

UNIVERSIDAD DE SONORA

DIVISIÓN CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD

**PROGRAMA DE MAESTRÍA EN CIENCIAS DE LA
SALUD**

**Estimación de la Validez del Ácido Siálico Sérico Como
Predictor de Complicaciones Vasculares en Pacientes con
Diabetes Mellitus Tipo 2.**

TESIS

Que para obtener el Título de:

Maestría en Ciencias de la Salud

Presenta

Q.B. Miriam Denisse García Villa

Hermosillo, Sonora.

Abril del 2011.

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

TABLA DE CONTENIDO

LISTA DE FIGURAS.....	viii
LISTA DE TABLAS.....	ix
OBJETIVOS.....	x
RESUMEN.....	xi
INTRODUCCIÓN.....	1
ANTECEDENTES BIBLIOGRÁFICOS.....	3
Diabetes Mellitus Tipo 2 (DM2).....	3
Complicaciones Vasculares.....	3
Tratamiento Farmacológico.....	4
Ácido Siálico	9
Biosíntesis del SA en el Humano.....	10
Distribución y Funciones en las Membranas Celulares y en el Plasma Humano.....	12
Relación entre el Aumento del SA y el Riesgo de Aterotrombosis.....	18
Evaluación de Pruebas Diagnósticas.....	21
Sensibilidad y Especificidad.....	21
Valor Predictivo Positivo y Negativo.....	22
La Curva ROC.....	23
El Área Bajo la Curva.....	23
MATERIALES Y MÉTODOS.....	25
Diseño de Estudio.....	25

TABLA DE CONTENIDO (Cont.)

Selección de la Población de Estudio.....	26
Obtención de Muestra.....	26
Estimación de Metabolitos Bioquímicos.....	27
Estimación de SA en las Muestras Séricas.....	27
Plan de Análisis.....	27
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	29
CONCLUSIONES.....	46
REFERENCIAS.....	47
ANEXOS.....	61

LISTA DE FIGURAS

Figura		Página
1	Ejemplos de SA o ácido neuráminico.....	11
2	Metabolismo del SA.....	13
3	Posición del SA en los gangliósidos. (DHA) ácido docosahexaenoico, (ARA) ácido araquidónico y SA.....	15
4	N-oligosacáridos ligados a la Apo B-100 de la LDL.....	17
5	Comparación de los niveles medios de HbA1c en los pacientes con DM2 agrupados por su tratamiento hipoglicemiante.....	31
6	Comparación de los niveles medianos de PCR entre el grupo de pacientes con DM2 y grupo control.....	34
7	Comparación de los niveles de SA sérico entre el grupo de pacientes con DM2 y el grupo control del sexo femenino.....	35
8	Correlación de la concentración de SA con los niveles de proteína C reactiva (PCR).....	37
9	Correlación de la concentración de SA con los niveles de proteínas totales (PT).....	38
10	Curva ROC de SA y la presencia de complicaciones vasculares en la población de estudio.....	41
11	Curva ROC de PCR y la presencia de complicaciones vasculares en la población de estudio.....	42

LISTA DE TABLAS

Tabla		Página
I	Características clínicas y variables metabólicas de la población de estudio.....	28
II	Esquemas terapéuticos hipoglicemiantes prescritos al 71% (52 pacientes) de los pacientes con DM2 de este estudio.....	30

HIPÓTESIS

El SA sérico es un marcador biológico válido para predecir el riesgo de complicaciones vasculares en pacientes con diabetes mellitus tipo 2.

OBJETIVO GENERAL

Estimar la validez del SA sérico como predictor de complicaciones vasculares en pacientes con diabetes mellitus tipo 2.

OBJETIVOS PARTICULARES

1. Estimar los niveles séricos de SA, proteína C reactiva, glucosa preprandial, Hb A1c, LDL colesterol, HDL colesterol, colesterol total, proteínas totales y triglicéridos, para determinar la potencial asociación entre los marcadores de inflamación y los marcadores metabólicos en un grupo de pacientes con DM2 con complicaciones vasculares.
2. Calcular la sensibilidad, la especificidad y los valores predictivos de SA como marcador de riesgo de complicaciones vasculares en la población de estudio, y comparar dichos valores con los de la proteína C reactiva.

RESUMEN

La diabetes mellitus tipo 2 (DM2) es un síndrome plurimetabólico crónico de evolución insidiosa, que produce altas tasas de morbilidad y mortalidad por complicaciones vasculares. Los pacientes con DM2 suelen tener niveles elevados de ácido siálico sérico (SA), asociados con el estrés inflamatorio crónico y, por lo tanto, con el riesgo que tienen de presentar complicaciones vasculares. Sin embargo, no existen consensos de la validez de la medición sérica de este carbohidrato para predecir el riesgo de complicaciones vasculares. Los resultados obtenidos en este trabajo, demostraron que el 92% de los 73 pacientes con DM2 a los que se les midió la concentración de SA, presentaron niveles elevados de este carbohidrato (por arriba de 60 mg/dL) en comparación con el 73% de los pacientes que tuvieron concentraciones elevadas de PCR (por arriba de 3.8 mg/dL). Del total de pacientes (73 diabéticos) 68% manifestó complicaciones vasculares. El análisis de los resultados por medio de curvas ROC, sugirió que el ácido siálico es una prueba de mayor valor para el diagnóstico temprano de complicaciones vasculares, con un área bajo la curva (ABC) de 0.75, que la cuantificación de la proteína C-reactiva (PCR) con una ABC de 0.65; así, la cuantificación del ácido siálico mostró una capacidad del 93% para identificar correctamente la presencia de complicaciones vasculares en pacientes con DM2. No obstante los resultados anteriores, es importante considerar que en este estudio fueron incluidos únicamente 73 pacientes con DM2, por lo que es necesario reanalizar la exactitud de la prueba ampliando el tamaño de la muestra de pacientes y utilizando variables de ajuste adicionales.

INTRODUCCIÓN

La diabetes mellitus tipo 2 (DM2) es un síndrome plurimetabólico, crónico degenerativo, que tiene una prevalencia nacional de 8.1% (ENSANUT, 2006) y una tasa de mortalidad de 53.2 por cada 100,000 habitantes (Villalpando y col., 2010). Su impacto sobre la tasa de mortalidad se debe a las complicaciones renales y cardiovasculares que produce (IFD, 2010).

La evolución de las complicaciones vasculares es insidiosa y en muchos pacientes un infarto del miocardio puede ser la señal clínica inicial que conduzca al diagnóstico de la diabetes. La aterosclerosis, un proceso patogénico que inicia generalmente con disfunción endotelial (Gustafson B, 2010), es la base de las complicaciones vasculares de la diabetes (Miyamoto y col., 2010). La aterosclerosis involucra una respuesta inflamatoria crónica, en la que se produce el aumento en la concentración de proteínas séricas como la inmunoglobulina A1 (IgA1; Vázquez-Moreno y col., 2001) y proteínas de fase aguda como el fibrinógeno y la proteína C-reactiva (PCR; Akvlediani y col., 2009); estas proteínas, se caracterizan por su alto contenido de SA (son proteínas sialiladas; Lebensohn y col., 2009). El SA (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 en más del 70% del total de proteínas de fase aguda así como en la mayoría de las glicoproteínas séricas (García y Kaski, 2000; Browning y col., 2004). La elevación del SA está asociada con procesos inflamatorios (Vázquez-Moreno y col., 2001; Gavella y col., 2003) y por esta razón es posible que esté asociada con el aumento en el plasma de las proteínas de fase aguda (García y Kaski, 2000; Browning y col., 2004).

No obstante lo anterior, es probable que la elevación del SA en el suero de los pacientes con DM2 se deba también a que la superficie del endotelio vascular tiene grandes cantidades de ese carbohidrato (Born y Palinski, 1985). De ser así, la utilidad de SA como predictor independiente de las complicaciones vasculares de la DM2 (Matthew y col., 2004; Soedamah-Muthu y col., 2008) podría ser incluso mayor al de proteínas individuales (como la PCR). Sin embargo, los resultados de los estudios que han explorado la utilidad del SA como marcador de complicaciones vasculares son hasta ahora controvertidos y, por ello, el objetivo de este trabajo fue el de estimar

la sensibilidad y especificidad del SA sérico como predictor de complicaciones vasculares en un grupo de pacientes con DM2, en comparación con la proteína C-reactiva, un marcador de riesgo aceptado a escala internacional por su valor predictivo en el caso de las complicaciones cardiovasculares.

ANTECEDENTES BIBLIOGRÁFICOS

Diabetes Mellitus Tipo 2

La diabetes mellitus tipo 2 (DM2) es un síndrome plurimetabólico caracterizado por hiperglicemia crónica, con anormalidades en el metabolismo de los carbohidratos, grasas y proteínas, secundarias a la alteración en la secreción y/o acción de la insulina (Bailes, 2002; Beckman, 2002). La DM2 es la forma más común de la diabetes, ya que la padece el 90% de los pacientes, y es con frecuencia parte del “síndrome metabólico”, una entidad nosológica que aumenta el riesgo de complicaciones vasculares en los pacientes con DM2 (IFD, 2010).

Durante mucho tiempo, la DM2 fue considerada erróneamente como una enfermedad trivial, debido a que a menudo es asintomática. Los síntomas clásicos de la diabetes, tales como polidipsia, polifagia y poliuria, son expresiones clínicas tardías de la descompensación metabólica de los pacientes. Esto significa que la DM2 puede ser considerada una enfermedad silenciosa y potencialmente mortal, en la que el 70% de las muertes son provocadas por complicaciones cardiovasculares (Valdes-Ramos y Bencosme-Rodriguez, 2010). La aterosclerosis puede iniciar muchos años antes de la diabetes clínica, de tal suerte que la expectativa de vida de los pacientes con DM2 diagnosticados tardíamente se reduce de 30 a 40%, con una pérdida potencial de 8 a 10 años de vida (López, 2007) con relación a los que son diagnosticados en las fases tempranas de la diabetes. Actualmente existen criterios estandarizados e internacionalmente aceptados para el diagnóstico de la diabetes (ADA, 2011) y a pesar de ello un elevado porcentaje de los pacientes (aproximadamente el 29%) son diagnosticados tardíamente y de forma incidental. Por esta razón, cerca de la mitad de los pacientes con DM2 presenta complicaciones, micro y/o macrovasculares, al momento de su diagnóstico (Barnett, 2009).

Complicaciones Vasculares

El infarto agudo del miocardio es la principal causa de muerte y hospitalización en los pacientes con DM2; su incidencia es de dos a cuatro veces mayor en estos pacientes que en la población general (Varughese y col., 2005; Stefan

y col., 2009). Además, los pacientes diabéticos que desarrollan un evento cardiovascular agudo tienen peor pronóstico que los no diabéticos, ya que presentan mayor incidencia de insuficiencia cardíaca y choque cardiogénico y menor supervivencia a largo plazo (Lakka, 2002). Un estudio que corrobora la información citada anteriormente es el de Kümler y colaboradores (2010), en el que se demostró que la incidencia de infarto al miocardio en individuos no diabéticos fue de 22.3%, mientras que en los diabéticos fue de 36.3%, presentando una mortalidad de 60.2%-72.5% y 82.7-91.1% respectivamente, después de 15 años de evolución de dichos pacientes.

La aterosclerosis, un proceso degenerativo vascular que tiene una estrecha relación con la hiperglicemia, la hipertensión sanguínea, el tabaquismo, la proteinuria y la dislipidemia, es la principal causa del infarto del miocardio (Ishwarlal y col., 2010). Sin embargo, la DM2 también afecta, por otros mecanismos, los vasos de pequeño calibre, conduciendo a la retinopatía (la causa más común de ceguera en personas entre 20 y 60 años de edad), nefropatía y neuropatía (central y periférica). La neuropatía sensorial, con una prevalencia de 5 a 10% (ADA, 2011) es un factor causal importante del pie diabético, que ocasiona daños anatómo-funcionales permanentes en los pacientes con DM2.

Por la evolución insidiosa de la DM2, la detección oportuna de las complicaciones, es en general un problema de salud pública; por ello, alrededor del 13% de los pacientes con DM2 puede tener retinopatía y otras complicaciones en el momento del diagnóstico (Wong y col., 2008).

Tratamiento Farmacológico

El manejo alimentario de la DM2 tiene el objetivo general de conseguir un equilibrio entre la ingesta de calorías y el gasto energético del paciente, además del mantenimiento de una concentración de insulina circulante adecuada para asegurar una utilización efectiva de la energía y evitar, en la medida de lo posible, la disglucemia (hipo o hiperglicemia crónicas). En las fases tempranas de la DM2, el equilibrio entre la ingesta y el gasto energético, además de un plan de ejercicio individualizado, puede ser suficiente para controlar adecuadamente a los pacientes

(Barclay y col., 2010). Sin embargo, en el tratamiento de los pacientes con DM2 avanzada se requiere, además de la intervención en la actividad física y alimentaria, del uso de fármacos (Coppell y col., 2010).

Para este último caso se dispone de un grupo de fármacos conocidos como hipoglicemiantes, que son un conjunto heterogéneo de sustancias que se caracterizan por disminuir la concentración de glucosa en sangre (disminuyen la glicemia); incluyen a las sulfonilureas, biguanidas, inhibidores de α -glucosidasas, tiazolidinedionas, incretinas, meglitinidas e insulina, entre otros (Coppell y col., 2010).

Sulfonilureas. Estos hipoglicemiantes orales, estimulan la liberación de insulina por las células β pancreáticas, por lo que son eficaces mientras estas células mantienen cierta capacidad secretora de insulina, pero son inadecuados cuando disminuye la capacidad de secretar insulina (Mercadal y col., 2005). Su efecto hipoglicemiante agudo está mediado por su acción sobre los canales de potasio dependientes de ATP de las células beta pancreáticas, en donde actúan imitando el efecto de los secretagogos fisiológicos, estimulando así la secreción de insulina (Vizcaíno, 2004). Los efectos hipoglicemiantes crónicos de las sulfonilureas, parecen deberse al aumento en la sensibilidad de los tejidos a la acción de la insulina, por el aumento de los receptores de insulina o por la unión de las sulfonilureas a los tejidos blanco de la insulina (Mercadal y col., 2005). Tras su administración oral, son bien absorbidas por el tracto gastrointestinal, biotransformadas por el hígado y los riñones, a metabolitos activos o inactivos, y transportadas en el torrente circulatorio por proteínas plasmáticas (Vizcaíno, 2004). Entre las sulfonilureas de primera generación se encuentran la tolbutamida, clorprolamida, tolazamida y acetohezamida; en las de segunda generación están la gliburida, la glicipizida y la glicazida. La glibenclamida tiene un efecto más prolongado que las sulfonilureas de primera generación y puede administrarse una sola vez al día; es el hipoglicemiante más prescrito en el Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS), debido a que está disponible en el cuadro básico de medicamentos (NOM-015-SSA2-1994), pero tiene el inconveniente de producir efectos secundarios tales como alteraciones

hematológicas (aplasia medular, agranulocitosis, anemia hemolítica y trombocitopenia), alteraciones cutáneas y gastrointestinales (náuseas y vómitos).

Meglitinidas. Son secretagogos no sulfonilureicos (Barnett, 2007). En México, se dispone de repaglinida (un derivado del ácido benzoico) y nateglinida (un derivado de la fenilalanina), pero ninguno de ellos forma parte del cuadro básico de medicamentos del IMSS y, por lo tanto, no forman parte del tratamiento de sus derechohabientes. Las metiglinidas tienen una acción más rápida y transitoria que las sulfonilureas (Phillippe y col., 2010), por lo que el riesgo de hipoglicemia por el uso de meglitinidas, es menor que con sulfonilureas. Actúan estimulando la liberación de insulina de las células β pancreáticas, mediante su unión a los canales de potasio dependientes de adenosintrifosfato, de manera similar a las sulfonilureas pero en un sitio de unión distinto. Su unión a las células β provoca la inhibición del flujo hiperpolarizante y tónico del potasio, lo que hace que el potencial eléctrico de la membrana sea más positivo; esta despolarización desencadena el aumento intracelular de calcio y con ello la fusión de las vesículas de insulina a la membrana celular y la subsecuente secreción de pro-insulina (Tamez y col., 2003). Otra potencial ventaja del uso de estos fármacos, es la disminución marcada en la glucosa posprandial (Black y col., 2008). En estudios realizados, comparando el uso de nateglinida y repaglinida, se observó una reducción de HbA1c de 0.5-0.8% y de 0.24-2% respectivamente (Blicklé, 2006). Al combinar el uso de este hipoglicemiante con metformina, la HbA1c se redujo hasta 1.4% (Marre y col., 2002).

Biguanidas. Son los fármacos de primera línea para el tratamiento del paciente obeso, con o sin DM2. La metformina es una biguanida que aumenta la sensibilidad de las células a la insulina, disminuyendo así la concentración de glucosa y de insulina plasmáticas (Khurana y Malik 2010). Estos efectos se atribuyen, en parte, a la disminución en la reserva hepática de glucosa y al aumento en la utilización de glucosa por el intestino (Castro y col., 2005) y los músculos asociado con la mayor sensibilidad tisular a la insulina (Vizcaíno, 2004). Además, el efecto de la metformina parece depender también de la disminución en la oxidación

de los ácidos grasos (Castro y col., 2005). La metformina es el único agente oral antidiabético que al usarse solo, se relaciona con la reducción de la prevalencia de complicaciones vasculares de la DM2 y con la pérdida de peso corporal (Brown y col., 2009). Vilar y colaboradores (2009) analizaron a un grupo de pacientes con DM2 tratados con metformina durante 24 semanas, observándose una disminución marcada del porcentaje de hemoglobina A1c ($1.1 \% \pm 0.3$) y en el peso corporal (4.2 ± 0.9 Kg) después de 12 semanas de monoterapia. Asimismo, Brown y colaboradores (2009) observaron al iniciar el tratamiento con metformina de pacientes con diabetes recién diagnosticados (3 meses), se controló significativamente la glicemia así como el riesgo micro y macrovascular.

