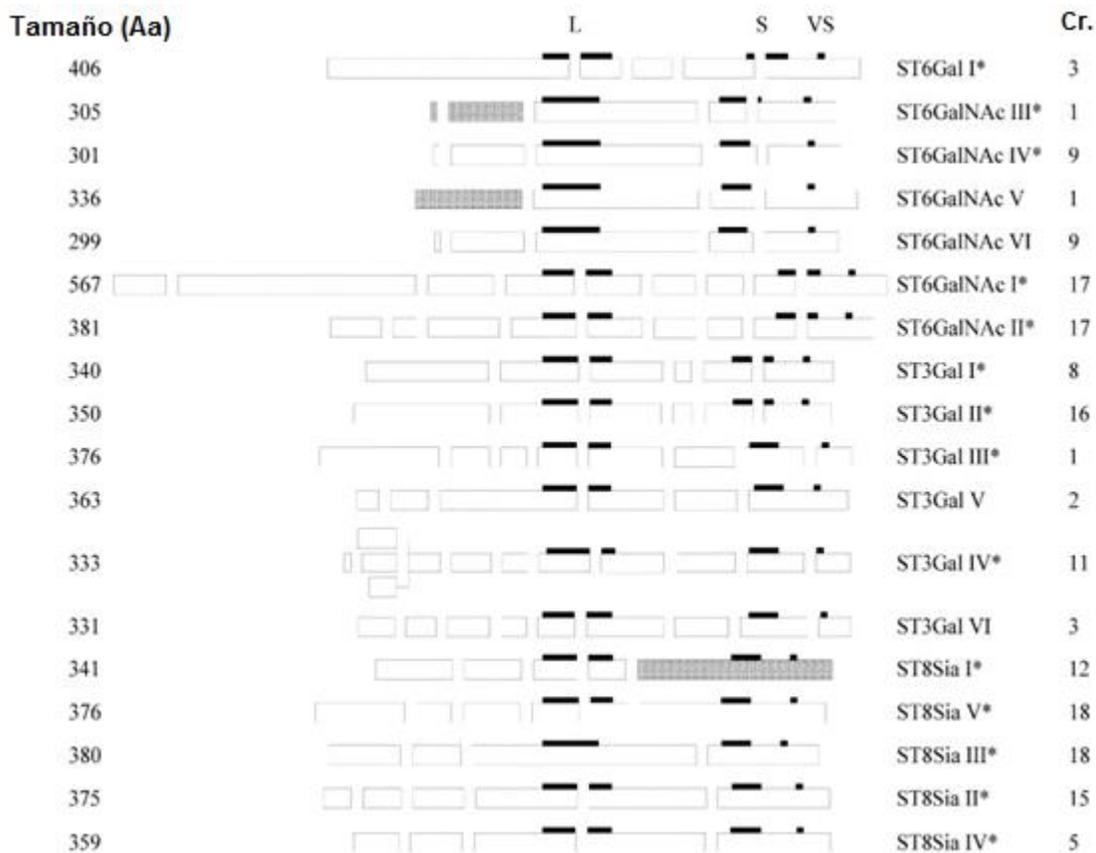


Figura 8. Representación de la organización de los genes codificadores de las sialiltransferasas humanas. (Fuente: Hardiun y col., 2001).

Las cajas abiertas representan secuencias de exones del genoma humano que codifican las enzimas y las cajas grises indican exones que no han sido caracterizados. Las líneas negras representan los sialomotivos largo (L), corto (S) y muy corto (VS). Las estrellas indican las enzimas que han sido reportadas también en la organización genómica del ratón. Por último Cr, representa la localización cromosómica (Fuente: Hardiun y col., 2001).

Estructura. Muy recientemente, se han descrito dominios comunes en las glicosiltransferasas de eucariontes: Un dominio catalítico que consta de 3 capas $\alpha/\beta/\alpha$ plegadas y un dominio parecido a un bolsillo, lo suficientemente grande para acomodar tanto al donante del carbohidrato como al aceptor, rodeado de motivos conservados para una familia de glicosiltransferasas en particular. Al parecer el reconocimiento del sustrato donador es mediado por residuos que se encuentran en las regiones conservadas de la enzima (Legaigneur y col., 2001).

Las sialiltransferasas poseen un dominio N-terminal citoplasmático, un dominio transmembranal de 16 a 20 residuos de aminoácidos, una región tallo con un tamaño variable (20 a 300 residuos de aminoácidos) y un dominio catalítico C-terminal relativamente soluble constituido por una región conservada de 300 ± 20 residuos de aminoácidos orientado hacia el lumen del Aparato de Golgi (Legaigneur y col., 2001; Li y col., 2012) (Figura 9). En comparación con las demás sialiltransferasas, la enzima α -2,6 sialiltransferasa presenta un tallo pequeño (Legaigneur y col., 2001). La región tallo de las sialiltransferasas es susceptible a escisión proteolítica, el resultado de una eventual proteólisis es una forma solubilizada de la enzima presente en fluidos biológicos, como calostro y suero (Audry y col., 2011; Breton y col., 2001; Sears y col., 1998). Las glicosiltransferasas son frecuentemente glicosiladas para garantizar su estabilidad y/o actividad. Por ejemplo, la glicosilación de la enzima ST6Gal I le brinda estabilidad pero no es necesaria para su actividad. En cambio, la forma soluble de la enzima es eficientemente secretada y activa sólo cuando está glicosilada (la enzima no glicosilada es inactiva y retenida en el retículo endoplasmático) (Breton y col., 2001).

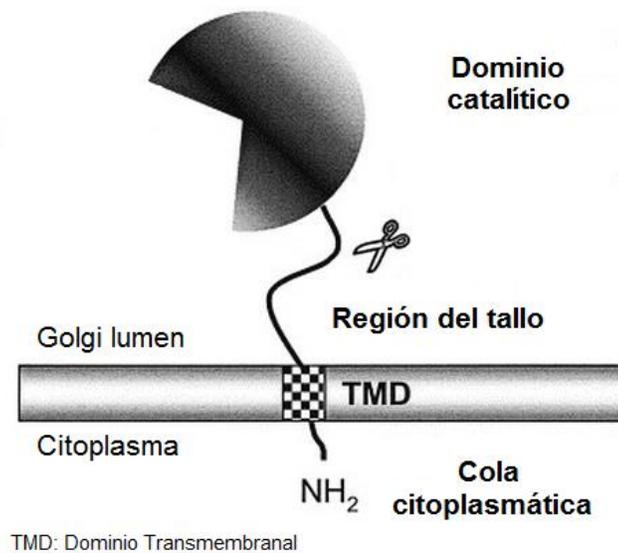


Figura 9. Representación de la enzima sialiltransferasa. (Fuente: Breton y col., 2001).

Las enzimas sialiltransferasas poseen dominios que reconocen antígenos de Lewis que contienen al residuo fucosa como aceptor. Poseen cuatro dominios conservados: largo (L), corto (S), muy pequeño (VS), y dominio tres. Los enlaces disulfuro estabilizan los dominios L y

S, el dominio L está implicado en la unión del CMP-NeuAc. Los dominios tres y VS contribuyen al enlace con el aceptor y el dominio S participa en el enlace con el donador y con el sustrato aceptor (Li y col., 2012).

En la Figura 10, se pueden observar las estructuras esquemáticas de los sialomotivos de ST6Gal I de rata, ST3Gal I de cerdo y sialiltransferasa CstII de *Campylobacter jejuni*. Los residuos idénticos de los sialomotivos de ST6Gal I y ST3Gal I están representados en color rojo, en color gris los residuos que son similares y los que son distintos en color negro. En el caso de la estructura de CstII, el color rojo identifica los residuos que son idénticos entre las enzimas ST6Gal I y ST3Gal I, de color gris los residuos que son similares y negro para los que son diferentes en comparación con las otras dos enzimas. Las estructuras de la zona derecha de la Figura son una representación de las regiones de las proteínas que rodean al CMP (color amarillo). Las cadenas laterales de los aminoácidos son similares a los paneles de la izquierda, con la excepción del color verde, que se refiere a las cadenas de aminoácidos que no son parte de las secuencias de los sialomotivos (Meng y col., 2013).

