



# UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

---

**FACULTAD DE MEDICINA  
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO  
INSTITUTO NACIONAL DE PEDIATRÍA**

**DETECCION DE HIPOGLICOSILACION PROTEICA EN SUBPOBLACIONES  
PEDIATRICAS CON RETRASO SEVERO DEL NEURODESARROLLO SIN  
DIAGNOSTICO ETIOLOGICO QUE TENGAN PROBABILIDAD DE PRESENTAR  
TRASTORNOS CONGENITOS DE LA GLICOSILACIÓN**

**REPORTE DE RESULTADOS DE EVALUACIÓN INICIAL**

**T E S I S**

**PARA OBTENER EL DIPLOMA DE SUBESPECIALIDAD EN:  
NEUROLOGÍA PEDIÁTRICA**

**PRESENTA:  
DR. ROBERTO SANDOVAL PACHECO**

**TUTORES:  
DRA. MATILDE RUÍZ GARCÍA  
DRA. MARCELA VELA AMIEVA  
DRA. GLORIA HERNÁNDEZ ANTÚNEZ**

**MÉXICO, D. F.**

**MARZO 2012**



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

**DETECCION DE HIPOGLICOSILACION PROTEICA EN SUBPOBLACIONES  
PEDIATRICAS CON RETRASO SEVERO DEL NEURODESARROLLO SIN  
DIAGNOSTICO ETIOLOGICO QUE TENGAN PROBABILIDAD DE PRESENTAR  
TRASTORNOS CONGENITOS DE LA GLICOSILACIÓN**

---

DRA. ROSAURA ROSAS VARGAS  
DIRECTORA DE ENSEÑANZA

---

DR. LUIS MARTIN GARRIDO GARCIA  
JEFE DEL DEPARTAMENTO DE PRE Y POSTGRADO

---

DRA. MATILDE RUIZ GARCÍA  
PROFESOR TITULAR DEL CURSO DE  
NEUROLOGÍA PEDIÁTRICA  
TUTOR DE TESIS

---

DRA. MARCELA VELA AMIEVA  
TUTOR DE TESIS

---

DRA. GLORIA HERNÁNDEZ ANTÚNEZ  
TUTOR DE TESIS

## **AGRADECIMIENTOS**

**AI INSTITUTO NACIONAL DE PEDIATRIA, por darme la oportunidad de ser parte de su historia, por formarme como médico y ser humano al servicio de mi país.**

**A mis maestros quienes me motivaron día con día y me llenaron de enseñanzas inigualables durante mi residencia.**

**A mis amigos y compañeros de residencia los cuales durante estos dos años hicieron de mi formación una muy grata experiencia.**

**A lo más importante y a la razón de estar aquí, a todos y cada uno de los niños que me hicieron reír y llorar, a todos los pacientes que son el motor que nos mueve a prepararnos tratando de ser mejores, buscando lo mejor que podemos obsequiarles: Su salud.**

## **DEDICATORIAS**

**A dios que me dio la oportunidad de existir y que me regalo una familia maravillosa**

**A mi esposa Tere y a mis hijos Roberto y Brenda que son los pilares de mi vida en todo momento y que sin su apoyo este logro no hubiera sido posible Gracias.**

**A mi mamá Olimpia y a todos mis hermanos, quienes siempre han infundido en mí, amor, cariño y respeto.**

## INDICE DE CONTENIDO

<b>RESUMEN ESTRUCTURADO</b> .....	4
<b>ANTECEDENTES</b>	
Generalidades.....	6
Los trastornos congénitos de la glicosilación.....	6
Abordaje inicial de laboratorio (Detección de Hipoglicosilación proteica .....	10
Abordaje diagnóstico subsecuente .....	11
Estrategia para la identificación de pacientes con CDG ...	12
<b>PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA</b> .....	15
<b>JUSTIFICACION</b> .....	15
<b>OBJETIVOS</b>	
Objetivo General.....	16
Objetivos Particulares.....	16
<b>METODOLOGIA CLINICA</b>	
Tipo de Estudio .....	16
Criterios de inclusión. ....	16
Criterios de Exclusión.....	17
Bioética Humana.....	17
Tipo de muestras biológicas para la detección de hipoglicosilación proteica .....	17
Envío de muestras al laboratorio de referencia .....	18
<b>METODOLOGIA DE LABORATORIO</b>	
Detección de hipoglicosilación proteica.....	19
Establecimiento del perfil de glicosilación global por HPLC	
<b>CALCULO DEL TAMAÑO DE LA MUESTRA</b> .....	20
<b>ANALISIS DE RESULTADOS</b> .....	21
<b>IMPLEMENTACION DE TRATAMIENTOS</b> .....	21
<b>COSTO DEL ESTUDIO</b> .....	21
Referencias Bibliográficas .....	28
<b>ANEXOS</b>	
Formato de recolección de datos .....	30
Carta de consentimiento informado. ....	34

## DETECCION DE HIPOGLICOSILACION PROTEICA EN SUBPOBLACIONES PEDIATRICAS CON RETRASO SEVERO DEL NEURODESARROLLO SIN DIAGNOSTICO ETIOLOGICO QUE TENGAN PROBABILIDAD DE PRESENTAR TRASTORNOS CONGENITOS DE LA GLICOSILACIÓN

Dra. Matilde Ruiz García <sup>1</sup>, Dra. Blanca Gloria Hernández Antúnez <sup>1</sup>, Dr. Roberto Sandoval Pacheco<sup>2</sup>, Dra. Marcela Vela Amieva<sup>3</sup>, Dr. Iván Martínez Duncker<sup>4</sup>.

Servicio de Neurología <sup>1</sup>, Residente de Neurología Pediátrica <sup>2</sup>, Departamento de Genética de la Nutrición<sup>3</sup>, Facultad de Ciencias Universidad Autónoma del Estado De Morelos<sup>4</sup>, Instituto Nacional de Pediatría. SSA. México.

### RESUMEN ESTRUCTURADO

**Introducción:** El retraso psicomotor severo es un problema de salud pública que afecta el 1-2% de la población mundial, 60% es de etiología no específica. Los trastornos congénitos de la glicosilación (CDG) son un grupo heterogéneo de enfermedades metabólicas que afectan las vías de la glicosilación. Se caracterizan por ser multisistémicas, afectando en la mayoría de los subtipos el desarrollo neurológico por lo que su tamizaje en subpoblaciones pediátricas con retraso psicomotor es indispensable.

**Objetivo:** Identificar a los CDG como etiología en una subpoblación pediátrica con retraso psicomotor severo, de origen no determinado.

**Métodos:** Estudio transversal, epidemiológico, observacional y descriptivo. Incluye 144 pacientes del Servicio de Neurología del Instituto Nacional de Pediatría, menores de 18 años con retraso severo del neurodesarrollo, con o sin anomalías estructurales del cerebro y sin diagnóstico etiológico. Se analizó el perfil de glicosilación de la *N*-glicoproteína sérica transferrina, lo cual fue determinado por isoelectroenfoque (IEF), en aquellas muestras que presentaron un perfil de IEF sugestivo de hipoglicosilación se realizó un análisis estructural de glicanos por ionización por electroespray/espectrometría de masas (ESI/MS) (Departamento de Bioquímica, Clínica Mayo, Rochester, EEUUAA).

**Resultados.** Se identificó un paciente con un perfil de IEF de transferrina sugestivo de hipoglicosilación, lo cual fue confirmado por ESI/MS estableciéndose una prevalencia de 0.7% en la subpoblación pediátrica

tamizada, en la cual además se identificó una correlación positiva entre el inicio de alteraciones en el neurodesarrollo con la gravedad de estas y una correlación negativa con los hallazgos reportados en los estudios de imagen.

**Conclusiones.** La prevalencia de CDG y las características clínicas de nuestra población son similares a las de la literatura, el tamizaje de CDG amerita ser incorporado en pacientes pediátricos con retraso del neurodesarrollo severo.

