



## Trastornos congénitos de la glicosilación: abordaje clínico y de laboratorio

Dr. Iván Martínez-Duncker,<sup>1</sup> Dra. Laura Palomares-Aguilera,<sup>2</sup> QBP Domingo Sánchez-Francia,<sup>3</sup> Dra. Rosella Mollicone,<sup>4</sup> M en C Isabel Ibarra-González<sup>5</sup>

### RESUMEN

Más de la mitad de las proteínas humanas son modificadas (glicosiladas) a nivel co- y post-traduccionales por la unión específica de oligosacáridos (glicanos) mediada por la acción de glicosiltransferasas. Los glicanos participan en el control de calidad, tráfico y función de las proteínas glicosiladas (glicoproteínas). Se han descrito múltiples defectos congénitos humanos en las principales vías de glicosilación (N- y O-glicosilación). En 1980 se describió el primer subtipo clínico y a partir de entonces se han ido sumando nuevos subtipos. En la actualidad se conocen otros 35 más y, debido a que centenares de proteínas participan en este proceso, se cree que nuevos subtipos serán identificados en los próximos años. La sospecha clínica de estos trastornos se da ante una enfermedad congénita, generalmente multisistémica y de severidad variable. El objetivo de esta revisión es presentar al médico los datos clínicos que le permitan sospechar un trastorno congénito de la glicosilación (CDG congenital disorders of glycosylation, en inglés), encuadrar los subtipos más probables de acuerdo a su presentación e incorporar al abordaje clínico los estudios moleculares necesarios para confirmar el diagnóstico, evaluar un potencial tratamiento y determinar un pronóstico.

**Palabras clave:** CDG, glicosilación, trastornos congénitos de la glicosilación, errores innatos del metabolismo, estudios moleculares.

### ABSTRACT

More than half of human proteins are modified (glycosylated) co- and post-translationally with oligosaccharides (glycans) through the action of glycosyltransferases. Glycans play an important role in quality control, traffic and function of these modified proteins (glycoproteins). Several defects in the synthesis of glycans have been described in the main glycosylation pathways: -N and O- glycosylation. The first human congenital disorder of glycosylation (CDG) was reported in 1980, since then more than 35 different subtypes of these disorders have been described. Since hundreds of proteins are involved in these pathways it is likely that new disorders will be identified. Clinical suspicion of a congenital disorder of glycosylation must be established when confronting a multisystemic congenital disease of unknown etiology. The aim of this review is to aid the physician to suspect a CDG and to identify the most plausible subtype in order to request the pertinent molecular studies and to confirm the diagnosis, prescribe and adequate treatment and determine prognosis.

**Key words:** CDG syndrome, glycosylation, inherited metabolic diseases, molecular studies.

<sup>1</sup> Laboratorio de Glicobiología Humana, Facultad de Ciencias, Universidad Autónoma del Estado de Morelos

<sup>2</sup> Departamento de Medicina Molecular y Bioprocesos, Instituto de Biotecnología, Universidad Nacional Autónoma de México

<sup>3</sup> Laboratorio Clínico, Hospital del Niño Morelense

<sup>4</sup> Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale U602, Francia;

<sup>5</sup> Unidad de Genética de la Nutrición, Instituto Nacional de Pediatría-Instituto de Investigaciones Biomédicas de la Universidad Nacional Autónoma de México

Correspondencia: Dr. Iván Martínez-Duncker R. Laboratorio de Glicobiología Humana, Facultad de Ciencias, Universidad Autónoma del Estado de Morelos. Av. Universidad 1001, Col. Chamilpa, Cuernavaca, Morelos, C.P. 62210, México. Correo electrónico: duncker@uaem.mx. Tel: (777)3297000 ext. 6025

Recibido: noviembre, 2007. Aceptado: febrero, 2008.

Este artículo debe citarse como: Martínez DI, Palomares AL, Sánchez FD, Mollicone R, Ibarra GI. Trastornos congénitos de la glicosilación: abordaje clínico y de laboratorio. Acta Pediatr Mex 2008;29(2):78-88.

La versión completa de este artículo también está disponible en: [www.revistasmedicasmexicanas.com.mx](http://www.revistasmedicasmexicanas.com.mx)

La glicosilación enzimática proteica, a diferencia de la glicosilación no enzimática (por ejemplo la que ocurre con la hemoglobina glicosilada (HbA1c), o con los productos avanzados de la glicosilación (AGEs), es una modificación que consiste en la unión covalente de oligosacáridos (glicanos) a residuos de aminoácidos situados en secuencias particulares de glicoproteínas. Los glicanos participan en el plegamiento correcto, estabilidad, conformación, vida media circulatoria y función de las proteínas; esto último al formar parte del sitio activo de la proteína o bien como elemento regulador de la interacción glicoproteína-ligando. Se estima que más de la mitad de las proteínas humanas están glicosiladas<sup>1</sup>. Este dato permite comprender los complejos cuadros multisistémicos de pacientes con trastornos congénitos de la glicosilación. Se ha señalado que centenares de proteínas conforman la

maquinaria de la glicosilación y que aproximadamente 1% del genoma humano está dedicado a codificarla<sup>2</sup>, lo cual explica el gran número de defectos potenciales que pueden ocurrir. Debido a la importancia de la glicosilación proteica para la función de todos los tejidos (aunque su patrón particular depende tanto de la célula específica, como de su estado metabólico o fisiológico), los trastornos que la afectan conducen a enfermedades con una morbilidad y mortalidad elevadas<sup>3</sup>. En vista de su naturaleza congénita y la importancia de su identificación temprana, los trastornos congénitos de la glicosilación tienen especial relevancia en pediatría.

En 1980 se informó el primer caso de un trastorno congénito de la glicosilación proteica<sup>4</sup>. Desde entonces se han descrito 35 trastornos congénitos más (Cuadro 1), por afección de los dos tipos principales de glicosilación proteica: la de tipo *N*- (en la que una *N*-acetil-glucosamina (GlcNAc) del glicano se une a el grupo amida (*N*) de determinados residuos de asparagina (Asn)) y la de tipo *O*- (en la que una *N*-acetil-galactosamina (GalNAc), galactosa (Gal), glucosa (Glc), manosa (Man), xilosa (Xyl)

u otro monosacárido del glicano se une al grupo hidroxilo (OH) de los aminoácidos serina, treonina o lisina. Estos trastornos se han hallado en todos los continentes; en España, se diagnosticaron 33 pacientes con trastornos congénitos en un periodo de 8 años (1997-2004), en los que se hallaba afectada la vía de la *N*-glicosilación<sup>5</sup>. Nuestro grupo interdisciplinario, especializado en el estudio de la glicosilación, tiene como objetivo aportar los elementos de diagnóstico bioquímico-molecular de estos trastornos, para complementar y confirmar la sospecha clínica establecida por el médico. A continuación describiremos las características clínicas debidas a un trastorno congénito de la glicosilación así como los estudios moleculares especializados, indispensables para establecer un diagnóstico, determinar un pronóstico y evaluar la posibilidad de un tratamiento correctivo. La información presentada se basa en la experiencia en el manejo y diagnóstico de laboratorio de estos pacientes y en la información obtenida de la búsqueda bibliográfica en PubMed desde enero 2004 y la registrada en Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM).

