

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 704 104**

51 Int. Cl.:

**G01N 33/68** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **26.09.2013 PCT/US2013/061914**

87 Fecha y número de publicación internacional: **03.04.2014 WO14052585**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **26.09.2013 E 13840682 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **21.11.2018 EP 2900831**

54 Título: **Cuantificación de compuestos residuales de glicano con extremos no reductores**

30 Prioridad:

**27.09.2012 US 201213629321**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

**14.03.2019**

73 Titular/es:

**BIOMARIN PHARMACEUTICAL INC. (100.0%)  
105 Digital Drive  
Novato, CA 94949, US**

72 Inventor/es:

**CRAWFORD, BRETT, E.;  
BROWN, JILLIAN, R.;  
GLASS, CHARLES, A.;  
BEITEL, JIM, R. y  
JACKMAN, ROBIN, M.**

74 Agente/Representante:

**ELZABURU, S.L.P**

**ES 2 704 104 T3**

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

**DESCRIPCIÓN**

Cuantificación de compuestos residuales de glicano con extremos no reductores

**Antecedentes de la invención**

5 Muchas enfermedades humanas están causadas o se correlacionan con cambios en la glicosilación. Con el fin de utilizar esos cambios como biomarcadores de una enfermedad, se emplean métodos analíticos para cuantificar los cambios. Los métodos publicados usan anticuerpos, técnicas de cromatografía y/o de espectrometría de masas para determinar y cuantificar los glicanos intactos o parcialmente intactos. Estos métodos son un reto debido a la complejidad y al número de posibles estructuras de glicano presentes en las muestras biológicas. En un estado de enfermedad aislada puede haber miles de diferentes estructuras novedosas de glicanos que están presentes; sin embargo, cada una por su cuenta es un marcador débil de la enfermedad.

10 Brown et al., Molecular Genetics and Metabolism, vol. 185, nº 2, 2012, describen el diagnóstico y el seguimiento de mucopolisacaridosis utilizando biomarcadores de hidratos de carbono de extremo no reductor específicos de la enfermedad.

**Compendio de la invención**

15 En esta memoria se describen poblaciones de glicanos que se transforman en poblaciones de biomarcadores usando enzimas de degradación de glicanos. En algunas realizaciones, descritas en esta memoria, son poblaciones de glicosaminoglicanos que se transforman en poblaciones de oligosacáridos utilizando liasas de glicosaminoglicanos. En el presente documento se describe además el uso de instrumentos analíticos para caracterizar la población de biomarcadores (es decir, compuestos residuales de glicano con extremos no reductores, tales como monosacáridos) con el fin de proporcionar una información relevante acerca de la población de biomarcadores, la población de biomarcadores y la muestra biológica que proporciona la población de biomarcadores. En algunas realizaciones, se describe en esta memoria el uso de instrumentos analíticos para caracterizar la población de oligosacáridos con el fin de proporcionar una información relevante sobre la población de oligosacáridos, la población de glicosaminoglicanos y la muestra biológica que proporciona la población de glicosaminoglicanos

En esta memoria se proporciona un método para determinar en un individuo la presencia, la identidad y/o la gravedad de una enfermedad o una afección asociada con una biosíntesis, degradación o acumulación anormal de glicano, comprendiendo el método:

30 (a) generar un primer biomarcador que comprende un compuesto residual de glicano, en donde el primer biomarcador se genera mediante el tratamiento de una población de glicanos, en una muestra biológica o aislada a partir de la misma, procedente del individuo sospechoso de padecer una enfermedad o una afección asociada con una acumulación, biosíntesis y/o degradación anormal de glicano, con al menos una enzima que digiere glicano, en donde el primer biomarcador es un compuesto residual de glicano con extremo no reductor;

35 (b) generar un segundo biomarcador que comprende un compuesto residual de glicano, en donde el segundo biomarcador se genera mediante el tratamiento de una población de glicanos, en una muestra biológica o aislada a partir de la misma, procedente del individuo sospechoso de padecer una enfermedad o una afección asociada con una acumulación, biosíntesis y/o degradación anormal de glicano, con al menos una enzima que digiere glicano en la misma etapa o en una etapa diferente de la digestión que la que se proporciona en la etapa (a), en donde

40 1) el segundo biomarcador es un compuesto residual de glicano con extremo reductor;

2) el segundo biomarcador es un compuesto residual de glicano interno, o

45 3) cuando se sospecha que el individuo padece una enfermedad o afección asociada con una acumulación, biosíntesis y/o degradación anormal de glicano, el segundo biomarcador es un biomarcador generado mediante un tratamiento del primer biomarcador del compuesto residual de glicano con extremo no reductor con la enzima de degradación de glicano que está funcionando de manera anormal en dicha enfermedad o afección que se sospecha que padece el individuo;

(c) usar un instrumento analítico para detectar la presencia y/o medir la cantidad del primer y segundo biomarcador producido y presentar o registrar la presencia o una medida de una población del primer y segundo biomarcador, y

50 (d) realizar un seguimiento y/o comparar las cantidades del primer y segundo biomarcador en la muestra biológica, determinando una relación del primer biomarcador con el segundo biomarcador en el individuo sospechoso de padecer una enfermedad o afección asociada con una acumulación, biosíntesis y/o degradación anormal de glicano;

en donde la relación del primer biomarcador con el segundo biomarcador se utiliza para determinar la

presencia, la identidad y/o la gravedad de la enfermedad o afección,

en donde antes del tratamiento enzimático, el primer y el segundo biomarcador no están presentes en abundancia en las muestras de una población de individuos con la enfermedad o la afección en relación con una población de individuos sin la enfermedad o afección.