**Palabras Clave:** trastornos congénitos de la glicosilación (CDG), retraso del neurodesarrollo, hipoglicosilación, fosfomanomutasa.

## **ANTECEDENTES**

### **1. Generalidades**

El retraso psicomotor severo y el retraso mental son problemas de salud pública pues afectan el 1-2% de la población a nivel mundial (1), en México durante el censo 2010 se determinó que existen aproximadamente 500 mil personas con discapacidad mental lo que representa el 0.5% de la población total en nuestro país. Cerca del 60% de estos pacientes no cuentan con un diagnóstico específico, lo cual tiene implicaciones en la comprensión, pronóstico y tratamiento de su condición.

En estos pacientes se ha reportado que la búsqueda de errores innatos del metabolismo da una tasa de diagnóstico del 0.2 al 4.6% y en el caso de la búsqueda de desórdenes congénitos de la glicosilación (CDG), ofrece una tasa del 1.4% (2), por lo que implementar la detección de estas enfermedades en dicho grupo se vislumbra como indispensable.

#### **1.1 Los trastornos congénitos de la glicosilación.**

Los CDG son un grupo de enfermedades metabólicas, mayoritariamente autosómicas recesivas, que afectan la glicosilación, es decir la modificación postraducciona l de proteínas y lípidos con estructuras sacarídicas llamadas glicanos. La glicosilación participa en funciones que van desde el desarrollo embrionario hasta la capacidad metastásica de las células tumorales (3). El proceso de síntesis de los glicanos es esencial para la función del organismo humano, involucra el funcionamiento de al menos 1% del genoma y su afectación resulta en la mayor parte de los casos en enfermedades multisistémicas graves(4,5).La mayoría de los pacientes con CDG presentan afectación del desarrollo neurológico como se describe en la revisión por Martínez Duncker et al. (6)

En 1980 se reportó el primer caso mundial de un CDG afectando la vía de la N-glicosilación por mutaciones en el gen de la fosfomanomutasa 2(7), desde entonces se han descrito más de 50 genes afectados en seres humanos que causan CDG. (Cuadro 1), afectando los dos tipos principales de glicosilación proteica: la de tipo N- (donde una N-acetil-glucosamina (GlcNAc) del glicano se

une al grupo amida (*N*) de determinados residuos de asparagina (Asn)) y la de tipo *O*- (donde 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 han sido reportados en todos los continentes y en España, en un periodo de 8 años (1997-2004), se diagnosticaron 33 pacientes con trastornos congénitos afectando la vía de la *N*-glicosilación (8).

El uso del IEF de la glicoproteína sérica transferrina que utilizamos en este trabajo para detectar CDGs es un método clásico para la detección de trastornos de la vía de la *N*-glicosilación, el subgrupo mayoritario de los CDG. La *N*-glicosilación consiste en la adición de glicanos al grupo amida (*N*) de determinados residuos de asparagina que se encuentran en la secuencia consenso Asparagina-X-Serina/Treonina de las glicoproteínas(9). El IEF de la transferrina sérica permite visualizar las isoformas de transferrina sérica definidas por cambios en su punto isoeléctrico, el cual es principalmente determinado por las dos cadenas de glicanos que presenta, por lo que variaciones estructurales del glicano se manifiestan en la presencia o sobreexpresión de isoformas anormales de transferrina.

Los trastornos de la glicosilación que afectan la *N*-glicosilación y aquellos que presentan afectación mixta (*-N* y *-O glicosilación*), se llaman **CDG**, del acrónimo inglés **C**ongenital **D**isorders of **G**lycosylation. El resto de los trastornos afectando exclusivamente distintos tipos de *O*-glicosilación no han sido aún clasificados. En este proyecto nos centraremos en el diagnóstico molecular de los **CDG**.

En el cuadro 2 se señalan las características clínicas principales de los CDG, distinguiendo entre aquellos que cursan con (A) y sin (B) retraso psicomotor. Se puede observar que estos trastornos presentan afectación variable de diversos sistemas incluyendo el nervioso central, músculo-esquelético, gastrointestinal, hematológico, inmune y tegumentario.

En este estudio implementaremos una estrategia selectiva para identificar CDGs en pacientes con retraso en el neurodesarrollo en vista de que la mayor

parte de los CDGs cursa con esta característica, junto con dismorfia y falla de medro.

TRASTORNO	GEN	PROTEÍNA	OMIM
<b>N-glicanos</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
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-Ila	<i>MGAT2</i>	GlcNAcT-II	212066
CDG-IIb	<i>GLS1</i>	Glucosidasa I	606056
CDG-IId	<i>B4GALT1</i>	β1,4-galactosiltransferasa	607091
<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>COG8</i>	Complejo COG, subunidad 8	606979
<b>O-galactosil glicanos</b>			
Ehlers-Danlos VIa	<i>PLOD</i>	Lisil-hidroxilasa 1	225400
<b>O-xilosil glicanos</b>			
Ehlers-Danlos progeroide	<i>B4GALT7</i>	Xilosil-proteína-4-β-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-manosil glicanos</b>			
SWW	<i>POMT1/2</i>	O-manosiltransferasa	607423
LGMD2K	<i>POMT1</i>	id.	609308
MEB	<i>POMGnT1</i>	β1,2-N-acetil-glucosaminiltransferasa	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 β1,3-N-acetil-glucoaminiltransferasa	603590
hIBM	<i>GNE</i>	UDP-GlcNAc 2 epimerasa/N-acetil-manosamina cinasa	600737
DMRV	id.	id.	605820
<b>O-N-acetil-galactosaminil glicanos</b>			
HFTC	<i>GALNT3</i>	O-GlcNAc transferasa	601756
HHS	id.	id.	211900
<b>Defectos de la sialilación de O-glicanos</b>			
CDG-IIf	<i>SLC35A1</i>	Transportador de CMP-NeuAc	603585

**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.

Existen dos tipos de glicosilación proteica que se llevan a cabo en los seres humanos: la enzimática y la no enzimática. La glicosilación no enzimática consiste en una serie de reacciones químicas entre el grupo carbonilo de un carbohidrato y el grupo amino de un aminoácido, esta modificación ha sido observada en proteínas dentro de un contexto de enfermedades degenerativas crónicas como la diabetes y la insuficiencia renal crónica (6,10). Por otra parte, la glicosilación enzimática, en la cual se circunscribe este proyecto, es una modificación esencial de múltiples proteínas que consiste en la unión covalente, mediada por enzimas, de oligosacáridos complejos también llamados glicanos. A diferencia de la glicosilación no enzimática, esta glicosilación participa en el correcto plegamiento de las proteínas, así como en su función, al formar parte del sitio activo e incluso como elemento regulador de la interacción proteína-receptor.

### ***1.2.1 Abordaje inicial de laboratorio (detección de hipoglicosilación proteica).***

Se debe descartar un CDG frente a toda enfermedad congénita multisistémica inexplicada, especialmente aquellas con anomalías afectando al sistema nervioso central ya que la mayor parte de los CDG presentan alguna alteración a este nivel.

El proceso de diagnóstico molecular frente a un posible CDG se inicia realizando estudios para determinar el estado de glicosilación de las glicoproteínas séricas (*N*- y *O*-). Los estudios iniciales más utilizados para determinar una hipoglicosilación proteica son aquellos basados en las técnicas de migración de proteínas séricas que permiten identificar, a través del uso de anticuerpos, isoformas proteicas anormales de *N*- y *O*-glicoproteínas. En el caso de la **técnica de Western Blot (WB)**, se identifican isoformas de bajo peso molecular debido a una reducción de su contenido glicánico. En el caso de la **técnica de isoelectroenfoque o isofocalización eléctrica (IEF)**, se identifican isoformas proteicas con tendencia catódica 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, se encuentra ausente cuando hay defectos en la síntesis de los glicanos. Recientemente se ha utilizado un kit llamado CDT Assay (Bio-Rad) que permite evaluar rápidamente la presencia de hipoglicosilación de la transferrina (*N*-glicosilación) por lo que su uso es muy útil en la detección de CDGs, sin embargo este kit no está disponible en México.