**Cuadro 1.** Distintos tipos de trastornos congénitos de la glicosilación. Se indica el subtipo de trastorno de glicosilación junto con el gen y proteína afectados, así como el número de acceso en la base de datos OMIM (Online Mendelian Inheritance in Man); CDG, Congenital Disorders of Glycosylation (continúa en la siguiente página)

|                               | Clasificación | Gen            | Proteína   | OMIM   |
|-------------------------------|---------------|----------------|--|--------|
| <b><i>N</i>-glicosilación</b> |               |                |  |        |
|                               | CDG-Ia        | <i>PMM2</i>    | Fosfomanomutasa II                                     | 212065 |
|                               | CDG-Ib        | <i>MPI</i>     | Fosfomano isomerasa                                    | 602579 |
|                               | CDG-Ic        | <i>ALG6</i>    | Dol-P-Glc: Man9GlcNAc2-PP-Dol glucosiltransferasa      | 603147 |
|                               | CDG-Id        | <i>ALG3</i>    | Dol-P-Man: Man5GlcNAc2-PP-Dol manosiltransferasa       | 601110 |
|                               | CDG-Ie        | <i>DPM1</i>    | Dol-P-Man sintasa I                                    | 608799 |
|                               | CDG-If        | <i>SL15</i>    | Defecto en la utilización de Dol-P-Man                 | 609180 |
| Tipo I                        | CDG-Ig        | <i>ALG12</i>   | Dol-P-Man: Man7GlcNAc2-PP-Dol manosiltransferasa       | 607143 |
|                               | CDG-Ih        | <i>ALG8</i>    | UDP-GlcNAc-GlcNAc-PP-Dol transferasa                   | 608104 |
|                               | CDG-Ii        | <i>ALG2</i>    | GDP-Man: Man1GlcNAc2-PP-Dol manosiltransferasa         | 607906 |
|                               | CDG-Ij        | <i>DPAGT1</i>  | UDP-GlcNAc:Dol-P-GlcNAc-1-P transferasa                | 608093 |
|                               | CDG-Ik        | <i>ALG1</i>    | GDP-Man: GlcNAc2-PP-Dol manosiltransferasa             | 608540 |
|                               | CDG-IL        | <i>ALG9</i>    | Dol-P-Man: Man 6 y 8 GlcNAc2-PP-Dol manosiltransferasa | 608776 |
|                               | CDG-IIa       | <i>MGAT2</i>   | GlcNAcT-II   | 212066 |
|                               | CDG-IIb       | <i>GLS1</i>    | Glucosidasa I  | 606056 |
|                               | CDG-IIc       | <i>B4GALT1</i> | β1, 4-galactosiltransferasa                            | 607091 |
| Tipo II                       | <b>Mixtos</b> |                |  |        |
|                               | CDG-IIc       | <i>SLC35C1</i> | Transportador de GDP-Fucosa                            | 266265 |
|                               | CDG-IIe       | <i>COG7</i>    | Complejo COG, subunidad 7                              | 608779 |
|                               | CDG-IIg       | <i>COG1</i>    | Complejo COG, subunidad 1                              | 606973 |
|                               | CDG-IIh       | <i>COG 8</i>   | Complejo COG, subunidad 8                              | 606979 |

**Cuadro 1.** Distintos tipos de trastornos congénitos de la glicosilación. Se indica el subtipo de trastorno de glicosilación junto con el gen y proteína afectados, así como el número de acceso en la base de datos OMIM (Online Mendelian Inheritance in Man); CDG, Congenital Disorders of Glycosylation (continuación)

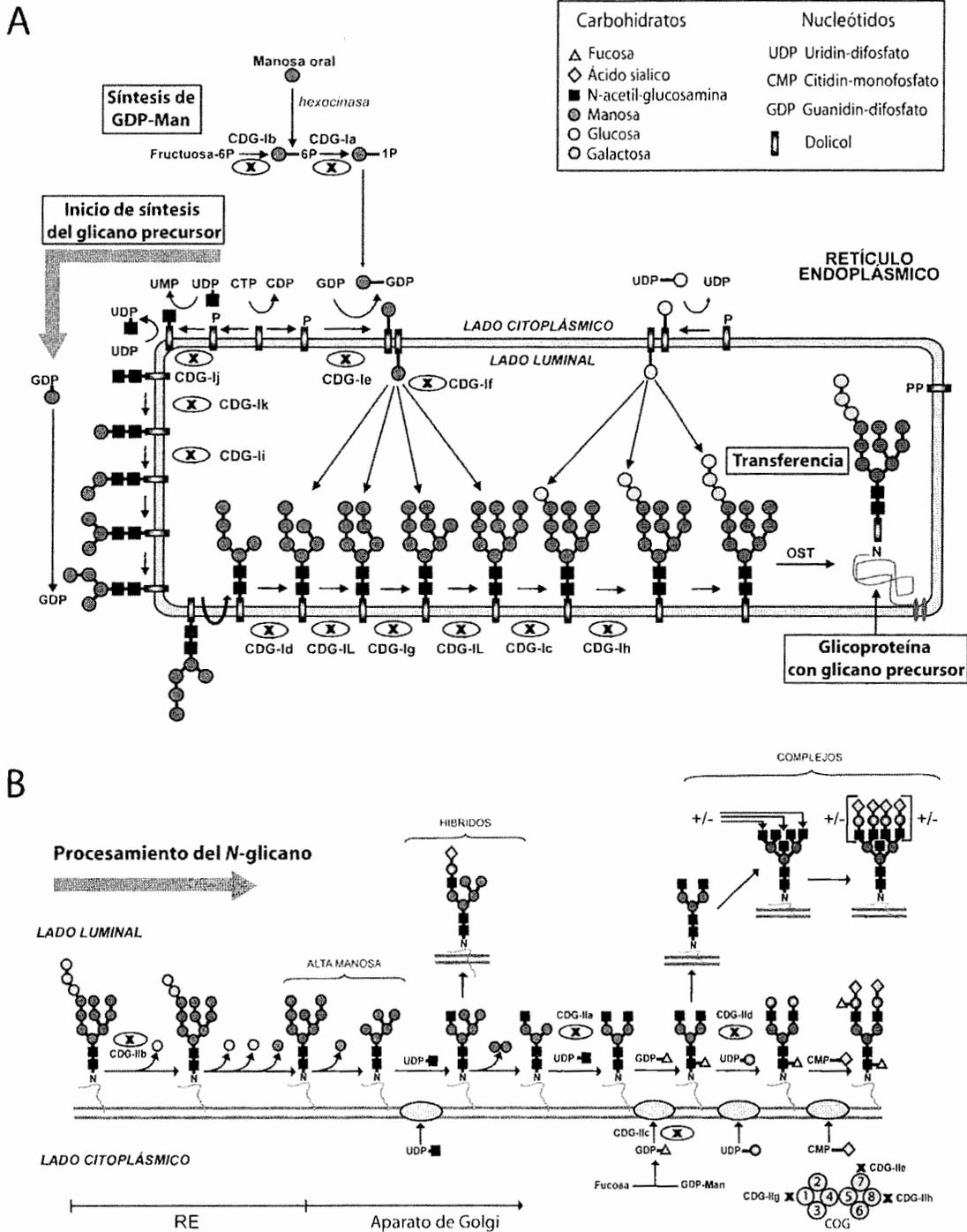
| Clasificación                         | Gen            | Proteína   | OMIM   |
|---------------------------------------|----------------|--|--------|
| <b>O-galactosilación</b>              |                |  |        |
| Ehlers-Danlos VIa                     | <i>PLOD</i>    | Lisil-hidroxilasa 1                                  | 225400 |
| <b>O-xilosilación</b>                 |                |  |        |
| Ehlers-Danlos progeroide              | <i>B4GALT7</i> | Xilosil-proteína 4-b-galactosiltransferasa           | 604327 |
| HME tipo I                            | <i>EXT1</i>    | Exostosina 1   | 133700 |
| tipo II                               | <i>EXT2</i>    | Exostosina 2   | 133701 |
| tipo III                              | <i>EXT3</i>    | Exostosina 3   | 600209 |
| <b>O-manosilación</b>                 |                |  |        |
| SWW                                   | <i>POMT1/2</i> | O-manosiltransferasa                                 | 607423 |
| LGMD2K                                | <i>POMT1</i>   | id   | 609308 |
| MEB                                   | <i>POMGnT1</i> | b1, 2-N-acetil-glicosaminiltransferasa               | 253280 |
| FCMD                                  | <i>Fukutin</i> | Glicosiltransferasa putativa                         | 253800 |
| MDC1C                                 | <i>FKRP</i>    | Glicosiltransferasa putativa                         | 606612 |
| LGMD2I                                | id             | Glicosiltransferasa putativa                         | 607155 |
| MDC1D                                 | <i>LARGE</i>   | Homólogo de la b1, 3-N-acetil-glucoaminiltransferasa | 603590 |
| hIBM                                  | <i>GNE</i>     | UDP-GlcNAc2 epimerasa/N-acetil-manosamina cinasa     | 600737 |
| DMRV                                  | id             | id   | 605820 |
| <b>O-N-acetil-galactosaminilación</b> |                |  |        |
| HFTC                                  | <i>GALNT3</i>  | O-GlcNAc transferasa                                 | 601756 |
| HHS                                   | id             | id   | 211900 |
| <b>Sialilación</b>                    |                |  |        |
| CDG-IIf                               | <i>SLC35A1</i> | Transportador de CMP-NeuAc                           | 603585 |