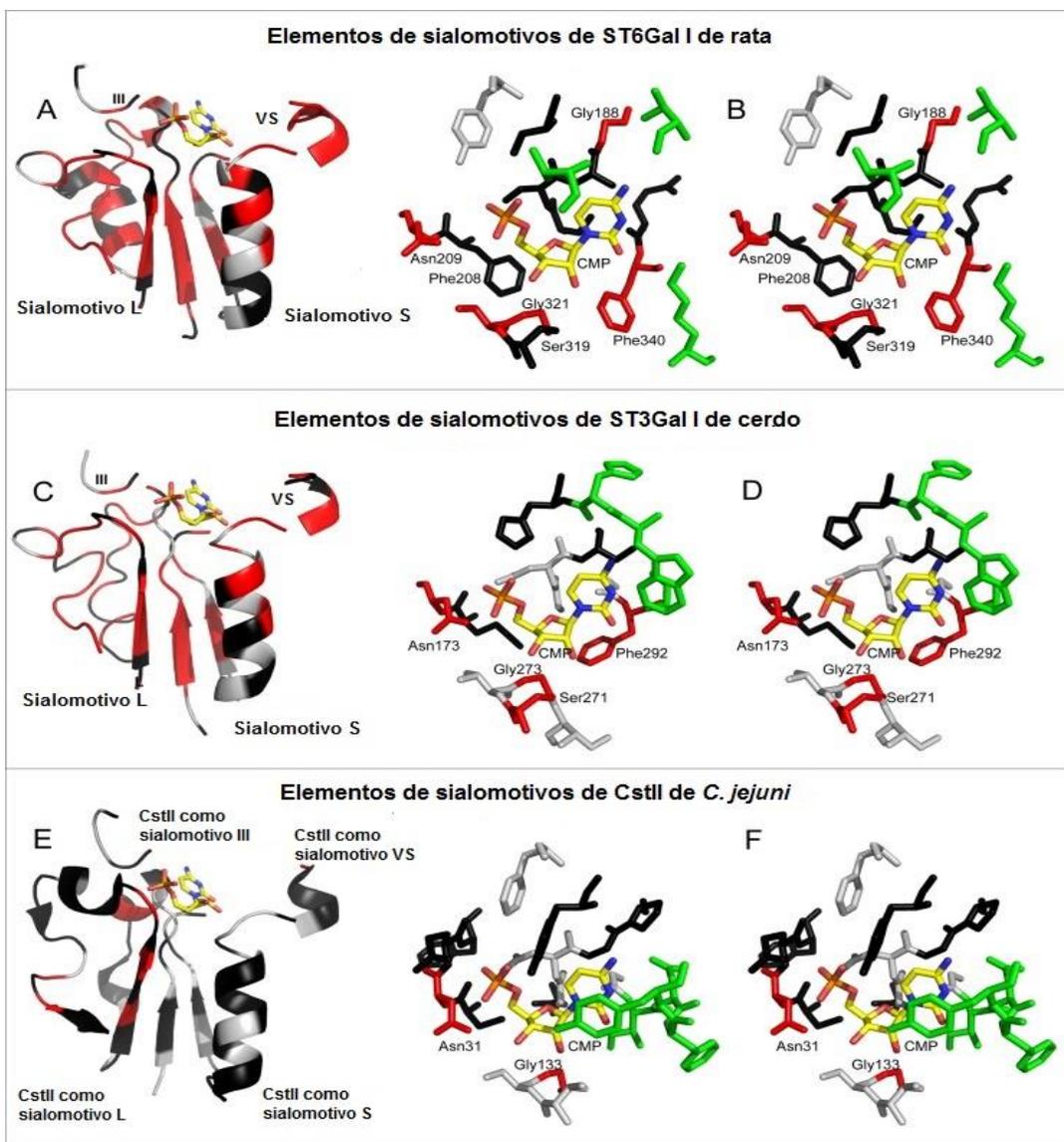


Figura 10. Comparación estructural de los sialomotivos de ST6Gal I de rata, ST3Gal I de cerdo y CstII de *C. jejuni*. (Fuente: Meng y col., 2013).

En la Figura 11, se simula la interacción de la enzima ST6Gal I de rata con el disacárido aceptor ($\text{Gal}\beta, 4\text{GlcNAc-O-Me}$) en el sitio activo. Los sitios aceptores en las sialiltransferasas son diversos, sin embargo las posiciones generales y los ángulos de enfoque para los distintos disacáridos aceptores son notablemente similares entre ST6Gal I, ST3Gal I y Cst II. La interacción entre azúcar activado y los residuos del sitio catalítico de la enzima es notablemente similar entre la ST3Gal I de cerdo, la CstII de *C. jejuni*, la ST6Gal I de rata y la ST6Gal I humana (Figura 12) (Meng y col., 2013).

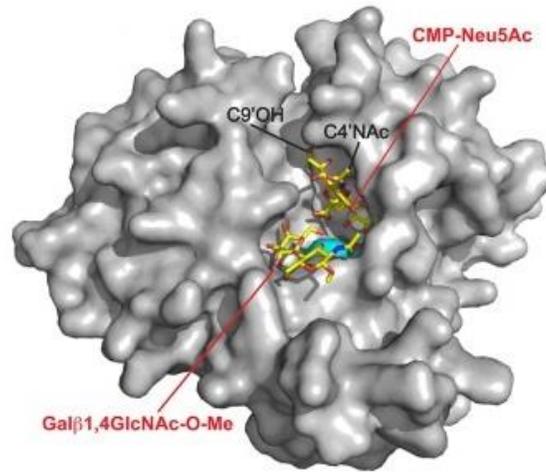


Figura 11. Simulación de la interacción del sitio activo de la enzima sialiltransferasa ST6Gal I de rata con el disacárido aceptor. (Fuente: Meng y col., 2013).

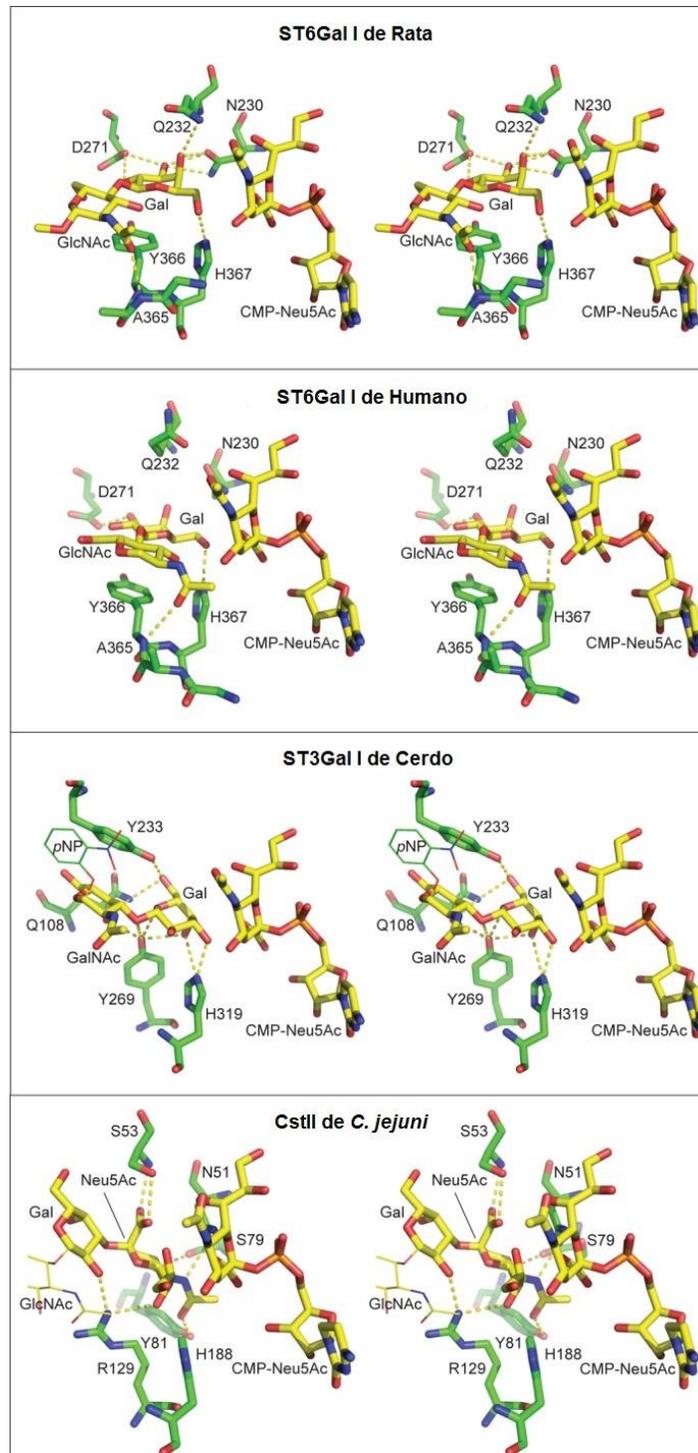


Figura 12. Comparación de los residuos del sitio catalítico aceptor del azúcar activado de ST6Gal I de rata, ST6Gal I de humano, ST3Gal I de cerdo y CstII de *C. jejuni*. (Fuente: Meng, y col., 2013).

Mecanismo enzimático. Las glicosiltransferasas transfieren residuos de carbohidratos de un sustrato donador activado a un aceptor que podría ser lípido, proteína u oligosacárido que se está sintetizando (Breton y col., 2001). Las enzimas sialiltransferasas catalizan la transferencia de ácido siálico de un donador rico en energía CMP (citidina 5' monofato) unido al ácido siálico (CMP-Sia) a varias moléculas aceptoras. Usualmente la transferencia se da en estructuras con una terminación en galactosa (Gal), N-acetilgalactosamina (GalNAc), u otro residuo de ácido siálico (Sia) (Li y col., 2012).

En el mecanismo de sialilación, participan tres enzimas claves para la síntesis de glicanos sialilados. La primera enzima que participa en la síntesis de ácido siálico es la piruvato aldolasa, seguida de la enzima CMP-Sia sintetasa (CSS) para la síntesis de CMP-Sia. La enzima sialiltransferasa (ST) realiza la transferencia de ácido siálico al aceptor, el cual puede ser un glicano o un glicoconjugado (Figura 13) (Li y col., 2012). El pH óptimo al cual las enzimas sialiltransferasas llevan a cabo la reacción, se encuentra en un rango de seis a siete (Sears y col., 1998).