Debido a la presencia de CDG mixtos (afectación tanto de la *N*- como la *O*-glicosilación) se recomienda que, frente a toda sospecha clínica de CDG, se realice un análisis de glicosilación que considere al menos una *N*-glicoproteína y una *O*-glicoproteína (4). Las *N*-glicoproteínas comúnmente estudiadas son la transferrina, la 1-anti-tripsina y la haptoglobina, la *O*-glicoproteína comúnmente estudiada es la apolipoproteína-C-III (ApoCIII)(12).

En el caso de trastornos congénitos que afecten exclusivamente la *O*-glicosilación únicamente se debe recurrir a la identificación de hipoglicosilación de la proteína en cuestión o en su caso la secuenciación del gen respectivo de la enzima que se sospeche esta deficiente.

### **1.2.2 Abordaje diagnóstico subsecuente.**

Si se identifica una hipoglicosilación exclusiva de *N*-glicanos se sugiere descartar los CDG más frecuentes, el CDG-Ia y Ib. Si el paciente cursa con desarrollo psicomotor normal y síntomas gastrointestinales se opta por realizar el análisis enzimático de la fosfomano isomerasa (PMI) a fin de confirmar un CDG-Ib, en caso de que presente afectación psicomotora se estudia la actividad de la fosfomano mutasa (PMM) para confirmar un CDG-Ia. La disfunción enzimática de PMM ó PMI debe ser confirmada por la identificación de mutaciones de pérdida de función en el gen respectivo. En caso de que se descarten anomalías enzimáticas de PMM ó PMI y se mantenga una sospecha clínica de CDG, se procede a identificar el paso de síntesis afectado determinando la composición de los glicanos a través del análisis estructural de las glicoproteínas, esto se puede realizar por cromatografía líquida de alta presión (HPLC) o espectroscopia de masa, ello permite establecer, en la mayor parte de los casos, el paso de la vía de síntesis que se encuentra afectado debido a una acumulación del oligosacárido previo al paso bloqueado. Una vez

identificado éste, se procede a elaborar un ensayo que mida la actividad de la proteína sospechosa y/o secuenciar el gen respectivo a fin de 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 (¿CDGIIc?, ¿defectos del COG?), en caso de identificar mutaciones se debe confirmar que éstas sean causantes de una disfunción enzimática. Existe una base de datos de mutaciones reportadas en pacientes afectados por CDG disponible en: <http://www.euroglycanet.org/>.

### ***1.2.3 Estrategia para la identificación de pacientes con CDG.***

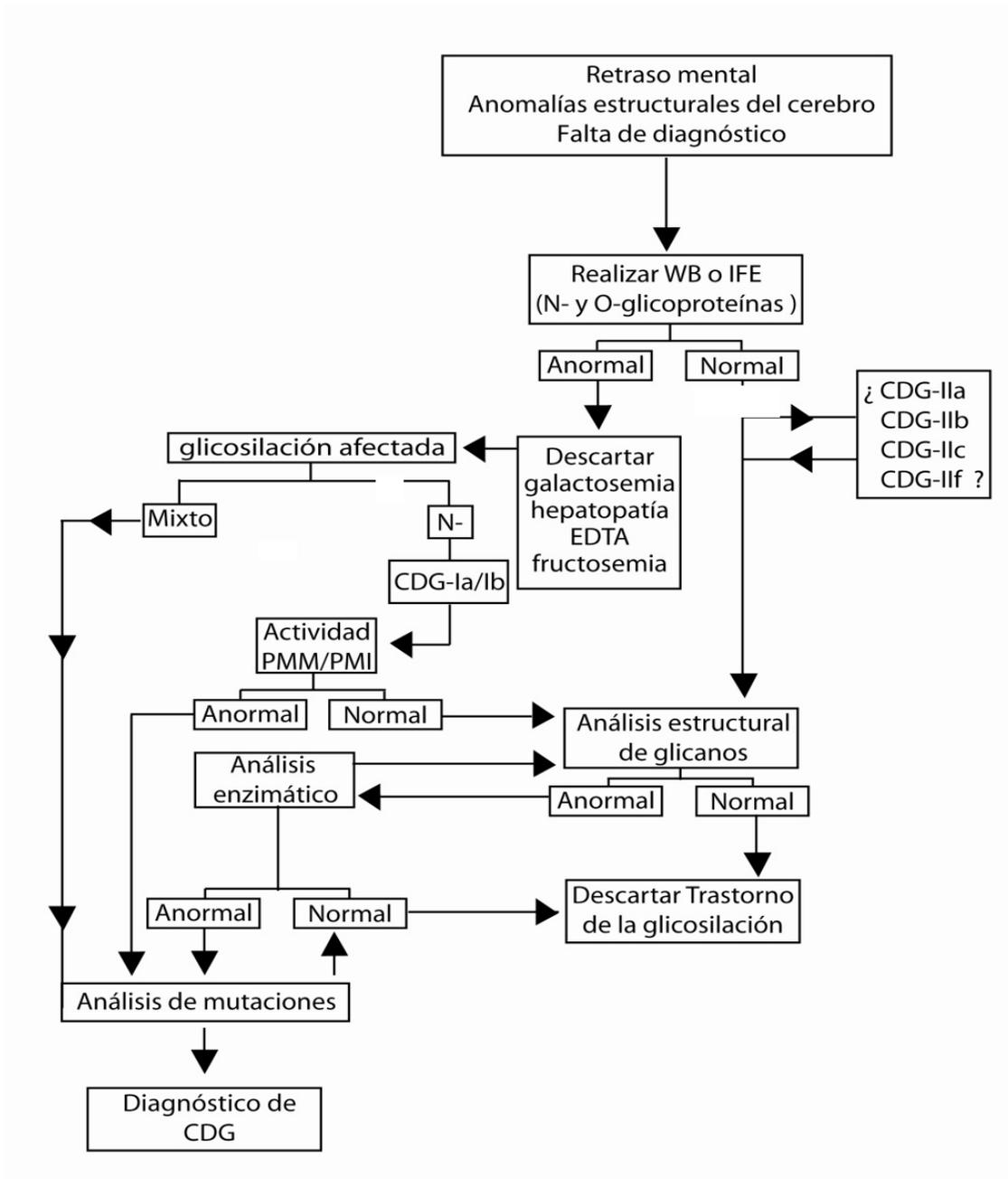
Recientemente se ha reportado una estrategia clínica dirigida para identificar CDGs (1). La estrategia consiste en realizar estudios para identificar hipoglicosilación proteica en todo niño que presente: retraso mental, anomalías estructurales del cerebro y no cuente con un diagnóstico molecular.

Esta estrategia en Italia permitió identificar 2 CDG de tipo 1-A de 168 pacientes con dichas características en los cuales se realizaron pruebas de hipoglicosilación proteica. Es nuestra intención establecer una estrategia similar para obtener muestras biológicas de niños con dichas características a fin de detectar posibles enfermos con trastornos congénitos de la glicosilación, activando un protocolo de referencia en el servicio de neurología del INP y de acuerdo a los protocolos de diagnóstico anteriormente señalados, ver figura 1.

**Cuadro 2. Cuadros clínicos de los trastornos de la glicosilación que afectan la síntesis de los N-glicanos (CDG) y los de tipo mixto.** CDG con (A) y sin (B) retraso mental. CD15s, antígeno CD15 sialilado; CK, creatinina 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.