5 En ciertas realizaciones en esta memoria, se proporcionan métodos para detectar una acumulación de glicanos y/o una biosíntesis anormal de glicanos y/o una degradación en una muestra biológica, comprendiendo el método:

a. transformar un glicano de una muestra biológica con una enzima de degradación de glicano para liberar un compuesto residual de glicano desde el extremo no reductor del glicano;

10 b. medir la cantidad de compuesto residual de glicano liberada por la enzima de degradación de glicano que está funcionando con un dispositivo analítico.

En algunas realizaciones, un método descrito en la presente memoria comprende un método para diagnosticar si un individuo tiene una enfermedad o afección asociada con una biosíntesis, degradación o acumulación anormal de glicano, comprendiendo el método:

15 a. generar un biomarcador que comprende uno o varios compuestos residuales de glicano con extremo no reductor, en donde el biomarcador se genera mediante el tratamiento de una población de glicanos, en una muestra biológica o aislada a partir de la misma, procedente del individuo, con al menos una enzima que digiere glicano, en donde antes del tratamiento enzimático, el biomarcador no está presente en abundancia en muestras procedentes de individuos con la enfermedad o afección, en relación con individuos sin la enfermedad o afección, y

20 b. utilizar un instrumento analítico para detectar la presencia y/o medir la cantidad del biomarcador producido y presentar o registrar la presencia o una medida de una población del biomarcador.

En algunas realizaciones, la presencia y/o la medición de la cantidad del biomarcador se emplea para determinar la presencia, identidad y/o gravedad de la enfermedad o afección.

25 En ciertas realizaciones del presente documento se proporciona un método para diagnosticar si un individuo tiene una enfermedad o afección asociada con la biosíntesis, la degradación o la acumulación anormal de glicano, comprendiendo el método:

a. la transformación de un glicano de una muestra biológica con una enzima de degradación de glicano para liberar un compuesto residual de glicano desde el extremo no reductor del glicano;

30 b. la medición de la cantidad del compuesto residual de glicano liberado por la enzima de degradación de glicano que está funcionando con un dispositivo analítico; y

c. la determinación de si la cantidad de residuo de glicano liberado es anormal.

En algunas realizaciones, se proporciona en esta memoria un método para realizar un seguimiento del tratamiento de un trastorno asociado con la degradación, biosíntesis y/o acumulación anormal de glicanos, comprendiendo el método:

35 a. después de la administración de un agente para tratar un trastorno asociado con la degradación, biosíntesis y/o acumulación anormal de glicanos a un individuo que lo requiere, utilizar un instrumento analítico para medir la cantidad de una población de un biomarcador que comprende compuestos residuales de glicano con extremos no reductores presentes en una muestra biológica transformada, generando el biomarcador mediante el tratamiento de una población de glicanos en una muestra biológica, o aislada a partir de la misma, procedente del individuo, con al menos una enzima que digiere el glicano, en donde antes del tratamiento enzimático, el biomarcador no está presente en abundancia en las muestras de individuos con la enfermedad o la afección en relación con individuos sin la enfermedad o afección, y

40 b. determinar si la cantidad de biomarcador ha disminuido o aumentado con una tasa más lenta, en comparación con la cantidad o la tasa de aumento antes de la administración del agente para el tratamiento de un trastorno asociado con la degradación, biosíntesis y/o acumulación anormal de glicanos.

45 En algunas realizaciones, el trastorno asociado con la degradación, biosíntesis y/o acumulación anormal de glicanos es una enfermedad de almacenamiento lisosómico, una enfermedad cancerosa, una enfermedad inflamatoria, una enfermedad infecciosa, una enfermedad del sistema nervioso central o una enfermedad cardiovascular. En algunas realizaciones, la enzima de degradación de glicano que funciona normalmente es una glicosidasa, sulfatasa, fosforilasa, desacetilasa o una combinación de las mismas. En algunas realizaciones, la enzima de degradación de glicano que funciona normalmente es una glicosidasa seleccionada a partir de una exo-glicosidasa y una endo-glicosidasa. En algunas realizaciones, el compuesto residual de glicano es un monosacárido, sulfato, fosfato, acetato o una combinación de los mismos.