Tiazolidinedionas. Actúan a nivel del receptor nuclear PPAR- γ (siglas en inglés del receptor del activador del proliferador de peroxisomas). La activación de este receptor modifica la transcripción nuclear de genes que regulan el metabolismo de los carbohidratos y lípidos (Barnett, 2009). El efecto más prominente es el incremento de la captación de glucosa, estimulada por insulina, a nivel del músculo esquelético. Esto produce la disminución de la resistencia a la insulina y de la lipólisis en los tejidos periféricos e incrementa la diferenciación de los adipocitos. Otros de sus efectos incluyen el incremento en las concentraciones de HDL y el descenso de los triglicéridos (Taylor y col., 2006). Pueden reducir levemente la presión arterial, aumentar la fibrinólisis y mejorar los parámetros de función endotelial (Vizcaíno, 2004). Sus efectos colaterales incluyen el aumento de peso, debido al aumento de los depósitos lipídicos subcutáneos (Barnett, 2009).

Diversos estudios reportan el uso de este grupo de fármacos en esquemas monoterapéuticos, mostrando una reducción significativa en los niveles de hemoglobina A1c de los pacientes, en comparación con los grupos control (tratados con placebos). Por ejemplo, usando la pioglitazona, la media de HbA1c se redujo de 0.8% a 1.6%, con 30 y 45 mg de pioglitazona, respectivamente (Aronoff y col., 2000). En estudio recientes, con el uso de glimepirida y sitagliptin la HbA1c se ha reducido en un 0.8%. Las reducciones son mayores en aquellos pacientes con un nivel basal de HbA1c muy elevado (>9%) reduciendo el nivel de HbA1c de 1.3%. Pero a pesar de los efectos positivos de las tiazolidinedionas en el control metabólico

de los pacientes con DM2, no son fármacos que se prescriban a los derechohabientes del IMSS, probablemente por su alto costo (Waugh y col., 2010).

Inhibidores de las α -glucosidasas. Actúan inhibiendo de forma competitiva y reversible a las alfa-glucosidasas intestinales (Aschner. 2000). Estas enzimas se encuentran en el borde de cepillo del intestino proximal, y son las encargadas de desdoblar disacáridos y polisacáridos, lo que implica que su inhibición conduce a una disminución de la absorción de glucosa y a la consiguiente reducción de la glucemia postprandial y la insulinemia. Por su mecanismo de acción no producen episodios de hipoglucemia ni provocan aumento de peso. Los principales efectos adversos de estos fármacos incluyen diarrea, flatulencia y dispepsia, que pueden evitarse utilizando bajas dosis de estos medicamentos (Vizcaíno, 2004; Cárdenas-Estada, 2003). Usando inhibidores de las α -glucosidasas, se ha publicado la reducción de 50 a 60 mg/dL de la glucemia posprandial, 15 a 25 mg/dL de la glucemia en ayuno y 0.5% en las cifras de hemoglobina A1c (Cárdenas-Estrada, 2003).

Incretinas. Constituyen una nueva clase de fármacos hipoglicemiantes. Que imitan al GLP-1 (péptido semejante al glucagon tipo 1), un polipéptido producido por las células L del intestino (Thongtang y Sriwijitkamol, 2008). El GLP-1 incrementa la síntesis y secreción pancreática de insulina estimulada por glucosa, reduce la secreción de glucagon, retrasa el vaciamiento gástrico y reduce el apetito; todos estos efectos contribuyen a su efecto hipoglicemiante. La vida media del GLP-1 es de 2 a 3 minutos, ya que es rápidamente degradado por la di-peptidil-peptidasa IV (DPP-IV); por esta razón, se esperan mayores efectos benéficos en el control de la glicemia posprandial sin los efectos hipoglicemiantes de otros agentes antidiabéticos.

El efecto normoglicemiante de estos fármacos, representados por la sitagliptina y la vildagliptina, es moderado, con una reducción más significativa en aquellos pacientes con mayor descontrol glucémico, tal como ocurre con otros medicamentos antidiabéticos (Aschner y col., 2006). Es importante acotar que, al menos teóricamente, su mayor utilidad se mostraría en pacientes con poco tiempo de evolución de la enfermedad, porque la integridad de su eje enteroinsular. Sin

embargo, se cree que la terapia combinada con incretinas y otros fármacos, como la metformina, es la que mostrará mejores resultados clínicos (Buchacha, 2009).

Insulina. Es el medicamento de elección cuando la reserva pancreática de insulina ha sido agotada y la glicemia no se controla con hipoglicemiantes orales (Inzucchi, 2002) pero también representa una opción para prolongar las reservas de insulina en las fases clínicas intermedias de la DM2 (Vizcaíno, 2004). Las insulinas humanas disponibles en nuestro país son las de acción rápida, acción intermedia (NPH y lenta) e insulina lispro. Si bien el uso de la insulina de acción rápida no se ha extendido a las clínicas mexicanas del primer nivel de atención porque se utiliza principalmente en el tratamiento de complicaciones metabólicas agudas (cetoacidosis o coma hiperosmolar) y durante el embarazo, cada día se amplía la gama de presentaciones comerciales disponibles para el control temprano de los pacientes diabéticos, de manera que en los próximos años estaremos viendo su impacto en la prevención de las complicaciones vasculares de la DM2.

Acido Siálico

La existencia de una asociación positiva entre del riesgo de complicaciones de la DM y la hiperglicemia ha sido ampliamente demostrada en los últimos 30 años, gracias a una serie de estudios prospectivos multicéntricos (Diabetes Control and Complications Trial-DCCT (1993); United Kingdom Prospective Diabetes Study-UKPDS, 1995). Por ello, la detección precoz de la DM2 y el control de la glicemia constituyen la piedra angular para retrasar la aparición de las complicaciones tanto micro como macrovasculares. Pero aún con el uso de los esquemas terapéuticos en los que se combina la insulina con los hipoglucemiantes orales, el control de la glicemia y de las complicaciones vasculares no rebasa el 70% (Vizcaíno F, 2004; Englyst y col., 2006). De ahí que exista la necesidad de demostrar a cabalidad el valor de otros marcadores bioquímicos de riesgo vascular, como el SA plasmático, una molécula que podría llegar a ser considerada un buen predictor de complicaciones vasculares en los pacientes con DM2 (Matthew y col., 2004), por

formar parte de proteínas plasmáticas, como la PCR, el fibrinógeno y la IgA1, que se elevan en pacientes diabéticos (Panteghini, 2004; Vázquez-Moreno y col., 2001), de adhesinas celulares (CAM por sus siglas en inglés), gangliósidos y esfingolípidos (Edelman, 1983; Cabezas y Calvo, 1984), así como también de las células endoteliales (Lin y col., 2004).

Biosíntesis del SA en el Humano

El SA, es el nombre genérico que se otorga a más de 30 carbohidratos con estructura similar por ser variaciones de una molécula llamada ácido N-acetilneuramínico (Vimr y col., 2004). Se describió por primera vez en los años cuarenta y posteriormente diversos grupos de investigación caracterizaron su estructura y función (Roseman, 1970; Rosenberg y Schengrund, 1976; Corfield y Schauer, 1982; Varki, 1992). Hacia los años setenta, se empleaban indistintamente los términos ácido neuramínico y SA, pero posteriormente, con la identificación de compuestos como el N-glicolilneuramínico, O-acetilneuramínico, O-glicolilneuramínico y deamino neuramínico, se ha preferido considerar a los ácidos siálicos como una familia de azúcares relacionados con el ácido neuramínico (Figura 1). El ácido N-acetilneuramínico (Neu₅Ac, SA), es un carbohidrato derivado de la glucosa, de 11 átomos de carbono, cargado negativamente, con un peso molecular de 328 Da y pK de 2.6 (Romppanen, 2003). Constituye alrededor del 80% del SA plasmático en humanos (Sillanaukee y col., 1999; Nigam y col., 2006).

El SA, está ampliamente distribuido en la naturaleza formando parte de estructuras macromoleculares como las glicoproteínas y los gangliósidos (Puente, 1996). En los humanos, el SA está presente en líquidos corporales (plasma sanguíneo, fluido sinovial, jugos gástricos y orina), en tejidos y órganos (células sanguíneas, glándulas salivales, estómago, cervix, colon y cartílago, entre otros) (Sillanaukee y col., 1999; Nigam y col., 2006).

El SA, es un componente terminal del extremo no reductor de las glicoproteínas y los glicolípidos (Kurtoglu y col., 2006). En la sangre humana, las glicoproteínas plasmáticas que contienen más SA, son el orosomucoide, el fibrinógeno, la haptoglobina, la ceruloplasmina, la α -antitripsina, proteína C-reactiva

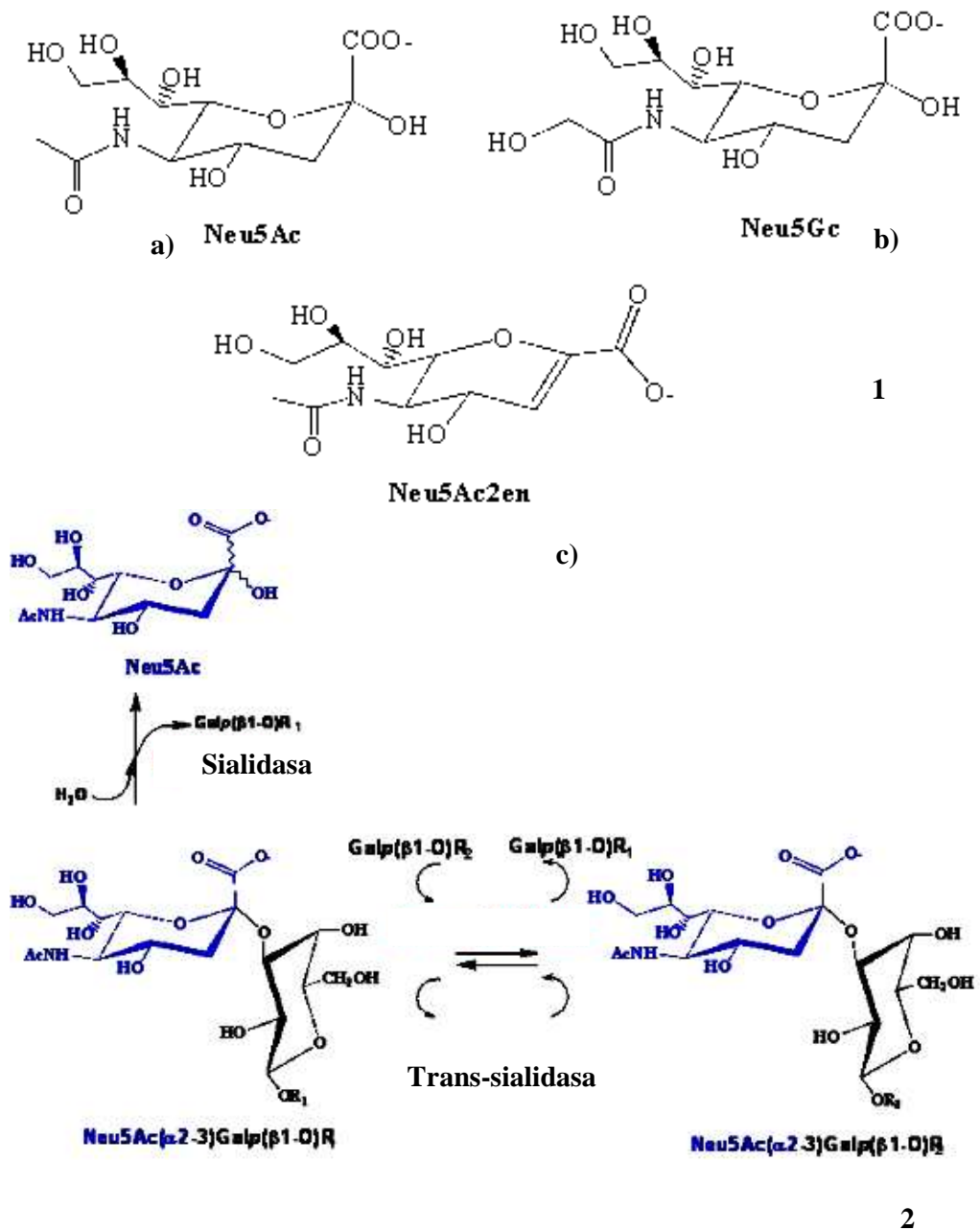


Figura 1. Ejemplos de SA o ácido neuráminico. 1 a). ácido neuramínico; b) ácido N-glicolilneuramínico; c) ácido deamino neuramínico. 2) representación de la unión de SA a la galactosa (www.fiocruz.br).

(PCR), algunas proteínas del complemento y la transferrina (Melajärvi y col., 1996; Sillanauke y col., 1999).

Además, la lipoproteína de baja densidad (LDL, por sus siglas en inglés), es una de las lipoproteínas que contiene gran cantidad de SA (Taniguchi y col., 1989). El precursor del SA es la glucosa, que por medio de varias modificaciones produce el uridina difosfato-N-acetil-D-glucosamina (UDF-GlcNAc). La UDF-GlcNAc es convertida posteriormente a N-acetilmanosamina (ManNAc), la cual después de ser fosforilada a ManNAc-6-P e isomerizada a ManNAc-9-P, origina el ácido N-acetilneuramínico-9-fosfato (SANAc-9-P). La incorporación del SA en los glicoconjugados ocurre en el aparato de Golgi, utilizando a la citidina monofosfato (CMP) como un acarreador. Las concentraciones elevadas de SA-citidina monofosfato (AS-CMP) pueden inhibir la síntesis de SA, por retroalimentación negativa. La degradación de sialoglicoproteínas y sialolípidos, es un proceso que se efectúa en los lisosomas que favorece el recambio y reutilización del ácido siálico intracelular (Figura 2; Romppanen, 2003).

Distribución y Funciones del SA en las Membranas Celulares y en el Plasma

Humano

SA en las membranas celulares. La estructura, presencia y funciones generales del SA en los sistemas biológicos se han revisado ampliamente (Schauer, 1982; Kelm y col., 1997). Normalmente, las proteínas con orientación extracelular o que realizan su función en la superficie de la célula son glicoproteínas; algunas de estas glicoproteínas tienen, en su fracción glucosídica, residuos de SA que se localizan específicamente en la posición terminal (en forma de señal biosintética) de la parte glucosídica de la molécula (Corfield y Schauer, 1982). La presencia del SA en las glicoproteínas de las membranas celulares humanas favorece su función como receptores en procesos de interacción molecular y/o adhesión celular (Puente, 1996).

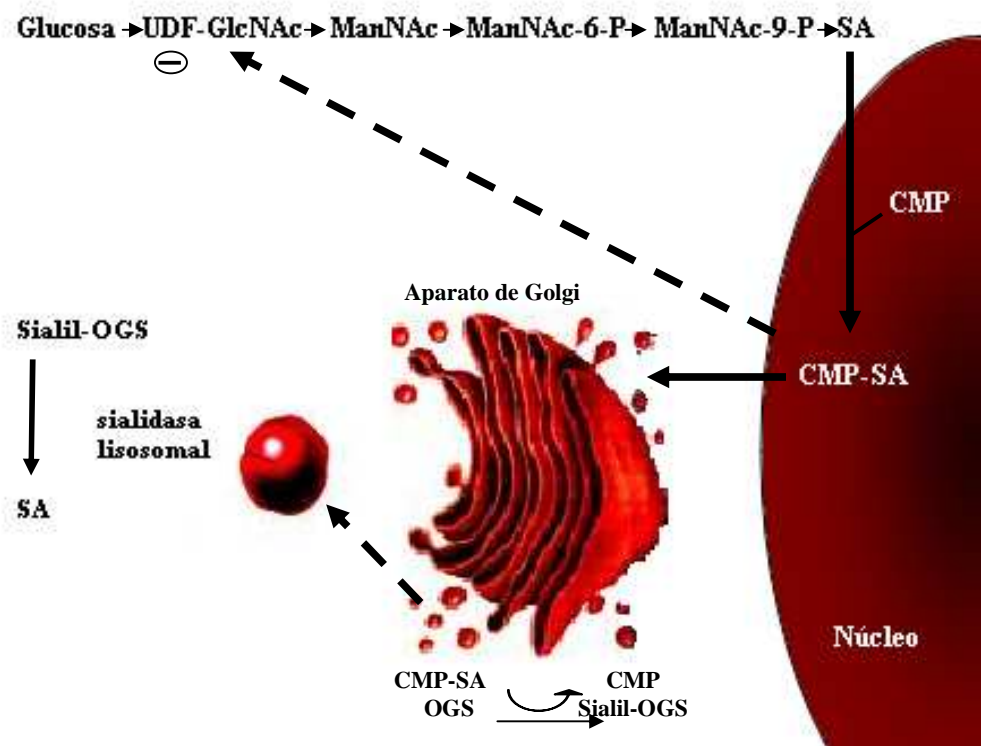


Figura 2. Metabolismo del SA (Romppanen, 2003; Quaggin, 2007).

Otra función del SA en las membranas es la de proporcionarles su carga neta negativa. La carga negativa evita la adhesión entre algunas células, pero al mismo tiempo facilita la interacción de otras; además, el SA en las membranas sirve como componente de los receptores de la superficie celular (Nigam y col., 2006). Las moléculas de adhesión celular (CAM, por sus siglas en inglés) se destacan por su importancia en los procesos de interacción celular y porque presentan en su fracción glucosídica al menos 12 residuos de Neu5Ac, unidos por enlaces α (2-8) de un modo lineal (Edelman, 1983). Otras moléculas que forman parte de las membranas celulares y están sialiladas son los gangliósidos y los glicoesfingolípidos, que contienen uno o más residuos de SA y por lo tanto están cargados negativamente a pH 7 (Figura 3). Los gangliósidos se sitúan en la capa externa de la membrana plasmática actuando como receptores de algunas toxinas, como la del cólera o la del tétanos, participando en la transmisión de los impulsos nerviosos y otros fenómenos neurofisiológicos, así como en la regulación del crecimiento celular y en algunos procesos celulares (Cabezas y Calvo, 1984).

Entre las células que tienen membranas con alto contenido de SA están las endoteliales vasculares y las células sanguíneas. Debido a su carga negativa, el SA evita la adhesión de las células sanguíneas a las membranas de las células vasculares (Born y col., 1985). En contraparte, la pérdida de SA en las membranas de las células endoteliales podría favorecer la interacción del endotelio vascular con los leucocitos o con moléculas plasmáticas, como LDL. Esta interacción ha sido relacionada con el proceso aterotrombótico (Nassimizadeh y col., 2010).

