º

# SUPLEMENTO

La Glicobiología de los Oligosacáridos de la Leche Humana

Utilización del Ácido Siálico1–3

Norbert Sprenger\* y Peter I. Duncan

*Centro de Investigación Nestlé de Lausana, Suiza*

RESUMEN

El desarrollo postnatal temprano encuentra la leche como una variable ambiental clave y sin embargo la única fuente de nutrientes. Un constituyente conservado evolutivo de la leche es el ácido siálico, que generalmente aparece en glicoconjugados y glicanos libres. Durante el desarrollo postnatal temprano, la alta necesidad del ácido siálico fue propuesto ser insatisfecha por la capacidad sintética de ácido siálico endógeno. Por lo tanto, se propuso el ácido siálico de la leche para servir como un nutriente condicional para el recién nacido. En los ancianos, en el otro extremo de la ontogenia, se observa la sialilación disminuida en el cerebro, saliva y sistema inmune. Análoga a la situación neonatal, la capacidad de síntesis endógena puede ser incapaz de seguir el ritmo de la necesidad en este grupo de edad. Los datos discutidos aquí proponen un papel alimenticio funcional de ácido siálico como un bloque de construcción para la sialilación y más allá. *Adv. Nutr. 3: 392S*–*397S, 2012.*

# Introducción

El desarrollo postnatal del mamífero es especial en el que las madres proporcionan a su niño la única fuente de nutrientes y una parte importante de su estimulo ambiental en la forma de leche. En términos generales, la leche es uno de los fluidos biológicos más complejos proporcionando nutrientes, compuestos protectores y factores de crecimiento y de desarrollo (1,2). Dependiendo de la especie, la duración de la lactancia y la cantidad de leche y sus constituyentes varían. También entre diferentes especies mamíferas, algunos componentes son más y otros menos evolutivamente conservados (3–6). Para los constituyentes conservados, esto sugiere que hay funciones universales en el desarrollo del recién nacido, a pesar de las diversas historias de vida y la gran diversidad de hábitats que mamíferos ocupan. Que existen diferencias en la composición de la leche también que también sugiere que cada mamífero ha adaptado su composición de la leche a hacer frente a las necesidades específicas de sus recién nacidos.

1 Publicado en un suplemento de *Avances en Nutrición*. Presentado en la Conferencia "La Primer Conferencia Internacional sobre Glicobiología de los Oligosacáridos de la Leche Humana" celebrada en Copenague, Dinamarca, 16 – 17 de mayo de 2011. La conferencia fue apoyada por Glycom A/S, Lyngby, Dinamarca. Los coordinadores de suplemento para este suplemento fueron Clemens Kunz, Universidad de Giessen, Alemania y Sharon M. Donovan, Universidad de Illinois, Urbana, IL. Divulgaciones del Coordinador del Suplemento: Sharon Donovan ha recibido oligosacáridos de la leche humana de Glycom a través de su programa de donaciones de biología HMO. Sharon Donovan ha recibido oligosacáridos de la leche humana de Glycom a través de su programa de donaciones de biología HMO. El suplemento es la responsabilidad del Editor invitado a quien el Editor de *Avances en Nutrición* ha delegado la supervisión de ambas conformidad técnica a las regulaciones publicadas del *Avances en Nutrición* y supervisión general del mérito científico de cada artículo. El Editor Invitado para este suplemento fue Mark A. McGuire, Universidad de Idaho. Divulgación del Editor Invitado: Mark A. McGuire consulta con Abbott Nutrition, una división de Abbott Laboratories y proporciona opiniones profesionales sobre temas relacionados con la lactancia humana y nutrición infantil. Además, colabora con el Dr. Lars Bode, Universidad de California en San Diego, en investigaciones relacionadas con oligosacáridos de la leche humana. Las opiniones expresadas en esta publicación son las de los autores y no son atribuibles a los patrocinadores o el editor, Editor o Consejo de Redacción de *Avances en Nutrición*.

Basado en comparaciones anatómicas y metabólicas de los mamíferos más modernos y desove primitivo, se han propuesto varias teorías sobre el origen de las glándulas mamarias y sus secreciones. Una tal teoría es que la provisión de los factores protectores innatos en la base de la lactancia y que la provisión de nutrientes es secundaria (4,7).

Los oligosacáridos de la leche son un grupo importante de compuestos en la mayoría de la leche animal, con algunos oligosacáridos mostrando alta y otros baja conservación evolutiva (3). En general, la leche libre de oligosacáridos son extensiones de la lactosa disacárido con galactosa, *N*-acetilglucosamina (GlcNAc),4 *N*-acetilgalactosamina, fucosa y ácido siálico [ácido *N*-acetilneuramínico (Neu5Ac), y/o ácido *N*-glicolilneuramínico (Neu5Gc)]. Aunque la leche de animales de granja es relativamente pobre en cantidad de oligosacáridos y diversidad estructural, la leche humana es particularmente rica en ambos (8). Los oligosacáridos sialilatados, especialmente las sialilactosas simples estructuralmente, son extensos y se pueden encontrar desde la leche de los ratones hasta los seres humanos. En los seres humanos, algunas de las variaciones en oligosacáridos de la leche pueden ser atribuibles a las diferencias en antecedentes genéticos, que también manifiestan como las diferencias en los determinantes del grupo sanguíneo. Otros mamíferos como las ratas y los ratones tienen solamente pocos oligosacáridos sialilatados de la leche, que son en forma de sialilactosas y están

4 Abreviaturas utilizadas: GlcNAc, *N*- acetilglucosamina; GNE, glucosamina (UDP -*N*-acetil) -2-epimerasa /*N*- acetilmanosamina quinasa; ManNAc, *N*- acetilmanosamina; Neu5Ac, ácido *N*-acetilneuramínico; Neu5Gc, ácido *N*-glicolilneurimínico.