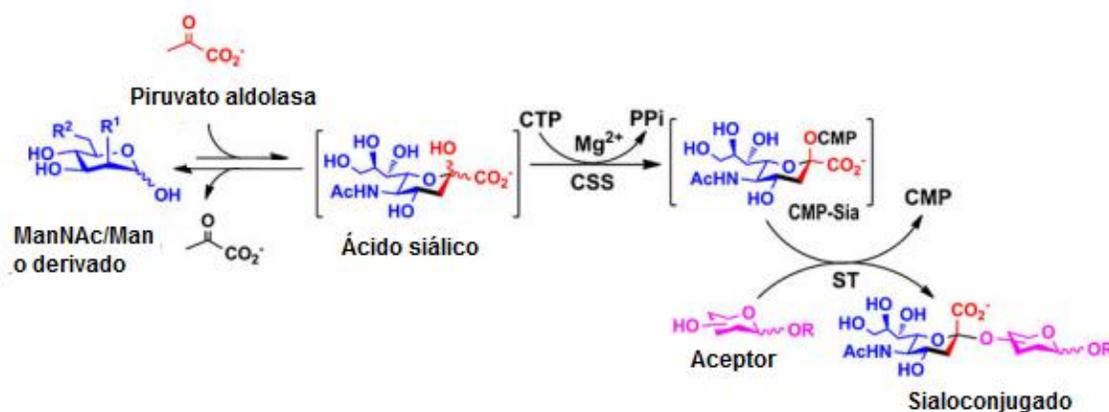


Figura 13. Contribución de tres enzimas piruvato aldolasa, CMP-Sia sintetasa y sialiltransferasa para el mecanismo de sialilación. (Fuente: Li y col., 2012).

Las sialiltransferasas presentan una alta especificidad hacia el sustrato aceptor, pero la especificidad del sustrato es relativamente menor (Li y col., 2012). Sin embargo, se ha demostrado que la eliminación de la región tallo de la enzima afecta al dominio catalítico

probablemente por un cambio conformacional, facilitando con ello la transferencia del carbohidrato, como si la enzima pasara a un estado funcional más abierto (Legaigneur y col., 2001).

A pesar de las diferencias estructurales que poseen las enzimas sialiltransferasas, todas se caracterizan por ser glicosiltransferasas inversoras. Es decir, catalizan la formación del enlace α -sialil en el producto a partir de un enlace β de ácido siálico en el substrato donador CMP-Sia. La reacción inversora de glicosiltransferasas sigue un mecanismo S_N2 , e involucra la formación de un estado de transición oxocarbenio, con la salida simultánea de CMP. Se cree que la enzima sialiltransferasa sigue un sólo mecanismo de desplazamiento para realizar su función. Es decir, implica un ataque nucleofílico al hidroxilo aceptor (activado por una base catalítica en la enzima) al centro anomérico del carbono dos del ácido siálico en el substrato donante con un inversión estereoquímica (Li y col., 2012).

Función Metabólica e Importancia Biológica de la Enzima α -2,6 Sialiltransferasa

Como se ha mencionado anteriormente, la función de la enzima sialiltransferasa es la transferencia de ácido siálico a glicoconjugados con proteínas y lípidos celulares (Harduin y col. 2013). La enzima α -2,6 sialiltransferasa se ha caracterizado ampliamente porque participa en la mayoría de los N-glicanos de las proteínas del suero humano, controlando de este modo su permanencia en la sangre y su aclaramiento metabólico (Audry y col., 2011).

En diversas patologías se ha observado que la actividad de la enzima sialiltransferasa se encuentra alterada lo que conlleva a que la composición de los oligosacáridos se modifique. Un ejemplo es el cáncer, en el cual la transformación neoplásica implica una profunda alteración en el patrón de glicosilación que conduce a alteraciones estructurales y comportamiento anormal de las células. Un estudio reportado por Dall'Olio y col., (2000) indicó que existe un aumento en la actividad de ST6Gal I en muestras de pacientes con cáncer de colon. En este tipo de cáncer muchos estudios han demostrado la expresión aberrante de los oligosacáridos α -2,6 sialilados. En otro estudio realizado por Lise y col., (2000) se demostró que la evolución clínica los pacientes con cáncer colorrectal correlaciona con la expresión de la enzima α -2,6 sialiltransferasa. Además, se encontró que los niveles de expresión de α -2,6 sialiltransferasa correlacionaron inversamente con la supervivencia de los pacientes. Sin embargo la sobreexpresión de ST6Gal I en el cáncer y su relación con la malignidad sigue siendo poco clara (Chirocolo y col., 2006).

En otro tipo de patologías en las cuales se presentan trastornos metabólicos, como en el caso de la diabetes mellitus tipo 2 se ha documentado que existen cambios en la actividad de la enzima sialiltransferasa. En el estudio experimental realizado por Rellier y col., (1999) se encontró un aumento del 36% en la actividad de la enzima neuraminidasa y una reducción del 15% en la actividad de la enzima sialiltransferasa en células bovinas endoteliales. En el mismo estudio se mostraron resultados similares en la retina de ratas diabéticas tratadas con estreptozotocina, ya que se observó 78% de aumento en la actividad de neuraminidasa y una disminución del 15% en la actividad de sialiltransferasa. Por el contrario, en una investigación realizada por Serrano y col., (1985) se midió la actividad de sialiltransferasa en órganos de ratas diabéticas tratadas con estreptozotocina y se encontraron resultados contradictorios. Es decir, la actividad de la enzima sialiltransferasa se encontró aumentada en cerebro, pero en el corazón y el riñón la actividad enzimática fue significativamente más baja, en comparación con la de los controles.

Es indudable que la alteración de la actividad de las enzimas involucradas en el metabolismo de ácido siálico traería como consecuencia defectos en el contenido de ácido siálico de algunas glicoproteínas (Rellier y col., 1999), sin embargo hasta ahora los resultados acerca de la actividad y/o concentración de glicosiltransferasas en los estados disglucémicos no es concluyente. De ahí la importancia de evaluar diversas hipótesis bajo distintas condiciones clínicas asociadas con los estados disglucémicos.

α -2,6 Sialiltransferasa y su Posible Relación con los Niveles de Ácido Siálico Plasmático Presentes en la Prediabetes.

Algunas investigaciones enfocadas al estudio de la diabetes experimental, han encontrado que la actividad de la enzima sialiltransferasa está incrementada (Serrano y col., 1985) pero otros han encontrado que está disminuida (Rellier y col., 1999). Por otra parte, algunas investigaciones clínicas han demostrado que la concentración del ácido siálico sérico en sujetos prediabéticos (Gavella y col., 2003), diabéticos (Abdella y col., 2000; Gavella y col., 2003; Kanbak y col., 2011; Nayak y col., 2007), y diabéticos con complicaciones está aumentada (Nayak y col., 2007; Pickup y col., 1995; Powrie y col., 1996), lo cual es compatible con la hipótesis de que la enzima sialiltransferasa presenta mayor actividad en los estados disglucémicos.

El posible aumento de la actividad de sialiltransferasa en sujetos prediabéticos podría explicar los resultados del estudio de Rajappa y col., (2013) que muestran que el ácido siálico

ligado a proteínas y el ácido siálico total se encuentran aumentados en pacientes con glicemia de ayuno alterada. Además, dado que en el estado prediabético suele haber incremento de la proteína C-reactiva, una proteína que aumenta paralelamente al de glicoproteínas como α 1-antitripsina, haptoglobinas y fibrinógeno, que contienen ácido siálico (Sillanaukee y col., 1999), sería importante determinar si el aumento de ácido siálico plasmático está relacionado con la mayor α -2,6 sialilación en estas glicoproteínas y en consecuencia con la mayor actividad/concentración de la α -2,6 sialiltransferasa. En un estudio realizado por Yasukawa y col., (2005) se observó que al inducir inflamación en ratas, aumentó el nivel de expresión del ácido siálico α -2,6 en glicoproteínas. Es muy poca la información que se tiene acerca de la enzima α -2,6 sialiltransferasa, por lo que nuevas investigaciones en esta área serían de gran utilidad para conocer la fisiopatología de la prediabetes.

METODOLOGÍA

Planteamiento Metodológico y Experimental

Se realizó un estudio transversal, observacional y analítico, para demostrar que la concentración de ácido siálico plasmático está elevada y se relaciona directamente con la concentración de la enzima α -2,6 sialiltransferasa plasmática, en pacientes con prediabetes mayores de 20 años de edad.

El estudio se realizó en el Laboratorio de Bioquímica Clínica del Departamento de Medicina y Ciencias de la Salud de la Universidad de Sonora, tras la obtención del dictamen favorable del Comité de Bioética del Departamento de Medicina y Ciencia de la Salud y del Comité de Investigación del Hospital Ignacio Chávez del Instituto de Seguridad y Servicios Sociales de los Trabajadores del Estado de Sonora (ISSSTESON). Se utilizó el plasma de muestras sanguíneas que fueron donadas por pacientes con prediabetes y adultos normoglicémicos derechohabientes de dicho hospital. El plasma estuvo congelado a -80°C hasta su uso en el presente estudio.