## LA N-GLICOSILACIÓN Y SUS DEFECTOS

La *N*-glicosilación es una modificación co- y post-traducciona que ocurre en el retículo endoplásmico (RE) y en el aparato de Golgi, principalmente bajo la acción de diversas enzimas llamadas glicosiltransferasas (GT). La descripción detallada de los procesos bioquímicos de esta vía son accesibles en las revisiones de Helenius y de Freeze<sup>6,7</sup>. La vía de la *N*-glicosilación se divide en dos etapas (figura 1). La primera se inicia en el RE con la síntesis, sobre un portador lipídico llamado dolicol, del oligosacárido precursor Glc<sub>3</sub>Man<sub>9</sub>GlcNAc<sub>2</sub> y finaliza con su transferencia al grupo N- de un residuo Asn que es una proteína nascente. Una vez transferida el precursor, sigue la segunda etapa de procesamiento, la cual continúa en el RE y finaliza en el aparato de Golgi. En esta segunda etapa el *N*-glicano es recortado por la acción inicial de glicosidasas, enzimas que eliminan monosacáridos, lo que permite su modificación posterior con diversos car-

bohidratos a través de la acción de diferentes familias de glicotransferasas (GT) que transfieren distintos tipos de carbohidratos al glicano en procesamiento.

Los trastornos que afectan la *N*-glicosilación son autosómicos recesivos, se conocen bajo el acrónimo inglés CDG (Congenital Disorders of Glycosylation). Actualmente se han tipificado 12 subtipos que afectan la etapa de síntesis del glicano precursor (CDG de tipo I) y 7 que afectan la etapa de procesamiento (CDG de tipo II). Es importante precisar que dentro de los CDG de tipo II se encuentran cuatro trastornos de carácter mixto que afectan la *O*- y la *N*-glicosilación. Uno de ellos es el CDG-IIc, un trastorno debido a un defecto en el transporte de GDP-fucosa al lumen del aparato de Golgi que ocasiona disminución en la unión covalente del monosacárido fucosa a los *N*- y *O*-glicanos<sup>8</sup>. Los otros trastornos mixtos se generan por defectos en las subunidades del complejo oligomérico del aparato de Golgi (COG), lo que causa una disrupción del tráfico de proteínas en dicho organelo, que a su vez



**Figura 1.** Vía de la N-glicosilación. A. Síntesis del oligosacárido precursor  $\text{GlcNAc}_2\text{Man}_9\text{Glc}_3$  que se inicia por una serie de reacciones en la cara citosólica del retículo endoplásmico que utilizan glicosil-nucleótidos, seguidas de reacciones en la luz de dicho organelo que utilizan carbohidratos unidos a dolicol. Una vez terminada la síntesis el oligosacárido precursor, éste es transferido a la proteína naciente por la acción de una oligosacariltransferasa (OST). B. Procesamiento de la glicoproteína; comienza en el RE y finaliza en el Golgi; conduce a la síntesis de una gran variedad de estructuras glicánicas a través de la acción inicial de glicosidasas y finalmente de diversas glicosiltransferasas. Se indican con una X los defectos enzimáticos que se han identificado como causantes de CDG.

da lugar a una disfunción en la síntesis y procesamiento de N- y O- glicanos<sup>9</sup>.

**Sospecha clínica.** Se debe descartar un CDG frente a toda enfermedad congénita multisistémica inexplicada particularmente acompañadas de retraso mental. El cuadro 2 muestra las características clínicas principales de los CDG, distinguiendo entre los que cursan con retraso psicomotor (A) y los que no lo tienen (B). Estos trastornos afectan de forma variable diversos sistemas: el nervioso central, músculo-esquelético, gastrointestinal, hematológico, inmune y tegumentario. Para fines prácticos, es importante realizar un estudio inicial que identifique la hipoglicosilación proteica para establecer la sospecha bioquímica inicial que justifique la realización de estudios moleculares más complejos.