2 Fondos de Nestec S.A.

3 Divulgaciones del Autor: N. Sprenger y P.I. Duncan son empleados de Nestec S.A.

\* A los que debería abordarse correspondencia. Correo electrónico: [norbert.sprenger@rdls.nestle.com.](mailto:norbert.sprenger@rdls.nestle.com)

392S © 2012 Sociedad Americana de Nutrición. Adv. Nutr. 3: 392S–397S, 2012; doi:10.3945/an.111.001479.



Descargado deadvances.nutrition.org invitado en 9 de enero de 2015

presentes en cantidades relativamente altas. Esto sugiere un nicho ecológico y presión selectiva dependiente de las especies para los tipos de oligosacáridos de la leche, la diversidad y cantidades (9). Fuentes probables de presión selectiva provienen tanto de microbios comensales como patógenos, representación de glicanos de la leche moduladores importantes de la microbiota (10,11).



Descargado deadvances.nutrition.org invitado en 9 de enero de 2015

Se revisaron recientemente el papel y el potencial del ácido siálico de la leche en la nutrición humana y especialmente como alimento para el cerebro (12,13). Aquí discutimos al ácido siálico como un gliconutriente para los recién nacidos y ancianos con un énfasis en posibles destinos metabólicos.

# Estado actual del conocimiento

**¿Qué es el ácido siálico y por qué es central el control de los niveles del ácido siálico?**

Ácido siálico fue descrito inicialmente en la saliva (Griego: *sialon*) y glicolípidos del cerebro y así recibió su nombre. Los ácidos siálicos son en realidad una familia de monosacáridos con un esqueleto de 9 carbonos incorporando un grupo funcional ácido ceto desde el cual la carga negativa y la acidez de estos compuestos se derivan. Los ácidos siálicos se encuentran en el linaje de la deuterostomía del reino animal y en algunas bacterias. Las plantas generalmente son consideradas como que no producen ácidos siálicos (14), aunque hay evidencia en otro informe reciente (15). Los ácidos siálicos más comunes en mamíferos son Neu5Ac y Neu5Gc. Sin embargo, los seres humanos tienen una mutación de deleción en el gen *CMAH* (hidroxilasa citidina monofosfato del ácido *N*-acetilneuramínico) que normalmente codifica la enzima para convertir Neu5Ac en Neu5Gc. Por lo tanto, contrariamente a la mayoría mamíferos, los seres humanos sólo pueden sintetizar Neu5Ac (16). Sin embargo, las células humanas específicas, tales como las células endo- y epiteliales, muestran Neu5Gc incorporado de fuentes alimenticias ricas en Neu5Gc (17). Como la mayoría de los seres humanos tienen anticuerpos anti-Neu5Gc, su posible impacto en la fisiología humana es objeto de investigaciones en curso en los seres humanos y utilizando un modelo con ratones deficientes en Neu5Gc (18–21). En los endotelios, la interacción mostró Neu5Gc con circulación de anticuerpos anti-Neu5Gc que podría conducir a y exacerbar el daño vascular inflamatorio y la patología.

Nuestra comprensión de los mecanismos y regulación de la absorción de ácido siálico dietético (Neu5Ac y Neu5Gc) es bastante limitada. Sin embargo, estudios in vitro recientes muestran que el Neu5Ac puede competir la absorción de Neu5Gc, sugiriendo que son usados el mismo camino vía la pinocitosis y el transportador SLC17A5 del ácido siálico lisosomal (22). Las implicaciones de esta observación para la captación y la utilización de Neu5Ac y Neu5Gc de fuentes dietéticas con predominio de una o la otra forma de ácido siálico merecen una mayor investigación.

En células de mamíferos, se muestran los ácidos siálicos terminales como una molécula de ácido siálico sola o como cadenas de ácido polisiálico en *N*- y *O*-ligado a glicanos de glicoproteínas y glicolípidos. Al igual que otros glicanos, la adición y la eliminación de los ácidos siálicos son un medio para modular la estabilidad estructural, el reconocimiento de la célula y los procesos de comunicación (23–25). Esto implica que la regulación de la sialilación y la biodisponibilidad del ácido siálico son de primordial importancia.

En ratones, una pérdida de la mutación de la función en *Gne* [glucosamina (UDP-*N*-acetil)-2-epimerasa/*N*- acetilmanosamina quinasa], la enzima clave para la síntesis del ácido siálico, dio lugar a un fenotipo embrio-letal (26). Asimismo, los ratones con una mutación humana clavada de M712T *Gne* demostraron actividad de GNE muy reducida y murió al día postnatal 3, aunque la misma mutación en los seres humanos no es letal (27). Estos resultados sugieren que el ácido siálico proporcionado de la madre al feto puede mantener sólo a un desarrollo de embrión de ratón grado limitado y que en última instancia la síntesis endógena del ácido siálico es esencial. En humanos, se describen varias mutaciones en el gen *GNE* conduciendo a la actividad enzimática disminuida (incluyendo M217T) (28,29). Brevemente, este grupo de mutaciones de *GNE* resulta en miopatía del cuerpo de inclusión hereditaria caracterizada por el inicio adulto de patología (30) y debilidad muscular. Recientes datos preclínicos sugieren que los pacientes podrían en algún momento beneficiarse de Neu5Ac o sus precursores corriente abajo del *GNE* como una cura (31). Otra mutación en *GNE* conduce a la pérdida de la inhibición de la regeneración por el producto final de la vía biosintética del ácido siálico, CMP-Neu5Ac (32). Esta mutación conduce a la acumulación del ácido siálico en el citoplasma y sialuria y la excreción de grandes cantidades de ácido siálico en la orina. La sialuria afecta principalmente a los bebés, que generalmente presentan múltiples problemas de desarrollo tales como neonatal ictericia, un agrandamiento del hígado y del bazo, glóbulos rojos pequeños, tono muscular débil, frecuentes infecciones respiratorias superiores y episodios de deshidratación y estómago alterado (gastroenteritis). Los niños mayores pueden tener convulsiones y dificultades de aprendizaje, aunque esto no es universal. Muy poco se sabe sobre los efectos a largo plazo de esta enfermedad de sobreproducción de ácido siálico, pero muchos de los problemas asociados parecen mejorar con la edad.