5 En algunas realizaciones, la transformación de un glicano de una muestra biológica con una enzima de degradación de glicano que funciona normalmente comprende la transformación de un glicano de una muestra biológica con una pluralidad de enzimas de degradación de glicano que funcionan normalmente. En algunas realizaciones, el glicano se trata con una pluralidad de enzimas de degradación de glicano de glicano que funcionan normalmente de forma  
 10 concurrente, secuencial o una combinación de las mismas. En algunas realizaciones, antes de medir la cantidad de una población de compuestos residuales de glicano con extremos no reductores, los compuestos residuales de glicano con extremos no reductores se marcan con un marcador detectable. En algunas realizaciones, el marcador detectable es un marcador de masas, un marcador de radioisótopo, un marcador fluorescente, un marcador cromóforo o un marcador de afinidad. En algunas realizaciones, la cantidad de glicano liberado se mide usando espectroscopía UV-Vis, espectroscopía de RI, espectroscopía de masas o una combinación de las mismas.

En ciertas realizaciones en el presente documento se proporciona un método para diagnosticar si un individuo tiene una enfermedad o afección asociada con la biosíntesis, la degradación o la acumulación anormal de glicanos, comprendiendo el método:

15 a. generar un biomarcador que comprende uno o varios compuestos residuales de glicano con extremos no reductores, en donde el biomarcador se genera mediante el tratamiento de una población de glicanos, en una muestra biológica o aislada a partir de la misma, procedente del individuo, con al menos una enzima que digiere glicano, en donde antes del tratamiento enzimático, el biomarcador no está presente en abundancia en muestras procedentes de individuos con la enfermedad o afección, en relación con individuos sin la enfermedad o afección, y

20 b. utilizar un instrumento analítico para detectar la presencia y/o medir la cantidad del biomarcador producido y presentar o registrar la presencia o una medida de una población del biomarcador.

en donde la presencia y/o la medición de la cantidad del biomarcador se utiliza para determinar la presencia, la identidad y/o la gravedad de la enfermedad o afección.

25 En algunas realizaciones, la enfermedad o el trastorno está causada por una enzima de degradación de glicano que funciona anormalmente y en donde la enzima de degradación de glicano con un funcionamiento anormal y la enzima de degradación de glicano con un funcionamiento normal, son del mismo tipo. En algunas realizaciones, la enzima de degradación de glicano funciona anormalmente, funciona anormalmente como resultado de estar presente en una cantidad anormalmente baja, funcionando incorrectamente o una combinación de las mismas. En algunas realizaciones, la acumulación anormal de glicano comprende la acumulación de cantidades anormales de glicanos.  
 30 En algunas realizaciones, la acumulación anormal de glicano comprende la acumulación de cantidades anormales de glicanos normales. En algunas realizaciones, la acumulación anormal de glicano comprende la acumulación de cantidades anormales de glicanos normales.

35 En algunas realizaciones, la enzima de degradación de glicano que funciona normalmente es una glicosidasa, sulfatasa, fosforilasa, desacetilasa o una combinación de las mismas. En algunas realizaciones, la enzima de degradación de glicano que funciona normalmente es una glicosidasa seleccionada a partir de una exo-glicosidasa y una endo-glicosidasa. En algunas realizaciones, la glicosidasa es una exo-glicosidasa seleccionada a partir del grupo que consiste en una galactosidasa y una glucuronidasa.

40 En algunas realizaciones, el compuesto residual de glicano es un monosacárido. En algunas realizaciones, el compuesto residual de glicano es sulfato, fosfato, acetato o una combinación de los mismos. En algunas realizaciones, una muestra biológica se purifica antes de transformar un glicano de la misma. En algunas realizaciones, el procedimiento de purificación de una muestra biológica comprende eliminar los monosacáridos de la misma, eliminar los sulfatos de la misma, eliminar los fosfatos de la misma, eliminar los acetatos de la misma o una combinación de las mismas. En algunas realizaciones, la transformación de un glicano de una muestra biológica con una enzima de degradación de glicano que funciona normalmente comprende la transformación de un glicano  
 45 de una muestra biológica con una pluralidad de enzimas de degradación de glicano que funcionan normalmente. En algunas realizaciones, el glicano se trata con una pluralidad de enzimas de degradación de glicano que funcionan normalmente de forma concurrente, secuencial o una combinación de las mismas.

50 En algunas realizaciones, el trastorno asociado con una acumulación anormal de glicano es MPS I, MPS II, MPS IIIA, MPS IVA, MPSVI o la enfermedad de Fabry. En algunas realizaciones, la determinación de si la cantidad de residuo de glicano liberado es anormal, comprende marcar el residuo de glicano con un marcador detectable y medir la cantidad de residuo de glicano marcado con un instrumento analítico. En algunas realizaciones, el marcador detectable es un marcador de masas, un marcador de radioisótopo, un marcador fluorescente, un marcador cromóforo o un marcador de afinidad. En algunas realizaciones, la cantidad de glicano liberado se mide usando espectroscopía UV-Vis, espectroscopía RI, espectrometría de masas o una combinación de las mismas.