CDG	la	lc	ld	le	lf	lg	li	lj	lk	lL	lla	llb	llc	lld	lle	llg	llh
Retraso psicomotor	+→+++	+/++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	-/+++	-/+++	+++	+	+	+	++
Retraso del desarrollo	+	+	+	++	+	++	+	+	++	+	+	+	+	+	+	++	++
Convulsiones	-→++	-→+++	+++	+++	++	+	+	+++	+++	++	+++	+++	+	++	++	-/+	-
Hipotonía	+++	+	+	+	-	+	-	++	+	+	++	++	+	++	+++	+++	++
Estrabismo	+++	++	-	-	-	-	-	Esotropía	-	-	-	-	-	-	-	-	Esotropía
Retinopatía	++	++	-	-	++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Hipoplasia cerebelosa	+++	-	-	-/+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
Dismorfia	-→+++	-/+	-/+	+	+	+	+	+++	+	+	++	+++	+++	-	+++	++	+
Hepatopatía	+++	+	+	+	-	-	+	-	-	+	-	+++	-	++	+++	++	++
Coagulopatía	+/+++	+++	+	+	-	+	+	-	++	-	+++	++	-	+++	++	-	++
Enteropatía	-/+	-/+	-	-	-	-	-	-	-	-	-/+	-	-	-	-	-	-
Microcefalia	-	-	+	+	-	+	-	+	+	-	-	-	+	-	+	+	+
Otros	Neuropatía periférica, patología endocrina, cardiomiopatía, osteopenia	Infección, patología endocrina	Atrofia n.óptico	Ceguera cortical, MT	Ictiosis, enanismo vómito	Insuf.Resp., Hipogonadismo, IgG baja, Infecciones ORL	Coloboma cataratas, nistagmo, MT	Micrognatia	Hipogonadismo cortical, Atrofia cerebral	Macrocefalia, Enf.Renal quística Asma bronquial Atrofia cerebral	Estereotípias, Infección		LADII, Bombay	Hidrocefalia Mio-patía CK ↑	Fiebre, Epifisis ausente Asfixia MT	Atrofia cerebral	Encefalopatía, PFAPA

CDG	lb	lh	llf
Convulsiones	+/-	-	-
Retraso del desarrollo	-	-	-
Hipotonía	-	+	-
Dismorfia	-	+	-
Hepatopatía	+++	++	-
Coagulopatía	+/+++	++	+++
Enteropatía	+++	+++	-
Otros	Hipoglicemia, vómitos, diarrea	Falla renal	Infecciones, Neutropenia, Macro-trombocitopenia CD15s ↓



**Fig. 1 Flujograma**

## **PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

Los CDG son en general enfermedades multisistémicas caracterizadas por un espectro amplio de síntomas que incluye retraso mental, retraso grave del desarrollo, anomalías estructurales en el sistema nervioso central, defectos cardíacos, malformaciones, alteraciones hormonales, problemas de coagulación y neuropatías periféricas. Los CDG tienen una morbilidad alta y una mortalidad importante. Todos ellos tienen una herencia autosómica recesiva.

El proyecto aquí presentado tiene como objetivo la identificación de estos trastornos en la población pediátrica mexicana utilizando una estrategia clínica que permita seleccionar a los pacientes con alta probabilidad de presentar un trastorno congénito de la glicosilación y realizar estudios especializados para iniciar el proceso diagnóstico, sobre todo en los pacientes que presentan retraso psicomotor severo, ya que se estima que del 50 al 75% de los casos no tienen una etiología específica.

La presentación clínica de estos defectos es muy variable y, por tanto, debe seleccionarse para diagnóstico diferencial de CDG a cualquier paciente con enfermedad multisistémica inexplicable.

## **JUSTIFICACION**

Las enfermedades genéticas que afectan a la biosíntesis de las glicoproteínas, constituyen un grupo de enfermedades en expansión creciente. La identificación de este tipo de defectos entre pacientes con CDG abre un campo de estudio muy importante en la glicobiología de los errores innatos del metabolismo.

Los CDG tienen una morbilidad alta y una mortalidad importante. Es importante resaltar que para varios de los defectos identificados se conocen sólo uno o muy pocos pacientes.

No existe información en nuestro conocimiento de la identificación de los trastornos congénitos de la glicosilación en población mexicana.

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo General**

Detectar pacientes pediátricos con posibles trastornos congénitos de la glicosilación en pacientes con retraso psicomotor, anomalías estructurales del cerebro y que no cuenten con un diagnóstico molecular.

### **2.2. Objetivos particulares**

1. Identificar en pacientes con retraso mental y del desarrollo la presencia de CDG.
2. Identificar en pacientes con anomalías estructurales del cerebro la presencia de CDG.

## **MATERIAL Y METODO**

### ***Diseño y Tipo de estudio:***

Nuestro diseño de estudio fue concebido como un estudio transversal, observacional, prolectivo, prospectivo.

### ***Características de la población de estudio:***

#### ***POBLACION***

- 1. Población Objetivo:** Niños de 1 mes a 18 años de edad con retraso psicomotor o anomalías estructurales del cerebro sin diagnóstico establecido.
- 2. Población Elegible:** Pacientes atendidos en los servicios de consulta externa de Pediatría y de Subespecialidades del INP en el período comprendido en una primera etapa del 1º de diciembre del 2008 al 28 de febrero del 2011.

#### ***CRITERIOS DE SELECCION***

##### ***Criterios de inclusión:***

1. Sujetos con edad de 1 mes a 18 años de edad.
2. Niños y niñas.
3. Todo paciente pediátrico que presente retraso psicomotor y retraso mental con anomalías estructurales del cerebro y que no cuente con un diagnóstico molecular.

### ***Criterios de exclusión:***

1. Pacientes que cuenten con un diagnóstico molecular establecido.

### ***Criterios de eliminación***

1. Que el niño(a) abandone el seguimiento clínico neurológico.
2. Transfusión de derivados sanguíneo en los treinta días previos.
3. Paciente con consumo de alcohol dos meses previos.
4. Pacientes que cursen o hayan padecido hepatitis.
5. Pacientes cuyas pruebas metabólicas de tamiz indiquen la presencia de un error innato del metabolismo de los aminoácidos, ácidos orgánicos o acilcarnitinas.

### **Descripción del método**

Se incluirán en el estudio todos aquellos pacientes que sean atendidos en el Servicio de Neurología y Clínica de Epilepsia así como en las consultas de pediatría y Subespecialidad del Instituto Nacional de Pediatría, en el período señalado y que cumplan con los criterios de selección referidos previamente. Previo consentimiento informado, a la llegada del paciente se procederá a recolectar las siguientes muestras biológicas:

A) Dos papeles filtro con 6 gotas de sangre cada uno, para la prueba de tamiz metabólico para acilcarnitinas y aminoácidos.

Estas muestras serán entregadas en el 9º piso de la Torre de Investigación, para que se realice estudio de cuantificación de aminoácidos y de acilcarnitinas mediante espectrometría de masas en tándem (MS/MS).

Si se encuentra alguna alteración en dichos análisis, se procederá a solicitar una muestra de orina para perfil de ácidos orgánicos urinarios.

Los pacientes cuyos resultados metabólicos señalen la presencia específica de un error del metabolismo de los aminoácidos o alguna academia orgánica, serán excluidos del estudio.

Se recolectaron de cada paciente incluido en este estudio las siguientes muestras biológicas por venopunción y de acuerdo a los protocolos de higiene y seguridad establecidos en condiciones de esterilidad:

1) Un tubo que conteniendo al menos 1 ml de suero.

La muestra se centrifugó a 3000 RPM por quince minutos, para posteriormente extraer el suero.

2) Un tubo que con al menos 1 ml de plasma sin EDTA.

Inmediatamente después de su obtención, las muestras se almacenaron a  $-70^{\circ}\text{C}$  o sólo refrigeradas a  $3-4^{\circ}\text{C}$  por un período no mayor a 24 horas, después del cual se congelaron a  $-70^{\circ}\text{C}$ . Las muestras se rotularon con un número (al que sólo el investigador principal tenía acceso) para asegurar la confidencialidad de los datos de identificación del paciente, acompañadas del formulario incluido como Anexo 2.