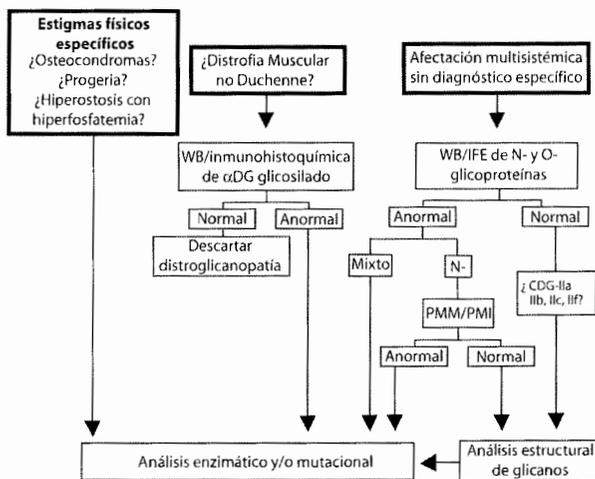
**Diagnóstico molecular.** El proceso de diagnóstico molecular frente a un posible CDG se detalla en el algoritmo diagnóstico (figura 2); se inician estudios para determinar si existe una hipoglicosilación de las glicoproteínas séricas de tipo N- y O-. En la técnica de Western Blot (WB), se identifican isoformas de bajo peso molecular debido a una reducción de su contenido glicánico. En la técnica de isoelectroenfoque (IEF), se identifican isoformas proteicas con distinta carga eléctrica debido a una disminución en el contenido de ácido siálico, un carbohidrato con carga negativa que se encuentra en la porción terminal de los

glicanos y que generalmente, no existe o está disminuido cuando hay defectos en la síntesis de los glicanos. Debido a la presencia de CDG mixtos (afección de la N- y de la O-glicosilación) se recomienda que, frente a toda sospecha clínica de CDG, se realice un análisis de glicosilación que considere al menos dos N-glicoproteínas y una O-glicoproteína<sup>10</sup>. Las N-glicoproteínas comúnmente estudiadas son la transferrina, la  $\alpha$ -1-anti-tripsina y la haptoglobina; la O-glicoproteína que se estudia generalmente es la apolipoproteína-C-III (ApoCIII)<sup>11</sup>.

No todos los CDG muestran alteraciones en el perfil de glicosilación detectables por las técnicas mencionadas. Tal es el caso del CDG-IIb, IIc, IIe y en pacientes adultos la CDG-IIa. Por ello, en casos de fuerte sospecha de alguno de estos subtipos se procede a realizar el análisis estructural de glicanos. También hay trastornos congénitos y adquiridos que pueden alterar el perfil de glicosilación y que llevan a establecer falsos positivos. Es lo que sucede con la ingestión crónica de alcohol, con la fructosemia hereditaria, con la galactosemia y cuando en la muestra de sangre que se utiliza contiene ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) como anticoagulante. Así pues se deben descartar estas afecciones frente a un WB o IEF anormales. Cuando se corrigen, se restablece un perfil de glicosilación normal.

Otros estudios útiles para identificar una hipoglicosilación son los inmunturbidimétricos que permiten establecer el porcentaje de transferrina hipoglicosilada sérica (CDT, carbohydrate deficient transferrin), cuyo valor normal generalmente es de 2,5 a 3%<sup>3</sup>. Debido a que la transferrina es una N-glicoproteína, el CDT sólo es útil para identificar trastornos de la N-glicosilación. Los estudios de citofluorometría, permiten cuantificar los antígenos celulares O- y N-glicosilados sobre la superficie celular así como antígenos que sólo se presentan en un contexto de hipoglicosilación<sup>10,12</sup>.

**¿Qué hacer frente a una hipoglicosilación proteica?** En el algoritmo diagnóstico se indica que se identifica una hipoglicosilación exclusiva de N-glicanos se descarten los CDG más frecuentes, el CDG-Ia y Ib. Si el paciente tiene desarrollo psicomotor normal y síntomas gastrointestinales se opta por realizar el análisis enzimático de la fosfomano isomerasa (PMI) para confirmar un CDG-Ib; si tiene afección psicomotora se estudia la actividad de la fosfomano mutasa (PMM) para confirmar un CDG-Ia. La disfunción enzimática de PMM o PMI debe confirmarse por la identificación de mutaciones de pérdida



**Figura 2.** Algoritmo diagnóstico. aDG, a-distrogliano; CDG, trastorno congénito de la N-glicosilación; COG, complejo oligomérico del Golgi, EDTA, ácido diamino tetra acético; IFE, isofocalización eléctrica; PMI, fosfomanoisomerasa; PMM, fosfomano mutasa; fosfomano isomerasa; WB, Western Blot.

**Cuadro 2.** Cuadros clínicos de los trastornos de la glicosilación que afectan la síntesis de los *N*-glicanos (CDG) y los *O*-manosil glicanos (distrofias musculares congénitas). CDG con (A) y sin (B) retraso mental, y (C), distrofias musculares congénitas. CD15s, antígeno CD15 sialilado; CK, creatinín cinasa; hS, hiposialilada, LAD II, deficiencia de adhesión leucocitaria; MT, mielinización tardía; NCAM, molécula de adhesión de células neurales; ORL, otorrinolaringológicas; PFAPA, fiebre episódica, faringitis, estomatitis aftosa y adenitis; (-) ausente, (+) presente con severidad leve, (++) presente con severidad moderada, (+++) presente con severidad grave (continúa en la siguiente página)

| CDG                    | la  | lc                              | ld  | le                   | lf                         | lg   | li                                | lj          |
|------------------------|---|---------------------------------|---|----------------------|----------------------------|--|-----------------------------------|-------------|
| Retraso psicomotor     | + → +++   | + / ++                          | +++   | +++                  | +++                        | +++  | +++                               | +++         |
| Retraso del desarrollo | +   | +                               | +   | ++                   | +                          | ++   | +                                 | +           |
| Convulsiones           | - → ++  | - → ++                          | +++   | +++                  | ++                         | +  | +                                 | +++         |
| Hipotonía              | +++   | +                               | +   | +                    | -                          | +  | -                                 | ++          |
| Estrabismo             | +++   | ++                              | -   | -                    | -                          | -  | -                                 | Esotropía   |
| Retinopatía            | ++  | ++                              | -   | -                    | ++                         | -  | -                                 | -           |
| Hipoplasia cerebelosa  | +++   | -                               | -   | - / +                | -                          | -  | -                                 | -           |
| Dismorfia              | - → +++   | - / +                           | - / +   | +                    | +                          | +  | +                                 | +++         |
| Hepatopatía            | +++   | +                               | +   | +                    | -                          | -  | +                                 | -           |
| Coagulopatía           | ++ / +++  | +++                             |   |                      | + -                        | +  | +                                 | -           |
| Enteropatía            | - / +   | - / +                           | -   | -                    | -                          | -  | -                                 | -           |
| Microcefalia           | -   | -                               | +   | +                    | -                          | +  | -                                 | +           |
| Otros                  | Neuropatía periférica, enfermedad endocrina, cardiomiopatía, osteopenia | Infección, enfermedad endocrina | Atrofia del nervio óptico                           | Ceguera cortical, MT | Ictiosis, enanismo, vómito | Insuficiencia respiratoria, hipogonadismo, IgG baja, infecciones ORL | Coloboma, cataratas, nistagmo, MT | Micrognatia |
| CDG                    | lb  | lh                              | lif   |                      |                            |  |                                   |             |
| Convulsiones           | + / -   |                                 | -   |                      |                            |  |                                   |             |
| Retraso del desarrollo | -   |                                 | -   |                      |                            |  |                                   |             |
| Hipotonía              | -   |                                 | +   |                      |                            |  |                                   |             |
| Dismorfia              | -   |                                 | +   |                      |                            |  |                                   |             |
| Hepatopatía            | +++   |                                 | ++  |                      |                            |  |                                   |             |
| Coagulopatía           | ++ / +++  |                                 | ++  |                      |                            |  | +++                               |             |
| Enteropatía            | +++   |                                 | +++   |                      |                            |  | -                                 |             |
| Otros                  | Hipoglicemia, vómito, diarrea   |                                 | Trastorno renal, padecimientos cardiorrespiratorios |                      |                            | Infecciones, neutropenia, macrotrombocitopenia, ↓CD15s               |                                   |             |

de función en los genes respectivos. Si se descartan anomalías enzimáticas de PMM ó PMI y se mantiene la sospecha clínica de CDG, se procede a identificar el paso de síntesis afectado determinando la estructura de los glicanos. Esto se puede realizar por cromatografía líquida de alta presión (HPLC) o por espectrometría de masas, lo que permite establecer en la mayor parte de los casos, el paso de la vía de síntesis afectado debido a una acumulación de la estructura glicénica previa al

paso bloqueado. Una vez identificado éste, se realiza una prueba que mida la actividad de la proteína sospechosa o se realiza la secuenciación del gen respectivo para identificar mutaciones de pérdida de función.