55 En esta memoria se proporciona, en ciertas realizaciones, un método para diagnosticar si un individuo tiene una enfermedad o afección (por ejemplo, asociada con la biosíntesis, la degradación o la acumulación anormal de glicano), comprendiendo el método:

(a) generar un primer biomarcador que comprende un compuesto residual de glicano, en donde el primer

biomarcador se genera mediante el tratamiento de una población de glicanos, en una muestra biológica o aislada a partir de la misma, procedente del individuo, con al menos una enzima que digiere glicano, en donde antes del tratamiento enzimático, el primer biomarcador no está presente en abundancia en muestras procedentes de individuos con la enfermedad o afección en relación con individuos sin la enfermedad o afección,

5

(b) generar un segundo biomarcador que comprende un compuesto residual de glicano, en donde el segundo biomarcador se genera mediante el tratamiento de una población de glicanos, en una muestra biológica o aislada a partir de la misma, procedente del individuo, con al menos una enzima que digiere glicano en la misma etapa o en una etapa diferente de la digestión que la que se proporciona en la etapa (a), en donde antes del tratamiento enzimático, el segundo biomarcador no está presente en abundancia en muestras procedentes de individuos con la enfermedad o afección en relación con individuos sin la enfermedad o afección,

10

(c) usar un instrumento analítico para detectar la presencia y/o medir la cantidad del primer y segundo biomarcador producido y presentar o registrar la presencia o una medida de una población del primer y segundo biomarcador, y

15

(d) realizar un seguimiento y/o comparar las cantidades del primer y segundo biomarcador en la muestra biológica;

en donde la presencia y/o la medición de las cantidades del primer y segundo biomarcador se emplea para determinar la presencia, la identidad y/o la gravedad de la enfermedad o afección.

En algunas realizaciones, el primer biomarcador es un compuesto residual de glicano con extremo no reductor. En algunas realizaciones, la enfermedad o el trastorno está causado por una enzima de degradación de glicano que funciona anormalmente y en donde la enzima de degradación de glicano que funciona anormalmente y la enzima de digestión de glicano son del mismo tipo. En algunas realizaciones, el compuesto residual de glicano con extremo no reductor es un monosacárido. En algunas realizaciones, el compuesto residual de glicano con extremo no reductor no es un monosacárido.

20

En algunas realizaciones, el segundo biomarcador se obtiene o se genera a partir del extremo reductor del mismo glicano a partir del cual se generó el primer biomarcador del compuesto residual de glicano con extremo no reductor. En algunas realizaciones, el segundo biomarcador se obtiene o se genera a partir de estructuras de oligosacáridos internas del mismo glicano a partir del cual se generó el primer biomarcador del compuesto residual de glicano con extremo no reductor. En algunas realizaciones, la enfermedad o el trastorno está causado por la función anormal de una enzima de degradación de glicano en el individuo y en donde el segundo biomarcador se puede generar tratando el primer biomarcador del compuesto residual de glicano con extremo no reductor con la enzima de degradación de glicano que funciona de forma anormal en el individuo.

25

30

En algunas realizaciones, la enfermedad o afección asociada con la biosíntesis, la degradación o la acumulación anormal de glicano es una enfermedad de almacenamiento lisosómico. En algunas realizaciones, la enfermedad de almacenamiento lisosómico es mucopolisacaridosis. En algunas realizaciones, la mucopolisacaridosis es MPS I, II, IIIA, IIIB, IIIC, IIID, IVA, IVB, VI o VII. En algunas realizaciones, la enfermedad o afección asociada con la biosíntesis, la degradación o la acumulación anormal de glicano es leucodistrofia metacromática o enfermedad de Krabbe. En algunas realizaciones, la enfermedad o afección asociada con la biosíntesis, la degradación o la acumulación anormal de glicano es gangliosidosis. En algunas realizaciones, la gangliosidosis es gangliosidosis de Tay Sachs, Sandhoff, variante AB o GM-1.

35

40

En algunas realizaciones, la presencia y/o la medición del primer biomarcador del compuesto residual de glicano con extremo no reductor en combinación o en relación con el segundo biomarcador, se utiliza para realizar un seguimiento del tratamiento de un trastorno asociado con la biosíntesis anormal de glicanos. En algunas realizaciones, la presencia y/o la medición del primer biomarcador del compuesto residual de glicano con extremo no reductor en combinación o en relación con el segundo biomarcador, se utiliza para realizar un seguimiento del tratamiento de un trastorno asociado con la degradación o acumulación anormal de glicanos. En algunas realizaciones, el tratamiento es una terapia de reemplazo enzimático. En algunas realizaciones, la ausencia de un aumento del segundo biomarcador combinada con una reducción del biomarcador del compuesto residual de glicano con extremo no reductor, indica una respuesta positiva al tratamiento del trastorno asociado con una degradación o acumulación anormal de glicanos.

45

50

En algunos casos, un método descrito en esta memoria comprende la utilización de un primer biomarcador que es un biomarcador de glicano con extremo no reductor, por ejemplo, como se expone en el documento US 2010/0184013. En ciertas realizaciones, el primer biomarcador es un oligosacárido saturado con extremo no reductor C4-C5. En algunas realizaciones, el residuo del extremo no reductor del primer biomarcador (por ejemplo, uno o varios disacáridos y/o uno o varios trisacáridos) no tienen una insaturación carbono-carbono.