### ***Envío de muestras al laboratorio de Referencia.***

El laboratorio de referencia fue el de Glicobiología de la Facultad de Ciencias de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos. Las muestras fueron recogidas en el Instituto Nacional de Pediatría por el Investigador Responsable (Dr. Iván Martínez Duncker R.) y transportadas al laboratorio de referencia bajo condiciones óptimas de preservación, sin perder la cadena de frío. La frecuencia de envíos dependió del número de muestras disponibles y acordado entre el investigador responsable y la jefatura del servicio de Neurología del INP. Se elaboró un documento (cadena de custodia) que detallaba el número y datos de las muestras que se enviaban, firmada por el responsable del laboratorio que entrega y por el investigador principal que recibe o quien el designe.

### **Métodos**

Se capturaron a través de la consulta externa del servicio de Neurología y Clínica de Epilepsia, así como también a través de la base de datos de diagnóstico, realizando llamadas telefónicas para invitarlos a participar explicándoles los beneficios que brindaba el ser incluido en el proyecto.

### ***Metodología de Laboratorio***

Una vez que las muestras estaban disponibles en el laboratorio de referencia estas fueron sometidas a distintos estudios cuyo objetivo fué determinar la presencia de hipoglicosilación proteica.

### ***Detección de hipoglicosilación proteica.***

Se realizaron pruebas de Western Blot e Isofocalización eléctrica para evidenciar una hipoglicosilación de la transferrina (*N*-glicosilación) y de la apolipoproteína-C-III (*O*-glicosilación), en caso de ser necesario se incluirían al análisis otras glicoproteínas de interés.

En aquellas muestras en donde se detecto hipoglicosilación proteica en comparación con muestras control, por cualquiera de los métodos antes mencionados, se sometieron a un análisis estructural de glicanos por HPLC.

### ***Establecimiento del perfil de glicosilación global por HPLC en muestras hipoglicosiladas.***

Se deglicosaron las glicoproteínas séricas utilizando hidrólisis enzimática mediada por PNGasa F (Calbiochem), posteriormente se marcaron los oligosacáridos en su extremo reductor con 2-aminobenzamida (Prozyme). Se utilizó un sistema cromatográfico de Waters con detector de fluorescencia a una longitud de onda de excitación de 330 nm y de emisión de 420 nm (Serrato et al., 2004). Los oligosacáridos fueron separados por HPLC por dos técnicas distintas (Nakagawa et al., 1995): 1. Intercambio aniónico débil. Se utilizó una columna de DEAE TSK-Gel (7.5 mmx7.5 cm, 10 µm, TOSH Bioscience). Como fases móviles se utilizó formato de amonio pH 9 y agua en un gradiente lineal. 2. Fase normal. Se utilizó una columna TSK-Gel amido-80 (Tosoh Bio Sciences) con formato de amonio 250 mM pH 4 y acetonitrilo como fases móviles. Utilizando un homopolímero de glucosa se asignó unidades de glucosa a los tiempos de elusión. Las estructuras fueron propuestas para cada tipo de la cromatografía, basándonos en su migración en unidades de glucosa y la susceptibilidad a las digestiones individuales por exoglicosidasas ( -

manosidasa,  $\square$  -galactosidasa,  $\square$  -N-acetilglucosaminidasa,  $\square$  -fucosidasa y sialidasa I , Prozyme) (Serrato, Palomares et al. 2004).

### **Cálculo de tamaño de muestra**

Considerando que se trata de un estudio transversal, hemos utilizado la fórmula propuesta por Lemeshow.

$$n = \frac{Z_{1-\alpha/2}^2 P(1-P)}{d^2}$$

$$Z_{1-\alpha/2} = 1.96$$

$$P = 3\%$$

$$d = 50$$

$Z_{1-\alpha/2}$  = Es el valor asociado al error tipo I.

P = Es la proporción de la población con la característica

d = Es el porcentaje de la proporción que esperamos identificar.

$$n = 497 \approx 500$$

En virtud de que las muestras obtenidas de los sujetos pueden ser inadecuadas para el procedimiento por: insuficiencia, contaminación, hemólisis, etc., se incrementará la muestra en 20% :

$$n = 600$$

### **Análisis de resultados.**

La información obtenida se analizó a través de una base de datos diseñada para los fines del estudio a través del programa Excel para Windows. Se efectuó análisis univariado de todas las variables mediante medidas de tendencia central y dispersión con cálculo de promedio y desviación estándar para variables numéricas con distribución Gaussiana y mediante medianas, mínimos y máximos para variables numéricas con distribución sesgada. Las variables categóricas se describirán mediante porcentajes. Se efectuó

comparación de las variables y el retraso del neurodesarrollo por medio de coeficiente de correlación de Pearson.

### **Reporte de Resultados**

Se reporto a la jefatura del Servicio de Neurología y al Laboratorio de trastornos metabólicos los resultados de los análisis realizados con los datos experimentales pertinentes así como cualquier indicación que permitiera circunscribir el posible diagnóstico molecular, así mismo se solicito, en caso de ser necesario, materiales biológicos (sangre, biopsias, etc.) que se requirieran en caso de que se deseara proseguir al diagnóstico molecular final, previo informe al familiar y obtención del consentimiento. El tiempo promedio entre la entrega de muestras y el reporte de resultados fue de 1 mes.

### **Implementación de tratamientos.**

En caso de realizar un diagnóstico de CDG se ofrecería asesoría experta a los médicos tratantes para implementar el tratamiento sustitutivo en caso de haberlo.

### **Bioética humana**

La obtención de muestras biológicas necesarias para la determinación de hipoglicosilación proteica fue realizada bajo el consentimiento informado de los padres y en respeto a las leyes y normas vigentes establecidas en la Ley General de Salud y el Reglamento de la L.G.S. en Materia de Investigación así como acatando los estándares bioéticos internacionales. El comité de Ética del Instituto Nacional de Pediatría fijo los requerimientos necesarios para la realización de este protocolo.

### **Costo del estudio y publicación de resultados.**

Ninguna parte involucrada en el diagnóstico molecular de estos trastornos recibió alguna remuneración por los estudios requeridos para establecer la hipoglicosilación proteica ni por aquellos estudios que se requirieron realizar para establecer un diagnóstico molecular final. Las publicaciones o conferencias que sean realizados utilizando resultados derivados de este

protocolo serán previamente acordados entre el investigador principal y los investigadores asociados.

## **RESULTADOS**

Se estudió una población de 144 pacientes, durante el período comprendido entre diciembre del 2008 a febrero 2011, en el servicio de Neurología Pediátrica del Instituto Nacional de Pediatría, durante el estudio se excluyeron a 3 por diagnóstico etiológico realizado en el curso del estudio (Síndrome de Hallervorden–Spatz, aminoacidopatía y cromosomopatía) el análisis final fue realizado con 141 pacientes.

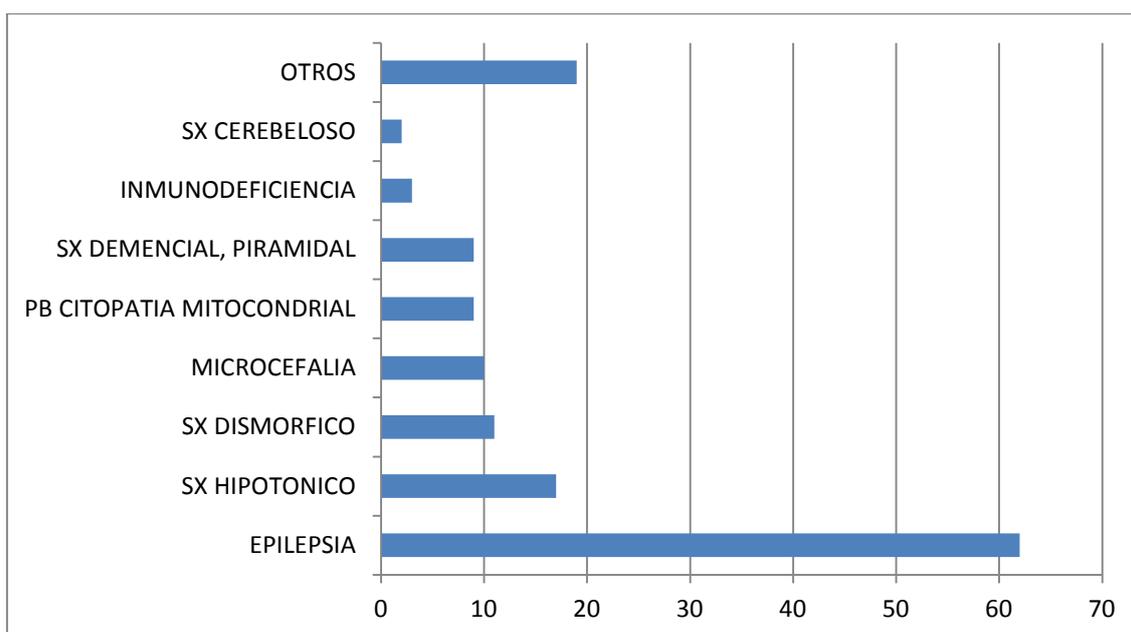
Del total de la muestra 48.3% eran del sexo masculino. La edad a la evaluación de los pacientes estuvo comprendida entre 4 meses a 219 meses.