Si el estudio de glicosilación inicial revela una hipoglicosilación tanto de *N*- como de *O*-glicanos se debe pensar en un CDG mixto, por lo que se procede a analizar los genes correspondientes de acuerdo a la presentación clínica (¿CD-GIIc?, ¿defectos del COG?). Si se identifican mutaciones

**Cuadro 2.** Cuadros clínicos de los trastornos de la glicosilación que afectan la síntesis de los *N*-glicanos (CDG) y los *O*-manosil glicanos (distrofias musculares congénitas). CDG con (A) y sin (B) retraso mental, y (C), distrofias musculares congénitas. CD15s, antígeno CD15 sialilado; CK, creatinín cinasa; hS, hiposialilada, LAD II, deficiencia de adhesión leucocitaria; MT, mielinización tardía; NCAM, molécula de adhesión de células neurales; ORL, otorrinolaringológicas; PFAPA, fiebre episódica, faringitis, estomatitis aftosa y adenitis; (-) ausente, (+) presente con severidad leve, (++) presente con severidad moderada, (+++) presente con severidad grave (continuación)

| CDG                    | Ik                              | Il  | Ila                      | Ilb   | Ilc           | Ild                         | Ile  | Ilg              | IIh                  |
|------------------------|---------------------------------|---|--------------------------|-------|---------------|-----------------------------|--|------------------|----------------------|
| Retraso psicomotor     | +++                             | +++   | -/+++                    | -/+++ | +++           | +                           | +  | +                | ++                   |
| Retraso del desarrollo | ++                              | +   | +                        | +     | +             | +                           | +  | ++               | ++                   |
| Convulsiones           | +++                             | ++  | +++                      | +++   | +             | ++                          | ++   | -/+              | -                    |
| Hipotonía              | +                               | +   | ++                       | ++    | +             | ++                          | +++  | +++              | ++                   |
| Estrabismo             | -                               | -   | -                        | -     | -             | -                           | -  | -                | Esotropía            |
| Retinopatía            | -                               | -   | -                        | -     | -             | -                           | -  | -                | -                    |
| Hipoplasia cerebelosa  | -                               | -   | -                        | -     | -             | -                           | -  | +                | +                    |
| Dismorfia              | +                               | +   | ++                       | +++   | +++           | -                           | +++  | ++               | +                    |
| Hepatopatía            | -                               | +   | -                        | +++   | -             | ++                          | +++  | ++               | ++                   |
| Coagulopatía           | ++                              | -   | +++                      | ++    | -             | +++                         | ++   | -                | ++                   |
| Enteropatía            | -                               | -   | -/+                      | -     | -             | -                           | -  | -                | -                    |
| Microcefalia           | +                               | -   | -                        | -     | +             | -                           | +  | +                | +                    |
| Otros                  | Hipogonadismo, atrofia cerebral | Macrocefalia, enfermedad renal quística, asma bronquial, atrofia cerebral | Estereotipias, infección |       | LADII, Bombay | Hidrocefalia, miopata, CK ↑ | Fiebre, piel laxa, epífisis ausente, asfixia, MT | Atrofia cerebral | Encefalopatía, PFAPA |

se debe confirmar que sean las causantes de una disfunción enzimática. Existe una base de datos de mutaciones en pacientes afectados por CDG disponible en: <http://www.euroglycanet.org/>.

**Tratamiento.** Sólo el CDG-Ib y el CDG-IIc tienen tratamiento que revierte el defecto de glicosilación. El **CDG-Ib** se trata con manosa oral (1g/kg/día dividido en 4 a 6 dosis); se mejora significativamente el cuadro clínico en pocos días<sup>13</sup>. La manosa oral es directamente convertida, por una hexocinasa específica, en manosa-6-fosfato, lo que supera el bloqueo causado por deficiencia de la PMI (figura 1A). Se debe lograr un nivel sérico de manosa de 200 µmol/L. Un inconveniente es la necesidad de vigilancia frecuente de estos niveles, ya que su exceso provoca malestar general y diarrea osmótica<sup>14</sup>.<sup>15</sup> El **CDG-IIc** se trata con suplemento de fucosa oral (25mg-500mg/kg/día en 3-5 dosis), lo cual restaura la fucosilación de las glicoproteínas, que a su vez controla las infecciones recurrentes y mejora el estado psicomotor y el desarrollo del paciente<sup>16</sup>. La eficacia de este tratamiento

se debe a una vía alterna para la síntesis de GDP-Fuc a partir de fucosa. Este tratamiento sólo funciona en pacientes con mutaciones que afectan parcialmente la función del transportador de GDP-Fuc<sup>16-18</sup>.

## LA O-GLICOSILACIÓN Y SUS DEFECTOS

Los *O*-glicanos se clasifican de acuerdo al primer carbohidrato que se encuentra unido al residuo de serina, treonina o lisina de un aminoácido localizado en una *O*-glicoproteína. Al igual que la *N*-glicosilación esta modificación ocurre en un orden secuencial a través de la acción de *O*-glicosiltransferasas localizadas principalmente en el aparato de Golgi. Los detalles bioquímicos de esta vía se encuentran en la revisión de Wopereis et al.<sup>19</sup>

Los trastornos congénitos de la *O*-glicosilación aún no se han clasificado con una nomenclatura homogénea por lo que aún no se han tipificado con el acrónimo CDG. En esta revisión los clasificaremos de acuerdo al tipo de *O*-glicano afectado. Se han descrito defectos de síntesis

de *O*-galactosil glicanos y *O*-xilosil glicanos, que afectan tejidos de soporte, de *O*-manosil glicanos; relacionados a distrofias musculares congénitas y de *O*-*N*-acetil-galactosaminil glicanos, que afectan el metabolismo del calcio y del fosfato (figura 3). Existen otros trastornos, no tratados en esta revisión, que afectan indirectamente a los *O*-glicanos o muestran modificaciones no sacarídicas de los mismos<sup>19</sup>. Salvo por la exostosis múltiple hereditaria, de herencia autosómica dominante, el resto de los trastornos de la *O*-glicosilación son autosómicos recesivos.