Otro grupo de mutaciones relacionadas con el control de los niveles de ácido siálico afecta el transporte de ácido siálico SLC17A5 (sialin) y conduce a la enfermedad por almacenamiento de ácido siálico. La consiguiente acumulación de ácido siálico en los lisosomas afecta negativamente la función y el desarrollo del sistema nervioso. SLC17A5 no sólo transporta ácido siálico, sino también glutamato y aspartato en las vesículas sinápticas. Por lo tanto, algunos de los síntomas de esta enfermedad pueden ser causadas por la falta de aminoácidos para la neurotransmisión (33). Asimismo, las mutaciones en el gen neuraminidasa *NEU1* conducen a sialidosis caracterizada por la acumulación de glicanos sialilatados en tejidos y numerosos problemas de desarrollo (34). Juntos, el control de los niveles de ácido siálico y distribución es crucial. En comparación con los seres humanos, los ratones parecen ser más afectados por la baja o insuficiente síntesis de ácido siálico endógeno.

**Leche como modelo natural para el suministro de gliconutrientes como ácido siálico**

Cuando la leche es la fuente exclusiva de nutrientes, ¿son el ácido siálico dietético y la vía de salvamento del ácido siálico (es decir, el reciclaje bioquímico del ácido siálico en biomoléculas complejas) que se utiliza en preferencia al ácido siálico sintetizado de novo de manera endógena? En otras palabras, ¿hay momentos de alta demanda metabólica de ácido siálico con capacidad sintética endógena insuficiente?

La leche humana es una fuente muy rica de ácido siálico, que van desde ~ 1.5 g/L en el calostro a 1 g/L en la leche de transición y 0.3 g/L en leche madura en 3 meses postparto (35). En general, las fórmulas infantiles contienen considerablemente menos ácido siálico que la leche materna

Utilización de ácido siálico 393S

humana y la proporción de Neu5Ac a Neu5Gc en fórmulas pueden variar dependiendo de la leche animal utilizada. Las fórmulas derivadas de leche de vaca generalmente proporcionan > 95% de ácido siálico como Neu5Ac, considerando que las fórmulas derivadas de la leche de cabra podrían proporcionar Neu5Gc relativamente más alto (17). Curiosamente, la mayoría del ácido siálico en la leche humana es oligosacárido enlazado, y esta fracción es mucho menor en fórmula para lactantes a base de leche de vaca. Sin embargo, el nivel de ácido siálico unida a las proteínas en la leche humana en ~3 meses después del parto es similar al nivel de ácido siálico unida a las proteínas en fórmula para lactantes de suero de leche predominantemente (35,36)



Descargado deadvances.nutrition.org invitado en 9 de enero de 2015

Debido a estas diferencias, se estudiaron infantes amamantados y alimentados con fórmula para comparar si una ingesta alta o baja del ácido siálico en vida temprana influencia la presentación de ácido siálico en el neonato. La saliva contiene cantidades relativamente altas de ácido siálico, unidos principalmente a glicoproteínas tales como la mucina y la IgA secretora, y puede ser fácilmente recogido de forma no invasiva. En los bebés nacidos a término, a una edad media de 5 meses, se reportaron mayores niveles de ácido siálico libre y total en la saliva cuando los bebés fueron exclusivamente amamantados comparados con los bebés alimentados exclusivamente con fórmula (37). El ácido siálico ligado en la saliva mostró sólo una tendencia hacia niveles más altos en los bebés alimentados con leche materna. En un segundo estudio del mismo equipo de investigación, los niveles de ácido siálico de saliva se compararon con el tiempo de 2 semanas a 4–5 meses postparto en infantes prematuros alimentados con fórmula y con leche materna (38). Una vez más, los niveles de ácido siálico total en saliva fueron mayores en el grupo de alimentado con leche humana, particularmente en los primeros 3 meses. Sin embargo, un problema potencial en estos estudios es que parte de la diferencia medida podría deberse a los componentes de la leche amamantada que quedaron en la saliva muestreada. En un tercer estudio de correlación, se midieron niveles más altos de ácido siálico en la corteza frontal del cerebro de una cohorte de lactancia predominantemente comparada con infantes con síndrome de muerte súbita del lactante alimentados predominantemente con fórmula (39). Se observaron diferencias tanto en el ácido siálico unido a las proteínas como en el unido al gangliósido.

Esta serie de observaciones impulsó la propuesta que el ácido siálico de la leche sirve como un gliconutriente en el recién nacido vía el camino del salvamento, llevando así a los niveles de ácido siálico creciente en los tejidos y la saliva de los lactantes alimentados con leche materna (37– 39). Ya sea que los aumentos en los niveles de ácido siálico de la saliva y el cerebro se derivan de ácido siálico de la dieta per se y si en los seres humanos esto influye en la salud, la fisiología y función del sistema nervioso aún no se muestra.

**Modelos animales para estudiar la utilización del ácido siálico de la leche**

Las ratas y los ratones son ampliamente utilizados como modelos de investigación, y esto es especialmente cierto para el estudio de ácido siálico de la leche. Su leche contiene 3’- y 6’-sialilactosas (Neu5Ac-*a*2,3-lactosa y Neu5Ac-*a*2,6-lactosa) como los únicos oligosacáridos de la leche, que están presentes en cantidades bastante altas (~1– 6 g/100 g materia seca de la leche). En la actualidad, no se ha divulgado ninguna Neu5Gc en los oligosacáridos de leche de rata y de ratón (10,40). Más del 80% del total de leche del ácido siálico en realidad se presenta en forma de sialilactosa (40,41). En la leche tanto de ratón y de rata, la 3’-sialilactosa es la más alta 5–7 días después del parto y disminuye posteriormente.

394S Suplemento

En ratas, la 6’-sialilactosa aumenta en paralelo con 3’-sialilactosa, pero solamente a ~10% de los niveles de 3’-sialilactosa y restos constantes posteriormente (40). En contraste leve, en la primera leche de ratón, los niveles de 6’-sialilactosa son aproximadamente la mitad de 3’-sialilactosa y se mantienen constantes a lo largo de la lactancia (10).