Se buscaron características en cuanto al fenotipo general de los pacientes encontrando: 68 pacientes tenían microcefalia y 6 macrocránea; 55 tenían dismorfias menores que no correspondía algún diagnóstico sindromático, 19 contaban con antecedente de ictericia neonatal y 10 con pezones invertidos, ningún paciente presentó acumulación de grasa glútea anormal.

Se identificó un paciente que presentaba un IEF de transferrina sugestivo de hipoglicosilación, lo que definió una prevalencia de 0.7% para CDG primario. El tipo de CDG que se encontró fue de tipo II, indicando que el defecto de la glicosilación se encuentra en el compartimento del aparato de Golgi.

El paciente con CDG es un masculino de 4 años de edad con microcefalia y dismorfias como frente estrecha, hipertriosis, epicanto, puente nasal ancho y deprimido, narinas antevertidas, labios gruesos, disquinesias faciales y orolinguales además de hipotonía generalizada, epilepsia parcial compleja, retraso global del neurodesarrollo y neumopatía crónica. El estudio de tamiz metabólico ampliado fue normal, la tomografía axial computada cerebral mostró atrofia leve generalizada de predominio en hemisferio izquierdo no específica, el electroencefalograma mostro fue paroxismos focales temporales izquierdos y los potenciales evocados auditivos y visuales se encontraron normales.

Grafica No. 1 Diagnósticos de inclusión.



<sup>1</sup> FUENTE: Hoja de recolección de datos. 2011

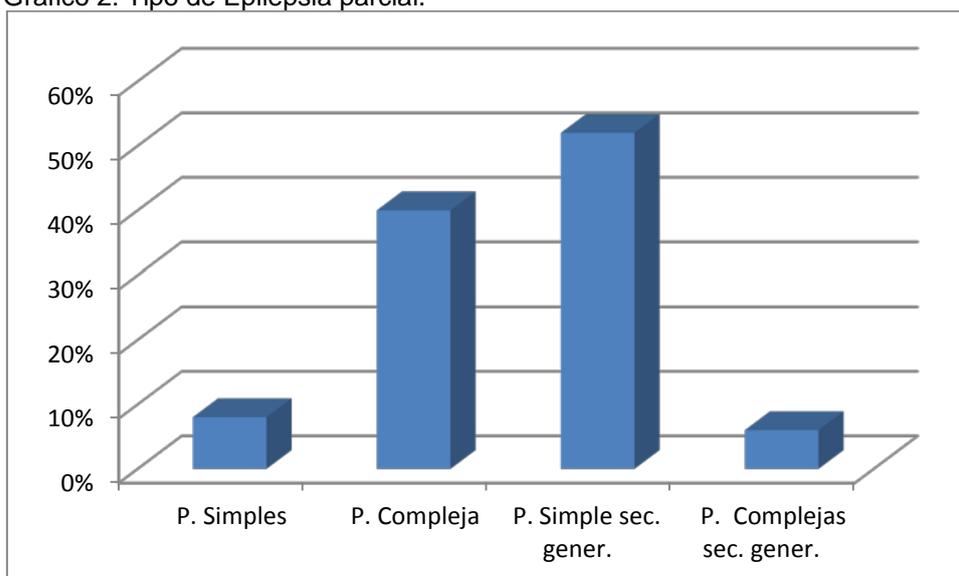
Los diagnósticos de inclusión al estudio fueron los que se muestran en el Grafico 1: el más frecuente 62 pacientes (43.9%) presentaban epilepsia como diagnóstico principal.

De las alteraciones clínicas del sistema nervioso: 100% presentaron retraso del neurodesarrollo, 40% espasticidad, 60% hipotonía y el 14% ambas anormalidades. Otras alteraciones neurológicas fueron neuropatía periférica en 16% y 10% tuvieron síndrome extrapiramidal. Las crisis convulsivas se detectaron en el 51%. El tipo de crisis se describe en la cuadro 1.

**Cuadro No. 1 Tipo de Crisis**

TIPO DE CRISIS	N(%)
Parciales	61(42)
Parciales simples	5(3)
Parciales complejas	24(16)
Parciales secundarias generalizadas	32(22)
Complejas, secundarias generalizadas	4(3)
Generalizadas	29(20)

Grafico 2: Tipo de Epilepsia parcial.



Las *alteraciones oftalmológicas* fueron poco frecuentes destacan: retinitis pigmentosa 2%, y estrabismo 11%.

Las *anomalías cardíacas* fueron aisladas, 13 de los 141 pacientes lo presentaron. De las *alteraciones gastrointestinales*, el vómito se presentó en 25 pacientes. Diarrea o enzimas hepáticas alteradas solo 2 pacientes lo presentaron; hepatomegalia y fibrosis hepática 3 pacientes y solo 1 paciente con esplenomegalia.

Dentro de las características inmunohematológicas de este grupo de pacientes únicamente las infecciones del sistema respiratorio fueron las más frecuentes con un 31%, la trombosis sólo en un 2% y fiebre recurrente en 1%.

A nivel genético, se explican las anomalías encontradas en la cuadro 2.

**Cuadro No. 2 Hallazgos con correlacion genética**

ALTERACIONES	N(%)
Anomalías cromosómicas	1(0.7)
Consanguinidad	12(8)
Familiares con cuadro similar	33(23)
Muertes tempranas(<6meses)	18(12)
Historia de abortos	21(14)

**Cuadro No. 3 Anomalías estructurales cerebrales en estudios de imagen.**

ANOMALÍA ESTRUCTURAL	TAC-IRM N(%)
Normal	30(23)
Atrofia generalizada	65(49)
Lesiones clásticas	5(4)
Desmielinización	11(8)
Lisencefalia	0(0)
Paquigiria	2(1)
Alteraciones del cuerpo caloso	11 (8)
Displasia compleja	8(6)
Alteraciones en ganglios basales	4(3)

Sólo 50 pacientes contaban con tamiz ampliado, 1/50 el resultado fue anormal específico para aminoacidopatía.

Se analizaron los estudios de gabinete, se encontró que 91% contaban con un estudio de imagen, de estos el 52% tenían TAC de encéfalo, 73% imagen de resonancia magnética cerebral y 29% contaban con ambos estudios. Las anomalías estructurales encontradas se resumen en la cuadro No. 3 Existe coeficiente de correlación negativa de -0.49 en los hallazgos encontrados.

Los estudios de neurofisiología fueron los siguientes.

**Cuadro No.4 Estudios de neurofisiología**

ESTUDIO	N(%)
EEG	88(61)
PEATC	70(48)
PEV	46(32)
PESS	21(14)
VCN	24(16)

A su vez los resultados de EEG se encontraron de la siguiente forma:

**Cuadro No. 4 Características del EEG**

EEG	N(%)
Normal	15(17)
Encefalopatía difusa no paroxística	24(27)
Paroxístico focal	12(13)
Paroxístico multifocal	31(35)
Paroxístico generalizado	6(7)

Con respecto a los resultados para detección de CDG, se obtuvieron dos positivos, uno de ellos se trata de un trastorno primario de la glicosilación proteica y el segundo asociado a Síndrome de Hallervorden–Spatz. Teniendo un prevalencia de 1.4% para este grupo de pacientes.