**Sospecha Clínica y Diagnóstico Molecular.** Anteriormente se mencionó el estudio de la ApoCIII para identificar alteraciones de la *O*-glicosilación en el contexto de los CDG con trastornos mixtos de la glicosilación; sin embargo, en el diagnóstico de trastornos exclusivos de la *O*-glicosilación, este estudio es insuficiente ya que la mayor parte de estos trastornos afecta subtipos de *O*-glicanos distintos a los de la ApoCIII (*O*-*N*-acetil-galactosilación). Por lo tanto, su diagnóstico molecular inicial depende de estudios estructurales de los *O*-glicanos

y del análisis genético de las proteínas específicas que se sospechan afectadas de acuerdo a la presentación clínica. A continuación describiremos los datos clínicos de los trastornos congénitos de la *O*-glicosilación y los estudios moleculares respectivos.

#### Trastornos afectando los *O*-galactosil glicanos

**Síndrome de Ehlers-Danlos tipo VIa.** Se caracteriza por cifoescoliosis neonatal, laxitud articular, fragilidad de la piel y acentuada hipotonía muscular. En algunos pacientes se producen rupturas arteriales letales. El diagnóstico se confirma por el análisis de una dermis hidrolizada o por la demostración de actividad enzimática reducida de la lisil hidroxilasa 1 en fibroblastos en cultivo<sup>20</sup>, seguido de estudios mutacionales correspondientes al gen que codifica dicha enzima<sup>21</sup>.

#### Trastornos que afectan los *O*-xilosil glicanos

**Variante progeroide del síndrome de Ehlers-Danlos.** Se caracteriza por retraso psicomotor, envejecimiento prema-

**Cuadro 3.**

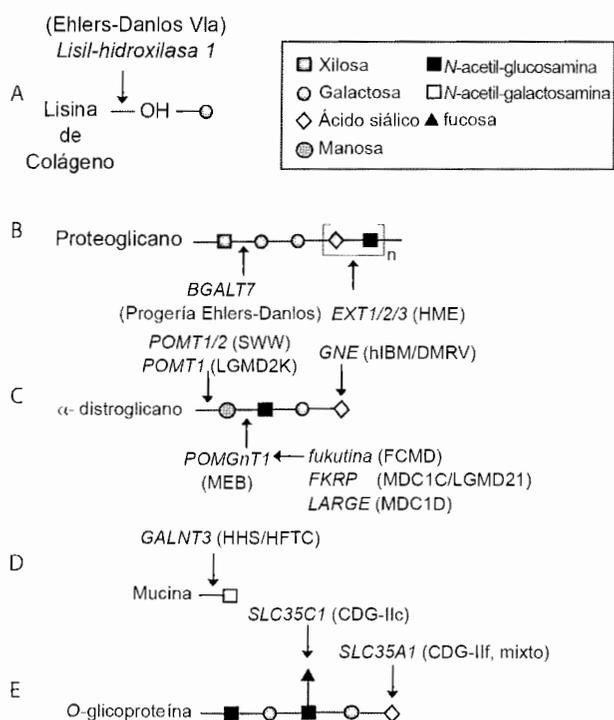
| <i>Distrofias</i>              | <i>SWW</i>               | <i>LGMD2K</i> | <i>MEB</i>                      | <i>FCMD</i>    | <i>MDC1C</i>       | <i>LGMD2I</i>  | <i>MDC1D</i> | <i>hIBM/DRMV</i>             |
|--------------------------------|--------------------------|---------------|---------------------------------|----------------|--------------------|----------------|--------------|------------------------------|
| Inicio neonatal                | +                        | 1ª década     | +                               | +              | +                  | 6m-40a         | +            | Adulto                       |
| Retraso mental                 | +++                      | +++           | +++                             | +++            | -/+                | -              | +++          | -                            |
| Convulsiones                   | ++                       | -             | ++                              | ++             | -                  | -              | -            | -                            |
| Hipotonía                      | ++                       | +             | ++                              | ++             | -                  | -              | -            | -                            |
| RMN. Cambios                   |                          |               |                                 |                |                    |                |              |                              |
| Estructurales                  | +                        | -             | +                               | +              | -                  | -              | +            | -                            |
| Materia blanca                 | -                        | -             | -                               | +              | -                  | -              | +            | -                            |
| Anomalías oculares             | Ceguera                  | -             | ++                              | ++             | -                  | -              | -            | -                            |
| Hipertrofia pantorrilla        | -                        | +             | -                               | +              | +                  | +              | +            | +                            |
| Grupos musculares involucrados | General                  | Pelvis        | General                         | General        | General            | Hombro pelvis  | General      | Pelvis/hombro distales       |
| Deambulación                   | Sí                       | Sí            | Variable                        | Variable       | No                 | Sí             | Tardía       | Sí                           |
| Microcefalia                   | +                        | +             | -                               | -              | -                  | -              | -            | -                            |
| Laminina- $\alpha$ 2           | ↓                        | ↓             | ↓                               | ↓              | ↓                  | ↓              | Normal       | Normal                       |
| Otros                          | Labio y paladar hendidos |               | Ausencia de movimientos fetales | Cardiomiopatía | Falla respiratoria | Cardiomiopatía |              | Cuadriceps normal<br>NCAM hS |

turo con piel elástica y laxa, dificultad en el crecimiento, hiperlaxitud articular, hipotonía y macrocefalia<sup>22-25</sup>. Se confirma identificando mutaciones en el gen correspondiente<sup>22</sup> o por actividad enzimática reducida de la enzima B4GALT7 en fibroblastos<sup>26</sup>.

**Exostosis Múltiple Hereditaria (HME).** Se caracteriza por osteocondromas en los extremos de los huesos largos, que forman parte del síndrome de exostosis múltiple. El diagnóstico se confirma identificando mutaciones que afectan la función en cualquiera de los genes: *EXT1*, *EXT2* Y *EXT3*<sup>27-29</sup>.

### Trastornos que afectan los O- manosil glicanos

El  $\alpha$ -dístroglicano ( $\alpha$ DG) es una O-manosil glicoproteína de la membrana celular que permite unir la matriz extracelular con el citoesqueleto de actina<sup>30</sup>. Su función depende de una glicosilación íntegra (figura 3). Los



**Figura 3.** Defectos en la síntesis de O-glicanos. A, Falta en la hidroxilación de residuos lisina de la colágena; B, en la glicosilación de los O-galactosil-glicanos; C, de los O-manosil-glicanos; D, de los O-N-acetil-galacto-glicanos; E, de la sialilación y fucosilación de los O-N-acetil-glucosaminil-glicanos. Las palabras en cursivas corresponden a las enzimas afectadas. Entre paréntesis se encuentran los acrónimos que identifican las enfermedades y que se encuentran enlistadas en el cuadro 1.

defectos de la glicosilación del  $\alpha$ DG se conocen como distroglicanopatías. Afectan principalmente al sistema nervioso central y al músculo-esquelético<sup>31</sup>. Se han descrito nueve distroglicanopatías, causadas por distintos defectos enzimáticos: el síndrome de Walker-Warburg (SWW), la enfermedad músculo-ojo-cerebro (MEB), las distrofias de cinturas de tipo 2K (LGMD2K) y de tipo 2I (LGMD2I), la distrofia muscular congénita de Fukuyama (FCMD), las distrofias musculares congénitas de tipo 1C (MDC1C) y 1D (MDC1D) y la miopatía con cuerpos de inclusión, en sus dos variantes, hereditaria con cuerpos de inclusión (hiBM) y miopatía distal con vacuolas ribeteadas o miopatía de Nonaka. Los defectos bioquímicos causales se muestran en el Cuadro 1 y en la figura 3. Las revisiones de Guglieri et al.<sup>32</sup> y de Mendell et al.<sup>33</sup>, permiten ubicar las distroglicanopatías dentro del resto de las distrofias musculares congénitas.