El perfil de expresión del cambio de la 3’-sialilactosa en leche de rata y ratón durante la lactancia se ha utilizado como la base para estudios de correlación entre la leche y los cachorros lactantes. Por ejemplo, Dickson y Messer (42) mostraron que en ratones y ratas, la actividad de la enzima neuraminidasa del intestino delgado correlacionadas con el contenido de ácido siálico de la leche y esto especialmente en el intestino delgado medio y distal. Según esto, se observó la expresión del gen *Neu1* de la neuraminidasa de la rata para disminuir desde los días 17 al 21 posterior al nacimiento en el yeyuno a íleon (43). En el colon de rata,se detectaron transcripciones de Neu1 en el nacimiento y disminuyeron hacía el destete a los 21 días después del parto (40). Se cree que la neuraminidasa 1 tiene una preferencia por *a*2,3 - y *a*2,6 ácido siálico ligado desde un *b*-galactósido tal como está presente en 3’- y 6’-sialilactosa (44). Juntos, estos resultados sugieren que las sialilactosas sirven como portadores de ácido siálico entregando ácido siálico a los cachorros lactantes.

Una vez troceados de lactosa, el ácido siálico puede importarse en las células a través del transportador SLC17A5 (22,45). Los niveles de expresión de la transcripción de *Slc17a5* también correlacionada con niveles de 3’-sialilactosa de la leche (40), que sugiere que al menos parte del ácido siálico neuraminidasa liberado de sialilactosa es tomada por el ALC17A5 del intestino delgado y del colon dentro de las células. Una vez internalizado, el ácido siálico entonces puede tener uno o varios destinos, incluyendo a) el más transportado sistémicamente intacto, b) el activado con CMP y utilizado para posterior glicosilación, o c) el catabolizado a piruvato y *N*-acetilglucosamina. No se conoce el destino exacto de ácido siálico interiorizado, pero una información valiosa que se ha obtenido a partir de una serie de estudios pioneros con 3H y 4C de Neu5Ac radiomarcado simple y doble, y derivados en la succión y ratas de destete y ratones (46–48).

El Neu5Ac ingerido, tanto ácido siálico libre como sialilactosa, fácilmente es tomado del intestino y pasan a la sangre y los tejidos dentro de las 6 h (46,48). Sin embargo, sólo una fracción relativamente pequeña fue retenida en el cuerpo; la mayoría fue excretada en la orina tanto como sialilactosa y ácido siálico liberado (40,46). Las cantidades absolutas de ácido siálico absorbido y retenida en el cuerpo probablemente dependen de muchas variables incluyendo la forma de ácido siálico ingerido (es decir, libre o limitado), la edad y el estado nutricional y la salud del animal. Después de la administración oral de 14C-Neu5Ac (dado como sialilactosa o ácido siálico libre) en ratas lactantes de 3-días de edad retuvieron el ~30% de 14C en el cuerpo después de 6 h (48). En ratones privados de alimento de edad del destete (20 d), sólo ~1.5% de 14C de la 14C-sialilactosa administrada se mantuvo en los tejidos después de 6 h (46). Cuando el Neu5Ac libre marcado doble [ácido neuramínico *N*-acetil-(2-14C,9-3H)] fue administrado a ratones privados de alimentos, el ~4% de 3H intubado radiomarcado se mantuvo en los órganos después de 6 horas, mientras que < 1% de 14C fue retenido (47). El ácido siálico puede ser metabolizado por la liasa *N-*acetilneuraminato(Npl) la escisión en los productos de la N-acetilmanosamina (ManNAc) y el piruvato. Este estudio doble etiquetado indica una mayor fracción de 3H-ManNAc (o 3H-GlcNAc u otros metabolitos) es retenida por el cuerpo en comparación con los 14C-piruvato, que además es metabolizado y exhalado como CO2.

Interesante, en ratones bien alimentado exhalaron más CO2 radiomarcado derivado del ácido siálico ingerido en comparación con los animales privados de alimento (47), indicando el uso metabólico distinto dependiendo del estado metabólico.



Descargado deadvances.nutrition.org invitado en 9 de enero de 2015

Los perfiles de la expresión génica intestinal correlacionando con 3’-sialilactosa de la leche y la expresión génica de Slc17a5 también sugieren que el ácido siálico ingerido puede ser metabolizado por Npl para ManNAc y piruvato y que ManNAc a su vez pueden ser epimerizado a GlcNAc por proteína unida a renina *(N*-acetil-*D*-glucosamina-2-epimerasa) (40). La contribución global e importancia del ácido siálico dietético a la piscina de GlcNAc celular, flujo de hexosamina, y no se conocen glicosilación ligada y los consiguientes efectos fisiológicos. Nuestro estudio de expresión génica reciente sugiere que cuando el suministro de ácido siálico de leche es alto, el ácido siálico colónico endógeno y la biosíntesis de GlcNAc pueden ser baja, como basado en la expresión de *Gne* y *Gfat* (glucosamina-fructosa-6-fosfato aminotransferasa), respectivamente (40).

El uso de ácido siálico dietético por glicosilación o además del metabolismo puede ser una característica de las células epiteliales intestinales. Sin embargo, que ingirieran sialilactosa se puede encontrar intacto en plasma (40,46) y que el radiomarcador desde ingerido Neu5Ac se detectó en los tejidos distales tales como el cerebro sugieren que otros tejidos pueden hacer uso de ácido siálico de la dieta. Como se mencionó anteriormente, en los seres humanos, las células epiteliales y endoteliales que recubren los vasos sanguíneos pueden incorporar el ácido siálico Neu5Gc no humano derivado de la dieta (17). En consecuencia, los aumentos reportados en Neu5Ac en los tejidos después de la administración de Neu5Ac podrían localizar en gran medida a las células endoteliales de los vasos sanguíneos del tejido.