Localización y funciones del SA en el plasma. En el plasma, el SA se encuentra ligado al extremo terminal no reductor de las glicoproteínas. Su presencia, además de mantenerlas solubles en el plasma (aún a las proteínas más hidrofóbicas como las globulinas), les proporciona la estabilidad necesaria para su funcionamiento óptimo

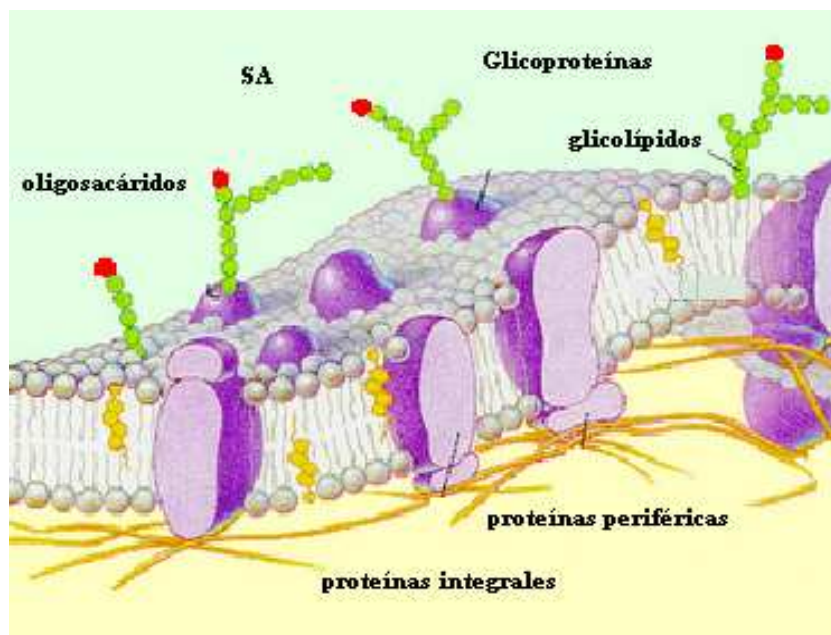


Figura 3. Posición del SA en los gangliósidos en las membranas celulares (www.enfababy.com).

en la circulación sanguínea. El SA, también influye en la vida media de las glicoproteínas y tiene un efecto de blindaje contra el ataque proteolítico endógeno o exógeno (Varki y col., 1992).

Una de las lipoproteínas más vinculadas con el proceso aterotrombótico, la LDL, es una de las proteínas plasmáticas que tiene SA en su región apoproteica (Tertov y col., 1993). La Apo B-100, es una glicoproteína con 20 sitios potenciales de N-glicosilación, de los cuales están glicosilados generalmente hasta 16 sitios (Yang y col., 1986; Taniguchi y col., 1989). Del 5-9% de la masa de la Apo B-100 es carbohidrato, existiendo dos tipos importantes de estructuras oligosacáridas: N-oligosacáridos altos en manosa y N-oligosacáridos complejos biantenarios (Figura 4) (Swaminathan y Aladjem, 1976; Taniguchi y col., 1989). El SA representa el 10% de los monosacáridos de los N-oligosacáridos de la Apo B-100, con 12-14 residuos de SA por partícula (Taniguchi y col., 1989), pero a diferencia de los otros monosacáridos, el contenido de SA varía significativamente entre las Apo B obtenidas de diferentes individuos (Swaminathan y Aladjem, 1976).

En la fracción lipídica de la LDL, el SA constituye del 6-7% del carbohidrato total, pero al igual que en la fracción apoproteica, el contenido de galactosa es marcadamente más alto que el del SA (Tertov y col., 1993). Los gangliósidos que son transportados por las lipoproteínas plasmáticas (el 66% de los gangliósidos solubles son transportados por la LDL y cantidades menores por otras lipoproteínas) también son ricos en SA, contribuyendo así al contenido de SA de la LDL (Dawson y col., 1976; Senn y col., 1989; Tertov y col., 1993). En un estudio en el que se realizó el aislamiento y la cuantificación del SA de la LDL del plasma de pacientes con enfermedad cardiovascular avanzada, se encontró que el porcentaje de SA fue menor que el de la LDL obtenida de personas sanas (del 40% al 75% menor). Sobre esta base, algunos autores han propuesto que la disminución del SA de la LDL podría ser un buen marcador de riesgo cardiovascular (Topjouglu y col., 2010). Aparentemente el contenido de SA de las lipoproteínas correlaciona inversamente con el SA plasmático total, sin embargo, aún se requieren estudios para que este aspecto deje de ser controvertido.

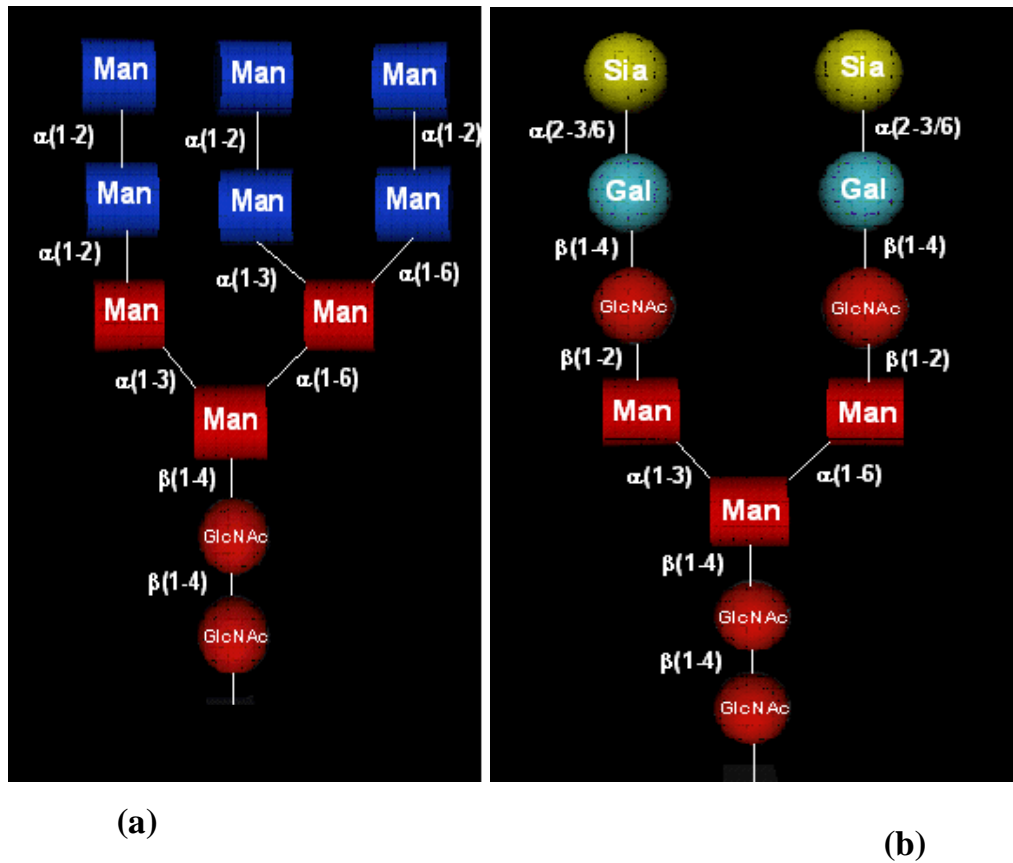


Figura 4. N-oligosacáridos ligados a la Apo B-100 de la LDL. Los N-oligosacáridos son oligosacáridos en los que el carbohidrato se ancla a una cadena polipeptídica a nivel de una Asn de la proteína, y a través de una GlcNAc del oligosacárido. Hay dos tipos de N-oligosacáridos en la Apo B-100, los de alto contenido en manosa (a) y los complejos biantenarios (b). Estos últimos, suelen tener SA como monosacárido terminal. Gal = galactosa; GlcNAc = N-acetilglucosamina; Man = manosa (Lindbohm, 2000).

Por el contrario, algunas globulinas plasmáticas como la inmunoglobulina A1 polimérica, en lugar de reducir su contenido de SA lo incrementan en los pacientes que tienen una enfermedad con riesgo de complicaciones vasculares (Candia-Plata, 2001; Vázquez-Moreno y col., 2001). Por ejemplo, la hipersialilación de la IgA1 polimérica, es un fenómeno muy común en los pacientes diabéticos y es probable que desde el punto de vista patogénico, la hipersialilación de la molécula constituya una característica favorable para la interacción de la IgA1 con el mesangio renal, contribuyendo con ello al desarrollo de la nefropatía por IgA asociada con la diabetes (Wang y col., 2010).

Relación Entre el Aumento de SA Plasmático y el Riesgo de Aterotrombosis

Los factores de riesgo clásico de las enfermedades cardiovasculares, tales como el aumento del colesterol sérico, la hipertensión arterial, la DM2 y el tabaquismo, no explican completamente el riesgo de aterosclerosis en el humano (Kalela y col., 2000). A pesar de los múltiples trabajos epidemiológicos y biomédicos, aún existe un número importante de casos en los que la aparición de un cuadro aterotrombótico (crónico o agudo) no puede explicarse sobre la base de los factores de riesgo tradicionales anteriormente citados.

La acumulación de lipoproteínas ricas en colesterol en la pared arterial y su oxidación, seguidas por la infiltración de los macrófagos y la migración de linfocitos T hacia los sitios de inflamación, parecen tener una contribución determinante en el desarrollo de las lesiones ateroscleróticas (Vilariño y col., 2004). Sin embargo, otros factores se encuentran bajo investigación, como los marcadores de inflamación, incluyendo la cuenta de leucocitos, la PCR, la homocisteína, el fibrinógeno y el SA sérico (Conseco-Ávila y col., 2006).

La relación entre el riesgo de aterotrombosis y el SA sérico es una de las más estudiadas en la actualidad, pero su etiología y su valor clínico son motivos de controversias. Entre los factores que provocan confusión, está el hecho de que la concentración de SA se altera en muchas entidades clínicas, como el cáncer (Zhao y col., 2006), el embarazo (Frauke y col., 2009), las hepatopatías agudas o crónicas asociadas con el abuso de alcohol (porque el etanol puede disminuir la actividad de

la sialiltransferasa en el aparato de Golgi y puede incrementar la actividad de la sialidasa en el citosol y la membrana plasmática) (Romppanen, 2003) y estados inflamatorios crónicos de diversa índole (Helip-Wooley y col., 2007).

Además, se piensa que el SA podría reflejar el estrés inducido por la aterosclerosis y estar asociado con el incremento de las proteínas de fase aguda; cuando la enfermedad cardiovascular aterosclerosa se presenta con factores de riesgo cardiovascular como la dislipidemia y la obesidad central (que están muy relacionados con el aumento en las respuestas de fase aguda) se incrementa la proporción de las proteínas asociadas a tales respuestas. Como se sabe, la respuesta de fase aguda está regulada por citocinas proinflamatorias que producen el incremento de las proteínas plasmáticas de fase aguda sintetizadas por el hígado. Debido a que la mayoría de estas proteínas son glicoproteínas con un contenido elevado de SA, el SA podría tener un alto valor predictivo del desarrollo de complicaciones vasculares de la diabetes (Soedamah-Muthu y col., 2008).

Las evidencias experimentales de que el contenido de SA de las glicoproteínas plasmáticas cambia en pacientes con riesgo cardiovascular, se obtuvieron antes de que hubiera sido caracterizada la insulina (Zulet y col., 2007). En los primeros estudios, se demostró la reducción de los niveles de albúmina sérica y el aumento de las alfa-2-globulinas, así como el aumento del contenido de hexosas, hexosaminas y SA de las principales glicoproteínas plasmáticas, especialmente en pacientes diabéticos con complicaciones microvasculares. Se ha especulado que el contenido elevado de carbohidratos (hexosas y hexosaminas), probablemente es un reflejo de la reacción del paciente a la enfermedad, pero en el caso del SA el proceso parece ser distinto ya que se ha observado su elevación, antes de que sea diagnosticada la diabetes (Gavella y col., 2003; Soechamah-Muthu y col., 2008). Esto sugiere la existencia de alteraciones subclínicas en la síntesis de las glicoproteínas que contienen SA como componente terminal (McMillan, 1970). Además, la aterosclerosis es un proceso inflamatorio crónico vinculado con la acción de citocinas proinflamatorias, tales como la interleucina 6 (IL-6) y el factor de necrosis tumoral (TNF, por sus siglas en inglés) que exacerban la producción hepática de glicoproteínas sialiladas, como las proteínas de fase aguda (Gopaul y col., 2006).

Por otro lado, se sabe que la pérdida de SA en el endotelio conduce al aumento en la permeabilidad vascular y a las concentraciones elevadas del SA libre en plasma. Por lo anterior, los niveles elevados del SA en plasma pueden indicar daño excesivo (inflamación crónica extensa, focos de isquemia y proliferación) del tejido vascular (Nayak y col., 2006). Los resultados observados por Lidberg y colaboradores (1991), concuerdan con esta hipótesis, ya que ellos observaron claramente en una población de 54,385 de personas de ambos sexos, con un seguimiento de 20,5 años, que la elevación total de SA sérico fue un predictor independiente de enfermedad coronaria (Kunuiman y col., 2004; Wakabayashi y col., 1992).

Desde el punto de vista epidemiológico, la asociación positiva entre los niveles elevados de SA y la incidencia de enfermedad arterial coronaria (CAD, por sus siglas en inglés) se ha demostrado en varios estudios (Lindberg y col., 1991; Watts y col., 1995; Råstam y col., 1996). Sin embargo debe reconocerse que la información publicada es muy controvertida (Kalela y col., 2001); los pacientes que han sufrido un infarto al miocardio parecen ser quienes tienen niveles significativamente mayores de SA sérico, que otras poblaciones de pacientes, incluyendo los pacientes diabéticos (Saban y col., 2009).

En varias publicaciones se afirma que la concentración de SA es más elevada en sujetos americanos que en japoneses, incluso después de ajustar otros factores de riesgo del CAD, lo cual está de acuerdo con su alta prevalencia en la población americana (Lindberg y col., 1991; Zulet y col., 2007). Sin embargo, en otros estudios no se ha encontrado diferencia significativa al comparar pacientes con CAD (demostrada angiográficamente) y sin CAD (Salomone y col., 1998; Wu y col., 1999). Es probable entonces que la elevación del contenido plasmático de SA esté ligado a otros factores de riesgo del CAD, como las altas concentraciones de triglicéridos y colesterol sérico, la concentración baja de HDL colesterol (Zulet y col., 2007), la alta concentración de Apo B-100, el tabaquismo, la inactividad física (Saban y col., 2009) y altos niveles del Lp(a) en suero, entre otros. Por lo tanto, es necesaria la agrupación de los sujetos en cohortes con características bien definidas para obtener información más confiable.

En los pacientes diabéticos que tienen niveles elevados de SA sérico el riesgo del CAD parece ser significativamente más elevado que en aquellos que no muestran elevación de SA (Tseke y col., 2008). Así mismo, el SA parece ser un buen indicador de microalbuminuria en la DM2 (Nayak y col., 2008). Finalmente, a nivel experimental, se ha demostrado que el control de la glicemia reduce significativamente los niveles de SA sérico (Yanardag y Tunali, 2006). Estas evidencias provienen de un buen número de estudios en humanos, sin embargo, aún faltan las que respalden claramente la importancia del SA como predictor de riesgo de complicaciones en los pacientes con DM2.

Evaluación de Pruebas Diagnósticas

La toma de decisiones clínicas es un proceso extremadamente complejo en el que debe finalmente ser valorada la utilidad de cualquier prueba diagnóstica en el manejo de los pacientes. En este contexto, es imprescindible conocer detalladamente la exactitud de las distintas pruebas diagnósticas, es decir, su capacidad para clasificar correctamente a los pacientes en categorías o estados en relación con la enfermedad (Ullibarri y col., 1998).

Clásicamente, la exactitud de una prueba diagnóstica se ha evaluado en función de dos características: la sensibilidad y la especificidad. Sin embargo, éstas varían en función del criterio elegido como punto de corte entre la población sana y la enferma (Burgueño y col., 1995). Una forma más global de conocer la calidad de la prueba en el espectro completo de puntos de corte es mediante el uso de curvas ROC (características operativas del receptor, por sus siglas en inglés) que constituyen una herramienta fundamental y unificadora en el proceso de evaluación y uso de las pruebas diagnósticas.

Sensibilidad y Especificidad

Siempre que una cuestión clínica y el resultado de la prueba diagnóstica encaminada a resolverla puedan plantearse en términos de dicotomía (presencia o ausencia de enfermedad), la exactitud de la prueba puede definirse en función de su sensibilidad y especificidad diagnósticas. Sin embargo, con mucha frecuencia los

resultados de las pruebas diagnósticas están distribuidos en una escala continua, por lo que es necesario seleccionar un punto de corte adecuado que permita resumir estos resultados en dos categorías: positivo y negativo (Burgueño y col., 1995).

La sensibilidad es la capacidad de clasificar correctamente a un individuo cuyo estado real sea el definido como positivo respecto a la condición que estudia la prueba, razón por la que también es denominada fracción de verdaderos positivos (VPP). La sensibilidad es especialmente importante cuando una enfermedad no debe pasar desapercibida y cuando el pronóstico mejora mucho con el tratamiento precoz.

La especificidad es la capacidad de clasificar correctamente a un individuo cuyo estado real sea el definido como negativo. Es igual al resultado de restar a uno la fracción de falsos positivos (VPN; Martínez-Cambor, 2007). La especificidad es importante cuando la enfermedad cambia la vida del enfermo y también cuando las consecuencias de un tratamiento suponen un riesgo para el enfermo.

No existe ninguna manera teórica de medición de estas dos características de una prueba. El único procedimiento es el experimental, sometiendo a un grupo de pacientes, sanos y enfermos, clasificados mediante un método diagnóstico de referencia, a la prueba a estudiar.

Valor Predictivo Positivo y Negativo

A partir de los conceptos de sensibilidad y especificidad podemos hablar de la tasa de falsos negativos, es decir, la proporción de enfermos que son erróneamente considerados negativos por una prueba; de forma similar, encontraremos una proporción de falsos positivos, es decir, la proporción de gente que no tiene la enfermedad y es erróneamente considerada positiva por una prueba (Ruiz de Adana, 2009).