De acuerdo al algoritmo diagnóstico en presencia de distrofia muscular congénita caracterizada por alguno de los cuadros clínicos descritos en el cuadro 3, se proceda a establecer, por inmunohistoquímica o WB<sup>34</sup>, una hipoglicosilación del  $\alpha$ -dístroglicano ( $\alpha$ DG), característica *sui generis* de las distrofias musculares congénitas asociadas a trastornos de la glicosilación<sup>33</sup>. A fin de distinguir las del resto de las distrofias musculares es importante analizar la expresión en el tejido muscular de laminina  $\alpha$ -2 (merosina), ya que ésta se encuentra generalmente reducida en las distrofias asociadas a hipoglicosilación. En caso de establecer una hipoglicosilación del  $\alpha$ DG se procede a realizar análisis enzimáticos para determinar la actividad de las enzimas involucradas en su glicosilación<sup>35</sup>. En caso de reducción de alguna de las actividades se realizan los estudios genéticos correspondientes.

### Trastornos que afectan los O-N-acetil-galacto glicanos

#### Calcicosis hiperfosfatémica tumoral familiar (HFTC).

Se caracteriza por hiperfosfatemia con abundantes depósitos de calcio en la piel y en el tejido subcutáneo; con niveles elevados o normales de hormona paratiroidea y 1,25-dihidroxitamina D<sub>3</sub>; normocalcemia y niveles disminuidos de 25-hidroxicoalciferol. También hay anomalías dentarias y estrías angioides de la retina. El diagnóstico se confirma por la expresión reducida de la enzima GALNT3<sup>36</sup>, por mutaciones en el gen codificante para dicha enzima o por ambos hechos<sup>37</sup>.

**Síndrome de Hiperfosfatemia-Hiperostosis (HHS).**

Variante de la HFTC; se caracteriza por hiperfosfatemia y lesiones óseas recurrentes localizadas con hiperostosis, sin lesiones dérmicas. Comparte los mismos parámetros bioquímicos y estudios confirmatorios que la FTC.

**Trastornos que afectan el sustrato para la sialilación de O-glicoproteínas**

**CDGIII<sub>f</sub>.** Inicialmente fue tipificado como un trastorno de la *N*-glicosilación; posteriormente se vio que sólo afectaba la *O*-glicosilación. Se debe a mutaciones que inactivan al transportador de CMP-NeuAc en el aparato de Golgi codificado por el gen *SCL35A1*. En estudios de laboratorio hay macrotrombocitopenia, neutropenia, ausencia completa del antígeno sialil Lewis X (CD15s) sobre los polimorfonucleares y un marcaje positivo con la lectina PNA de las glicoproteínas séricas, lo que indica una hiposialilación de los O-glicanos de tipo mucina subtipo core I (Gal $\beta$ 1-3GalNAc); sin embargo, es posible que estén afectados otros O-glicanos. El perfil sérico de *N*-glicanos no muestra anomalías de glicosilación. El análisis genético del gen codificante respectivo confirma el diagnóstico<sup>38,39</sup>.

*Tratamiento.* Actualmente no hay tratamientos que reviertan los defectos de la *O*-glicosilación.

**CONCLUSIONES**

Los trastornos congénitos de la glicosilación proteica son un grupo creciente de enfermedades con el cual los médicos deben familiarizarse debido a la necesidad de un abordaje clínico y de laboratorio específicos. Es importante que el clínico sospeche un posible trastorno congénito de la glicosilación y utilice el algoritmo diagnóstico sugerido frente a enfermedades congénitas inexplicadas, particularmente las que afectan más de un sistema del organismo con o sin retraso mental, distrofias musculares no confirmadas con reducción de la  $\alpha$ 2-laminina así como los que afectan los tejidos de soporte.

Es importante considerar que estas enfermedades están en aumento y que se debe estar atento para identificar posibles trastornos de la glicosilación con características clínicas distintas a las descritas, ya sea porque ocurren como variantes de un mismo defecto genético, lo que puede suceder en la población mexicana o por ser un nuevo subtipo del mismo trastorno

y mantener una interacción con laboratorios clínicos especializados.

Actualmente se ha establecido una colaboración, para consolidar una estructura de diagnóstico especializada en Latinoamérica, entre el Laboratorio de Genética de la Nutrición del Instituto Nacional de Pediatría-Instituto de Investigaciones Biomédicas, el Laboratorio de Glicobiología Humana de la Facultad de Ciencias de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos y el Departamento de Medicina Molecular y Bioprocesos del Instituto de Biotecnología de la Universidad Nacional Autónoma de México.

**REFERENCIAS**

1. Bohne A, von der Lieth CW, Glycosylation of proteins: a computer based method for the rapid exploration of conformational space of N-glycans. *Pac Symp Biocomput*, 2002;285-96.
2. Freeze HH, Disorders in protein glycosylation and potential therapy: tip of an iceberg? *J Pediatr*, 1998;133:593-600.
3. Perez-Cerda C, Ugarte M. Congenital disorders of glycosylation. Their diagnosis and treatment. *Rev Neurol*, 2006;43(Suppl 1): S145-56.
4. Jaeken J, Vanderschueren-Lodeweyckx M, Casaer P, Snoeck L, Corbeel L, Eggermont E, Familial psychomotor retardation with markedly fluctuating serum prolactin, FSH and GH levels, partial TBG deficiency, increased serum arylsulphatase A and increased CSF protein: a new syndrome? *Pediatr Res* 1980;14:179.
5. Vilaseca MA, Artuch R, Briones P. Congenital disorders of glycosylation: state of the art and Spanish experience. *Med Clin (Barc)* 2004;122(18):707-16.
6. Helenius J, Aebi M, Transmembrane movement of dolichol linked carbohydrates during N-glycoprotein biosynthesis in the endoplasmic reticulum. *Semin Cell Dev Biol*, 2002;13(3):171-8.
7. Freeze HH, Aebi M, Altered glycan structures: the molecular basis of congenital disorders of glycosylation. *Curr Opin Struct Biol*, 2005;15(5):490-8.
8. Lubke T, Marquardt T, Etzioni A, Hartmann E, von Figura K, Korner C, Complementation cloning identifies CDG-IIIc, a new type of congenital disorders of glycosylation, as a GDP-fucose transporter deficiency. *Nat Genet*, 2001;28(1):73-6.
9. Ungar D, Oka T, Krieger M, Hughson FM, Retrograde transport on the COG railway. *Trends Cell Biol*, 2006;16(2):113-20.
10. Foulquier F, Vasile E, Schollen E, et al., Conserved oligomeric Golgi complex subunit 1 deficiency reveals a previously uncharacterized congenital disorder of glycosylation type II. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2006;103(10):3764-9.
11. Wopereis S, Grunewald S, Huijben KM, et al., Transferrin and apolipoprotein C-III isofocusing are complementary in the diagnosis of N- and O-glycan biosynthesis defects. *Clin Chem*, 2007;53(2):180-7.
12. Chacko BK, Appukuttan PS, Peanut (*Arachis hypogaea*) lectin recognizes alpha-linked galactose, but not N-acetyl lactosami-