55

En algunas realizaciones, la acumulación anormal de glicano o el trastorno asociado con la misma, está causada por una enzima de degradación de glicano que funciona anormalmente y en donde la enzima de degradación de glicano que funciona anormalmente y la enzima de degradación de glicano son del mismo tipo (por ejemplo, la degradación

- de glicano utilizada en el proceso de transformación es una enzima de degradación de glicano que funciona, mientras que la enzima con funcionamiento anormal no lo es, como es debido a delecciones, inserciones, sustituciones u otras modificaciones en la secuencia de la enzima). En ciertas realizaciones, la enzima de degradación de glicano que funciona anormalmente, funciona anormalmente como resultado de estar presente en una cantidad anormalmente baja, funcionando incorrectamente o una combinación de ambas. En algunas realizaciones, la acumulación anormal de glicano comprende la acumulación de cantidades anormales de glicanos. En ciertas realizaciones, la acumulación anormal de glicano comprende la acumulación de cantidades anormales de glicanos normales. En algunas realizaciones, la acumulación anormal de glicano comprende la acumulación de cantidades anormales de glicanos anormales.
- 5
- 10 En ciertas realizaciones, el biomarcador no está presente en la muestra biológica inicial. En algunas realizaciones, el biomarcador no está presente en la muestra biológica después de aislar una población de glicanos a partir de la misma (por ejemplo, antes de la transformación del glicano de acuerdo con un procedimiento descrito en esta memoria).
- 15 En ciertas realizaciones, la enzima de degradación de glicano que funciona normalmente es una glicosidasa, sulfatasa, fosforilasa, desacetilasa o una combinación de las mismas. En algunas realizaciones, la enzima de degradación de glicano que funciona normalmente es una glicosidasa seleccionada a partir de una exo-glicosidasa y una endo-glicosidasa. En ciertas realizaciones, la glicosidasa es una exo-glicosidasa seleccionada a partir del grupo que consiste en una galactosidasa y una glucuronidasa. En algunas realizaciones, el biomarcador generado es un compuesto residual de glicano. En algunas realizaciones, el compuesto residual de glicano es un monosacárido. En ciertas realizaciones, el compuesto residual de glicano es sulfato, fosfato, acetato o una combinación de los mismos. En ciertas realizaciones, el compuesto residual de glicano tiene un peso molecular menor de 2000 g/mol, menor de 1500 g/mol, menor de 1000 g/mol, menor de 500 g/mol, menor de 400 g/mol, menor de 300 g/mol, menor de 260 g/mol, menor de 200 g/mol, menor de 100 g/mol o similar (por ejemplo, antes de marcar con cualquier marcador detectable que puede incluirse en un procedimiento descrito a continuación).
- 20
- 25 En algunas realizaciones, cualquier procedimiento descrito en esta memoria comprende además la purificación de una muestra biológica antes de la transformación de un glicano de la misma. En algunas realizaciones, el procedimiento de purificación de una muestra biológica comprende la eliminación de monosacáridos de la misma, la eliminación de sulfatos de la misma, la eliminación de fosfatos de la misma, la eliminación de acetato de la misma o una combinación de las mismas.
- 30 En ciertas realizaciones, la transformación de un glicano de una muestra biológica con una enzima de degradación de glicano que funciona normalmente, comprende transformar un glicano de una muestra biológica con una pluralidad de enzimas de degradación de glicano que funcionan normalmente. En algunas realizaciones, el glicano se trata con una pluralidad de enzimas de degradación de glicano que funcionan normalmente de forma concurrente, secuencial o una combinación de las mismas.
- 35 En realizaciones específicas, un trastorno asociado con una acumulación anormal de glicano es cualquier trastorno descrito en las Tablas 1-4 (por ejemplo, MPS I) y la enzima de degradación de glicano que funciona normalmente es cualquier enzima descrita en las Tablas 1-4 (por ejemplo, L-iduronidasa).
- 40 En algunas realizaciones, la determinación de si la cantidad de residuo de glicano liberado es anormal, comprende marcar el residuo de glicano con un marcador detectable y medir la cantidad de residuo de glicano marcado con un instrumento analítico. En ciertas realizaciones, el marcador detectable es un marcador de masas, un marcador de radioisótopo, un marcador fluorescente, un marcador cromóforo o un marcador de afinidad. En algunas realizaciones, la cantidad de glicano liberado se mide usando espectroscopia UV-Vis, espectroscopia de RI, espectrometría de masas o una combinación de las mismas.
- 45 En algunas realizaciones de la presente memoria se proporciona un método para la realización de un seguimiento del tratamiento de un trastorno asociado con la degradación, biosíntesis y/o acumulación anormal de glicanos, comprendiendo los métodos:
- 50 a. después de la administración de un agente para tratar un trastorno asociado con la degradación, biosíntesis y/o acumulación anormal de glicanos a un individuo que lo requiere, utilizar un instrumento analítico para medir la cantidad de una población de compuestos residuales de glicano con extremo no reductor presente en una muestra biológica transformada que se ha preparado mediante:
- el tratamiento de una población de glicanos, en una muestra biológica, o aislada a partir de la misma, tomada del individuo, con al menos una enzima de degradación de glicano que funciona normalmente para liberar un compuesto residual de glicano con extremo no reductor;
- 55 b. determinar si la cantidad liberada de residuo de glicano con extremo no reductor ha disminuido o aumentado con una tasa más lenta, en comparación con la cantidad o la tasa de aumento antes de la administración del agente para el tratamiento de un trastorno asociado con la degradación, biosíntesis y/o acumulación anormal de glicanos.