Se encontró una  $r$  de Pearson de +0.96 para la correlación entre la edad del inicio de los síntomas y de la valoración del desarrollo neurológico con la escala de Denver al momento de la evaluación

## **DISCUSIÓN Y ANÁLISIS**

Las características clínicas presentes en los CDG permiten sospechar la posibilidad de padecer alguna de estas alteraciones, ya que estos habitualmente tienen una afección multisistémica inexplicable, donde el retraso severo del neurodesarrollo es constante, debido a ello este fue el principal criterio de inclusión diagnóstica.

No existen estudios previos en México respecto a la prevalencia de este grupo de patologías de ahí la importancia de los resultados que reportamos.

La prevalencia de los CDG en este estudio es de  $7 \times 1000$ , lo que comparado con los reportes de otros países como Italia, en la que se han detectado 2 pacientes en 168 estudiados ( $11 \times 1000$ ) (1) y en un estudio realizado en España y Portugal ( $6 \times 1000$ ), es similar (13). Lo anterior pone de manifiesto la importancia que tiene en nuestro país la identificación de esta patología, ya que en esta muestra la tasa es equiparable al resto del mundo.

Contamos con una gran cantidad de pacientes con características clínicas sugestivos de CDG, por lo que es útil realizar la determinación en pacientes que no cuentan con un diagnóstico etiológico.

En los pacientes identificados con CDG en esta muestra, no hay antecedentes de consanguinidad o endogamia, así como tampoco antecedentes heredofamiliares POSITIVOS o de cuadros similares. Es deseable el estudio molecular en búsqueda de las mutaciones responsables

específicas en nuestro paciente positivo para CDG primaria a fin de establecer el subtipo de alteración que presenta.

Los estudios publicados internacionalmente (Italia, España y Portugal), reportan características clínicas de los pacientes con CDG (retraso del neurodesarrollo, epilepsia, talla baja, dismorfias, etc.) que son similares a las que nuestros pacientes presentaron.

Al realizar el coeficiente de correlación de Pearson entre las diferentes variables y el retraso del neurodesarrollo solo se encontró positiva en el grado de retraso y el inicio de los síntomas, lo que nos indica claramente que a menor edad de detección son mayores los datos de retraso psicomotor.

Un coeficiente negativo a resaltar es el hallazgo en los estudios de imagen que se encuentra cercano a - 1 interpretándose que no existe un patrón por imagen que nos sugiera el grado de retraso psicomotor o del neurodesarrollo que presentan los pacientes, hecho ya reportado en otras series a nivel mundial.

El resto de variables: hipotonía, micro o macrocefalia, piramidalismo o enfermedades asociadas no tienen una correlación con el retraso psicomotor lo que nos habla de el amplio espectro de posibilidades clínicas que se encuentran en estos pacientes.

Dada la tasa prevalente identificada, es necesario que el pediatra o el médico de primer contacto con los pacientes portadores de características clínicas mencionadas pueda descartar esta patología, pues la morbimortalidad asociada a la CDG es elevada.

Cabe resaltar que la positividad del paciente con síndrome de Haller Vorden Spatz pudiera ser explicada por la alteración que presentan estos pacientes en la cinética del hierro entre esta, la transferrina que una de las proteínas utilizadas para determinar la hipoglicosilación, pero este apartado requerirá confirmaciones posteriores.

## CONCLUSIONES

1. Las características clínicas relacionadas a los trastornos congénitos de la glicosilación reportadas en la literatura internacional son similares a las que presenta nuestro paciente detectado con CDG.
2. Se determinó una prevalencia del 0.7%, (1 de 141) del grupo de pacientes estudiado misma que es similar a la reportada en las publicaciones internacionales.
3. Es importante realizar estudios multicéntricos con el fin de establecer una prevalencia a nivel nacional.
4. Se deberá ofrecer la detección de CDG a todo aquel paciente con retraso del neurodesarrollo y/o con alteraciones sistémicas que no cuenten con un diagnóstico etiológico.
5. No existe un patrón de presentación clínico específico en pacientes con retraso psicomotor y/o del neurodesarrollo lo que dificulta el llegar a un diagnóstico etiológico preciso.

## REFERENCIAS

- 1 Shevell MR, Sherr E. Global developmental delay and mental retardation. In: Swaiman K, Ashwal S, Ferreira D, editors. Pediatric neurology: principles and practice. 4th edition. Philadelphia: Mosby Elsevier; 2006. p. 799–820.
- 2 Serrato, J. A., L. A. Palomares, et al. (2004). "Heterogeneous conditions in dissolved oxygen affect N-glycosylation but not productivity of a monoclonal antibody in hybridoma cultures." BiotechnolBioeng**88**(2): 176-88.
- 3 Henle, T. and T. Miyata (2003). "Advanced glycation end products in uremia." AdvRen Replace Ther**10**(4): 321-31.
- 4 Biffi, S., G. Tamaro, et al. (2007). "Carbohydrate-deficient transferrin (CDT) as a biochemical tool for the screening of congenital disorders of glycosylation (CDGs)." ClinBiochem**40**(18): 1431-4.

- 5 Kanagawa, M. and T. Toda (2006). "The genetic and molecular basis of muscular dystrophy: roles of cell-matrix linkage in the pathogenesis." J HumGenet.
- 6 I. Martinez Duncker, C. Asteggiano and H. H. Freze, Glycans:Biochemistry, Characterization and Applications ISBN: 978-1-61942-241-5. Chapter III Congenital Disorders of Glycosylation, Editor: Hector Manuel Mora-Montes, pp.59-81 2012 Nova Science Publishers, Inc.
- 7 Eklund, E. A. and H. H. Freeze (2006). "The congenital disorders of glycosylation: a multifaceted group of syndromes." NeuroRx3(2): 254-63.
- 8 Bohne, A. and C. W. von der Lieth (2002). "Glycosylation of proteins: a computer based method for the rapid exploration of conformational space of N-glycans." Pac SympBiocomput: 285-96.
- 9 Hakomori, S. (2002). "Glycosylation defining cancer malignancy: new wine in an old bottle." ProcNatlAcadSci U S A99(16): 10231-3.
- 10 Vilaseca, M. A., R. Artuch, et al. (2004). "[Congenital disorders of glycosylation: state of the art and Spanish experience]." Med Clin (Barc)122(18): 707-16.
- 11 Ulrich, P. and A. Cerami (2001). "Protein glycation, diabetes, and aging." Recent ProgHorm Res56: 1-21.
- 12 Foulquier, F., E. Vasile, et al. (2006). "Conserved oligomeric Golgi complex subunit 1 deficiency reveals a previously uncharacterized congenital disorder of glycosylation type II." ProcNatlAcadSci U S A103(10): 3764-9.
- 13 Wopereis, S., S. Grunewald, et al. (2007). "Transferrin and apolipoprotein C-III isofocusing are complementary in the diagnosis of N- and O-glycan biosynthesis defects." ClinChem53(2): 180-7.
- 14 Michelson DJ, Shevell MI, Sherr EH, Moeschler JB, Gropman AL, Ashwal S. Evidence report: Genetic and metabolic testing on children with global developmental delay: report of the Quality Standards Subcommittee of the American Academy of Neurology and the Practice Committee of the Child Neurology Society. Neurology.2011 Oct 25;77(17):1629-35.
- 15 Jaeken, J., M. Vanderschueren-Lodeweyckx, et al. (1980). "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? ." PediatrRes(14): 179.
- 16 Pérez C.C., et al (2008) "Screening Using Serum Percentage of carbohydrate-Deficient Transferrin for Congenital Disorders of Glycosylation in Children with Suspected Metabolic Disease" ClinChem54(1) 93-100.