- ne in N-linked oligosaccharide terminals. *Int J Biol Macromol*, 2001;28(5):365-71.
13. Hendriksz CJ, McClean P, Henderson MJ, et al., Successful treatment of carbohydrate deficient glycoprotein syndrome type 1b with oral mannose. *Arch Dis Child* 2001;85(4):339-40.
  14. Rush JS, Panneerselvam K, Waechter CJ, Freeze HH, Mannose supplementation corrects GDP-mannose deficiency in cultured fibroblasts from some patients with Congenital Disorders of Glycosylation (CDG). *Glycobiology*, 2000;10(8):829-35.
  15. Westphal V, Kjaergaard S, Davis JA, Peterson SM, Skovby F, Freeze HH, Genetic and metabolic analysis of the first adult with congenital disorder of glycosylation type 1b: long-term outcome and effects of mannose supplementation. *Mol Genet Metab* 2001;73(1):77-85.
  16. Marquardt T, Luhn K, Srikrishna G, Freeze HH, Harms E, Vestweber D, Correction of leukocyte adhesion deficiency type II with oral fucose. *Blood* 1999;94(12):3976-85.
  17. Hidalgo A, Ma S, Peired AJ, Weiss LA, Cunningham-Rundles C, Frenette PS, Insights into leukocyte adhesion deficiency type 2 from a novel mutation in the GDP-fucose transporter gene. *Blood* 2003;101(5):1705-12.
  18. Sturla L, Puglielli L, Tonetti M, et al., Impairment of the Golgi GDP-L-fucose transport and unresponsiveness to fucose replacement therapy in LAD II patients. *Pediatr Res* 2001;49(4):537-42.
  19. Wopereis S, Lefeber DJ, Morava E, Wevers RA, Mechanisms in protein O-glycan biosynthesis and clinical and molecular aspects of protein O-glycan biosynthesis defects: a review. *Clin Chem* 2006;52(4):574-600.
  20. Krane SM, Pinnell SR, Erbe RW, Lysyl-protocollagen hydroxylase deficiency in fibroblasts from siblings with hydroxylysine-deficient collagen. *Proc Natl Acad Sci* 1972;69(10):2899-903.
  21. Yeowell HN, Walker LC, Farmer B, Heikkinen J, Myllyla R, Mutational analysis of the lysyl hydroxylase 1 gene (PLOD) in six unrelated patients with Ehlers-Danlos syndrome type VI: prenatal exclusion of this disorder in one family. *Hum Mutat* 2000;16(1):90.
  22. Okajima T, Fukumoto S, Furukawa K, Urano T, Molecular basis for the progeroid variant of Ehlers-Danlos syndrome. Identification and characterization of two mutations in galactosyltransferase I gene. *J Biol Chem* 1999;274(41):28841-4.
  23. Seidler DG, Faiyaz-UI-Haque M, Hansen U, et al., Defective glycosylation of decorin and biglycan, altered collagen structure, and abnormal phenotype of the skin fibroblasts of an Ehlers-Danlos syndrome patient carrying the novel Arg270Cys substitution in galactosyltransferase I (beta4GalT-7). *J Mol Med* 2006;84(7):583-94.
  24. Faiyaz-UI-Haque M, Zaidi SH, Al-Ali M, et al., A novel missense mutation in the galactosyltransferase-I (B4GALT7) gene in a family exhibiting facioskeletal anomalies and Ehlers-Danlos syndrome resembling the progeroid type. *Am J Med Genet A* 2004;128(1):39-45.
  25. Lind T, Tufaro F, McCormick C, Lindahl U, Lidholt K, The putative tumor suppressors EXT1 and EXT2 are glycosyltransferases required for the biosynthesis of heparan sulfate. *J Biol Chem*, 1998;273(41):26265-8.
  26. Quentin E, Gladen A, Roden L, Kresse H, A genetic defect in the biosynthesis of dermatan sulfate proteoglycan: galactosyltransferase I deficiency in fibroblasts from a patient with a progeroid syndrome. *Proc Natl Acad Sci* 1990;87(4):1342-6.
  27. Francannet C, Cohen-Tanugi A, Le Merrer M, Munnich A, Bonaventure J, Legeai-Mallet L, Genotype-phenotype correlation in hereditary multiple exostoses. *J Med Genet*, 2001;38(7):430-4.
  28. Ahn J, Ludecke HJ, Lindow S, et al., Cloning of the putative tumour suppressor gene for hereditary multiple exostoses (EXT1). *Nat Genet*, 1995;11(2):137-43.
  29. Philippe C, Porter DE, Emerton ME, Wells DE, Simpson AH, Monaco AP, Mutation screening of the EXT1 and EXT2 genes in patients with hereditary multiple exostoses. *Am J Hum Genet* 1997;61(3):520-8.
  30. Winder SJ, The complexities of dystroglycan. *Trends Biochem Sci* 2001;26(2):118-24.
  31. Moore SA, Saito F, Chen J, et al., Deletion of brain dystroglycan recapitulates aspects of congenital muscular dystrophy. *Nature* 2002;418(6896):422-5.
  32. Guglieri M, Magri F, Comi GP, Molecular etiopathogenesis of limb girdle muscular and congenital muscular dystrophies: boundaries and contiguities. *Clin Chim Acta* 2005;361(1-2):54-79.
  33. Mendell JR, Boue DR, Martin PT, The congenital muscular dystrophies: recent advances and molecular insights. *Pediatr Dev Pathol* 2006;9(6):427-43.
  34. Longman C, Brockington M, Torelli S, et al., Mutations in the human LARGE gene cause MDC1D, a novel form of congenital muscular dystrophy with severe mental retardation and abnormal glycosylation of alpha-dystroglycan. *Hum Mol Genet* 2003;12(21):2853-61.
  35. Endo T, Manya H, Defect in glycosylation that causes muscular dystrophy. *Methods Enzymol* 2006;417:137-52.
  36. Topaz O, Bergman R, Mandel U, et al., Absence of intraepidermal glycosyltransferase ppGalNac-T3 expression in familial tumoral calcinosis. *Am J Dermatopathol* 2005;27(3):211-5.
  37. Topaz O, Shurman DL, Bergman R, et al., Mutations in GALNT3, encoding a protein involved in O-linked glycosylation, cause familial tumoral calcinosis. *Nat Genet* 2004;36(6):579-81.
  38. Martínez-Duncker I, Dupre T, Piller V, et al., Genetic complementation reveals a novel human congenital disorder of glycosylation of type II, due to inactivation of the Golgi CMP-sialic acid transporter. *Blood* 2005;105(7):2671-6.
  39. Sommers LW, Hirschberg CB, Transport of sugar nucleotides into rat liver Golgi. A new Golgi marker activity. *J Biol Chem* 1982;257(18):10811-7.