El valor predictivo positivo es la probabilidad de que un individuo con resultado positivo en la prueba, en realidad tenga la enfermedad. Es decir, se trata de los enfermos con la prueba positiva de entre todas las pruebas positivas. Este concepto se denomina también probabilidad *a posteriori* (Ruiz de Adana, 2009). Por el contrario, el valor predictivo negativo es la probabilidad de que un individuo con resultado negativo en la prueba no tenga la enfermedad. Se trata de los sujetos libres

de enfermedad y con una prueba negativa dentro de todos aquellos con una prueba negativa (Fernández P, 2003).

La Curva ROC

Es un gráfico en el que se observan todos los pares sensibilidad/especificidad resultantes de la variación continua de los puntos de corte en todo el rango de resultados observados (Burgueño y col., 1995). En el eje “y” de coordenadas se sitúa la sensibilidad o fracción de verdaderos positivos, definido como se expuso anteriormente. En el eje “x” se sitúa la fracción de falsos positivos ó 1-especificidad. Una prueba con discriminación perfecta, sin solapamiento de resultados en las dos poblaciones, tiene una curva ROC que pasa por la esquina superior izquierda, donde sensibilidad y especificidad toman valores máximos. Una prueba sin discriminación, con igual distribución de resultados en los dos subgrupos, da lugar a una línea diagonal de 45°, desde la esquina inferior izquierda hasta la superior derecha.

De acuerdo con Zweig y Campbell (1993), el uso de las curvas ROC en la evaluación de pruebas diagnósticas presenta algunas ventajas: son independientes de la prevalencia, ya que la sensibilidad y especificidad se obtienen en distintos subgrupos; proporcionan una comparación visual directa entre pruebas en una escala común; no requieren un nivel de decisión particular porque está incluido todo el espectro de puntos de corte posibles.

El Área Bajo la Curva

El área bajo la curva ROC (ABC) estima la capacidad de una prueba diagnóstica para distinguir o discriminar entre enfermos y no enfermos. Si el ABC valiese 1 (uno) la prueba sería perfecta, ya que clasificaría al 100% de los enfermos como enfermos y al 100% de los exentos de enfermedad como sanos. En cambio, si el ABC valiese 0.5 existiría la misma probabilidad de clasificar a un enfermo como sano que como enfermo; es decir, un área con valor de 0.5 es una prueba no informativa. Swets (1988) interpreta el ABC de la siguiente manera: valores entre 0.5 y 0.7 indican baja exactitud, entre 0.7 y 0.9 pueden ser útiles para algunos propósitos y un valor mayor de 0.9 indica exactitud alta. Por otro lado, la capacidad de

discriminación de la prueba diagnóstica puede evaluarse estimando el intervalo de confianza de la curva ; si el intervalo no incluye el valor de 0.5, la prueba es capaz de discernir entre enfermos y sanos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Diseño de Estudio

El presente estudio fue un estudio no aleatorizado, transversal, observacional y analítico, con dos poblaciones de sujetos: un grupo de 73 pacientes con DM2 de una clínica de primer nivel de atención y un grupo control de 31 adultos aparentemente sanos, para estimar la validez del ácido siálico sérico (SA) como predictor de complicaciones vasculares en pacientes con diabetes mellitus tipo 2.

De los 104 sujetos de estudio se tomó una muestra sanguínea venosa preprandial para determinar la concentración sérica de dos marcadores de inflamación (SA y proteína C.reactiva), así como los marcadores de control glicémico y lipídico.. Todas las determinaciones fueron realizadas en el Laboratorio de Bioquímica Clínica del Departamento de Medicina y Ciencias de la Salud de la Universidad de Sonora.

El estado clínico de los pacientes y los controles, fue determinado por exploración física y la historia clínica obtenida durante la misma semana en la que se obtuvieron las muestras de sangre venosa. El tratamiento farmacológico de los pacientes fue obtenido de los expedientes electrónicos de la clínica (información clínica secundaria) y cotejado con la información obtenida en el momento en que se realizó la historia clínica (información clínica primaria) y la toma de muestra. El estado clínico de los sujetos fue confirmado y aceptado para su análisis sólo cuando hubo una concordancia del 100% entre la información primaria y la secundaria; los pacientes con expediente clínico incompleto y/o que no fueron valorados clínicamente en la semana en la que se realizó la toma de muestra sanguínea no fueron incluidos en el estudio.

Selección de la Población de Estudio

Se trató de una muestra no probabilística de 73 pacientes con DM2, de 37 a 85 años de edad, 27 hombres y 46 mujeres, elegidos por conveniencia de la base de datos del Programa de Atención Integral al Paciente Diabético, de la Unidad de Investigación Epidemiológica y en Servicios de Salud del IMSS. Los pacientes procedían una clínica de primer nivel de atención de Hermosillo, Sonora y la valoración clínica fue realizada en la semana en la que se tomó la muestra sanguínea; se incluyeron exclusivamente los pacientes que estaban recibiendo tratamiento hipoglicemiante y/o hipolipemiante. Invariablemente, la inclusión de los pacientes en este estudio estuvo supeditada al otorgamiento escrito de su consentimiento informado (Anexo I).

Por tratarse de un estudio analítico, se integró un grupo control con 31 sujetos adultos euglicémicos, aparentemente sanos. El estado de salud de los adultos de este grupo, fue confirmado clínicamente y mediante la determinación de los marcadores de glicemia y perfil de lípidos. Cabe destacar que para conformar este grupo control, se valoraron clínicamente 188 personas adultas aparentemente sanas. Sin embargo, tras la valoración de laboratorio y la aplicación subsecuente de los criterios de exclusión y eliminación (hiperglicemia en ayuno, hipertensión arterial consumo de alcohol excesivo o consumo crónico de antioxidantes, durante los seis meses previos a la toma de muestra sanguínea) solamente quedaron en el grupo control 31 personas.

Obtención de la Muestra Biológica

Las muestras sanguíneas (10 mL) fueron obtenidas después de un periodo de ayuno de 8-12 horas, por punción venosa. La sangre fue colectada en tubos al vacío, sin y con anticoagulante (EDTA), y centrifugada por 15 minutos a 3,000 rpm para separar el suero, del paquete globular. Una alícuota de suero fue utilizada para estimar la concentración de los analitos de control glicémico y lipídico, mientras que el resto fue almacenado a -30 °C hasta su procesamiento para la cuantificación de proteína C-reactiva (PCR) y SA.

Estimación de Analitos Sanguíneos

Los analitos séricos glucosa preprandial (GOD-PAP; Anexo II), proteínas totales (Biuret; Anexo III), albúmina (Púrpura de bromocresol; Anexo IV), creatinina (Jaffé sin desproteinización, Anexo V), colesterol total (CHOD-PAP, Anexo VI) y sus fracciones, lipoproteína de alta densidad (HDL, método de precipitación con ácido fosfotúngstico/CHOD-PAP; Anexo VII), lipoproteína de baja densidad (LDL; Precipitación con Heparina/CHOD-PAP; Anexo VIII) y triglicéridos (GPO-PAP; Anexo IX) fueron estimados por métodos enzimáticos automatizados (Randox ® E.U.A). La cuantificación de hemoglobina glicada (HbA1c) se llevó a cabo mediante un ensayo de inmunoafinidad de Randox ® (E.U.A; Anexo X). La estimación de PCR se realizó por nefelometría (The Binding Site, Birmingham, U.K; Anexo XI).

Cuantificación de SA en las Muestras Séricas

Se realizó por medio del ensayo colorimétrico de la casa comercial Roche ® (Mannheim, Alemania). Esta técnica se basa en la liberación del SA (AcNeu) de los glicoconjugados, por la acción de una neuramidasa. En presencia de la AcNeu-aldosa, el AcNeu es convertido a N-acetilmanosamina y piruvato, el piruvato es oxidado (por la piruvato oxidasa) a acetil fosfato, CO₂ y peróxido de hidrógeno, en presencia de MgCl₂, dinucleótido adenina flavina (FAD) y pirofosfato tiamina (TPP). El peróxido de hidrógeno formado (que es equivalente al AcNeu libre) es reducido por la peroxidasa (POD), en presencia de 4-aminoantipirina (Ha-AAP) y N-etil-N-2-hidroxi-3-toluidina (EHTM), dando un compuesto colorido (rojo) que absorbe a 550 nm (Anexo XII).

Análisis de los Resultados

El análisis descriptivo de las variables de control glicémico, lipídico y proteínas plasmáticas se llevó a cabo mediante medidas de tendencial central y de dispersión. Dado que se observó una distribución no normal, se efectuó la prueba no paramétrica U de Mann-Whitney para evaluar las diferencias entre las medianas de las variables de los dos grupos de estudio. La relación entre los niveles de SA y los de glucosa plasmática, HbA1c, colesterol y sus fracciones lipídicas, triglicéridos,

proteínas totales, albúmina, PCR y creatinina, fue examinada mediante el coeficiente de correlación de Spearman. En todos los casos se probaron hipótesis de dos colas, y valores de $p < 0.05$ fueron considerados estadísticamente significativos. Para este grupo de pruebas se usó el paquete estadístico STATA 10.0 (EUA).

La sensibilidad, la especificidad y los valores predictivos de SA y PCR fueron estimados por medio del teorema de Bayes (Anexo XIII). Para medir la exactitud de la prueba de SA y PCR, se realizó la curva de características operativas del receptor (ROC) utilizando como punto de corte el asignado por el equipo comercial de SA (≥ 60 mg/dL para SA) y para PCR (≥ 3.4 mg/L) utilizando por diversos estudios (ref). Este cálculo fue realizado con el paquete estadístico MedCalc 2009 (Medical Calculators, Mariakerke, Belgium).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El interés despertado en los últimos años por la determinación de la concentración sérica de ácido siálico (SA) en pacientes con diabetes mellitus tipo 2 (DM2) se asocia con su aparente utilidad como marcador de riesgo cardiovascular (Matthew y col., 2004; Soedamah-Muthu y col., 2008). Sin embargo, actualmente no hay consensos sobre la utilidad de la medición de SA para estimar el riesgo de complicaciones vasculares en los pacientes con diabetes mellitus tipo 2 /DM2). En este trabajo se cuantificó la concentración de SA en un grupo de 73 pacientes con diabetes mellitus tipo 2 (DM2) de una unidad de primer nivel de atención médica de Hermosillo, Sonora, para estimar la exactitud con la que la prueba define el riesgo de complicaciones en estos pacientes.

La edad media de los pacientes fue de 61.8 años (± 9.6), significativamente mayor ($p < 0.05$) que la de un grupo de 31 personas normoglicémicas, aparentemente sanas que se utilizó como control (50.7 años de edad ± 9.8). Por esta razón, la edad fue considerada como variable de ajuste. En la Tabla I, se muestran los valores de los parámetros metabólicos analizados (perfil glicémico y lipémico, proteínas plasmáticas) y las características clínicas de los pacientes al momento de ingresar al estudio. El impacto de la hiperglicemia como factor de riesgo de complicaciones vasculares en la DM2, está ampliamente documentado (UKPDS, 1998) y por esa razón, al evaluar el estado metabólico general de las poblaciones es indispensable estimar su control glicémico. En este trabajo, los valores medios de glucosa preprandial en los pacientes (168 ± 79.69 mg/dL) y hemoglobina glicada (HbA1c; $9.69\% \pm 3.64$) fueron la evidencia bioquímica directa del descontrol glicémico de los pacientes. Además, el 54.7% de los pacientes mostró valores de glucosa preprandial y HbA1c por arriba de los valores superiores normales (≥ 126 mg/dL y $>7.0\%$, respectivamente) aceptados por el Comité de Expertos en Diabetes y la Asociación de Diabetes Americana (ADA 2011).

Tabla I. Características clínicas y variables metabólicas de los grupos de estudio.

Variable	Pacientes con DM2 n= 73		Controles n= 31		Valores de Referencia	Valor de p Comparación de medianas
	Md	Media ± (DE)	Md	Media ± (DE)		
Sexo (%)					-	-
Femenino	63		70		-	-
Masculino	37		30		-	-
Edad (años)	-	61.8± 9.6	-	50.7 ± 9.8	-	-
Tratamiento con hipoglicemiantes						
orales (%)	63.4	-	-	-	-	-
Hipoglicemiantes						
orales + insulina (%)	15.2	-	-	-	-	-
Insulina(%)	21.1	-	-	-	-	-
Estatina y/o Fibratos (%)	41.1	-	-	-	-	-
Complicaciones (%)	68	-	-	-	-	-
Renales	2.7	-	-	-	-	-
Oftalmológicas	9.5	-	-	-	-	-
Vasculares	59	-	-	-	-	-
Glucosa (mg/dL)	142	168.2±79.7	90	89.6± 1.7	70-110	< 0.05
Colesterol (mg/dL)	180	187.5±44.5	181	176.9±24.3	< 200	NS
Triglicéridos (mg/dL)	138	149.7±76.3	103	106.8±35.2	< 150	< 0.05
HDL (mg/dL)	47.4	50.8±14.1	46	50.7±17.6	> 50	NS
LDL (mg/dL)	93	113.6±60.5	100	89.3±35.4	< 100	NS
PCR (mg/L)	7.0	12.8±12.9	1.93	4.5±6.5	< 3.8	< 0.05
SA (mg/dL)	75	77.6±19.1	49	48.8±16.3	< 60	< 0.05
Proteínas totales (g/dL)	7.2	7.2±0.7	6.3	6.4±0.7	6.0	< 0.05
Albúmina (g/dL)	4.3	4.2±0.8	3.8	3.8±0.7	4.0	NS

p < 0.05 fue considerada significativa

Md= Mediana

NS = diferencia no significativa

DE= desviación estándar

Curtosis Gobal = -0.0395

Sesgo Global= -0.7868

El porcentaje de pacientes con descontrol glicémico observado en este estudio es superior al reportado en estudios nacionales (Hernández-Romieu y col., 2011) y depende, entre otros factores, del tratamiento farmacológico que recibe el paciente. Por esta razón, es importante el registro adecuado de esta información así como de cualquier cambio en el tratamiento derivado de la referencia y contra-referencia en los expedientes electrónicos de los pacientes. Sin embargo, sólo en el 71% de los pacientes se pudo precisar el tratamiento farmacológico prescrito por el médico tratante (Tabla II), lo que demuestra la reducida confiabilidad de tal información.

Al comparar la glicemia preprandial entre los subgrupos de pacientes tratados con los distintos esquemas hipoglicemiantes (datos no mostrados), no se encontraron diferencias significativas ($p= 0.6687$), pero sí en los niveles de HbA1c ($p= 0.05$; Figura 5); el porcentaje medio de HbA1c en los sujetos diabéticos fue de 11.97%, una cifra muy superior a la recomendada. Al ajustar este análisis al tiempo de diagnóstico (datos no mostrados) no mostró diferencia significativa, porque lo que estos resultados no se debe a esta variable (tiempo de diagnóstico). Cincuenta y siete (78%) de los pacientes no tenían un adecuado control glicémico (HbA1c $>7.0\%$) de acuerdo con los criterios internacionales de la ADA (2011). Cabe señalar que la gama de esquemas terapéuticos prescritos a los pacientes (Tabla II) está respaldada por las prácticas institucionalizadas para el control de la DM2 en México, pero en ella no se recogen los acuerdos internacionales más recientes que sugieren limitar el uso de hipoglicemiantes orales a las etapas en las que se observa una respuesta pancreática óptima (ADA, 2011). En México no se evalúa la función pancreática y a pesar de las diferencias en el tiempo de diagnóstico de la diabetes así como las diferencias clínicas y bioquímicas entre los pacientes, no se individualiza la estrategia terapéutica. Estas podrían estar entre las causas probables del descontrol glicémico de los pacientes, sin embargo tendrán que realizarse estudios específicos destinados a la identificación de los factores que determinan el mal control de los pacientes con DM2.

Tabla II. Esquemas terapéuticos hipoglicemiantes prescritos a los sujetos de estudio con DM2.

Variable	Esquema terapéutico								Total
	Metformina	Glibenclamida	Metformina/ glibenclamida	Insulina	Insulina/ metformina	Insulina/ glibenclamida	Insulina/ glibenclamida/ metformina	Se desconoce	
	N (%)	N (%)	N (%)	N (%)	N (%)	N (%)	N (%)	N (%)	
<i>HbA1c</i>									
>7.0%	3 (4.10)	5 (6.84)	13 (17.80)	11 (15.06)	2 (2.73)	1 (1.36)	4 (5.47)	18 (24.65)	57 (78.08)
≤ 7.0%	3 (4.10)	2 (2.73)	7 (9.58)	1 (1.36)	0	0	0	3 (4.10)	16 (21.92)
Total	6 (8.2)	7 (9.58)	20 (27.38)	12 (16.42)	2 (2.73)	1 (1.36)	4 (5.47)	21 (28.75)	73 (100.00)
<i>Tiempo de diagnóstico (años)</i>									
0 a 4	2 (2.73)	2 (2.73)	6 (8.21)	0	0	0	1 (1.36)	10 (13.69)	21 (28.76)
5 a 10	1 (1.36)	3 (4.10)	8 (10.95)	8 (10.95)	0	0	0	1 (1.36)	21 (28.76)
Más de 10	3 (4.10)	2 (2.73)	6 (8.21)	4 (5.47)	2 (2.73)	1 (1.36)	3 (4.10)	10 (13.69)	31 (42.46)
Total	6 (8.2)	7 (9.58)	20 (27.38)	12 (16.42)	2 (2.73)	1 (1.36)	4 (5.47)	21 (28.75)	73 (100.00)

N= número de pacientes

%= proporción de pacientes que tienen prescrito el hipoglicemiante

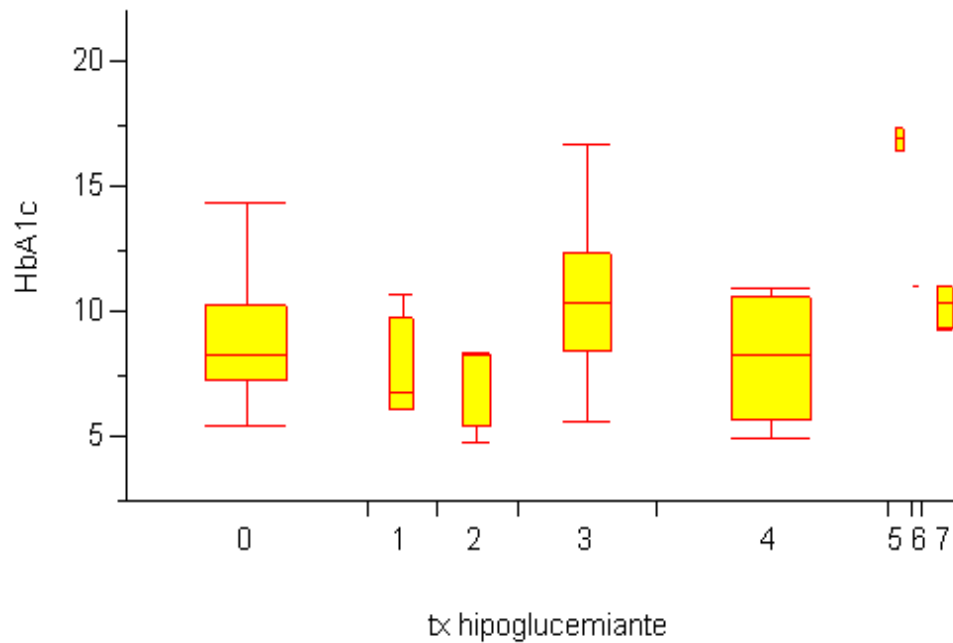


Figura 5. Comparación de los niveles medianos de HbA1c en los pacientes con DM2 agrupados por su tratamiento hipoglicemiante.