En algunas realizaciones, el trastorno asociado con la degradación, biosíntesis y/o acumulación anormal de glicanos es una enfermedad de almacenamiento lisosómico, una enfermedad cancerosa o una enfermedad infecciosa. En ciertas realizaciones, la enzima de degradación de glicano que funciona normalmente es una glicosidasa, sulfatasa, fosforilasa, desacetilasa o una combinación de las mismas. En algunas realizaciones, la enzima de degradación de glicano que funciona normalmente es una glicosidasa seleccionada a partir de una exo-glicosidasa y una endo-glicosidasa. En ciertas realizaciones, el compuesto residual de glicano es un monosacárido, sulfato, fosfato, acetato o una combinación de los mismos. En algunas realizaciones, la transformación de un glicano de una muestra biológica con una enzima de degradación de glicano que funciona normalmente comprende la transformación de un glicano de una muestra biológica con una pluralidad de enzimas de degradación de glicano que funcionan normalmente. En ciertas realizaciones, el glicano se trata con una pluralidad de enzimas de degradación de glicano que funcionan normalmente de forma concurrente, secuencial o una combinación de las mismas.

En algunas realizaciones, antes de medir la cantidad de una población de compuestos residuales de glicano con extremo no reductor, los compuestos residuales de glicano con extremo no reductor se marcan con un marcador detectable. En ciertas realizaciones, el marcador detectable es un marcador de masas, un marcador de radioisótopos, un marcador fluorescente, un marcador cromóforo o un marcador de afinidad. En algunas realizaciones, la cantidad de glicano liberada se mide usando espectroscopía UV-Vis, espectroscopía de RI, espectrometría de masas o una combinación de las mismas.

### Breve descripción de los dibujos

Las características novedosas de la invención se exponen con particularidad en las reivindicaciones adjuntas. Una mejor comprensión de las características y las ventajas de la presente invención se obtendrá haciendo referencia a la siguiente descripción detallada que expone realizaciones ilustrativas, en las que se utilizan los principios de la invención y los dibujos adjuntos en los que:

La **Figura 1** ilustra compuestos presentes en una muestra biológica normal no sujeta a un procedimiento de liberación residual enzimática de glicanos descrito en el presente documento.

La **Figura 2** ilustra compuestos presentes en una muestra biológica normal sujeta a un procedimiento de liberación residual enzimática de glicanos descrito en el presente documento.

La **Figura 3** ilustra compuestos presentes en una muestra biológica de un individuo que padece un trastorno asociado con una acumulación anormal de glicanos no sujeta a un procedimiento de liberación residual enzimática de glicanos descrito en el presente documento.

La **Figura 4** ilustra compuestos presentes en una muestra biológica de un individuo que padece un trastorno asociado con una acumulación anormal de glicanos, sujeta a un procedimiento de liberación residual enzimática de glicanos descrito en el presente documento.

La **Figura 5** ilustra un esquema para la determinación de los extremos no reductores y el disacárido interno. Una despolimerización eliminativa de un oligosacárido de sulfato de heparán con liasa de heparán da lugar a la liberación de residuos de disacáridos internos (flechas discontinuas) que contienen un resto de ácido urónico insaturado (círculos punteados). Debido a su ubicación terminal, el extremo no reductor liberado desde el extremo izquierdo de la cadena según se ha esquematizado, carece del doble enlace  $\Delta 4,5$  y es 18 amu más grande que un disacárido interno correspondiente. La aminación reductora con anilina ( $[^{12}\text{C}_6]\text{An}$ ) facilita la separación de los diferentes disacáridos mediante LC/MS, obteniéndose los valores de m/z para los iones moleculares indicados dentro de los paréntesis. Las estructuras de glicano están representadas gráficamente por símbolos geométricos, que se definen en la parte inferior de la Figura 43. Para simplificar la representación de oligosacáridos constituyentes de glicosaminoglicanos, utilizamos un código de estructura de disacárido (DSC, del inglés "Disaccharide Structure Code") 15. En el DSC, un ácido urónico se indica como U, G, I o D para un ácido hexurónico no especificado, ácido D-glucurónico, ácido L-idurónico o ácido urónico  $\Delta 4,5$ -insaturado, respectivamente. Las hexosaminas se indican en mayúsculas para la glucosamina y en minúsculas para la galactosamina y el N-sustituyente es H, A, S o R para hidrógeno, acetato, sulfato o algún otro sustituyente, respectivamente. La presencia y la ubicación de grupos sulfato ligados a éster se representan por el número del átomo de carbono en el que está situado el grupo sulfato o por 0 si está ausente. Por ejemplo, I2S6 se refiere a un disacárido compuesto de ácido 2-sulfo-idurónico-N-sulfo-glucosamina-6-sulfato, mientras que D2S6 se refiere al mismo disacárido, pero que es portador de un doble enlace  $\Delta 4,5$  en el ácido urónico.