24. Desarrollo Psicomotor (edad en meses en Denver al momento de Evaluación)..... |\_|\_|\_|
25. Crisis Convulsivas (0:No, 1: Sí )..... |\_|
- 26.Edad de inicio (en meses)..... |\_|\_|\_|
27. Tipo de crisis:
28. Parciales: (0:No, 1: Sí)..... |\_|
- Tipo de crisis parcial :..... |\_|
- 0: simples 1: complejas 2: secundariamente generalizadas
29. Generalizadas (0:No, 1: Sí)..... |\_|
30. Síndrome epiléptico:..... |\_|
- 0: Otahara 1:West 2: Lennox Gastaut 3:Doose 4: Otro 5: No sindromático
31. Tratamiento (0: moniterapia; 1:Politerapia)..... |\_|

### **Anomalías Oftalmológicas**

32. Retinitis pigmentosa (0:No, 1:Sí) .....|\_|
33. Estrabismo(0:No, 1:Sí) .....|\_|
34. Coloboma (0:No, 1:Sí) .....|\_|
35. Otras alteraciones (0:No, 1:Sí) .....|\_|

### **Anomalías Cardíacas**

36. Cardiopatía (0:No, 1:Sí) .....|\_|
- Describe.....

### **Anomalías Gastrointestinales**

37. Vómito (0:No, 1:Sí) .....|\_|
38. Diarrea (0:No, 1:Sí) .....|\_|
39. Hepatomegalia (0:No, 1:Sí) .....|\_|
40. Enzimas Hepáticas alteradas (0:No, 1:Sí) .....|\_|
41. Esplenomegalia (0:No, 1:Sí) .....|\_|
42. Fibrosis Hepática(0:No, 1:Sí) .....|\_|

### **Anomalías Inmunoematológicas**

43. Infecciones recurrentes (0:No, 1:Sí) .....|\_|
44. Fiebre Periódica (0:No, 1:Sí) .....|\_|
45. Trombosis (0:No, 1:Sí) .....|\_|
46. Hemorragia (0:No, 1:Sí) .....|\_|
47. Trombocitopenia (0:No, 1:Sí) .....|\_|
48. Alteración de biometría Hemática (0:No, 1:Sí) .....|\_|
- Cual.....

### **Anomalías Renales**

49. Quistes Renales (0:No, 1:Sí) .....|\_|  
50. Cálculos Renales (0:No, 1:Sí) .....|\_|

### **Anomalías Endocrinológicas**

51. Hipoglicemia (0:No, 1:Sí) .....|\_|  
52. Hipogonadismo (0:No, 1:Sí) .....|\_|  
Otra endocrinopatía:.....

### **Genética**

53. Anomalías cromosómicas (0:No, 1:Sí) .....|\_|  
54. Consanguinidad (0:No, 1:Sí) .....|\_|  
55. Familiares con cuadro similar (0:No, 1:Sí) .....|\_|  
56. Muertes tempranas (menores de 6 meses) (0:No, 1:sí).....|\_|  
57. Historia de abortos (0:No, 1:sí).....|\_|  
58.Tamiz ampliado, Aminoácidos, Ácidos orgánicos, Cromatografía (0: No; 1:Sí).....|\_|  
59. Resultado de tamiz (0: normal; 1: anormal).....|\_|

### **Imagen**

- 60.Cuenta con estudio de imagen (0: No; 1 :Sí).....|\_|.  
  
61. TAC (0: No; 1: Sí).....|\_|  
62. IRM: (0:No; 1: Sí).....|\_|  
63. Resultados: .....|\_|  
0:Normal 1:atrofia generalizada 2: lesiones clásticas 3: desmielinización  
4:lisencefalia 5: paquigiria, 6:polimicrogiria,7:alteraciones de cuerpo calloso  
8:displasia compleja

### **neurofisiología**

- 64.EEG (0: No tiene; 1: Si tiene).....|\_|  
65. Resultados:.....|\_|  
0:normal 1: encefalopatía difusa no paroxístico 2: paroxismos generales  
3: paroxístico focal 4: paroxístico multifocal  
  
66.Potenciales evocados auditivos de tallo cerebral (0: No, 1: Si).....|\_|  
67.Potenciales evocados visales (0: No; 1: Sí).....|\_|  
68. Potenciales evocados somatosensoriales (0:No, 1:Sí).....|\_|  
69. Velocidades de Conducción Nerviosa( 0:No; 1: Sí).....|\_|

**OBSERVACIONES DE INTERES**

Nombre y firma de la persona que recolecto la información

Fecha: \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 200\_\_\_\_\_

**DETECCION DE HIPOGLICOSILACION PROTEICA EN SUBPOBLACIONES PEDIATRICAS CON ALTA PROBABILIDAD DE PRESENTAR TRASTORNOS CONGENITOS DE LA GLICOSILACIÓN**

**CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO**

México, D.F. a \_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ del \_\_\_\_\_.

Se me ha informado detenidamente que mi hijo (a):

.....  
Con Registro del INP número |\_|\_|\_|\_|\_|\_|\_|\_| que tiene retraso en su desarrollo podría tener como causa de este un trastorno congénito de la glicosilación. Se me ha explicado que hasta este momento la forma más segura y fácil de identificar estas alteraciones es mediante la realización de un estudio llamado IDENTIFICACION DE HIPOGLICOSILACION. Para realizarlo me solicitan que autorice le tomen 6 ml de sangre que se colocarán en dos tubos ( 3 ml para cada uno). La toma de sangre la realizará personal experto con material estéril y desechable. Puede mi hijo sentir dolor y desarrollar un moretón en la zona que se puncione. No se le harán más de dos intentos de venopunción (piquetes)

Se me ha explicado que el objetivo de este estudio es identificar si la causa de retraso mental es la falta de sustancias que favorecen un proceso celular que se llama glicosilación. Las muestras recolectadas serán guardadas en un congelador y se enviarán a la Universidad Autónoma del Estado de Morelos donde el equipo del Dr. Iván Martínez Duncker (Facultad de Ciencias UAEM, Tel 777 32 97 000 Ext 3381) procesará la muestra. Las muestras que se envíen estarán codificadas de tal forma que no contengan datos personales de mi hijo, esto con el fin de respetar la confidencialidad del paciente. La información personal no será utilizada en las publicaciones que de este estudio se deriven.

Este estudio no tendrá ningún costo para mí y tampoco recibiré ningún pago por concepto de este estudio. Se me informará sobre los resultados tan pronto los tenga el Servicio de Neurología y Clínica de Epilepsia a cargo de la Dra. Matilde Ruiz García. No se dará ningún otro uso a la muestra.

Se me ha explicado que si me rehúso a que mi hijo participe en el estudio de igual manera se le brindaran todas las atenciones que mi hijo requiera y que igualmente tengo todo el derecho a solicitar retirar a mi hijo del estudio así como la muestra que se recolectó en el momento que yo lo desee sin que esto repercuta en la calidad de atención hacia mi hijo.

Este estudio ha sido evaluado y aprobado por los Comites de Investigación y Ética del Instituto Nacional de Pediatría. Si tengo alguna duda puedo comunicarme libremente con el Dr. Alberto Olaya Vargas Presidente del Comité de Ética al 10840900 ext 1571 y/o con la Dra Matilde Ruiz García investigadora responsable al Servicio de Neurología y Clínica de Epilepsia al 10840900 ext 1358.

Se me ha hecho saber que la información recolectada será de tipo confidencial y que en ningún momento se publicará con alusión específica al nombre de mi hijo.

Atentamente:

\_\_\_\_\_  
Nombre y firma del padre o tutor

\_\_\_\_\_  
Nombre y firma del padre o tutor

\_\_\_\_\_  
Nombre y firma del Testigo

\_\_\_\_\_  
Nombre y Firma del Testigo

\_\_\_\_\_  
Nombre y firma del Investigador responsable  
Dra. Matilde Ruiz García