Se observó mejor control de HbA1c en los pacientes tratados con metformina, glibenclamida o con la combinación de ambos.

0. Sin tratamiento $9.4\% \pm 3.3$; 1. Metformina $7.7\% \pm 1.9$; 2. Glibenclamida $8.1\% \pm 2.6$; 3. Insulina $11.3\% \pm 3.9$; 4. Metformina/glibenclamida $8.9\% \pm 3.9$; 5. Metformina/insulina $17\% \pm 0.5$; 6. Glibenclamida/insulina $11.1\% \pm 3.42$ y 7. Metformina/insulina $10.3\% \pm 0.8$.

El descontrol glicémico de los pacientes incluidos en este estudio fue superior al de otras publicaciones en las que se ha buscado demostrar la importancia del SA como marcador de complicaciones vasculares. Por ejemplo Wakayabashi (2005) y Nayak (2006) observaron que la concentración de HbA1c en sus poblaciones problema fue de 7.5 y 6.4%, respectivamente; ambos valores están considerablemente cercanos a los valores recomendados por la ADA (2011) y son una demostración de que es posible lograr un buen control glicémico en las poblaciones de pacientes con DM2.

Por otra parte, aunque se ha reportado (Martínez-Hernández y Chávez-Aguirre, 2007) que el descontrol glicémico en la DM2 casi siempre está asociado con dislipidemia, otro problema de salud que afecta al 31.24% de los adultos mexicanos (Aguilar-Salinas y col., 2001), en este estudio no se observaron diferencias significativas entre las medianas del colesterol total, colesterol de alta y baja densidad, entre el grupo de pacientes diabéticos y el grupo control, y aunque se encontraron diferencias en las medianas de los triglicéridos (Tabla I), los valores medianos de los lípidos sanguíneos se encontraron dentro de los valores recomendados por la ADA (ADA, 2011), lo que sugiere que las estrategias terapéuticas institucionales (IMSS), basadas en la prescripción de estatinas y/o fibratos, han sido efectivas para el control lipídico en los pacientes diabéticos.

A pesar de lo anterior, de los 57 diabéticos que mostraron niveles de HbA1c >7.0%, el 47.4% tuvieron niveles altos de LDL (> 100 mg/dL), el 49.12% presentó hipertrigliceridemia (>150 mg/dL) y el 22.8% manifestó dislipidemia mixta (>150 mg/dl de triglicéridos y >200 mg/dL de colesterol). Aunque, la hipertrigliceridemia afectó a un porcentaje menor de pacientes con DM2, que el reportado por Aguilar-Salinas (2001) y el de Austin (1998) quienes mostraron que la hipertrigliceridemia es la dislipidemia más común en México con una prevalencia en el paciente diabético del 74%, nuestro estudio sugiere nuevamente que con las estrategias terapéuticas del IMSS para el control de las dislipidemias, se ha alcanzado el control de la hipertrigliceridemia en la mitad de los pacientes con DM2.

Por otra parte, la concentración de proteínas totales fue significativamente mayor en el grupo de pacientes diabéticos que en los controles (Tabla I). Tradicionalmente no se le ha asignado un significado clínico a esta elevación (Díaz,

1996), pero se ha sugerido que el incremento de las proteínas séricas es dependiente de la respuesta inflamatoria de fase aguda (Nigam y col., 2006; Gracheva y col., 2002). En este sentido, la elevación de la PCR observada en un número significativo de los pacientes de nuestro estudio, sugiere la validez de la hipótesis, ya que se observó que la concentración de la PCR fue significativamente mayor ($p < 0.05$) en los pacientes que en los controles (Tabla I; Figura 6); la mediana (7.0 mg/L) se apreció por arriba de los valores de referencia (< 3.8 mg/L).

Por otro lado, la comparación de los niveles de SA sérico entre los grupos de estudio (Tabla I; Figura 7) mostró que los pacientes tienen una elevación significativa de este carbohidrato (concentración mediana de 75 mg/dL) con relación a los controles (49 mg/dL); esta diferencia es estadísticamente significativa ($p < 0.05$), ubicándose por arriba de los valores de referencia (< 60 mg/dL). Se ha demostrado que la concentración de SA correlaciona directamente con la edad (Crook, 1998); por esta razón fue necesario comparar la concentración de SA entre los pacientes y los controles utilizando la edad como variable de ajuste. La diferencia fue significativa ($p < 0.05$) en los valores medios de SA del grupo control (49.9 ± 15.2) y del grupo con DM2 (77.4 ± 19.5).

Otro variable que podría haber sesgado los resultados de nuestro estudio fue la razón mujeres:hombres (que fue de 1.70 en el grupo de pacientes y de 2.44 en el grupo control), pues de acuerdo con estudios previos (Crook y col., 1998; Merat y col., 2003) el contenido de SA en algunas de las proteínas séricas es significativamente mayor en las mujeres (Crook, 1998). Tales evidencias clínicas se contraponen con los resultados experimentales, que han demostrado que las gonadotropinas hipofisarias tienen más SA cuando se exponen a la testosterona que cuando se exponen al estradiol. En el presente estudio, al comparar globalmente los niveles de SA, se observó una mayor concentración media de SA en los hombres (73.2 ± 24.1) que en las mujeres (69.51 ± 20.5) ($p < 0.05$), pero al estratificar los grupos de estudio de acuerdo a su estatus clínico, no se observó diferencia en la concentración sérica de SA entre las mujeres y hombres del grupo de pacientes ($p = 0.1705$) ni del grupo control ($p = 0.1223$), lo que

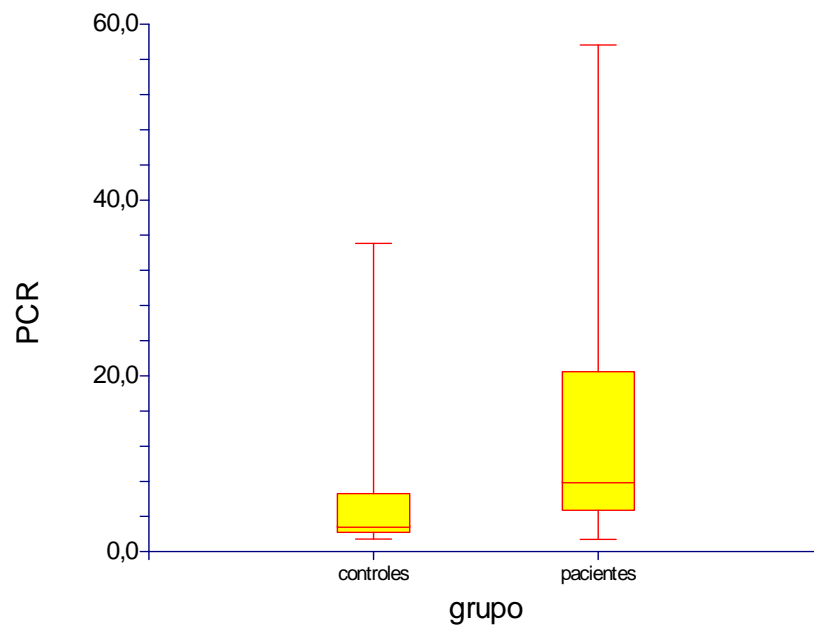


Figura 6. Comparación de la concentración mediana de PCR entre el grupo de pacientes con DM2 y grupo control.

La concentración mediana de PCR en el grupo control (1.93mg/L) y en el diabéticos (7.0 mg/L) fue significativamente diferente ($p < 0.05$).

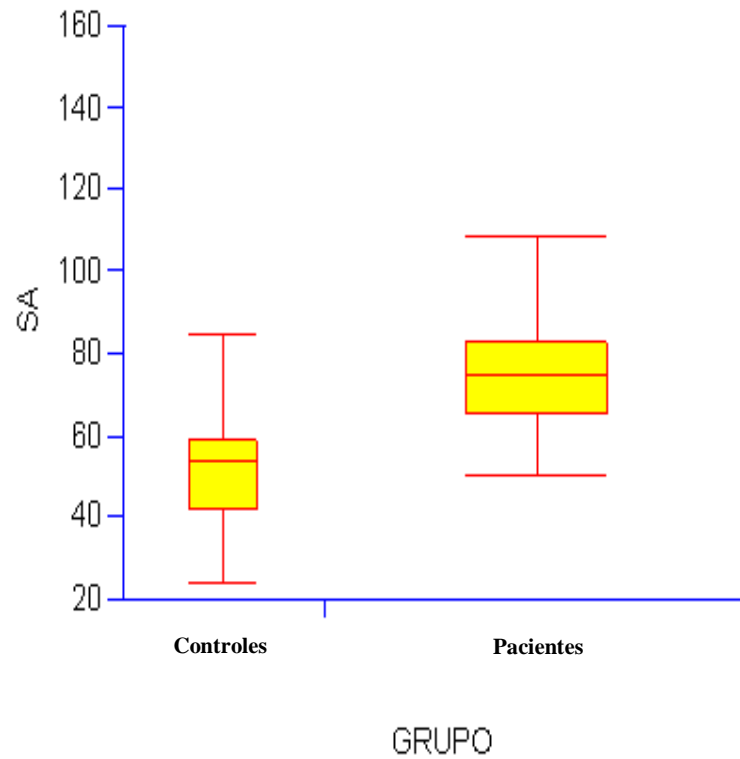


Figura 7. Comparación de los niveles de SA sérico entre el grupo de pacientes con DM2 y el grupo control.

La mediana en el grupo con DM2 fue de 75mg/dL, significativamente mayor ($p < 0.05$) que la del grupo control de 49 mg/dL, existiendo una diferencia significativa.

parece estar más de acuerdo con la idea de que la influencia del sexo en los niveles séricos de SA todavía es un aspecto controvertido (Hangloo y col., 1990).

Para descartar el impacto de la diferencia numérica entre los dos grupos (73 pacientes y 31 controles) sobre los resultados, se estimó el poder estadístico de la variable de interés (SA) (Colimon 1990). Los resultados demostraron un poder estadístico $\{\beta-1\}$ del 100% (Anexo XII), lo que implica que las diferencias observadas en la concentración de SA entre ambos grupos no pueden ser explicadas por un error aleatorio.

Otro objetivo importante del presente trabajo, era el de buscar la potencial correlación entre la concentración de SA y los parámetros de control lipídico y glicémico, con el fin de obtener información preliminar que oriente futuros estudios para la demostración de asociaciones causales. Al respecto, algunos estudios muestran evidencias de la relación entre la concentración de LDL y SA (Nassimizadeh y col., 2010). el 47.4% tuvieron niveles altos de LDL (> 100 mg/dL), el 49.12% presentó hipertrigliceridemia (>150 mg/dL) y el 22.8% manifestó dislipidemia mixta. No obstante, el análisis de regresión bivariada entre la concentración de SA y los parámetros bioquímicos (marcadores de control glicémico y lipémico) no mostraron correlaciones significativas.

Si bien, los niveles de SA y PCR fueron superiores en los diabéticos que en los controles, no se demostró una asociación lineal entre los niveles de PCR y el SA ($\beta = 0.7947$, $r = 0.1753$; Figura 8). Es probable que la relación entre estos dos marcadores de inflamación no sea lineal, porque la PCR es sólo una de las proteínas de fase aguda silailadas; otras proteínas de fase aguda, como la transferrina, α ceruloplasmina, fibrinógeno y la haptoglobina podrían contribuir al aumento en la concentración de SA en los pacientes. La proporción de pacientes con SA elevado (92%) fue mayor que el porcentaje de pacientes con PCR alta (73%), lo que sugiere que el incremento de las proteínas mencionadas podría contribuir a la elevación del SA.

Se ha sugerido que la utilidad del SA, como marcador de inflamación es superior al de la PCR (Zulet y col., 2007) y que está directamente relacionada con la concentración sérica de proteínas totales, sin ser el reflejo necesario del papel del SA en la lesión vascular (Salomone y col., 1998; Wu y col., 1999) ni de su participación

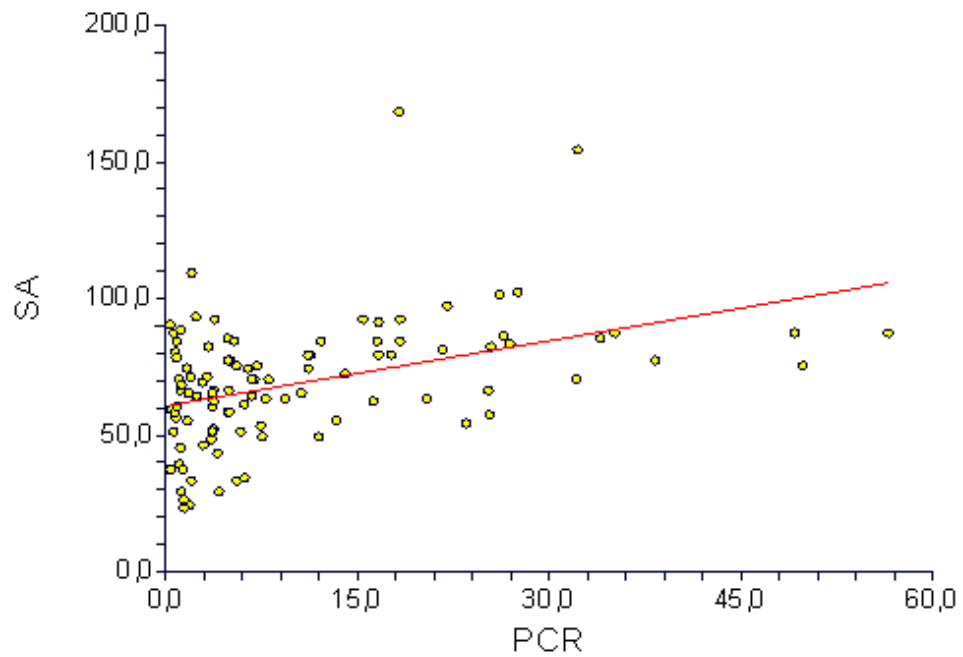


Figura 8. Relación entre la concentración de SA y niveles de proteína C reactiva (PCR). El valor de la r fue de 0.1753, con β de 0.7949

en la severidad de las lesiones vasculares. En este estudio se observó la asociación lineal entre estas dos variables (β de 10.3198, $r = 0.1461$; Figura 9) que probablemente tendría mayor fuerza en la medida en la que se incrementase el número de pacientes incluido en el estudio fue menor al de otros estudios (Réganon y col., 2002).

Por otro lado, los resultados obtenidos por grupos de investigadores como el de Pickup y Crook (1997), muestran que los pacientes con DM2 y síndrome metabólico (SM) tienen concentraciones elevadas de SA sérico. Por esta razón, se piensa que la DM2 es una manifestación de la respuesta de fase aguda sostenida que sufren los pacientes con SM. Además, es probable que este proceso sea el resultado de la retroalimentación positiva de citocinas proinflamatorias (IL-6, TNF- α) que exacerbaban la aterosclerosis y estimulan la producción hepática de glicoproteínas sialiladas, conduciendo al incremento de proteínas de fase aguda y a la elevación concomitante de la concentración de SA (Gopaul y Crook, 2006).

En apoyo a la hipótesis anterior, Nigam (2006) en un estudio transversal que incluyó a un número pequeño de sujetos no diabéticos (28) y de individuos con intolerancia a la glucosa o glucosa de ayuno alterada (78), mostró la elevación de la PCR y de la IL-6 y aunque los resultados no alcanzaron significancia estadística, las concentraciones fueron más elevadas en los sujetos con alteraciones en la glucosa que en los no diabéticos (Nigam y col., 2006).

Aún cuando el aumento significativo de SA y PCR en los pacientes diabéticos, sugirió la prevalencia de un estado inflamatorio crónico en los pacientes, se demostró que el mayor porcentaje de pacientes con elevación de SA tenían algún tipo de complicación de la DM2. De los pacientes con descontrol glicémico (57 pacientes) expresado por un nivel de HbA1c $> 7.0\%$, el 12.3% mostró complicaciones oftalmológicas (SA Md=76.14 mg/dL), el 3.5% renales (SA Md= 73 mg/dL), el 33.3% cardiovasculares (SA Md=83 mg/dL) y el 29.8% vasculares periféricas (SA con Md=77 mg/dL). De los pacientes con un buen control glicémico (16 pacientes en total), el 6% presentó complicaciones cardiovasculares, con una mediana de SA de 75 mg/dL. Este último resultado sugiere que a diferencia de la glicemia, la utilidad de la medición del SA podría brindar información de la evolución de la DM2 a mediano y largo plazo.