Se encontró que el cerebro es el sitio principal de exhibición del Neu5Ac e incorporación durante el desarrollo y en las ratas lactantes para retener ~ 4% del 14C ingerido de Neu5Ac después de 6 h (48). Al correlacionar la captación de sialilactosa de la leche durante el período de amamantamiento con perfiles globales de expresión génica en el cerebro, los ligeros cambios que hemos observado en la expresión de los genes implicados en la síntesis endógena, absorción (*Neu1*, *Slc17a5*), catabolismo (*Npl*, *Renbp*), o la absorción en el aparato de Golgi por glicosilación (*Slc35a1*) no apunta a un camino dominante activado en el nivel transcripcional durante el desarrollo cerebral posterior al nacimiento temprano (40). Sin embargo, la alimentación o la inyección intraperitoneal de Neu5Ac en ratas lactantes a partir de los días postnatales 14 al 20 de aumentó la proteína cerebral y cerebelar y el Neu5Ac unido a gangliósidos (49,50). En la inyección, las ratas también mostraron cambios conductuales que se mantuvieron más allá del período de tratamiento (50). Asimismo, los estudios en lechones también mostraron mejor rendimiento cognitivo en los animales alimentados con la dieta enriquecida de ácido siálico (51). Los mecanismos que conducen a modificar el comportamiento y el aprendizaje no son bien entendidos. Una posibilidad es la provisión de ácido siálico como un bloque de construcción por sialilación. Sin embargo, otros mecanismos son posibles e incluyen un papel directo de señalización del ácido siálico y un aumento del flujo del producto catabólico del ácido siálico GlcNAc vía el camino de la hexosamina que conduce al incremento de *N*-glicosilación vinculado y la vida media del receptor mejorado con consecuente umbral de señalización disminuido (52).

Curiosamente, en el hígado de ratas lactantes, la actividad enzimática de GNE aumentó en paralelo a 3’-sialilactosa ingerida y permaneció alta después del día 7 postnatal (40).

Cómo y por qué ocurre esto son desconocidos, pero una señal metabólica podría vincular la ingesta dietética del ácido siálico con la actividad enzimática de GNE en el hígado, que es uno de los principales sitios de la síntesis endógena del ácido siálico. Nuestros resultados coinciden con aquellos estudios de alimentación de ácido siálico en lechones jóvenes y ratas que demostraron incremento de los niveles de mARN del *Gne* en hígado y colon en la recepción de la dieta rica en ácido siálico (40,51,63).

Los estudios de absorción específicos de ácido siálico dietético son escasos, pero varias líneas de evidencia sugieren que el ácido siálico dietético es tomado y se utiliza durante el período de amamantamiento. Al menos en parte, el ácido siálico dietético puede ser catabolizado a ManNAc y GlcNAc para su uso posterior. El uso metabólico exacto y el destino no se entienden completamente y justificar una investigación más, tanto en los niveles celulares como del tejido. Conocimiento del uso de ácido siálico dietético en los recién nacidos podría mejorar nuestro entendimiento de las ventajas evolutivas y el papel del ácido siálico de la leche en comparación con GlcNAc o ManNAc y conducir a hipótesis del uso del ácido siálico dietético más allá de la infancia.

**Desde recién nacidos a ancianos**

Como propuesta para el desarrollo postnatal temprano, la edad avanzada podría ser una segunda condición en el que el ácido siálico dietético podría compensar para una deficiencia aparente del ácido siálico endógeno. En los seres humanos mayores, se registraron niveles más bajos de ácido siálico en las proteínas de la saliva (53), los gangliósidos cerebrales (54–56) y los componentes específicos de la célula inmune (57). Los motivos que conducen a la disminución de la sialilación no se entienden. Con la edad, numerosos órganos y funciones del cuerpo son afectados. Por ejemplo, la salivación y función muscular son afectados en trastornos como la xerostomía y la disfagia y la función gastrointestinal en la enfermedad de reflujo gastroesofágico y la constipación crónica (58–60). La pérdida de neuronal y función del receptor está asociada con estos problemas, y en este sentido, los ácidos siálicos presentes en los gangliósidos y proteínas pueden desempeñar un papel porque es importante para su función (23,61,62).

En las ratas de 24 meses de edad, pero no en ratas de 3 meses, también observamos los niveles crecientes del ácido siálico en la fracción del gangliósido del hemisferio derecho del cerebro en la alimentación de ácido siálico (63). El ácido siálico unido a las proteínas totales no fue afectado en este ajuste. Se demostró que el ácido siálico dietético aumenta el ácido siálico unido a gangliósidos cerebrales en rata desnutrida destetada (49,50) y en ratas de 8 semanas de edad (64). Cabe destacar aquí que el ácido siálico libre y el ácido siálico unido a oligosacáridos dados en la dienta no tienen necesariamente los mismos efectos (64). Se desconocen las razones de esto.

Con lo anterior en mente, presumimos que la síntesis endógena del ácido siálico o la disponibilidad está limitada a una edad avanzada y que el ácido siálico dietético compensa la escasez de los postulados. Por lo tanto, miramos la expresión del ARN del *Gne* en el hígado y el colon, dos de los principales sitios de la síntesis de ácido siálico. El nivel de transcripción del *Gne*  no cambió en el hígado de edad en comparación con ratas adultas jóvenes, mientras que en el colon, lo fue significativamente mayor (63). Por lo tanto, aunque la capacidad sintética del ácido siálico del hígado no puede cambiar con la edad, la del colon puede aumentar. En alimentación de Neu5Ac, colon e hígado los niveles de transcripción del *Gne* aumentaron en animales adultos jóvenes.

Utilización de ácido siálico 395S

En ratas envejecidas, la alimentación de Neu5Ac no afectó la expresión de *Gne* en el hígado en contraste con el colon, donde las transcripciones de *Gne* disminuyeron (63). La respuesta diferencial en la expresión de *Gne* aNeu5Ac en joven contra colón envejecido queda por explicar pero sugiere un papel de señalización del ácido siálico. Sin embargo, los resultados no apoyan la noción de una escasez del ácido siálico endógeno general en ratas envejecidas.