Evaluación Clínica de los Sujetos

Todos los participantes donadores de muestras sanguíneas fueron valorados en el ISSSTESON para determinar su estado clínico y definir su inclusión en cualquiera de los dos grupos de estudio: pacientes con prediabetes o grupo control. Los criterios clínicos utilizados fueron los de la Asociación Americana de Diabetes. Las pruebas de laboratorio realizadas por métodos colorimétricos (Randox, Méx.) a los participantes fueron: glucosa en ayuno, prueba de tolerancia a la glucosa, hemoglobina glicada, LDL (lipoproteína de baja densidad), HDL (lipoproteína de alta densidad), triglicéridos, colesterol total, ALT (alanina aminotransferasa), AST (aspartato aminotransferasa), albúmina, proteínas totales y creatinina. Posteriormente, todos los participantes fueron informados sobre el estudio y todos firmaron un consentimiento informado para la donación de una muestra sanguínea destinada para este estudio. Se excluyeron del estudio los sujetos con tratamiento médico y/o comorbilidades que pudieran obscurecer la interpretación de los resultados de ácido siálico y/o de sialiltransferasa. Así se conformaron dos grupos: un grupo problema con 28 muestras sanguíneas donadas por pacientes con prediabetes y un grupo control con 13 muestras sanguíneas donadas por adultos normoglicémicos, con la misma edad y sexo que los pacientes con prediabetes. Se estimaron parámetros antropométricos de rutina por métodos convencionales (peso, talla, índice de masa corporal y circunferencia de cintura) a los 41 participantes.

Obtención de Muestra

En el ISSSTESON se tomó la primera muestra sanguínea venosa para realizar a valoración clínica inicial de los sujetos participantes, en ayuno de ocho a 12 horas. La segunda muestra de sangre venosa fue obtenida en el laboratorio de Bioquímica Clínica del Departamento de Medicina y Ciencias de la Salud de la Universidad de Sonora, tras la firma del consentimiento informado. Esta muestra sanguínea fue obtenida en ayuno de 10-12 h, por flebotomía de la vena cubital mediana, utilizando tubos al vacío con anticoagulante (EDTA) y centrifugada por 15 min a 3,000 G, para separar el plasma del paquete celular. El plasma obtenido fue inmediatamente congelado en alícuotas, a -80°C , hasta su utilización para la determinación de insulina (Calbiochem, No. Cat. IS130D, Austin, Dr Spring Valley, CA), proteína C-reactiva (The Binding Site, UK), ácido siálico y sialiltransferasa. La concentración de insulina fue utilizada para estimar el HOMA-IR de los pacientes con prediabetes y los sujetos control.

Cuantificación de Ácido Siálico Plasmático

Se cuantificó la concentración de ácido siálico plasmático en ambos grupos de estudio mediante el uso de un ensayo colorimétrico comercial basado en el método mejorado de Warren (QuantiChrom™ Sialic Acid Assay Kit por BioAssay Systems, con número de catálogo DSLA-100). Esta técnica está basada en la hidrólisis del ácido siálico ligado, tras la cual el ácido siálico libre es oxidado en presencia de ácido sulfúrico y peryodato de sodio para producir ácido formilpirúvico, que al reaccionar con ácido tiobarbitúrico, hidróxido de sodio y dimetilsulfóxido forma un producto de color rosa. La intensidad de color es determinada a 549 nm y es directamente proporcional a la concentración del ácido siálico que haya estado presente en la muestra. La curva de calibración utilizada estuvo en el rango de cero a 1000 μM , usando una solución de ácido siálico 10 mM como estándar.

Estimación de la Actividad de la Enzima α -2,6 Sialiltransferasa

La estimación cuantitativa, en ng/mL, de la enzima α -2,6 sialiltransferasa en el plasma de los sujetos con prediabetes y los controles fue realizada mediante ensayos de tipo ELISA sándwich en fase sólida, usando el α -2,6 sialyltransferase Assay Kit de IBL International, con número de catálogo JP27762. En esta técnica se utilizan dos anticuerpos monoespecíficos para la α -2,6 sialiltransferasa (ambos producidos en conejo), el primero adsorbido a la placa de ELISA (anticuerpo primario) y el segundo marcado con peroxidasa de rábano (HRP, por el nombre en inglés horseradish peroxidase). La reacción se revela en presencia del sustrato peróxido de hidrógeno (H_2O_2) y el indicador cromógeno tetrametilbendicina (TMB), que por acción de la HRP

Análisis Estadístico

El análisis estadístico de los resultados experimentales se realizó utilizando el paquete estadístico NCSS9. Se efectuaron pruebas de normalidad y homocedastidad para identificar las variables no paramétricas y paramétricas. Se determinaron la media y la desviación estándar o mediana y rango intercuartil o bien media geométrica e intervalo de confianza dependiendo de los datos generados por las pruebas anteriormente mencionadas. Para para determinar la existencia de diferencias significativas en las variables paramétricas se empleó la prueba T de student y para las no paramétricas se llevó a cabo la prueba U de Mann-Whitney. Las diferencias fueron consideradas estadísticamente significativas cuando el valor de p fue <0.05 . También se llevó a cabo la prueba de correlación de Spearman para determinar la existencia de asociación entre las variables de estudio: ácido siálico total y α -2,6 sialiltransferasa. La asociación entre el ácido siálico ligado a glicoproteínas y la concentración de la enzima α -2,6 sialiltransferasa fue estimada también por la prueba de correlación de Spearman.

RESULTADOS

Las condiciones clínicas basales relevantes del grupo de participantes donadores de las muestras sanguíneas usadas en el presente estudio se muestran en la Tabla No 8. En la misma Tabla se presentan las condiciones clínicas basales del grupo control, formado por adultos normoglicémicos.

Tabla 8. Estado Prediabético: variables clínicas, bioquímicas y antropométricas de los sujetos con prediabetes y sin prediabetes.

Variable	Prediabéticos (n=28)	Normoglicémicos (n=13)	Valor de p
Género masculino (%)	46.4	30.8	0.340
Edad (años) ^c	46.9 ± 11.3	43.1 ± 12.3	0.332
Presión sanguínea (%) [*]	7.1	7.7	0.950
HbA1c (%) ^b	6 (0.6, 1)	5.5 (0.2, 0.8)	<0.001
Glucosa en ayuno (mg/dL) ^b	98 (14, 49)	84 (6.5, 23)	<0.001
2-h glucosa (mg/dL) ^c	140.5 ± 30.1	97.5 ± 27.1	<0.001
Insulina en ayuno (μIU/mL) ^b	4.7 (3.9, 12)	3.3 (2.09, 5.1)	0.056
HOMA-IR ^b	1.1 (1.1, 3.6)	0.7 (0.4, 1.1)	0.011
Ácido siálico total (mg/dL) ^b	77.3 (17.8, 35.5)	69.5 (4.7, 20.9)	0.013
Ácido siálico ligado (mg/dL) ^b	76.6 (17.6, 35.5)	69.6 (4.9, 20.6)	0.013
Ácido siálico libre (mg/dL) ^b	0.5 (0.008, 0.5)	0.4 (0.2, 0.5)	0.426
α-2,6 sialiltransferasa (ng/mL) ^b	1.7 (0.02, 0.06)	1.72 (0.0004, 0.02)	0.005
Colesterol (mg/dL) ^c	184.5 ± 38.1	183.2 ± 31.5	0.912
Triglicéridos (mg/dL) ^a	131.7 (112, 155)	107 (94, 121.9)	0.052
Colesterol HDL (mg/dL) ^c	47.3 ± 9.5	48.9 ± 10.1	0.615
Colesterol LDL (mg/dL) ^c	106.8 ± 34.7	112.3 ± 28.5	0.625
Proteínas totales (g/dL) ^c	7 ± 0.4	7 ± 0.6	0.751
Globulinas (g/dL) ^c	3.1 ± 0.5	3.1 ± 0.7	0.913
Albumina/globulina (g/dL) ^c	1.3 ± 0.3	1.2 ± 0.5	0.399
Proteína C reactiva (mg/dL) ^a	2.1 (1.5, 3)	1.2 (0.7, 2)	0.126
Gamma-glutamil transferasa (IU/L) ^c	24.3 ± 13.4	14.6 ± 8.2	0.016
Aspartato aminotransferasa (IU/dL) ^a	15.3 (13.7, 17.1)	15.6 (12.1, 20.1)	0.548
Alanina aminotransferasa (IU/dL) ^b	18.5 (15.6, 22)	15.8 (11.6, 21.6)	0.65
Altura (cm) ^b	160.5 (12.2, 32.2)	157.2 (19.7, 180.5)	0.355
Peso (Kg) ^c	85.8 ± 17.7	82.3 ± 15.4	0.541
IMC (Kg/m ²) ^c	31.6 ± 5.2	31.4 ± 4.6	0.896
Circunferencia cintura umbilical (cm) ^c	107.4 ± 12.6	104.6 ± 14.7	0.534

La prueba *t* se realizó para muestras independientes. Para los datos de distribución no normales se utilizó la prueba de U de Mann-Whitney.