La **Figura 6** ilustra hidratos de carbono de MPS con extremo no reductor. La enzima defectuosa para cada subclase de MPS se muestra junto con los hidratos de carbono de NRE liberados, característicos de MPS I, II, IIIA, IIIB, IIIC, IIID, VI y VII usando símbolos geométricos. Las matrices muestran todos los hidratos de carbono de NRE que son teóricamente posibles para cada subclase de MPS usando el DSC. Los rectángulos con un fondo negro y letras en blanco representan estructuras que se detectaron y cuyas identidades se confirmaron mediante su co-cromatografía y espectro de masas idéntico como patrones, así como su sensibilidad frente a exoglicosidasas o anhídrido de ácido propiónico. Las estructuras sospechosas mostradas en rectángulos con un fondo gris están implicadas por los datos de cromatografía líquida/espectros de masas, es decir, su tamaño y su contenido en grupos sulfato y acetato son

compatibles con las estructuras propuestas. Las estructuras en rectángulos con un fondo blanco son teóricamente posibles, pero no se han observado. Se indican los valores de  $m/z$ , tanto para los iones moleculares libres como para los iones de aducción formados con el reactivo de apareamiento iónico dibutilamina (DBA). Las designaciones de una sola letra para los azúcares modificados de forma diversa se describen en la Fig. 5. Las estructuras de glicano se representan gráficamente por símbolos geométricos, que se definen en la parte inferior de la figura

La **Figura 7** ilustra el análisis de los extremos no reductores que se encuentran en sulfato de heparán de MPS I y Sanfilippo. (a) El sulfato de heparán despolimerizado procedente de fibroblastos de MPS I (GM01391) se marcó con [ $^{12}\text{C}_6$ ]anilina y se mezcló con disacáridos convencionales insaturados marcados con [ $^{13}\text{C}_6$ ]anilina e I0S0. La muestra se analizó por LC/MS y se registró la corriente iónica extraída para todos los NRE conocidos y disacáridos internos: pico 1, D0A0; pico 2, D0S0; pico 3, D0A6; pico 4, D0S6; pico 5, D2A0; pico 6, D2S0; y pico 7, D2S6. El asterisco marca el NRE marcado con [ $^{12}\text{C}_6$ ]anilina, que migraba conjuntamente con el patrón I0S0 marcado con [ $^{13}\text{C}_6$ ]anilina (recuadro). (b) Espectro de masas para el pico I0S0 mostrado en el panel A. GAGs purificadas a partir de fibroblastos de (c) MPS IIIA (GM00643), (d) MPS IIIB (GM01426), (e) MPS IIIC (GM05157) y (f) MPS IIID (GM17495) se sometieron a análisis de los NRE. Por simplicidad, solamente la corriente iónica extraída para valores de  $m/z$  que se correspondían con NREs de monosacárido y trisacárido (dp3) se muestran para cada muestra. Cuando la estructura del NRE se identificaba en comparación con patrones disponibles en el mercado, el nombre se indica en DSC y símbolos de glicano. Los residuos de NRE dp3(0Ac,4S) en las muestras de MPS IIIA y MPS IIIC se detectaron como iones de aducción con el reactivo de apareamiento iónico ( $[M-2H + DBA]-1$ ); por lo tanto, sus valores de  $m/z$  se incrementaron en 129 amu (véase la Fig. 6). Las inserciones en los paneles c y f muestran los espectros de masas para los biomarcadores de monosacáridos S0 y H6, respectivamente y los patrones correspondientes marcados con [ $^{13}\text{C}_6$ ]anilina (flechas en los paneles c y f).

La **Figura 8** ilustra el escrutinio para diagnóstico sistemático de muestras de GAG para diversos trastornos de MPS. Se muestra un diagrama de flujo para el descubrimiento de MPS basado en la detección de glicanos para diagnóstico con extremo no reductor presentes en muestras de GAG extraídas a partir de pacientes o fuentes de modelos de animales. Los criterios de detección se basan en el tamaño del NRE (monosacárido, disacárido y trisacárido), el valor de  $m/z$  y las características estructurales (número de acetatos (Ac) o sulfatos (S)). Para muestras completamente desconocidas, porciones de la muestra se analizan en paralelo en busca de NREs de sulfato de heparán y condroitina/sulfato de dermatán.