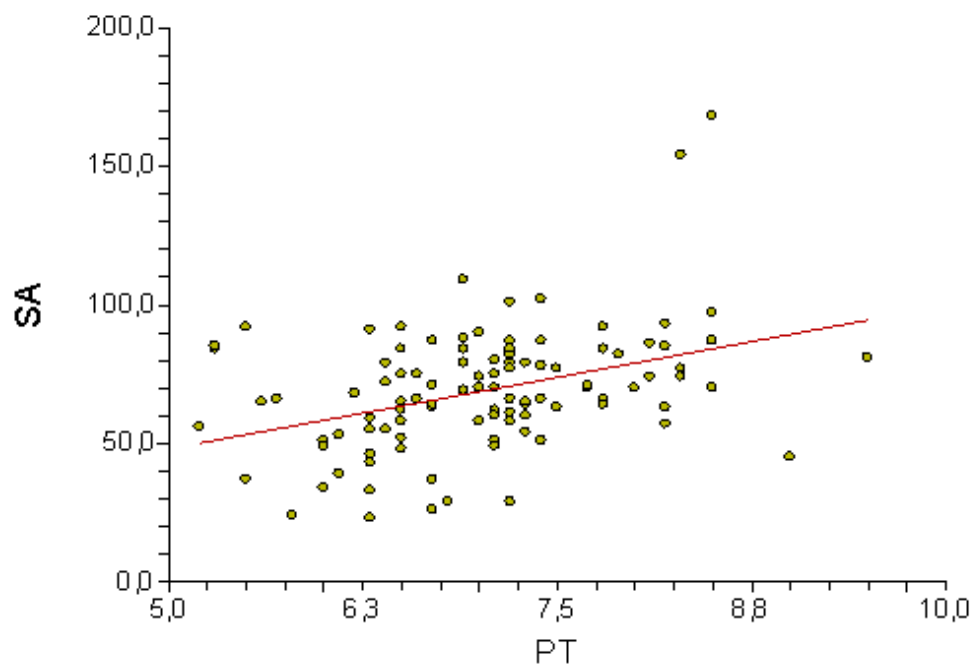


Figura 9. Correlación de la concentración de SA con los niveles de proteínas totales (PT). Los datos arrojaron una β de 10.32, con $r = 0.1461$.

Para definir el valor del SA como marcador de complicaciones en el grupo de pacientes incluido en el estudio, se calculó la curva de características operativas del receptor (ROC, por sus siglas en inglés), utilizando los puntos de corte asignados

como valores de referencia por el equipo comercial de SA (≥ 60 mg/dL para SA) y de PCR (≥ 3.4 mg/L) para PCR.

En la Figura 10 se muestra la predicción de ROC para SA. En ella se aprecia un área bajo la curva (ABC) de 0.75611, con IC (intervalo de confianza) de 95% (0.63953, 0.83870), se obtuvo una sensibilidad de 92.85% y una especificidad de 40.78%. El valor predictivo positivo (VPP) fue de 36.61% y el valor predictivo negativo (VPN) de 93.93%. En el caso de PCR (Figura 11) se observó una ABC de 0.63440 IC95% (0.5090, 0.7590), una sensibilidad de 75.00%, especificidad de 36.84%, VPP de 20.45% y VPN de 73.07%. De acuerdo con los resultados arrojados por el análisis, la elevación de SA tuvo mayor valor diagnóstico para complicaciones vasculares en comparación con la PCR (0.75 vs 0.63).

En un estudio prospectivo, Ridker y colaboradores (2002), demostraron que la PCR es un predictor de riesgo más potente que LDL, con área bajo la curva (ROC) de 0.64 vs 0.60. Cabe apuntar que la PCR no suplanta el valor de las LDL en la predicción de riesgo cardiovascular, pero podría ser considerada como una prueba adjunta a la determinación de esta lipoproteína. Otro estudio es el de Sánchez-Soriano y colaboradores, quienes al igual que en nuestro estudio, infirieron que el SA es una prueba de mayor utilidad de diagnóstico (comparado con PCR), con una ABC de 0.70, 35% de sensibilidad, 85% de especificidad y 82% de valor predictivo negativo. Cabe señalar que aunque el número de pacientes fue el mismo (73 pacientes) que en nuestro estudio, el grupo control fue mayor (373 muestras) lo que puede explicar las diferencias en los valores de sensibilidad y especificidad entre el estudio de Sánchez-Soriano y colaboradores y el que aquí se presenta. A pesar de lo anterior, el ABC es consistente, favoreciendo la hipótesis de que la medición de SA puede ser un mejor marcador de inflamación independiente de la presencia de la complicación vascular o del riesgo de adquirirla posteriormente.

Finalmente, cabe destacar que la relación etiológica entre la hiperglicemia y el aumento en la concentración sérica de se conoce sólo parcialmente. Las hipótesis que entrelazan su origen, forman parte de la disfunción que se observa en los pacientes

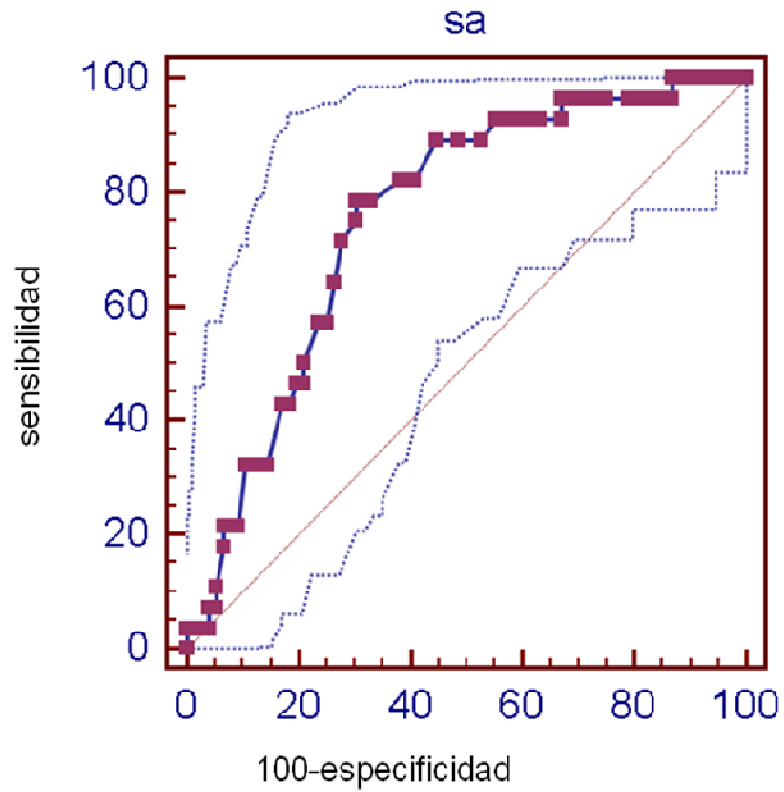


Figura 10. Curva ROC de SA y la presencia de complicaciones vasculares en la población de estudio.

El área bajo la curva (ABC) fue de 0.75611 con un IC95% (0.63953, 0.83870), $p < 0.001$, $z = 5.10$

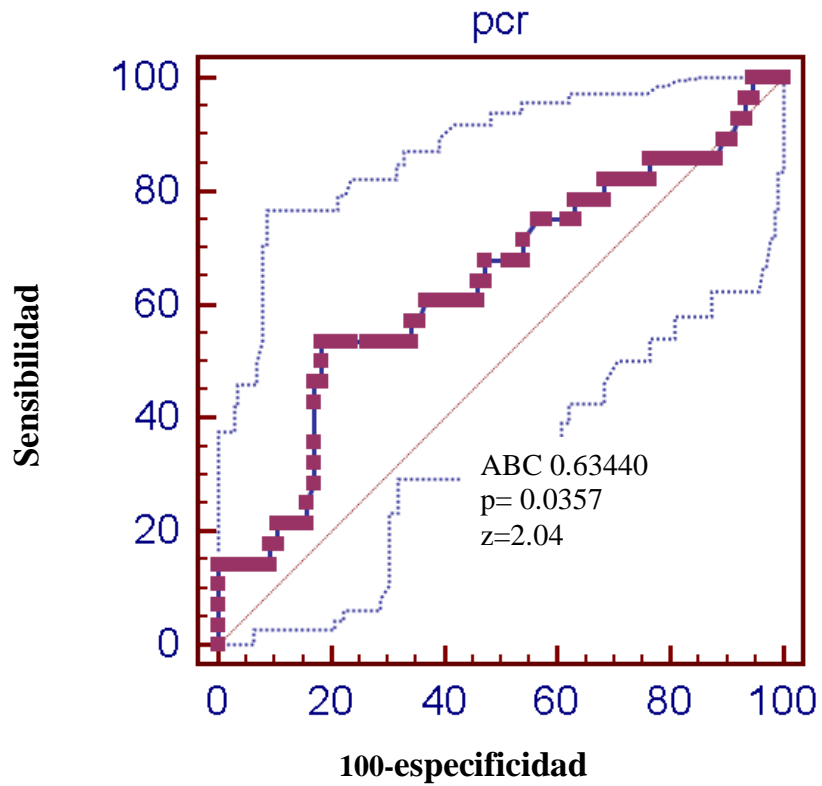


Figura 11. Curva ROC de PCR y la presencia de complicaciones vasculares en la población de estudio.

El área bajo la curva (ABC) fue de 0.63440 con un IC (0.5090, 0.7590).

con DM2 en diversos tejidos, como el hepático, el tejido adiposo y el endotelial (Englyst y col., 2006). Es probable que el incremento de SA sérico se deba tanto a la exacerbación de la respuesta de fase aguda, que trae consigo el aumento de proteínas altamente sialiladas, como a la desialilación de glicoproteínas localizadas en la superficie de los adipocitos o de las células endoteliales.

En este último aspecto, debe considerarse el hecho de que un alto porcentaje de pacientes tienen diferentes grados de obesidad como parte de la evolución natural de la DM2, y que a su vez la obesidad está asociada con la exacerbación de los procesos inflamatorios crónicos. Entonces es posible que el incremento del SA sea también el resultado de la desialilación permanente de las glicoproteínas de los adipocitos, que al perder el ácido siálico terminal son aclaradas por lectinas hepáticas, como la galectina 3. En este proceso aumenta paralelamente el SA sérico (Sharony, 2004).

Finalmente, la pérdida de ácido siálico de las proteínas de membrana de células como los adipocitos y células endoteliales (Englyst N y col., 2006; Ciaraldi, 1989), no sólo contribuye al aumento del SA en el torrente circulatorio, también afecta las actividades celulares normales complicando aún más la disfuncionalidad metabólica de los pacientes con DM2. Por ejemplo, la desialilación del receptor de la insulina, reduce su afinidad por la insulina, incrementando con ello la resistencia periférica a la hormona y la hiperglicemia de los pacientes (Gorden y col., 1989).

Aunque se requieren más estudios para evaluar el impacto de todos los procesos asociados preliminarmente con el aumento del SA sérico en los pacientes con DM2, y confirmar la utilidad del SA como predictor de riesgo de complicaciones, este estudio brinda evidencias preliminares valiosas para avanzar en el conocimiento del problema.

CONCLUSIONES

El descontrol metabólico de la mayoría de los pacientes con DM2 (64%) incluidos en este estudio, fue evidenciado por el incremento significativo en las concentraciones de glucosa, HbA1c, proteínas totales y/o triglicéridos. En un alto porcentaje (92%) de los pacientes que tuvieron alteraciones en los marcadores de control glicémico y lipídico, se observaron también concentraciones elevadas de PCR y SA.

1. El 78% de los pacientes con niveles de HbA1c > 7.0%, el 47.4% tuvieron niveles altos de LDL, el 49.12% hipertrigliceridemia y el 22.8% dislipidemia mixta, evidenciando que el descontrol glicémico conlleva alteraciones en el perfil lipídico en los pacientes.. El 68% de los pacientes con descontrol glicémico, tenían el SA sérico elevado y presentaron una o más complicaciones vasculares de la diabetes.
2. Nuestros hallazgos sugieren que el SA sérico es un marcador bioquímico válido como predictor de complicaciones en pacientes con diabetes mellitus tipo 2. El análisis ROC mostró un área bajo la curva de 0.75 para el SA, que es semejante al de otros estudios (0.70)
3. Los niveles de SA sérico (≥ 60 mg/dL) tienen una capacidad del 92.8% para identificar correctamente la presencia de complicaciones en los pacientes con DM2, y un valor predictivo negativo del 93.9%, lo que implica que tiene una capacidad elevada de identificar (y alternativamente descartar) el riesgo de complicaciones.
4. El SA parece ser una prueba de mayor valor para el diagnóstico temprano de complicaciones vasculares (ABC de 0.75 y sensibilidad de 92.85%) que la PCR (ABC 0.65 y sensibilidad de 67.85%).

REFERENCIAS

ADA 2011 (American Diabetes Association 2011). Standards of medical care in diabetes *Diabetes Care*. 30: S1-S17.

Aguilar-Salinas CA, Olaiz G, Valles V, Ríos JM, Gómez Pérez FJ, Rull JA. 2001. High prevalence of low HDL cholesterol concentrations and mixed hyperlipidemia in a Mexican nation wide survey. *J Lipid Research*. 42: 1298-307.

Aronoff S, Rosenblatt S, Braithwaite S, Egan JW, Mathisen AL, Schneider RL. 2000. Pioglitazone hydrochloride monotherapy improves glycemic control in the treatment of patients with type 2 diabetes: a 6-month randomized placebo-controlled dose-response study. The Pioglitazone 001 Study Group. *Diabetes Care*. 23:1605–11.

Aschner P, Kipnes MS, Lunceford JK, Sanchez M, Mickel C, Williams-Herman. 2006. Effect of the dipeptidyl peptidase-4 inhibitor sitagliptin as monotherapy on glycemic control in patients with type 2 diabetes. *Diabetes Care*. 29 (12): 2632-37.

Bailes B. 2002. DM2 and its chronic complications. *Aorn J*. 76 (2): 268-286.

Bailey CJ, Turner RC. 1996. Metformin. *N Engl J Med*. 334: 574-9.

Barnett A. 2009. Redefining the role of thiazolidinediones in the management of type diabetes. *Vascular Health and Risk Management*. 5: 141.51.

Beckman J, Creager M, Libby P. 2002. Diabetes and atherosclerosis: epidemiology, pathophysiology and management. *JAMA*. 287 (19): 2570-81.

Born GV, Palinski W. 1985. Unusually high concentrations of sialic acids on the surface of vascular endothelia. *Br J Exp Pathol* (5): 543-9.

Brown BJ, Conner C, Nichols G. 2009 Secondary failure of metformin monotherapy in clinical practice. *Diabetes Care*. 33 (3): 501-6.

Browning LM, Jebb SA, Mishra GD, Cooke JH, O'Connell MA, Crook MA. 2004. Elevated sialic acid, but not CRP, predicts features of the metabolic syndrome independently of BMI in women. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 28: 1004- 10.

Buchacha F. 2009. Incretines: a contribution to treatment of diabetes mellitus. *Rev cub med*. 48 (1): 1-2.

Burgueño MJ, García-Bastos JL, González-Buitrago JM. 1995. Las curvas ROC en la evaluación de las pruebas diagnósticas. *Med Clin*. 104 (17): 661-70.

Cabezas JA, Perez N, Llanillo M; Reglero A, Calvo P. 1984. Sialidase assay by luminescence in the low picomole-range of sialic acid. Its application to the measurement of this activity in influenza virus. *Hoppe Sevlers Z Physiol Chem* 365(4):415-8.

Campbell I. 2000. Epidemiology and clinical presentation of type 2 diabetes. *Value in Health*. 3 (1): S3-S6.

Candia P, Jiménez P, Sánchez S, Carvajal D, Villarreal G, Vázquez M. 2001. Niveles elevados de IgA sérica en pacientes diabéticos tipo 2 no complicados. *Biotecnica*. 3 (1): 12-16.

Canseco-Ávila L, Jerjes-Sánchez C, Ortiz-López R, Rojas-Martínez A, Guzmán-Ramírez D. 2006. Fibrinogen. Cardiovascular risk factor or marker?. *Arch. Cardiol*. 76 supl.4 158-72.

Cárdenas-Estrada S. Terapia combinada de sulfonilurea y los inhibidores de las alfa glucosidasas intestinales. 2003. *Diabet Hoy Med Sal*. 5 (3): 1028.

Carroll MF, IZARD A, Riboni K, Buerge MR, Schade DS. 2002. Control of postprandial hyperglycemia. *Diabetes Care*. 25: 2147-52.

Castro SD y Castro MM. 2006. Biguanidas. *Med Int Mex*. 22: 439-49.

Ciaraldi TP. 1989. Neuraminidase treatment of isolated rat adipocytes and differential regulation of basal and insulin-stimulated glucose transport. *Diabetes*. 38: 951- 8.

Corfield AP y Schauer R. 1982. Occurrence of sialic acid. In: *Sialic acids*. *Chem Metab Fuc*. 5-50.

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: 53–57.

Crook MA, Constable S, Lumb P, Rymer J. 1997. Elevated serum sialic acid in pregnancy. *J Clin Pathol*. 50: 494-95.

Crook MA, Couchman S, Tutt P. 1996. Plasma fibrinogen and its relationship to plasma sialic acid in non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Blood Coagul Fibrinolysis*. 7: 586-89.

Crook MA, Earle K, Morocutti A, Yip J, Viberti G, Pickup JC. 1994. Serum sialic acid, a risk factor for cardiovascular disease, is increased in IDDM patients with microalbuminuria and clinical proteinuria. *Diabetes Care*. 17 (4)305-10.

Crook MA, Tutt P, Pickup JC. 1993. Elevated serum sialic acid concentration in NIDDM and its relationship to blood pressure and retinopathy. *Diabetes Care*. 16: 57-60.

Cullen P, Eckardstein A, Souris S, Schulte H, Assmann G. 1999. Dyslipidaemia and cardiovascular risk in diabetes. *Diabetes Obesity and Metabolism*. 1: 189-198.

Dawson G, Kruski AW, Scanu AM. 1976. Distribution of glycosphingolipids in the serum lipoproteins of normal human subjects and patients with hypo- and hyperlipidemias. *J Lipid Res*. 17: 125-23.