^a Media geométrica (95% CI)

^b Mediana (Rango intercuartil)

^c Media ± DS

*Presión sanguínea alterada >130/90 mmHg

HbA1c (Hemoglobina A1c)

HOMA-IR (Insulin resistance index)

HDL (Lipoproteína de alta densidad)

LDL (Lipoproteína de baja densidad)

IMC (Índice de masa corporal)

En dicha Tabla, puede observarse que el género femenino predominó en ambos grupos ($p=0.340$), ya que el 53.57% de los sujetos prediabéticos y el 69.23% de los controles fueron mujeres. La edad media de los pacientes prediabéticos fue de 46.89 ± 11.25 , en un rango de 25 a 66 años, mientras que la de los sujetos normoglicémicos fue de 43.03 ± 12.34 , con un rango de 30 a 68 años, sin diferencias significativas entre los grupos ($p=0.332$). Tampoco hubo diferencias significativas en la presión sanguínea, índice de masa corporal (IMC) ni en la circunferencia de cintura (Tabla 8).

Tal como se esperaba por el diseño del estudio, los valores de los marcadores de control glicémico (Tabla 9) fueron significativamente mayores ($p<0.001$) en los sujetos prediabéticos en comparación con los sujetos controles normoglicémicos: Glicemia en ayuno $98 (14, 49)$ vs $84 (6.5, 23)$ mg/dL; glicemia posprandial estandarizada de 140.5 ± 30.10 vs 97.53 ± 27.15 mg/dL; y hemoglobina glicada $6 (0.6, 1)$ vs $5.45 (0.2, 0.8)$ %. Al mismo tiempo, el indicador de resistencia a la insulina HOMA-IR fue significativamente mayor ($p=0.011$) en el grupo de pacientes con prediabéticos con respecto a los controles: $1.08 (1.11, 3.57)$ vs $0.773 (0.39, 1.05)$.

Por otro lado, no se observaron diferencias significativas en la concentración de lípidos en sangre entre pacientes y controles (Tabla 8). Además, la concentración de lípidos se encontró en los valores normales en ambos grupos.

En los marcadores de la función hepática (Tabla 8), sólo se mostraron diferencias significativas en la enzima gamma-glutamilttransferasa, porque en el grupo de prediabéticos fueron significativamente mayores los niveles de la enzima en comparación con la de los sujetos controles (24.25 ± 13.35 y 14.16 ± 8.23 IU/L; $p=0.016$). No hubo diferencias en los niveles de proteínas totales y tampoco se presentaron diferencias en la relación albumina/globulinas entre los grupos. La concentración de la proteína C-reactiva fue mayor en las personas prediabéticas con respecto a los sujetos control: $2.08 (1.45, 2.98)$ y $1.20 (0.73, 1.98)$ mg/dL, respectivamente.

En el caso de la concentración de ácido siálico (Tabla 8), la concentración del ácido siálico total (suma del ácido siálico ligado y libre) fue significativamente superior ($p=0.013$) en los pacientes prediabéticos en comparación con los controles: $77.25 (17.76, 35.54)$ vs $69.52 (4.74, 20.85)$ mg/dL. El aumento significativo de ácido siálico en los pacientes con prediabetes, se observó también el caso del ácido siálico ligado con $76.63 (17.61, 35.46)$ mg/dL, en comparación con $69.25 (4.88, 20.85)$ mg/dL en los controles ($p=0.013$). Sin embargo, no se observaron diferencias en la concentración de ácido siálico libre entre ambos grupos (Tabla 8).

Por último, la concentración de la enzima α -2,6 sialiltransferasa fue significativamente mayor en el grupo de prediabéticos en comparación con los controles: 1.73 (0.01, 0.05) y 1.72 (0.00, 0.01) ng/mL, respectivamente ($p=0.011$).

El análisis de Spearman entre las variables concentración de la enzima α -2,6 sialiltransferasa y concentración de las diferentes fracciones de ácido siálico, mostró la correlación entre la concentración de la enzima α -2,6 sialiltransferasa y la concentración de ácido siálico total ($r = 0.3731$; $p=0.016$), como se muestra en la Figura 15. Esta correlación está dada a expensas de la relación entre la concentración de α -2,6 sialiltransferasa y la de ácido siálico ligado ($r=0.014$; $p=0.380$), representada en la Figura 16, ya que no se observó correlación entre los niveles de la enzima α -2,6 sialiltransferasa y los niveles de ácido siálico libre ($r=0.0798$; $p=0.6198$) (gráfico no mostrado).

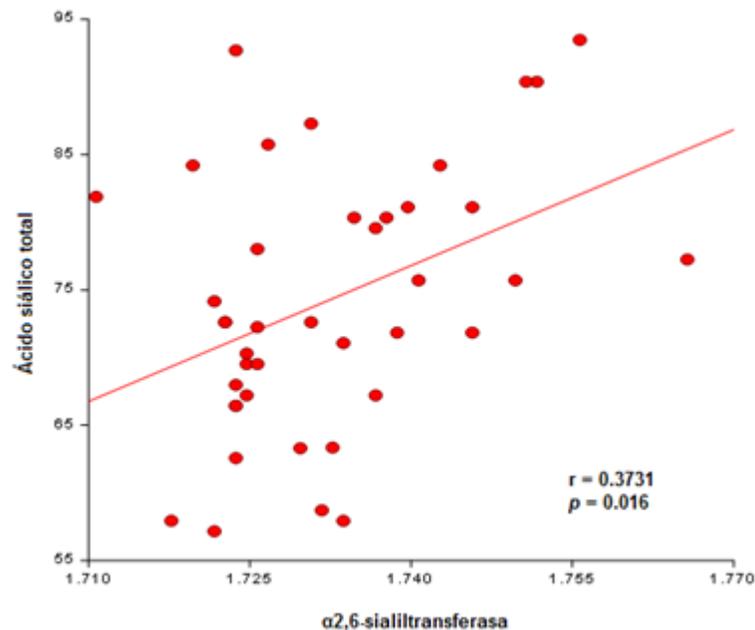


Figura 15. Correlación entre la concentración de ácido siálico total y la concentración de α -2,6 sialiltransferasa de adultos prediabéticos y normoglicémicos (controles).

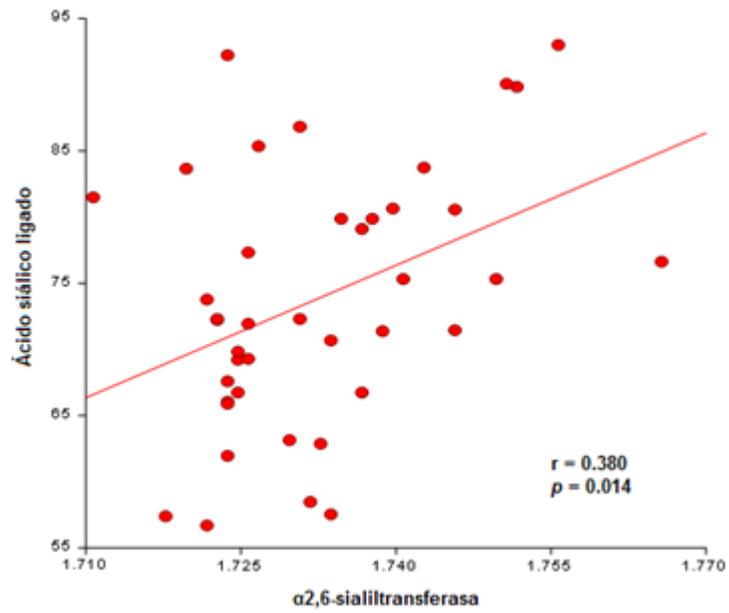


Figura 16. Correlación entre la concentración de ácido siálico ligado y la concentración de α-2,6 sialiltransferasa de adultos prediabéticos y normoglicémicos (controles).

DISCUSIÓN

En el presente estudio, el 28.57% de los adultos que fueron incluidos en el grupo de pacientes con prediabetes presentó intolerancia a la glucosa y hemoglobina glicada $\geq 6.4\%$, el 25% presentó intolerancia a la glucosa, alteración de la glicemia en ayuno y hemoglobina glicada $\geq 6.4\%$, y el 21.42% presentó glicemia en ayuno alterada y hemoglobina glicada $\geq 6.4\%$. Pero también hubo pacientes que solamente presentaron una de las tres alteraciones de la homeostasia de la glucosa posibles para el diagnóstico de prediabetes: 17% con hemoglobina glicada $\geq 6.4\%$ y el 7.14% con intolerancia a la glucosa. Tal como en otras investigaciones (Unwin y col., 2002), en este estudio fue considerablemente más frecuente la intolerancia a la glucosa que la alteración de la glucosa en ayuno en la población de pacientes con prediabetes. Por lo tanto, es probable que ambas pruebas tengan una utilidad similar para identificar diferentes segmentos de la población con alteraciones de regulación de la glucosa (Unwin y col., 2002), pero para comprobarlo sería necesario realizar estudios en muestras representativas de la población sonoreense. Además, aún se desconoce la razón por la que los sujetos prediabéticos presentan alteración aislada de la glicemia en ayuno, intolerancia a la glucosa aislada, o ambas, por lo que son necesarias más investigaciones en este campo para conocer a fondo la fisiopatología de la prediabetes.

También se observó que la concentración de insulina en ayuno y el HOMA-IR fueron significativamente superiores en el grupo de pacientes con prediabetes, con respecto al grupo de adultos normoglicémicos (grupo control). Esta diferencia entre los pacientes y el grupo control, sugiere la existencia de alteraciones en la sensibilidad de la insulina en los sujetos prediabéticos que concuerdan con las alteraciones de la glicemia detectadas en el estado prediabético (Kumar y col., 2008). La resistencia a la insulina a nivel hepático parece ser suficiente para producir glicemia en ayuno alterada e intolerancia a la glucosa (González, 2011) así como dislipidemia (Biddinger y col., 2008). Según la literatura, en México la elevada prevalencia de obesidad y dislipidemias representa un riesgo importante para los sistemas de salud. Además resulta particularmente importante la asociación de la dislipidemia con diabetes, hipertensión, obesidad y otros factores de riesgo cardiovascular (Escobedo y col., 2014).