Descargado deadvances.nutrition.org invitado en 9 de enero de 2015

Porque el suministro de Neu5Ac dietético puede afectar los niveles de ácido siálico de lado del ganglio cerebral, nos preguntamos si el Neu5Ac dietético podría también influenciar la función neuronal. Con este fin, medimos la policarpina-, un receptor agonista de la aceticolina muscarínica, que estimuló la salivación en ratas jóvenes y envejecidas alimentadas o no con una dieta enriquecida con Neu5Ac. Encontramos la salivación reducida en ratas envejecidas en comparación con ratas jóvenes y esa alimentación de Neu5Ac restauró la función de salivación en animales de edad (63). Esto sugiere que los circuitos neuronales y función del receptor podrían alterarse mediante la alimentación de Neu5Ac. Mecanísticamente, esto puede ocurrir vía estabilización del receptor o la función membrana neuronal por aumento del ácido siálico unido a gangliósidos. Un papel adicional y hasta ahora inexplorado podría ser a través de la actividad captadora de radicales libres reportado para el ácido siálico (65). Así, el ácido siálico suplementario puede limitar el daño neuronal y permitir la recuperación de la función, o pueden ejercer funciones de señalización directas como se ha visto in vitro por la diferenciación neuronal (66,67).

Actualmente no se sabe si el Neu5Ac dietético es utilizado como tal en animales de edad o si se cataboliza a ManNAc o GlcNAc con posterior reingreso en el camino sintético del ácido siálico o ruta metabólica paralela. Con respecto al desarrollo postnatal temprano, los estudios de destino metabólicos adicionales, tales como los iniciados por Nohle y Schauer (47) con doble etiquetado del ácido neuramínico *N*-acetil-(2-14C,9-3H) avanzaría enormemente nuestra comprensión actual de la utilización de ácido siálico de la dieta.

# **Conclusiones**

Aunque la correlación humana y los estudios de alimentación del ácido siálico en animales sugieren que el ácido siálico en la dieta puede ser utilizado, la cuestión fundamental de si necesitamos ácido siálico de la dieta sigue sin respuesta Durante la nutrición postnatal temprana, la naturaleza provee el mejor modelo para la utilización del ácido siálico. El hecho de que la sialilactosa se encuentran en la mayoría de las leches de los mamíferos fuertemente sugiere que juegan un rol(es) conservado en el desarrollo postnatal. Si estas funciones incluyen la protección contra la infección, establecimiento de microbios comensales, promoción del funcionamiento del sistema nervioso, o simplemente estudios preclínicos detallados de esperas nutricionales y ensayos clínicos. El objetivo final será restablecer el curso natural de los acontecimientos en el caso de deficiencia.

Con el advenimiento de las nuevas tecnologías y procesos, parece oportuno continuar las investigaciones sobre el uso ácido siálico derivado de la dieta desde el destino metabólico a los efectos biológicos y especialmente en las poblaciones en riesgo de recién nacidos prematuros a los ancianos. Sin embargo, con el Neu5Gc del ácido siálico presunto no humano asociado a problemas de la mente, la obtención del ácido siálico necesita ser cuidadosamente evaluada para seleccionar las fuentes ricas de Neu5Ac.

396S Suplemento

# **Agradecimientos**

Los autores agradecen la oportunidad al Centro de Investigación de Nestlé por contribuir con esta revisión y los revisores por los comentarios constructivos sobre aspectos que nosotros no habíamos considerado plenamente. Ambos autores leyeron y aprobaron la versión final del manuscrito.

# **Literatura citada**

* + 1. Walker A. Breast milk as the gold standard for protective nutrients. J Pediatr. 2010; 156(2 Suppl)S3–7.
    2. German JB, Dillard CJ, Ward RE. Bioactive components in milk. Curr Opin Clin Nutr Metab Care. 2002;5:653–8.
    3. Urashima T, Saito T, Nakamura T, Messer M. Oligosaccharides of milk and colostrum in non-human mammals. Glycoconj J. 2001;18:357–71.
    4. Lefèvre CM, Sharp JA, Nicholas KR. Evolution of lactation: ancient or- igin and extreme adaptations of the lactation system. Annu Rev Ge- nomics Hum Genet. 2010;11:219–38.
    5. Tao N, Wu S, Kim J, An HJ, Hinde K, Power ML, Gagneux P, German JB, Lebrilla CB. Evolutionary glycomics: characterization of milk oligo- saccharides in primates. J Proteome Res. 2011;10:1548–57.
    6. Hettinga K. van Valenberg H, de Vries S, Boeren S, van Hooijdonk T, van Arendonk J, Vervoort J. The host defense proteome of human and bovine milk. PLoS ONE. 2011;6:e19433.
    7. McClellan HL, Miller SJ, Hartmann PE. Evolution of lactation: nutrition v. protection with special reference to five mammalian species. Nutr Res Rev. 2008;21:97–116.
    8. Kunz C, Rudloff S, Baier W, Klein N, Strobel S. Oligosaccharides in hu- man milk: structural, functional, and metabolic aspects. Annu Rev Nutr. 2000;20:699–722.
    9. Gagneux P, Varki A. Evolutionary considerations in relating oligosac- charide diversity to biological function. Glycobiology. 1999;9:747–55.
    10. Fuhrer A, Sprenger N, Kurakevich E, Borsig L, Chassard C, Hennet T. Milk sialyllactose influences colitis in mice through selective intestinal bacterial colonization. J Exp Med. 2010;207:2843–54.
    11. Chichlowski M, German JB, Lebrilla CB, Mills DA. The influence of milk oligosaccharides on microbiota of infants: opportunities for for- mulas. Annu Rev Food Sci Technol. 2011;2:331–51.
    12. Wang B, Brand-Miller J. The role and potential of sialic acid in human nutrition. Eur J Clin Nutr. 2003;57:1351–69.
    13. Karim M, Wang B. Is sialic acid in milk food for the brain? Perspectives in Agriculture, Veterinary science, Nutrition and Natural Resources 2006;1:1–11.
    14. Zeleny R, Kolarich D, Strasser R, Altmann F. Sialic acid concentrations in plants are in the range of inadvertent contamination. Planta. 2006; 224:222–7.
    15. Shah MM, Fujiyama K, Flynn CR, Joshi L. Sialylated endogenous gly-

coconjugates in plant cells. Nat Biotechnol. 2003;21:1470–1.