Donnelly R, Emslie S, Gardner I, Morris A. 2000. Vascular complications of diabetes. *Bio Med J*. 320: 1062-66.

Duncan C, Chalmers J, Campbell. 1992. An audit of non-insulin-dependent diabetes attending a district general hospital diabetic clinic: implications for shared care between hospital and general practice. *Health Bull*. 50 (4): 302-8.

Edelman GM. 1983. Cell adhesion molecules. *Science*. 219 (4584): 450-57.

Englyst A, Crook MA, Lumb P, Stears A, Masding M, Wootton S, Derek D. 2006. Percentage of body fat and plasma glucose predict plasma sialic acid concentration in type 2 diabetes mellitus. *Met Clin Exp*. 55: 1165– 70.

Fernández PS. 2003. Pruebas Diagnósticas. *Cad Aten Primaria*. 10: 120-4.

Frauke M, Versen-Hoeynck, Hubel C, Gallaher M, Gammill H, Powers R. 2009. Plasma levels of inflammatory markers neopterin, sialic acid and c-reactive protein in pregnancy and preeclampsia. *Am J. Hypertens*. 22 (6): 687-92.

García X, Karki JC. 2000. Inflammation; ischaemic heart disease; cytokines; acute-phase proteins; c-reactive protein. *Rev Cubana Med*. 39(2):120-40.

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 Diabetologica*. 20 (2): 95-100.

Gopaul KP, Crook MA. 2006. Sialic acid: A novel marker of cardiovascular disease? Clin Biochem. 39: 667–81.

Gorden P, Arakaki R, Collier E, Carpentier J. 1989. Biosynthesis and regulation of the insulin receptor. Yale J of Bio and Med. 62: 521-31.

Gustafson B. 2010. Adipose tissue, inflammation and atherosclerosis. J of Atheroscler Thromb. 17 (4): 332-41.

Haffner SM, Lehto S, Ronnema T. 1998. Mortality from coronary heart disease in subjects with type 2 diabetes and in non-diabetic subjects with and without prior myocardial infarction. N Engl J Me. 339; 229-34.

Hattersley A. 2001. Diabetes and related disorders. Ed. Diabetes and related disorders gardiner-caldwell communications Ltd. Victoria Mill. 1-6.

Helip-Wooley A, Kleta R, Gahl W. 2007. Lysosomal free sialic acid storage disorders: salla disease and ISSD. Lysosomal store disorders. 499-511.

Hernández-Romieu A, Elnecavé-Olaiz A, Huerta- Uribe N, Reynoso-Noverón N. 2011. Analysis of population survey for determining the factors associated with control diabetes mellitus in Mexico. Salud Publica Mex. 53: 34-39.

Huttunen JK, Maury P, Miettinen TA. 1972. Increased urinary excretion of neuraminic acid-containing oligosaccharides after myocardial infarction. J Mol Cell Cardiol. 4: 59-70.

Internatinal Diabetes Federation 2010.

Inzucchi SE. 2002. Oral antihyperglycemic therapy for type diabetes. JAMA 287:360-372.

Kalela A, Pönniö M, Koivu TA, Höyhty M, Huhtala H, Sillanaukee P, Nikkari ST. 2000. Association of serum sialic acid and MMP-9 with lipids and inflammatory markers. *Eur J Clinical* 30 (2): 99-104.

Kario K, Matsuo T, Imiya M, Kayaba K, Kuroda T, Nago N, Matsuo H, Shimada K. 1994. Close relation between lipoprotein (a) levels and atherothrombotic disease in Japanese subjects >75 years of age. *Am J Cardiol.* 73: 1187-90.

Kelm S, Schauer R. 1997. Sialic acids in molecular and cellular interactions. *Int Rev Cytol*; 175: 137-240.

Khurana R, Malik IS. Merformin: safety in cardiac patients. *Posgrad Med J.* 86 (1016): 371-3.

Kunuiman MW, Watts G, Divitini M. 2004. Is Sialic acid an independent risk factor for cardiovascular disease? a 17-year follow-up study in Busselton, western Australia. *AEP.* 14 (9) 627-32.

Lakkaa M. 2002. The metabolic syndrome and total and cardiovascular mortality in middle aged men. *JAMA.* 228: 2709-16.

Lebovitz HE, Dole JF, Patwardhan R, Rappaport EB, Freed MI. Rosiglitazone clinical trials study group. Rosiglitazone monotherapy is effective in patients with type 2 diabetes. *J Clin Endocrinol Metab.* 86:280–88.

Lin Y, Berg A, Iyengar P, Lam T, Giaccas A, Combs T, col. 2004. The hyperglycemia-induced inflammatory response in adipocytes. *JBC* 280 (6): 4617-26.

Lindberg G, Eklund GA, Gullberg B, Råstam L. 1991. Serum sialic acid concentration and cardiovascular mortality. *BMJ.* 302: 143-46.

Lindberg G, Råstam L, Gullberg B, Lundblad A, Nilsson-Ehle P, Hanson BS. 1993. Serum concentrations of total sialic acid and sialoglycoproteins in relation to coronary heart disease risk markers. *Atherosclerosis*. 103: 123-29.

Lindbohm N. 2000. Sialic acid in lipoproteins. Ph.D. dissertation, Univ. of Helsinki Finland.

López A. 2007. Prevalencia y determinantes de la arteriosclerosis subclínica en los territorios carotídeo, coronario y periférico en pacientes con artritis reumatoide. Ph D. disertación. Univ. de Alcalá. 41-47.

Lucio Vilar, Viviane Canadas, Maria Juliana Arruda, Carla Arahata, Rodrigo Agra, Lisete Pontes, Larissa Montenegro, Clarice Freitas Vilar, Lidiane Moura e Silva, José Luciano Albuquerque, Amaro Gusmão. 2009. Comparison of metformin, gliclazide MR and rosiglitazone in monotherapy and in combination for type 2 diabetes. *Arq Bras Endocrinol Metab*. 54 (3): 311-18.

Luna B, Feinglos M. 2001. Oral agents in the management of type 2 diabetes mellitus. *AAFP*. 63 (9): 1747-57.

Martínez-Camblor P. 2007. Comparación de pruebas diagnósticas desde la curva ROC. *Revista Colombiana de Estadística*. 30 (2): 163-176.

Matthew W, Watts G, Divitini M. 2004. Is sialic acid an independent risk factor for cardiovascular disease? A 17-year follow-up study in Busselton, Western Australia. *Diabetologia*. 14(9): 627-632.

McMillan D. 1970. Changes in serum proteins and protein-bound carbohydrates in diabetes mellitus. *Diabetologia*. 6 (6): 597-604.

Melajärvi N, Gylling H, Miettinen TA. 1996. Sialic acids and the metabolism of low density lipoprotein. *J. Lipid Res*. 37: 1625-31.

Merat A, Arabsolghar R, Zamani J, Roozitalab MH. 2003. Serum levels of sialic acid and neuraminidase activity in cardiovascular, diabetic and diabetic retinopathy patients. *Iran J Med Sci.* 28(3):123-26.

Mercadal OG, Berlana MD, De la peña OMD, Fort CE, Llop TJ, Jodar MR. 2005. Intercambio terapéutico de sulfonilureas en un hospital de tercer nivel: aplicación y evaluación clínica del protocolo. *Rev Cubana Farm.* 39 (3): 1-12.

Miyamoto M, Kotani K, Yagy H, Koibuchi H, Fujji Y, Konno K. Yamada T, Ishibashi, Taniguchi N. 2010. The correlation between CVR-R and carotid atherosclerosis in type 2 diabetes mellitus patients with diabetic neuropathy. *Jichi Medical University.* 3311-1.

Moreno L. 2001. Epidemiología y diabetes. *Rev Fac Med UNAM.* 44 (1): 1-3.

Nassimisadeh M, Ashrafian H, Drury N, Howell N, Digby J, Pagano D, Frenneaux M, Born G. 2010. Reduced negative surface charge on arterial endothelium explains accelerated atherosclerosis in type 2 diabetic patients. *Diab Vascular Disease R.* 7 (3): 213-15.

Natan MD. 2002. Initial management of glycemia in type 2 diabetes mellitus. *N Engl J Med.* 347: 1342-9.

Nayak BS, Roberts L. 2006 Relationship between inflammatory markers, metabolic and anthropometric variables in the Caribbean type 2 diabetic patients with and without microvascular complications. *J Inflamm.* 22 (3): 17.

Nigam PK, Narain VS, Kumar A. 2006. Sialic acid in cardiovascular diseases. *Ind J Clin Biochem.* 21 (1): 54-61.

Peter L.Gross M.D, William C. 2000. The endothelium and thrombosis. *Semin Thromb Hemost.* 26:463-78.

Phillippe HM, Wargo KA. 2010. Mitiglinide: a novel agent for the treatment of type 2 diabetes mellitus. *Ann Pharmacother*. En prensa.

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: 1100-3.

Pickup JC, Roberts GA, Kehely AM, Pasapula C, Chusney GD, Mather HM. 1997. Higher serum sialic acid in women than in men with NIDDM: possible relevance to increased cardiovascular risk in NIDDM women. *Diabetes Care*. 20: 1496.

Pries AR, Secomb TW, Gaehtgens P. 2000. The endothelial surface layer. *Archiv Eur J of Phys*. 440 (5): 653-66.

Puente-Polledo L, Reglero A, González-Clemente C. 1996. Biochemical conditions for the production of polysialic acid by *Pasteurella haemolytica* A2. *Glycoconjugate J*. 15 (9): 855-61.

Raskin P, Klaff L, McGill J. Efficacy and safety of combination therapy. 2000. Repaglinide/troglitazone combination therapy: improved glycemic control in type 2 diabetes. *Diabetes Care*. 26: 2063-8.

Réganon E, Vila V, Martínez-Sales V, Vaya A, Aznar J. 2002. Inflammation, fibrinogen and thrombin generation in patients with previous myocardial infarction. *Haematologica*. 87: 740-45.

Ridker PM, Rifai N, Rose L, Buring JE, Cook NR. 2002. Comparison of C-reactive protein and low-density lipoprotein cholesterol levels in the prediction of first cardiovascular event. *N Engl J Med*. 347: 1557-65.

Rodríguez M Apollinaire P, Torres R, Peraza P. 2003. Reactividad cardiovascular y factores de riesgos cardiovasculares en individuos normotensos menores de 40 años. *Rev Esp.* 77: 143-50.

Romppanen J. 2003. Serum sialic acid in clinical diagnostics. Ph D. dissertation, Univ. of Kuopioi . 14-16.

Roseman S. 1970. The synthesis of carbohydrates by multiglycosyltransferase system and their potential function in intercellular adhesion. *Chem Phys lipids.* 5: 270-97.

Rosenberg A y Schengrund C. 1976. Sialidasas. In: Biological roles of sialic acid. Plenum press, New York. 295-359.

Ruiz de Adana Pérez R. 2009. Eficacia de una prueba diagnóstica: parámetros utilizados en el estudio de una prueba. *Jano.* 1.736: 30-2.

Salomone OA, Crook JR, Hossein-Nia M, Holt D, Kaski JC. 1998. Serum sialic acid concentration is not associated with the extent or severity of coronary artery disease in patients with stable angina pectoris. *Am Heart J.* 136: 620-23.

Sanchez-Soriano RM, Almenar L, Martínez-Dolz L, Reganon E, Martínez-S, Vila V, Martín-Pastor J, Villa P, Salvador A. 2006. Diagnostics usefulness of inflammatory markers in acute celular rejection after heart transplantation. *Transplantation proceedings.* 38 (8): 2569-71.

Selhub J, Miller JW. 1991. The pathogenesis of homocysteinemia. *Am J Clin Nutr.* 55:131.

Senn HJ, Orth M, Fitzke E, Wieland H, Gerok W. 1989. Gangliosides in normal human serum. Concentration, pattern and transport by lipoproteins. *Eur J Biochem.* 181: 657-62.

Sharon N y Lis H. History of lectins: from hemagglutinins to biological recognition molecules. 2004. *Glycobiology*. 14 (11): 53R-62R.

Sillanauke P, Pönniö M, Jääskeläinen IP. 1999. Occurrence of sialic acids in healthy humans and different disorders. *Eur J Clin Invest*. 29: 413-25.

Soedamah-Muthu S, Chaturvedi N, Pickup J, Fuller J. 2004. Relationship between plasma sialic acid and fibrinogen concentration and incident micro- and macrovascular complications in type 1 diabetes. The EURODIAB Prospective Complications Study (PCS). *Diabetologia*. 51 (3): 493-501.

Swaminathan N, Aladjem F. 1976. The monosaccharide composition and sequence of the carbohydrate moiety of human serum low density lipoproteins. *Biochem*. 15:1516- 22.

Swets JA. 1988. Measuring the accuracy of diagnostics systems. *Sci*. 240: 1285-93.

Tamez PH, Hernández C, Gómez O, Tamez PA, Forsbach S. Meglitinidas en el control del paciente con diabetes mellitus tipo 2. *Med Int Mex*. 19 (4):193-6.

Taniguchi T, Ishikawa Y, Tsunemitsu M, Fukuzaki H. 1989. The structures of the asparagine-linked sugar chains of human apolipoprotein B-100. *Arch Biochem Biophys*. 273: 197-205.

Taylor A, McNamara C.. 2006. Are thiazolidinediones good or bad for the heart?. *Curr Diab Rep*. 6 (5): 378-83.

Tertov VV, Orekhov AN, Sobenin IA, Morrisett JD, Gotto AM, Guevara JG. 1993. Carbohydrate composition of protein and lipid components in sialic acid-rich and - poor low density lipoproteins from subjects with and without coronary artery disease. *J Lipid Res*. 34: 365-75.

Thongtang N, Sriwijitkaml A. 2008. Incretins: The novel therapy of type 2 diabetes. *J Med Assoc Thai.* 91 (6): 943-54.

Topçuoğlu C, Yılmaz F, Şahin D, Aydoğdu S, Yılmaz G, Saydam G, Yücel D. 2010. Total-and lipid-associated sialic acid in serum and thrombocytes in patients with chronic heart failure. *Clinical Biochemistry.* 43 (4-5): 447-49.

Tseke P, Grapsa Stamatelopoulos E, Samouilidou E, Rammos G, Papamichael C, Zakopoulos N. 2008. Correlations of sialic acid with markers of inflammation, atherosclerosis and cardiovascular events in hemodialysis patients. *Blood Purif.* 26 (3): 261-66.

Ullibarri I, Fernández S. 1998. Curvas ROC. *Cad Aten:* 5 (4): 229-35.

Valdés E, Bencosme N. 2010. The macrovascular complications and its relation to some clinical and biochemical variables in type 2 diabetes patients. *Rev Cub Endocrinol.* 21 (3): 256-68.

Varki A. 1992. Diversity, sialic acids, neuraminic acids. *Glicobiology.* 2: 25-40.

Varki N, Strobert E, Dick E, Benirschke K, Varki A. 2010. Biomedical differences between human and nonhuman hominids: potential roles for uniquely human aspects of sialic acid biology. *Annual Review of Pathology: Mechanisms of Disease*

Varughese GI, Tomson J, Lip GYH. 2005. Type 2 diabetes mellitus: a cardiovascular perspective. *Int J Clin Pract.* 59 (7): 798–816.

Vázquez M, Candia P, Robles B. 2001. Hipersialylated macromolecular serum immunoglobulin A1 in type 2 diabetes mellitus. *J Biol Biochem.* 34: 35-41.

Vilariño J, Esper R, Badimón J. 2004. Fisiopatología de los síndromes coronarios agudos. Tres paradigmas para un nuevo dogma. *Rev Esp Cardiol.* 4 (4) supl G: 13-24.

Villalpando S, De la Cruz V, Rojas R, Shaamah-Levy T, y col. 2010. Prevalence and distribution of type 2 diabetes mellitus in Mexican adult population. A probabilistic survey. *Ins. Nac. Sal Pub.* En prensa.

Vizcaíno OF. 2004. Evaluación del tratamiento combinado de glibenclamida y acarbosa comparada con glibenclamida y metformina en el control glucémico del pacientes con diabetes mellitus tipo 2.

Wakabayashi I, Sakamoto K, Yoshimoto S, Masui H. 1992. Relation of serum sialic acid to lipid concentrations. *BMJ.* 305: 562-63.

Wang L, Zhang Y, Chen S, Zhuang Y, Chen J. 2010. Association of metabolic syndrome and IgA nephropathy. *J Clin Pathol.* 63 (8): 697-701.

Watts GF, Crook MA, Haq S, Mandalia S. 1995. Serum sialic acid as an indicator of change in coronary artery disease. *Metabolism.* 44: 147-48.

Wide L, Naessén T, Eriksson K. 2009. Effects of 17 β -oestradiol and norethisterone acetate on sulfonation and sialylation of gonadotrophins in post-menopausal women. *Upsala J of Med Sci.* 115: 97-106.

Wu EB, Lumb P, Chambers JB, Crook MA. 1999. Plasma sialic acid and coronary artery atheromatous load in patients with stable chest pain. *Atherosclerosis.* 145: 261-66.

Yanardag R, Tunali S. 2006. Vanadyl sulfate administration protects the streptozotocin-induced oxidative damage to brain tissue in rats. *Mol Cell Biochem.* 286(1-2):153-9.

Yang CY, Chen SH, Gianturco SH, Bradley WA, Sparrow JT, Tanimura M, Li WH, Sparrow DA, DeLoof H, Rosseneu M, Lee FS, Gu ZW, Gotto AM Jr, Chan L. 1986.

Sequence, structure, receptor-binding domains and internal repeats of human apolipoprotein B-100. *Nature*. 323: 738-42.

Zhao J, Simeone D, Heidt D, Anderson M, Lubman D. 2006. Comparative serum glycoproteomics using lectin selected sialic acid glycoproteins with mass spectrometric analysis: application to pancreatic cancer serum. *J. Proteome Res.* 5 (7): 1792-1802.

Zulet A, Puchau B, Navarro C, Martí A, Martínez J. 2007. Inflammatory biomarkers: the link between obesity and associated pathologies. *Nutr. Hosp.* 22 (5): 511-27.

Zulet MA, Puchau B, Navarro C, Martí A; Martínez JA. 2007. Biomarcadores del estado inflamatorio: nexos de unión con la obesidad y complicaciones asociadas. *Nutr Hosp.* 22 (5): 511-27.