Sin embargo, por el diseño de este estudio no se observaron diferencias significativas en la concentración de colesterol total, colesterol de alta y baja densidad, ni en los niveles de triglicéridos entre los pacientes con prediabetes y los sujetos control. Cabe mencionar que en ambos grupos, las medidas de tendencia central (media y mediana) de los lípidos plasmáticos

se encontraron dentro de los valores recomendados por la ADA (Asociación Americana de Diabetes, 2009). No obstante, el análisis más detallado de los valores individuales mostró que el 10.71% de los pacientes con prediabetes presento niveles normales del perfil lipídico, en cambio un 17.85% presentó niveles altos de LDL, 3.57% hiperlipidemia mixta, 35.71% hipercolesterolemia, 14.28% hipertrigliceridemia, 3.57% hipoalfalipoproteinemia y niveles elevados de LDL y 14.28% hipoalfalipoproteinemia aislada. Por lo tanto, las alteraciones más frecuentemente observadas en el grupo de pacientes con prediabetes estudiado, estuvieron relacionadas con los niveles de LDL y colesterol total en plasma. Estos resultados no coinciden con los de otros estudios realizados en la población mexicana, que han llegado a la conclusión de que la hipertrigliceridemia es la principal dislipidemia (Aguilar y col., 2002; Munguía y col., 2008; Peralta y col., 2005). Es probable que el bajo número de incluidos en nuestro estudio haya afectado dichos resultados.

El estado prediabético es considerado un estado proinflamatorio por las alteraciones metabólicas implicadas en su fisiopatología (Festa y col., 2003), mientras que el ácido siálico se encuentra elevado en diversas enfermedades que cursan con inflamación (Sillanaukee y col., 1999) dentro de las cuales se cita la diabetes con y sin complicaciones (Abdella y col., 2000; Gavella y col., 2003; Kanbak y col., 2011; Nayak y col., 2007; Pickup y col., 1995; Powrie y col., 1996; Sillanauke y col., 1999) y en menor medida a la prediabetes (Gavella y col., 2003; Rajappa y col., 2013). En este trabajo, se observaron niveles de ácido siálico total y ligado significativamente más altos en los pacientes con prediabetes, con respecto al grupo de pacientes normoglicémicos. Aun en el caso de los valores de ácido siálico libre, que no presentaron una elevación significativa en el grupo de pacientes prediabéticos, la tendencia es hacia el incremento de los niveles de este marcador de inflamación. Hasta el momento, no se ha podido demostrar la dependencia causal del incremento de ácido siálico con respecto a la hiperglucemia. Sin embargo, estudios previos han especulado que la resistencia a la insulina podría aumentar los niveles de ácido siálico, ya sea mediante la inducción de la respuesta de fase aguda o por la sialilación anormal de glicoproteínas (Crook y col., 1998; Flynn y col., 1991; McMillan y col., 1989).

Se sabe que el riesgo de padecer diabetes se incrementa a partir de los 40 años de edad y que el sexo femenino presenta una mayor probabilidad de padecer diabetes (Federación Internacional de Diabetes, 2014). Además, de acuerdo con estudios previos, la concentración de ácido siálico en mujeres es significativamente mayor que en los hombres y el envejecimiento parece incrementar la concentración de ácido siálico (Crook y col., 1998; Merat y col., 2003).

Considerando ambos elementos, este estudio fue diseñado para determinar la concentración plasmática de ácido siálico entre dos grupos de pacientes, con prediabetes y normoglicémico, pareados por edad y sexo, para eliminar la potencial influencia de estas variables sobre la relación entre el estado prediabético y la concentración del ácido siálico sérico. Del mismo modo y de acuerdo con lo esperado por el diseño del estudio (grupos pareados por IMC, edad y sexo), no se observó relación entre el ácido siálico y los índices antropométricos, lípidos sanguíneos ni presión arterial.

El aumento de la concentración de la proteína C-reactiva que exhibieron los sujetos prediabéticos en comparación con los sujetos controles de este estudio, concuerda con los de diversos autores (De Luca y col., 2008; Hak y col., 2001; Garg y col., 2003). Estos resultados evidencian la inflamación en los sujetos prediabéticos en nuestro estudio, ya que es una de las principales proteínas de fase aguda liberada por el hígado, que aumenta muy rápidamente en respuesta a estímulos inflamatorios (Du Clos, 2000). Aunque los niveles de las proteínas totales, globulinas y la relación albumina/globulina se encontraron en los valores normales y no hubo diferencias significativas entre los grupos de estudio, el incremento en los niveles de proteína C-reactiva en los pacientes con prediabetes fue concomitante al del ácido siálico plasmático, lo cual confirma el estado inflamatorio subclínico en estos pacientes.

En el caso de los marcadores enzimáticos de función hepática, en este estudio se observó que sólo la gamma glutamil transferasa (GGT) se elevó significativamente en los sujetos prediabéticos, y aunque los niveles de la enzima no sobrepasaron los valores normales, los resultados concuerdan con otros publicados previamente (Nakanishi y col., 2004; Nguyen y col., 2011). Se sabe que la GGT tiene fuerte asociación con la obesidad, ya que se eleva en presencia de hígado graso. Además, la GGT tiene una relación estrecha con la resistencia a la insulina e hiperinsulinemia (Nakanishi y col., 2004). No se observaron diferencias en la concentración de la aspartato aminotransferasa ni de la alanina aminotransferasa, lo que sugiere la mayor sensibilidad de la GGT como marcador de disfunción hepática en la prediabetes. Se requerirían, sin embargo, otros estudios para probar esta hipótesis.

A pesar de que no fueron excedidos los valores normales, es posible que la GGT represente la alteración de la regulación de la glucosa en el estado prediabético (Nguyen y col., 2011). La elevación de la GGT también podría reflejar inflamación, que por sí sola deteriora la señalización de la insulina tanto en el hígado como sistemáticamente (Nakanishi y col., 2004). También, la enzima GGT podría ser un marcador de estrés oxidativo, ya que bajo condiciones de estrés metabólico (como en la hiperglicemia; Kim y col., 2011), la enzima GGT ayuda a

regular el estado redox (González y col., 2010). Por lo anterior, en diversos estudios se sugiere que la GGT podría ser un predictor importante del síndrome metabólico y diabetes tipo 2 (Nakanishi y col., 2004).

Los niveles elevados de ácido siálico se han relacionado con el incremento en la concentración de proteínas de fase aguda tales como α 1-antitripsina, haptoglobina y fibrinógeno ya que estas glicoproteínas (globulinas) se encuentran sialiladas (Sillanaukee y col., 1999). A su vez, la respuesta de fase aguda parece estar relacionada con la resistencia a la insulina (Flynn y col., 1991). No obstante lo anterior, en el presente estudio no se observaron diferencias significativas en la concentración de globulinas plasmáticas entre los pacientes con prediabetes y los sujetos normoglicémicos, lo cual sugiere que podría haber un aumento en el contenido de ácido siálico ligado a estas proteínas en lugar del aumento en la síntesis de globulinas. De ser así, el aumento en la sialilación de globulinas puede ser debido al incremento en los niveles de la enzima α -2,6 sialiltransferasa. En esta investigación se encontró una elevación significativa ($p=0.005$) en la concentración plasmática de α -2,6 sialiltransferasa en los pacientes prediabéticos, en comparación con los normoglicémicos (controles). También se encontró que existe una correlación positiva entre la concentración de ácido siálico total, ácido siálico ligado y la concentración de α -2,6 sialiltransferasa en los sujetos de estudio.

Pocas investigaciones han reportado que existe un incremento en los niveles de la enzima sialiltransferasa, pero en ratas diabéticas hay evidencias experimentales de este fenómeno (Serrano y col., 1985). Se ha reportado el incremento en la actividad de la enzima α -2,6 sialiltransferasa en estados inflamatorios en ratas (Yasukawa y col., 2005). Es probable que este fenómeno esté relacionado con el hecho de que la enzima α -2,6 sialiltransferasa es la única sialiltransferasa cuya expresión es regulada en el hígado durante la inflamación (Yasukawa y col., 2005). Por lo tanto gracias a los resultados de este estudio y a las referencias que los sustentan, se sugiere que el incremento de la concentración de α -2,6 sialiltransferasa está relacionado con el aumento de los niveles de ácido siálico total y ligado en el estado prediabético. Se requieren más estudios para evaluar el significado e implicaciones patológicas de este incremento.

CONCLUSIONES

1. En la prediabetes, las alteraciones metabólicas subclínicas conducen a un estado de estrés inflamatorio. En este estudio la inflamación subclínica fue evidenciada mediante la elevación de la concentración de la proteína C-reactiva, la enzima gamma-glutamyltransferasa y el ácido siálico total y ligado.
2. El aumento en la concentración de ácido siálico total y ligado correlacionó con el incremento en la concentración de la enzima α -2,6 sialiltransferasa en los pacientes con prediabetes incluidos en este estudio, lo que podría sugerir que la tasa de sialilación de las globulinas está incrementada a expensas del aumento de α -2,6 sialiltransferasa en los pacientes con prediabetes.
3. Se requieren más investigaciones para confirmar esta información y extrapolarla a poblaciones amplias de pacientes con prediabetes.