* + 1. Varki A. N-glycolylneuraminic acid deficiency in humans. Biochimie. 2001;83:615–22.
    2. Tangvoranuntakul P, Gagneux P, Diaz S, Bardor M, Varki N, Varki A,

Muchmore E. Human uptake and incorporation of an immunogenic non- human dietary sialic acid. Proc Natl Acad Sci U S A. 2003;100:12045–50.

* + 1. Padler-Karavani V, Yu H, Cao H, Chokhawala H, Karp F, Varki N, Chen X, Varki A. Diversity in specificity, abundance, and composition of anti-Neu5Gc antibodies in normal humans: potential implications for disease. Glycobiology. 2008;18:818–30.
    2. Pham T, Gregg CJ, Karp F, Chow R, Padler-Karavani V, Cao H, Chen X, Witztum JL, Varki NM, Varki A. Evidence for a novel human-specific xeno-auto-antibody response against vascular endothelium. Blood. 2009;114:5225–35.
    3. Taylor RE, Gregg CJ, Padler-Karavani V, Ghaderi D, Yu H, Huang S, Sorensen RU, Chen X, Inostroza J, Nizet V, et al. Novel mechanism for the gen- eration of human xeno-autoantibodies against the nonhuman sialic acid N-glycolylneuraminic acid. J Exp Med. 2010;207:1637–46.
    4. Varki NM, Strobert E, Dick EJ Jr, Benirschke K, Varki A. Biomedical

differences between human and nonhuman hominids: potential roles for uniquely human aspects of sialic acid biology. Annu Rev Pathol. 2011;6:365–93.

* + 1. Bardor M, Nguyen DH, Diaz S, Varki A. Mechanism of uptake and in- corporation of the non-human sialic acid N-glycolylneuraminic acid into human cells. J Biol Chem. 2005;280:4228–37.



Descargado deadvances.nutrition.org invitado en 9 de enero de 2015

* + 1. Varki A. Glycan-based interactions involving vertebrate sialic-acid-

recognizing proteins. Nature. 2007;446:1023–9.

* + 1. Cohen M, Varki A. The sialome–far more than the sum of its parts. OMICS. 2010;14:455–64.
    2. Pshezhetsky AV, Hinek A. Where catabolism meets signalling: neuramin- idase 1 as a modulator of cell receptors. Glycoconj J. 2011;28:441–52.
    3. Schwarzkopf M, Knobeloch KP, Rohde E, Hinderlich S, Wiechens N, Lucka L, Horak I, Reutter W, Horstkorte R. Sialylation is essential for early development in mice. Proc Natl Acad Sci U S A. 2002;99:5267–70.
    4. Galeano B, Klootwijk R, Manoli I, Sun M, Ciccone C, Darvish D, Starost MF, Zerfas PM, Hoffmann VJ, Hoogstraten-Miller S, et al. Mutation in the key enzyme of sialic acid biosynthesis causes severe glomerular pro- teinuria and is rescued by N-acetylmannosamine. J Clin Invest. 2007;117: 1585–94.
    5. Sparks SE, Ciccone C, Lalor M, Orvisky E, Klootwijk R, Savelkoul PJ, Dalakas MC, Krasnewich DM, Gahl WA, Huizing M. Use of a cell- free system to determine UDP-N-acetylglucosamine 2-epimerase and N-acetylmannosamine kinase activities in human hereditary inclusion body myopathy. Glycobiology. 2005;15:1102–10.
    6. Nishino I, Malicdan MC, Murayama K, Nonaka I, Hayashi YK, Noguchi S. Molecular pathomechanism of distal myopathy with rimmed vacuoles. Acta Myol. 2005;24:80–3.
    7. Eisenberg I, Avidan N, Potikha T, Hochner H, Chen M, Olender T, Barash M, Shemesh M, Sadeh M, Grabov-Nardini G, et al. The UDP-N-acetylglucosamine 2-epimerase/N-acetylmannosamine kinase gene is mutated in recessive hereditary inclusion body myopathy. Nat Genet. 2001;29:83–7.
    8. Malicdan MC, Noguchi S, Hayashi YK, Nonaka I, Nishino I. Prophylactic treatment with sialic acid metabolites precludes the development of the myopathic phenotype in the DMRV-hIBM mouse model. Nat Med. 2009;15:690–5.
    9. Seppala R, Lehto VP, Gahl WA. Mutations in the human UDP-N- acetylglucosamine 2-epimerase gene define the disease sialuria and the allosteric site of the enzyme. Am J Hum Genet. 1999;64:1563–9.
    10. Miyaji T, Omote H, Moriyama Y. Functional characterization of vesicular excitatory amino acid transport by human sialin. J Neurochem. 2011;119:1–5.
    11. Seyrantepe V, Poupetova H, Froissart R, Zabot MT, Maire I, Pshezhetsky AV. Molecular pathology of NEU1 gene in sialidosis. Hum Mutat. 2003; 22:343–52.
    12. Wang B, Brand-Miller J, McVeagh P, Petocz P. Concentration and dis- tribution of sialic acid in human milk and infant formulas. Am J Clin Nutr. 2001;74:510–5.
    13. Neeser JR, Golliard M, del Vedovo S. Quantitative determination of complex carbohydrates in bovine milk and in milk-based infant formu- las. J Dairy Sci. 1991;74:2860–71.
    14. Tram TH, Brand Miller JC, McNeil Y, McVeagh P. Sialic acid content of infant saliva: comparison of breast fed with formula fed infants. Arch Dis Child. 1997;77:315–8.
    15. Wang B, Miller JB, Sun Y, Ahmad Z, McVeagh P, Petocz P. A longitu-

dinal study of salivary sialic acid in preterm infants: comparison of hu- man milk-fed versus formula-fed infants. J Pediatr. 2001;138:914–6.