Zweig MH, Campbell G. 1993. Receiver-Operating Characteristic (ROC) plots: a fundamental evaluation tool in clinical medicine. *Clin Chem.* 39: 561-77.

ANEXOS

Anexo I

Carta de Consentimiento Informado

Yo _____,
manifiesto haber sido invitado (a) por la Universidad de Sonora, para participar en el proyecto “Determinación de los Niveles de SA Sérico en Pacientes con Diabetes Mellitus Tipo 2 de la Unidad de Medicina Familiar No. 37 del IMSS”, cuyo objetivo es el de “Determinar los Niveles de SA Sérico en Pacientes con Diabetes Mellitus Tipo 2 de la UMF No. 37 del IMSS”.

Me han informado que los resultados de este proyecto podrían ayudar a la identificación y tratamiento oportuno de las complicaciones vasculares que presentan pacientes con diabetes mellitas tipo 2. También me han informado que si acepto participar en el estudio donaré una muestra de sangre venosa tomada en ayuno de 8-12 horas de 10 mL y que el procedimiento tiene riesgos mínimos.

Como puntos finales de este consentimiento, me han informado que los resultados serán manejados en forma confidencial y que puedo decidir no participar en el estudio.

Firma de Aceptación para participar en el proyecto

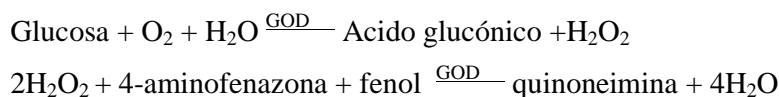
Lugar y Fecha _____

Anexo II

Glucosa

Cat. No. GL2623

La glucosa se determina después de su oxidación enzimática a ácido glucónico en presencia de glucosa oxidasa. En un proceso catalizado por una peroxidasa, el peróxido de hidrógeno producido por la oxidación de la glucosa, se reduce, oxidando así al indicador 4-aminofenazona; la quinoneimina resultante es de color rojo-violeta.



Reactivos

1. Reactivo GOP-PAP

Tampón fosfatos	50 mmol/L, pH 7.0
Fenol	11 mmol/L
4-aminofenazona	0.77mmol/L
Glucosa oxidasa	> 1.5 k U/L
Peroxidasa	> 1.5 k U/L

2. **Patrón glucosa** 5.5 mmol/L (100 mg/Dl)

Procedimiento. Se realiza a una longitud de onda de 500 nm con una celda de 1 mm de espesor a una temperatura de 37 °C y se mide frente a reactivo blanco. Se pipetea en tubos de ensayo, 5 µL de muestra, suero control, patrón y agua destilada a los tubos correspondientes y se agrega 500 µL de reactivo de glucosa a cada tubo. Posteriormente se mezcla e incuba mínimo durante 10 min a 37 °C. Después de lo anterior se mide la absorbancia del patrón y la muestra frente al reactivo blanco antes de 60 min.

Anexo III

Proteína Totales

Cat. No. TP 1630

En medio alcalino, los iones cúpricos, interaccionan con los enlaces peptídicos de las proteínas formando un complejo coloreado.

Reactivos

1. Reactivo Biuret

Hidróxido sódico	20 mmol/L
Tartrato Na-K	32 mmol/L
Yoduro potásico	30 mmol/L
Sulfato cúprico	12 mmol/L

2. Patrón

60 mg/L

Procedimiento. Se realiza a una longitud de onda de 546 nm con una celda de 1 mm de espesor a una temperatura de 25 °C y se mide frente a reactivo blanco. Se pipetea en tubos de ensayo, 10 µL de muestra, patrón, suero control y agua destilada a los tubos correspondientes y se agrega 500 µL de reactivo de proteínas totales a cada tubo. Posteriormente se mezcla e incuba 30 min 25 °C. Después se mide la absorbancia del patrón y la muestra frente al reactivo blanco.

Anexo IV

Albúmina

Cat. No. AB 388 A

La albúmina en suero se une cuantitativamente con el indicador 5,5-dibromo-o-cresol sulfoftaleína (púrpura de bromocresol BCP). El complejo albúmina-BCP presenta una absorción máxima a 600 nm.

Reactivos

1. Tampón acetate sódico.

Purpura de bromocresol

0.07 mol/L pH 5.2

Conservador Brij 35

2. Patrón

45 g/L

Procedimiento. Se realiza a una longitud de onda de 600 nm con una celda de 1 mm de espesor a una temperatura de 25 °C y se mide frente a reactivo blanco. Se pipetea en tubos de ensayo, 2.5 µL de muestra, suero control, patrón y agua desionizada a los tubos correspondientes y se agrega 500 µL de reactivo de albúmina a cada tubo. Posteriormente se mezcla e incubar durante 2 min a 25 °C. Después se mide la absorbancia del patrón, suero control y la muestra frente al reactivo blanco.

Anexo V

Creatinina

Cat. No. CR 510

La creatinina en solución alcalina reacciona con ácido pícrico para formar un complejo coloreado. La cantidad del complejo formado es directamente proporcional a la concentración de creatinina.

Reactivos

- | | |
|---------------------|----------------------------------|
| 1. Estándar | 177 $\mu\text{mol/L}$ /(2 mg/dL) |
| 2. Ácido pícrico | 35 mg/dL |
| 3. Hidróxido sódico | 0.32 mg/dL |

Preparación de los reactivos

Mezclar volúmenes iguales de soluciones 2 y 3. Estable durante 3 días cuando se conserva entre 15 y 25 °C.

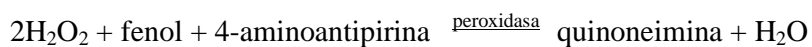
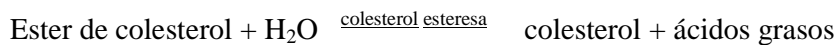
Procedimiento. Se realiza a una longitud de onda de 500 nm con una celda de 1 mm de espesor a una temperatura de 25°C y se mide frente a aire. Se pipetea en tubos de ensayo 30 μL de muestra, suero control y patrón a los tubos correspondientes y se agrega 300 μL de reactivo de creatinina a cada tubo. Posteriormente se mezcla y se lee la absorbancia A_1 al cabo de 30 segundos. Exactamente 2 min se lee la absorbancia A_2 del patrón, suero control y muestra.

Anexo VI

Colesterol

Cat. No. CH 200

El colesterol se determina después de hidrólisis enzimática y oxidación. El indicador quinoneimina se forma a partir de peróxido de hidrogeno y 4-amino- antipirina en presencia de fenol y peroxidasa.



Reactivos

1. Reactivo

4-aminoantipirina	0.30 mmol/L
Fenol	6 mmol/L
Peroxidada	> 0.5 mL
Colesterol esterasa	> 0.15 U/mL
Colesterol oxidasa	> 0.1 U/mL

2. Patrón

5.17 mmol/L (200 mg/dL)

Procedimiento. Se realiza a una longitud de onda de 500 nm con una celda de 1 mm de espesor a una temperatura de 37 °C y se mide frente a reactivo blanco. Se pipetea en tubos de ensayo, 5 µL de muestra, suero control, control de lípidos patrón y reactivo a los tubos correspondientes y se agrega 500 µL de reactivo de colesterol a cada tubo. Posteriormente se mezcla e incubar mínimo durante 10 min a 25 °C o 5 min a 37 °C. Después se mide la absorbancia del patrón y la muestra frente al reactivo blanco.

Anexo VII

Lipoproteína de alta densidad (HDL)

Cat. No. CH 204A

Las lipoproteínas de baja densidad (LDL y VLDL) y las fracciones de quilomicrones precipitan cuantitativamente al añadir ácido fosfotúngstico en presencia de iones de magnesio. Después de centrifugar, la concentración de colesterol se determina en la fracción de HDL que queda en el sobrenadante.

Reactivos

1. Acido fosfotúngstico	0.55 mmol/L
2. Cloruro de magnesio	25 mmol/L

Preparación de reactivos

Semi-microensayo. Prediluir el reactivo precipitante en proporción 4+1 con agua bidestilada (diluir el contenido en el frasco de 80 mL con 20 mL de agua bidestilada). El reactivo diluido es estable hasta la fecha de caducidad con conservado entre 2 y 25 °C. El patrón está listo para su uso. Estable hasta la fecha de caducidad almacenado entre 2 y 8 °C.

Procedimiento. El patrón no debe usarse en el paso de precipitación. **Precipitación.** Se pipetea en tubos para centrífuga 20 µL de muestra y control de lípidos y agregar 50 µL del reactivo de precipitación diluido. Posteriormente se mezcla e incuba 10 min a temperatura ambiente. Al término de la incubación, se centrifuga 2 min a 12000 rpm y se separa el sobrenadante y se realiza la determinación de colesterol a una longitud de onda de 546 nm, antes de que transcurran 2 horas (Anexo IV).

Anexo VIII

Lipoproteína de baja densidad (LDL)

Cat. No. CH 1351

Las lipoproteínas de baja densidad (LDL) se precipitan por medio de la heparina en su punto isoeléctrico (pH 5.04) después de la centrifugación las lipoproteínas de alta densidad y las de muy baja densidad permanecen en el sobrenadante. Estas se pueden determinar por medio de métodos enzimáticos.

Reactivos

1. Heparina	50, 000 IU/L
2. Citrato sódico	0.064 mol/L, pH 5.04
3. Patrón	1.29 mmol/L (50 mg/dL)

Determinación del no LDL colesterol

El patrón de 50 mg/dL no debe usarse en el paso de precipitación. Se puede hacer con patrón o con factor.

Precipitación. Se pipetea en tubos para centrífuga 8 µL de muestra y control de lípidos y agregar 80 µL del reactivo de precipitación. Posteriormente se mezcla e incuba 10 min a temperatura ambiente. Al término de la incubación, se centrifuga 15 min a 4000 rpm. Se determina la concentración de colesterol del sobrenadante antes de que transcurra la hora siguiente a la centrifugación (Anexo IV).

Anexo IX

Triglicéridos

Cat. No. TR 210

Los triglicéridos se determinan a partir de la hidrólisis enzimática con lipasas. El indicador es una quinoneimina formada por la reducción del peróxido de hidrógeno, a partir de la 4-aminofenazona y 4-clorofenil, bajo la influencia catalítica de peroxidasa.

Reactivos

1. Tampón

Tampón pipes	40 mmol/L, pH 7.4
4-clorofenol	5.4 mmol/L
Iones de magnesio	5.0 mmol/L
ATP	1.0 mmol/L
Peroxidasa	> 0.5 U/mL
Glicerolkinasa	> 0.4 U/mL
Glicerol-3-fosfato oxidasa	> 1.5 U/mL
Azida sódica	0.05%

2. Reactivo enzima

4-aminoantipirina	0.4mmol/L
Lipasa	> 150 u/mL

3. Patrón

2.29 mmol/L (200 mg/dL)

Preparación de reactivos

Reconstituir un vial de reactivo enzima 2 con 15 mL de tampón 1.

Procedimiento. Se realiza a una longitud de onda de 500 nm con una celda de 1 mm de espesor a una temperatura de 37 °C y se mide frente a reactivo blanco. Se pipetea en tubos de ensayo, 5 µL de muestra, suero control, control de lípidos patrón y reactivo a los tubos correspondientes y se agrega 500 µL de reactivo de triglicéridos a cada tubo. Posteriormente se mezcla incuba durante 5 min a 37 °C. Se

mide la absorbancia del patrón, suero control, control de lípidos y la muestra frente al reactivo blanco antes de 60 minutos.

Anexo X

Glicohemoglobina (HbA1c)

Cat. No. HA 3830A

La presencia de HbA1c en la muestra se mide mediante aglutinación en látex, compitiendo la glucohemoglobina con los anticuerpos monoclonales HbA1c.

Reactivos

1. Desnaturalizador de hemoglobina

Pepsina porcino, tampon y conservador

2. Reactivo de hemoglobina total

Hidróxido de sodio

3. Reactivo 1: Anticuerpo HbA1c

Suero de albúmina bovina, tampón, surfactantes y conservadores.

4. Reactivo 2: Aglutinador HbA1c

Hapteno HbA1c unido covalentemente al polímero suero albúmina bovina, buffer, conservadores surfactantes.

Preparación de la muestra. Se mezcla 10 μ L de sangre total con 400 μ L del reactivo desnaturalizador. El primer paso del procedimiento involucra el pretratamiento de la muestra de sangre total. Se lisan las células rojas y se provoca la hidrólisis de la hemoglobina por la acción de una enzima proteasa presente en el reactivo desnaturalizador de hemoglobina.

Calibración. Se requiere la serie de calibradores cat. Número HA3444 para la calibración de hemoglobina total se utiliza el calibrador número 1 de la serie. Mientras que para la fracción HbA1c, se utilizan los calibradores del 1 al 6.

Procedimiento para HbA1c. Se realiza a una longitud de onda de 620 nm con una celda de 1 mm de espesor a una temperatura de 37 °C y se mide frente a aire. Se pipetea en tubos de ensayo, 125 µL de reactivo 1 HbA1c y 5 µL de patrón (1-6) y muestra pretratada, sangre control a los tubos correspondientes. Se incuba 5 minutos a 37 °C y se agrega 125 µL de reactivo 2 HbA1c. Posteriormente se mezcla y se lee la absorbancia inicial al cabo de 30 segundos y de nuevo al cabo de 1 minuto.

Cálculo de HbA1c. Anotar el cambio de absorbancia de cada uno de los estándares del 1 al 6 y graficar el cambio de absorbancia contra concentración interpolar en la gráfica el cambio de absorbancia del problema para obtener la concentración de HbA1c en g/dL.

Procedimiento para hemoglobina total. Se pipetea 300 µL de reactivo de Hb total y 24 µL de patrón y de muestra pretratada a los tubos de ensayo correspondientes. Se incuba 10 minutos a temperatura ambiente y se lee la absorbancia contra blanco de reactivos a 620 nm.

Anexo XI

Proteína C Reactiva

ZK044.L.R.

La determinación de la concentración del antígeno soluble por los métodos nefelométricos se basa en la reacción con el anticuerpo unido a la partícula de látex para formar un complejo insoluble. Cuando la luz es pasada a través de la suspensión formada, una porción de la luz es emitida y detectada por un fotodiodo. La cantidad de luz emitida es directamente proporcional a la concentración de proteína específica en la muestra.

Reactivos

1. Reactivo de PCR humana

Consiste de un antisuero monoespecífico cubierto de microparticulas de poliestireno, suministrado en forma liofilizada. Contiene 0.099% de azida de sodio como preservativo. Cada vial se reconstituye con 600 µL de agua destilada y dejándose estabilizar por 30 minutos antes de su uso.

2. Carta magnética de PCR

Es codificado con los detalles de la curva de reacción para el lote respectivo del reactivo. Esta carta es el reactivo específico y solamente puede ser usado para este lote de reactivo. La curva de la carta ha sido preparada usando calibradores secundarios que han sido calibrados contra CRM470.

3. Buffer

Para usarse con este lote de reactivo de PCR. Contiene 0.099% de azida de sodio.

4. Controles

Éstos consisten de un pool de suero humano normal y son suministrados en forma liofilizada. Reconstituir en 0.5 mL de agua destilada y dejándose, estabilizar por 15 minutos. Contienen 0.099% de azida de sodio, 0.1% EACA y 0.01% de benzamida.

Procedimiento. Se realiza una dilución de la muestra 1/40. Se agrega a la celda 20 µL de la muestra diluida, 400 µL del buffer de PCR y 40 µL del reactivo de PCR. Se checa si el número de lote es el mismo. Se coloca la celda y el aparato indica el resultado.

Anexo XII

Cálculo del poder estadístico

P1	91.78%
P2	16.12%
n	73
c; m=c*n	0.4
Seguridad	95%
PODER ESTADÍSTICO	100%

P1. Proporción de diabéticos que tienen SA elevado (≥ 60 mg/dL)

P2. Proporción de personas aparentemente sanas que tienen SA elevado (≥ 60 mg/dL)

n. Tamaño de muestra de expuestos

c; m=c*n. Número de personas aparentemente sanas por cada paciente diabético.

Seguridad. Nivel de confianza o seguridad del estudio.

Anexo XIII

Teorema de Bayes

Al comparar los resultados de la prueba a evaluar (sensibilidad y especificidad) y el diagnóstico de referencia, existen cuatro posibilidades que se resumen en una tabla de contingencia de 2x2 (Tabla 1). A partir de la tabla se puede definir el valor predictivo del resultado positivo (VPP) y el valor predictivo negativo (VPN).

Tabla 1. Comparación de resultados de la prueba a evaluar con el diagnóstico verdadero.

		Diagnóstico verdadero	
		Enfermos	Sanos
Prueba estudiada	Resultado positivo	Verdadero positivo	Falso positivo
	Resultado negativo	Verdadero negativo	Falso negativo

$$\text{Sensibilidad} = \frac{\text{Enfermos positivos}}{\text{Total de enfermos}} = \frac{\text{VP}}{\text{VP} + \text{FN}}$$

$$\text{Especificidad} = \frac{\text{Sanos negativos}}{\text{Total de sanos}} = \frac{\text{VN}}{\text{VN} + \text{FP}}$$

$$\text{VPP} = \frac{\text{VP}}{\text{VP} + \text{FP}}$$

$$\text{VPN} = \frac{\text{VN}}{\text{VN} + \text{FN}}$$

Tabla de contingencia para la evaluación del valor de diagnóstico de SA para complicaciones vasculares (CV) en la población de estudio.

SA	CV	No CV	Total
p + (>60 mg/dL)	26	45	71
p- (\leq 60 mg/dL)	2	31	33
Total	28	76	104

Tabla de contingencia para la evaluación del valor de diagnóstico de Proteína C Reactiva (PCR) para complicaciones vasculares (CV) en la población de estudio.

PCR	CV	No CV	Total
p + (>3.4 mg/L)	19	41	60
p- (\leq 3.4 mg/L)	9	35	44
Total	28	76	104

Comparación de la sensibilidad, especificidad y valores predictivos de SA y PCR.

	SA	Proteína C Reactiva
Sensibilidad	92.28	67.85
Especificidad	40.78	46.05
VPP	36.66	20.45
VPN	93.93	73.10