RECOMENDACIONES

La prediabetes es un estado subclínico que constituye un factor de riesgo para la diabetes tipo 2, una entidad nosológica con un alto índice de morbilidad y mortalidad en nuestro país y a nivel mundial. Por lo tanto, los estudios que ayuden a conocer más sobre la fisiopatología de la prediabetes y la prevención de la diabetes tipo 2 constituyen una necesidad vigente de la investigación biomédica y clínica. Es por esto que se requieren más investigaciones para profundizar y respaldar los resultados de este estudio, para lo cual es necesario realizar estudios de este tipo en una amplia población de pacientes con prediabetes para extrapolar y confirmar los datos obtenidos en esta investigación.

REFERENCIAS

- Abdella N, Akanji AO, Mojiminiyi OA, Al Assoussi A, Moussa M. 2000. Relation of serum total sialic acid concentrations with diabetic complications and cardiovascular risk factors in Kuwaiti type 2 diabetic patients. *Diabetes Res Clin Pract.* 50(1): 65-72.
- Aguilar SCA, Rojas R, Gómez PFJ, Valles V, Franco A, Olaiz G, et al. 2002. Características de los casos con dislipidemias mixtas en un estudio de población: resultados de la Encuesta Nacional de Enfermedades Crónicas. *Salud Publica Mex.* 44(6): 546-553.
- Akter S, Rahman MM, Abe SK, Sultana P. 2014. Prevalence of diabetes and prediabetes and their risk factors among Bangladeshi adults: a nationwide survey. *Organ Bull World Health.* 92(3): 204-213A.
- ADA (American Diabetes Association). 2014. Diagnosing diabetes and learning about prediabetes. Last modified September, 22. Disponible en: <http://www.diabetes.org/are-you-at-risk/prediabetes/>.
- ADA (American Diabetes Association). 2015. Standars of medical care in diabetes 2015. *Diabetes Care.* 38:S1-S94.
- Arner P. 2003. The adipocyte in insulin resistance: key molecules and the impact of the thiazolidinediones. *Trends Endocrinol Metab.* 14(3):137-145.
- Arriaga HMT. (2007). La curva de tolerancia a la glucosa oral. Un enfoque alternativo. *ContactoS.* 64: 21-24.
- Asociación Americana de Diabetes, 2009. Guía N° 2 sobre: Todo acerca de la Resistencia a la insulina. Disponible en:
[http://professional2.diabetes.org/content/PML/Todo acerca de la resistencia a la insulina 5f659cccedc1415cb2d5780b700f954f/Todo acerca de la resistencia a la insulina.pdf](http://professional2.diabetes.org/content/PML/Todo+acerca+de+la+resistencia+a+la+insulina+5f659cccedc1415cb2d5780b700f954f/Todo+acerca+de+la+resistencia+a+la+insulina.pdf)
- Asociación Mexicana de Diabetes en Jalisco, A.C. Información general sobre la diabetes. Disponible en: <http://www.diabetesjalisco.org/informaciongeneral.html>.
- Audry M, Jeanneau C, Imberty A, Harduin-Lepers A, Delannoy P, Breton C. 2011. Current trends in the structure-activity relationships of sialyltransferases. *Glycobiology.* 21(6):716-726.

- Bergman M. 2013. Pathophysiology of prediabetes and treatment implications for the prevention of type 2 diabetes mellitus. *Endocrine*. 43(3): 504-513.
- Biddinger SB, Hernandez OA, Rask MC, Haas JT, Alemán JO, Suzuki, R, et al. 2008. Hepatic insulin resistance is sufficient to produce dyslipidemia and susceptibility to atherosclerosis. *Cell metab*. 7(2): 125-134.
- Bishop M, Fody E, Shoeff L. 2010. Clinical Chemistry: Techniques, Principles, Correlations. 6 edition. Wolters Kluwer Health/Lippincott William and Wilkins. 732 p.
- Breton C, Mucha J, Jeanneau C. 2001. Structural and functional features of glycosyltransferases. *Biochimie*. 83(8):713-718.
- Browning LM, Jebb, SA, Mishra GD, Cooke JH, O'connell MA, Crook MA, Krebs JD. 2004. Elevated sialic acid, but not CRP, predicts features of the metabolic syndrome independently of BMI in women. *Int J of Obes*. 28(8): 1004-1010.
- Buschiazzo A, Alzari, P M. 2008. Structural insights into sialic acid enzymology. *Curr Prin Chem Biology*. 12(5): 565-57.
- Calderín BRO, Monteagudo PG, Yanes QM, García SJ, Marichal MS, Cabrera RE, et al. 2011. Síndrome metabólico y prediabetes. *Rev Cubana Endocrinol*. 22(1): 52-57.
- Cárdenas S, Contreras A, Melguizo I. 2000. Fisiopatología de la Diabetes Tipo 2. Revisión del tema. *Medicina UPB*. 19(2): 169-178.
- Chiricolo M, Malagolini N, Bonfiglioli S, Dall'Olio F. 2006. Phenotypic changes induced by expression of beta-galactoside alpha 2,6 sialyltransferase I in the human colon cancer cell line SW948. *Glycobiology*. 16(2):146-154.
- Cowie CC, Rust KF, Ford ES, Eberhardt MS, Byrd-Holt DD, Li C, et al. 2009. Full accounting of diabetes and pre-diabetes in the US population in 1988–1994 and 2005–2006. *Diabetes care*. 32(2): 287-294.
- Crook M, Lumb P, Andrews V, Swaminathan R. 1998. Serum total sialic acid, a reputed cardiovascular risk factor, and its relationship to lipids, plasma fasting insulin, blood pressure and body mass index in normal individuals. *Clin Sci*. 95(1): 53-57.

Dall'Olio F, Chiricolo M, Ceccarelli C, Minni F, Marrano D, Santini D. 2000. beta-galactoside alpha 2,6 sialyltransferase in human colon cancer: Contribution of multiple transcripts to regulation of enzyme activity and reactivity with Sambucus nigra agglutinin. *Int J Cancer*. 88(1): 58-65.

De Luca C, Olefsky J. 2008. Inflammation and insulin resistance. *FEBS letters*. 582(1): 97-105.

Du Clos TW. 2000. Function of C-reactive protein. *Ann Med*. 32(4): 274-278.

Eldin WS, Emara M, Shoker A. 2008. Prediabetes: a must to recognize disease state. *Int J Clin Pract*. 62(4): 642-648.

Escobedo J, Pérez RJ, Schargrotsky H, Champagne B. 2014. Prevalencia de dislipidemias en la ciudad de México y su asociación con otros factores de riesgo cardiovascular. Resultados del estudio CARMELA. *Gac Med Mex*. 150: 128-36.

Federación Internacional de la Diabetes. 2013. Atlas de la diabetes 2014. 6ª edición.

Festa A, Hanley AJ, Tracy RP, D'Agostino R, Haffner SM. 2003. Inflammation in the prediabetic state is related to increased insulin resistance rather than decreased insulin secretion. *Circulation*. 108 (15): 1822-1830.

Flynn MD, Corrall RJ, Waters PJ, Pennock CA. 1991. Sialic acid and cardiovascular mortality. *BMJ*. 302(6775): 533.

Garg R, Tripathy D, Dandona P. 2003. Insulin resistance as a proinflammatory state: mechanisms, mediators, and therapeutic interventions. *Curr drug targets*. 4(6): 487-492.

Gavella M, Lipovac V, Car A, Vučić M, Sokolić L, Rakoš R. 2003. Serum sialic acid in subjects with impaired glucose tolerance and in newly diagnosed type 2 diabetic patients. *Acta diabetol*. 40(2): 95-100.

González B. 2001. Prediabetes y sociedad. Editorial Alfil, S.A de C.V. 252 p.

González PB, Salas FR, Echegollen GA, Pizarro CS, Guillén MGA. 2010. Elevated liver enzymes, impaired fasting glucose and undiagnosed diabetes. *Rev Med del Inst Mex del Seguro Soc*. 49(3): 247-252.

González SR, Buchaca FE. 2011. Fisiopatología y progresión de las personas con prediabetes. *Rev Cubana Endocrinol*. 22(1): 0-0.