* + 1. Wang B, McVeagh P, Petocz P, Brand-Miller J. Brain ganglioside and glycoprotein sialic acid in breastfed compared with formula-fed infants. Am J Clin Nutr. 2003;78:1024–9.
    2. Duncan PI, Raymond F, Fuerholz A, Sprenger N. Sialic acid utilisation and synthesis in the neonatal rat revisited. PLoS ONE. 2009;4:e8241.
    3. Kuhn NJ. The lactose and neuraminlactose content of rat milk and mammary tissue. Biochem J. 1972;130:177–80.
    4. Dickson JJ, Messer M. Intestinal neuraminidase activity of suckling rats and other mammals. Relationship to the sialic acid content of milk. Bi- ochem J. 1978;170:407–13.
    5. Gene Expression Omnibus (GEO) GDS1273. 2005 Apr 10.
    6. Frisch A, Neufeld EF. A rapid and sensitive assay for neuraminidase: ap- plication to cultured fibroblasts. Anal Biochem. 1979;95:222–7.
    7. Verheijen FW, Verbeek E, Aula N, Beerens CE, Havelaar AC, Joosse M, Peltonen L, Aula P, Galjaard H, van der Spek PJ, et al. A new gene, en- coding an anion transporter, is mutated in sialic acid storage diseases. Nat Genet. 1999;23:462–5.
    8. Nöhle U, Schauer R. Metabolism of sialic acids from exogenously ad- ministered sialyllactose and mucin in mouse and rat. Hoppe Seylers Z Physiol Chem. 1984;365:1457–67.
    9. Nöhle U, Schauer R. Uptake, metabolism and excretion of orally and intravenously administered, 14C- and 3H-labeled N-acetylneuraminic acid mixture in the mouse and rat. Hoppe Seylers Z Physiol Chem. 1981;362:1495–506.
    10. Witt W, von Nicolai H, Zilliken F. Uptake and distribution of orally applied N-acetyl-(14C)neuraminosyl-lactose and N-acetyl-(14C) neuraminic acid in the organs of newborn rats. Nutr Metab. 1979;23: 51–61.
    11. Carlson SE, House SG. Oral and intraperitoneal administration of N- acetylneuraminic acid: effect on rat cerebral and cerebellar N-acetyl- neuraminic acid. J Nutr. 1986;116:881–6.
    12. Morgan BL, Winick M. Effects of administration of N-acetylneura-

minic acid (NANA) on brain NANA content and behavior. J Nutr. 1980;110:416–24.

* + 1. Wang B, Yu B, Karim M, Hu H, Sun Y, McGreevy P, Petocz P, Held S,

Brand-Miller J. Dietary sialic acid supplementation improves learning and memory in piglets. Am J Clin Nutr. 2007;85:561–9.

* + 1. Dennis JW, Nabi IR, Demetriou M. Metabolism, cell surface organiza- tion, and disease. Cell. 2009;139:1229–41.
    2. Salvolini E, Mazzanti L, Martarelli D, Di Giorgio R, Fratto G, Curatola G. Changes in the composition of human unstimulated whole saliva with age. Aging (Milano). 1999;11:119–22.
    3. Segler-Stahl K, Webster JC, Brunngraber EG. Changes in the concentration and composition of human brain gangliosides with aging. Ger- ontology. 1983;29:161–8.
    4. Kracun I, Rosner H, Drnovsek V, Heffer-Lauc M, Cosovic C, Lauc G. Human brain gangliosides in development, aging and disease. Int J Dev Biol. 1991;35:289–95.
    5. Svennerholm L, Bostrom K, Helander CG, Jungbjer B. Membrane lipids in the aging human brain. J Neurochem. 1991;56:2051–9.
    6. Garcia GG, Berger SB, Sadighi Akha AA, Miller RA. Age-associated changes in glycosylation of CD43 and CD45 on mouse CD4 T cells. Eur J Immunol. 2005;35:622–31.
    7. Wade PR. Aging and neural control of the GI tract. I. Age-related

changes in the enteric nervous system. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol. 2002;283:G489–95.

* + 1. Phillips RJ, Powley TL. Innervation of the gastrointestinal tract: pat-

terns of aging. Auton Neurosci. 2007;136:1–19.

* + 1. Camilleri M, Cowen T, Koch TR. Enteric neurodegeneration in ageing. Neurogastroenterol Motil. 2008;20:185–96.
    2. Allende ML, Proia RL. Lubricating cell signaling pathways with gangliosides. Curr Opin Struct Biol. 2002;12:587–92.
    3. Schnaar RL. Glycolipid-mediated cell-cell recognition in inflammation and nerve regeneration. Arch Biochem Biophys. 2004;426:163–72.
    4. Sprenger N, Julita M, Donnicola D, Jann A. Sialic acid feeding aged rats rejuvenates stimulated salivation and colon enteric neuron chemotypes. Glycobiology. 2009;19:1492–502.
    5. Sakai F, Ikeuchi Y, Urashima T, Fujihara M, Ohtsuki K, Yanahira S. Ef- fects of feeding sialyllactose and galactosylated N-acetylneuraminic acid on swimming learning ability and brain lipid composition in adult rats. J Appl Glycosci. 2006;53:249–54.
    6. Iijima R, Takahashi H, Namme R, Ikegami S, Yamazaki M. Novel bio- logical function of sialic acid (N-acetylneuraminic acid) as a hydrogen peroxide scavenger. FEBS Lett. 2004;561:163–6.
    7. Buttner B, Kannicht C, Schmidt C, Loster K, Reutter W, Lee HY, Nohring S, Horstkorte R. Biochemical engineering of cell surface sialic acids stim- ulates axonal growth. J Neurosci. 2002;22:8869–75.
    8. Kontou M, Bauer C, Reutter W, Horstkorte R. Sialic acid metabolism is involved in the regulation of gene expression during neuronal differen- tiation of PC12 cells. Glycoconj J. 2008;25:237–44.

Sialic acid utilization 397S