- Grundy SM. 2012. Pre-diabetes, metabolic syndrome, and cardiovascular risk. *J Am Coll Cardiol.* 59(7): 635-643.
- Hak AE, Pols HA, Stehouwer CD, Meijer J, Kiliaan AJ, Hofman A, et al. 2001. Markers of inflammation and cellular adhesion molecules in relation to insulin resistance in nondiabetic elderly: the Rotterdam study. *J Clin Endocrinol Metab.* 86(9): 4398-4405.
- Harduin LA, Vallejo RV, Krzewinski RMA, Samyn PB, Julien S, Delannoy P. 2001. The human sialyltransferase family. *Biochimie.* 83(8): 727-737.
- Home P. 2004. La glucosa: esa dulce toxina. *Alimentación y diabetes.*
- Kanbak G, Akalin A, Dokumacioglu A, Ozcelik E, Bal C. 2011. Cardiovascular risk assessment in patients with type 2 diabetes mellitus and metabolic syndrome: role of biomarkers. *Diabetes Metab Syn.* 5(1): 7-11.
- Kawahito S, Kitahata H, Oshita S. 2009. Problems associated with glucose toxicity: role of hyperglycemia-induced oxidative stress. *World J Gastroenterol.* 15(33): 4137.
- Kim JW, Yoon KH. 2011. Glucolipotoxicity in pancreatic β -cells. *Diabetes Metab J.* 35(5): 444-450.
- Kumar V, Cotran RS, Robbins SL. 2008. Patología humana. 8^a edición. Ed. Elsevier Health Sciences. 972 p.
- Legaigneur P, Breton C, El Battari A, et al. 2001. Exploring the acceptor substrate recognition of the human beta-galactoside alpha 2,6-sialyltransferase. *J Biochem.* 276(24): 21608-21617.
- Li Y, Chen X. 2012. Sialic acid metabolism and sialyltransferases: natural functions and applications. *Appl Microbiol Biotechnol.* 94(4): 887-905.
- Lise M, Belluco C, Perera SP, Patel R, Thomas P, Ganguly A. 2000. Clinical correlations of alpha 2,6-sialyltransferase expression in colorectal cancer patients. *Hybridoma.* 19(4): 281-286.
- López D, Vallejo V. 2007. Expresión de ácido siálico y de la β -galactósido- α -2, 6-sialiltransferasa en cáncer. *REB.* 26(3): 93-98.
- Lutz HU, Bogdanova A. 2013. Mechanisms tagging senescent red blood cells for clearance in healthy humans. *Front physiol.* 4.

McMillan DE. 1989. Increased levels of acute-phase serum proteins in diabetes. *Metabolism*. 38(11): 1042-1046.

Meijer DKF, Scholtens HB, Hardonk MJ. 1982. The role of the liver in clearance of glycoproteins from the general circulation, with special reference to intestinal alkaline phosphatase. *Pharm Weekb*. 4(3): 57-70.

Meng L, Forouhar F, Thieker D, et al. 2013. Enzymatic Basis for N-Glycan Sialylation structure of rat alpha 2,6-sialyltransferase (st6gal1) reveals conserved and unique features for glycan sialylation. *J Biochem*. 288(48): 34680-34698.

Merat A, Arabsolghar R, Zamani J, Rouzi TM. 2003. Serum levels of sialic acid and neuraminidase activity in cardiovascular, diabetic and diabetic retinopathy patients. *Iran J Med Sci*. 28(3): 123-126.

Munguía MC, Sánchez-Barrera BRG, Hernández SD, Cruz LM. 2008. Prevalencia de dislipidemias en una población de sujetos en apariencia sanos y su relación con la resistencia a la insulina. *Salud Pública Mex*. 50(5): 375-382.

Nakanishi N, Suzuki K, Tatara K. 2004. Serum γ -glutamyltransferase and risk of metabolic syndrome and type 2 diabetes in middle-aged Japanese men. *Diabetes care*. 27(6): 1427-1432.

Nathan DM, Davidson MB, Defronzo RA, Heine RJ, Henry RR, Pratley R, Zinman B. 2007. Impaired fasting glucose and impaired glucose tolerance implications for care. *Diabetes care*. 30(3): 753-759.

Nayak, BS, Duncan H, Lalloo S, Maraj K, Matmungal V, Matthews F, et al. 2008. Correlation of microalbumin and sialic acid with anthropometric variables in type 2 diabetic patients with and without nephropathy. *Vasc Health Risk Manag*. 4(1): 243.

Nguyen QM, Srinivasan SR, Xu JH, Chen W, Hassig S, Rice J, Berenson GS. 2011. Elevated Liver Function Enzymes Are Related to the Development of Prediabetes and Type 2 Diabetes in Younger Adults The Bogalusa Heart Study. *Diabetes Care*. 34(12): 2603-2607.

Gutiérrez J, Rivera-Dommarco J, Shamah-Levy T, Villalpando-Hernández S, Franco A, Cuevas-Nasu L, et al. 2012. Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2012. Resultados Nacionales. Cuernavaca, México: Instituto Nacional de Salud Pública.

- Pallardo LF, Luca T, Marazuela M, Rovira A. 2010. Endocrinología clínica. Ed. Díaz de Santos. 391 p.
- Pickup JC, Mattock MB, Crook MA, Chusney GD, Burt D, Fitzgerald AP. 1995. Serum sialic-acid concentration and coronary heart-disease in niddm. *Diabetes Care*. 18(8): 1100-1103.
- Pickup JC. 2004. Inflammation and activated innate immunity in the pathogenesis of type 2 diabetes. *Diabetes care*. 27(3): 813-823.
- Ponnio M, Alho H, Nikkari ST, Olsson U, Rydberg U, Sillanaukee P. 1999. Serum sialic acid in a random sample of the general population. *Clin Chem*. 45(10): 1842-1849.
- Powrie JK, Watts GF, Crook MA, Ingham JN, Taub NA, Shaw KM. 1996. Serum sialic acid and the long-term complications of insulin-dependent diabetes mellitus. *Diabeti Med*. 13(3): 238-242.
- Rajappa M, Ikkurthi S, Nandeesh H, Satheesh S, Sundar I, Ananthanarayanan PH, Harichandrakumar KT. 2013. Relationship of raised serum total and protein bound sialic acid levels with hyperinsulinemia and indices of insulin sensitivity and insulin resistance in non-diabetic normotensive obese subjects. *Diabetes Met Syndr*. 7(1): 17-19.
- Reglero Á, Bravo IG, Martínez VF. 2007. Ácidos siálicos: distribución, metabolismo y función biológica. *In Anales de la Real Academia Nacional de Farmacia* (Vol. 73, No. 4).
- Rellier N, Ruggiero-Lopez D, Lecomte M, Lagarde M, Wiernsperger N. 1999. In vitro and in vivo alterations of enzymatic glycosylation in diabetes. *Life sciences*. 64(17): 1571-1583.
- Rosas PM, Lara EA, Pastelín HG, Velázquez MO, Martínez RJ, Méndez O, et al. 2005. Re-encuesta Nacional de Hipertensión Arterial (RENAHTA): Consolidación Mexicana de los factores de riesgo cardiovascular. Cohorte nacional de seguimiento. *Arch Card Mex*. 75(1): 96-111.
- Rosas-Guzmán J, Calles J, Friege F, Lara-Esqueda A, Suverza A, Campuzano R. 2009. Consenso de Prediabetes. Documento de Posición de la Asociación Latinoamericana de Diabetes. *ALAD XVII*. 4: 146-158.
- Rubio GAF. 2004. Resistencia a la insulina. McGraw-Hill / Interamericana de México. 167 p.
- Schauer R. 2000. Achievements and challenges of sialic acid research. *Glycoconj J*. 17(7-9): 485-499.

- Schauer R. 2004. Sialic acids: fascinating sugars in higher animals and man. *Zoology*. 107(1): 49-64.
- Sears P, Wong CH. 1998. Enzyme action in glycoprotein synthesis. *CMLS*. 54(3): 223-252.
- Serrano MA, Cabezas JA, Reglero A. 1985, Carbohydrate contents, and glycosidase and glycosyl transferase activities in tissues from streptozotocin diabetic mice. *Comp Biochem Physiol Biochem Mol Biol*. 80(3): 629-632.
- Sillanauke P, Ponnio M, Jaaskelainen IP. 1999. Occurrence of sialic acids in healthy humans and different disorders. *Eur J Clin Inv*. 29(5): 413-425.
- Sorensen AL, Rumjantseva V, Nayeb-Hashemi S, et al. 2009. Role of sialic acid for platelet life span: exposure of beta-galactose results in the rapid clearance of platelets from the circulation by asialoglycoprotein receptor-expressing liver macrophages and hepatocytes. *Blood*. 114(8): 1645-1654.
- Tabák AG, Herder C, Rathmann W, Brunner EJ, Kivimäki M. 2012. Prediabetes: a high-risk state for diabetes development. *The Lancet*. 379(9833): 2279-2290.
- Takashima S. 2008. Characterization of mouse sialyltransferase genes: Their evolution and diversity. *Biosci Biotechnol Biochem*. 72(5): 1155-1167.
- Unwin N, Shaw J, Zimmet P, Alberti KGMM. 2002. Impaired glucose tolerance and impaired fasting glycaemia: the current status on definition and intervention. *Diab Med*. 19(9), 708-723.
- Varki A, Freeze HH. 2009. Glycans in acquired human diseases.
- Varki, A. 2008. Sialic acids in human health and disease. *Trends Mol Med*. 14(8): 351-360.
- Wallach J. 2002. Interpretación clínica de las pruebas de laboratorio. 4.^a edición. Ed. Masson. 1315 p.
- Yasukawa Z, Sato C, Kitajima K. 2005. Inflammation-dependent changes in α 2, 3-, α 2, 6-, and α 2, 8-sialic acid glycotopes on serum glycoproteins in mice. *Glycobiology*. 15(9): 827-837.
- Zulet M, Puchau B, Navarro C, Martí A, Martínez JA. 2007. Biomarcadores del estado inflamatorio: nexo de unión con la obesidad y complicaciones asociadas *Nutr Hosp*. 22(5): 511-527.