La **Figura 9** ilustra una comparación de sulfato del heparán total con *N*-sulfoglucosamina (S0) en muestras de MPS IIIA. (a) Se analizó el sulfato de heparán de orina normal (barras negras) y MPS IIIA (barras gris claro). Los disacáridos individuales y los NRE de *N*-sulfoglucosamina (S0) se cuantificaron en relación con patrones. Puesto que los patrones de trisacáridos no están disponibles, se muestran los valores de la corriente iónica extraída para S0U2S0. (b) Análisis de sulfato de heparán de cerebro normal (barras negras) y MPS IIIA (barras gris claro) como en el panel A. (c) Células de MPS IIIA que sufrieron un reemplazamiento enzimático mediante incubación con 0,06 mU/ml de sulfamidasa durante 48 horas antes de una extracción de GAG y el análisis subsiguiente. Se midieron las cantidades de sulfato de heparán (barras negras), biomarcador de monosacárido S0 (barras gris claro) y biomarcador de trisacárido S0U2S0 (barras gris oscuro) y se compararon con muestras de células sin complementación enzimática. Las barras representan el promedio  $\pm$  desviación estándar,  $n=3$ .

La **Figura 10** ilustra una comparación estructural del biomarcador de NRE de MPS I con el patrón I0S0. Se realizó una espectrometría de masas en tándem en el patrón I0S0 marcado con [ $^{13}\text{C}_6$ ]anilina. Los iones secundarios predominantes y sus asignaciones basadas en los valores de  $m/z$  se indican en el espectro de masas (a). También se muestra una representación esquemática de la escisión primaria entre anillos de I0S0. Los valores de  $m/z$  se muestran al lado de cada fragmento de ion. Después de marcar con [ $^{12}\text{C}_6$ ]anilina, el NRE de I0S0 putativo encontrado en el sulfato de heparán de fibroblastos cultivados procedentes de un paciente con MPS I (GM01391) también se sometió a espectrometría de masas en tándem (b). Los valores de  $m/z$  que se muestran en cada espectro CID son consistentes con la diferencia de masa entre [ $^{13}\text{C}_6$ ]anilina y [ $^{12}\text{C}_6$ ]anilina. La identidad entre el patrón y el NRE de MPS I se indica mediante los espectros CID similares.

La **Figura 11** ilustra el análisis de estructuras de extremos no reductores que se encuentran en MPS I, MPS II y MPS VII. Muestras de GAG purificadas procedentes de fibroblastos (a,d) MPS I (GM01391), (b,e) MPS II (GM00615) y (c,f) MPS VII (GM02784), se sometieron a una despolimerización enzimática con liasa de heparán (a,b,c) o condroitinasa ABC (d,e,f), seguida de un análisis GRIL-LC/MS. Se muestra la corriente iónica acumulativa extraída para los valores de  $m/z$  correspondientes a estructuras de NRE de sulfato de heparán y condroitina/sulfato de dermatán detectadas en cada muestra. En ausencia de patrones auténticos, la abundancia relativa de los biomarcadores individuales no se puede obtener a partir de esos espectros debido a diferencias en la eficiencia de la ionización. La identificación de los ácidos urónicos se basa en la separación cromatográfica de las especies isobáricas (por ejemplo, G0S0 y G0S6 determinadas a partir de I0S0 y I0S6, respectivamente), la sensibilidad diferencial frente a  $\alpha$ -L-iduronidasa y la inferencia basada en la naturaleza de la deficiencia enzimática en las células. Estructuras putativas se indican por DSC y símbolos de glicano, así como por sus valores de  $m/z$ . En los casos en los que dos especies isobáricas no se podían discriminar por el análisis CID (I0a4/I0a6 en el panel d y I2a4/I2a6 en el panel e), se muestran ambas especies.

La **Figura 12** ilustra la eliminación del biomarcador del extremo no reductor en MPS I mediante tratamiento con  $\alpha$ -

iduronidasa. Una cantidad igual de sulfato de heparán aislada a partir de fibroblastos de un paciente con MPS I (GM01391), se trató con  $\alpha$ -iduronidasa recombinante o con BSA. Las muestras se marcaron después con [ $^{12}\text{C}_6$ ]anilina, se mezclaron con 10 pmol de patrón I0S0 marcado con [ $^{13}\text{C}_6$ ]anilina y se analizaron por GRIL-LC/MS. El espectro de masas para las muestras tratadas con BSA muestra el NRE de MPS I y el patrón I0S0 (a). El espectro de masas de la muestra tratada con iduronidasa muestra la pérdida del biomarcador de MPS I (b). Los valores de  $m/z$  para todas las especies detectadas se indican encima de los picos principales.

La **Figura 13** ilustra la eliminación del biomarcador del extremo no reductor que se encuentra en MPS II mediante iduronato-2-sulfatasa. Cantidades iguales de sulfato de heparán aisladas a partir de fibroblastos de un paciente con MPS II (GM00615), se trataron con BSA o iduronato-2-sulfatasa recombinante antes del análisis de los NRE. La corriente iónica acumulativa extraída para valores de  $m/z$  correspondientes a especies de NRE 2-O-sulfatado y no 2-O-sulfatado para la muestra tratada con BSA (trazo negro) y la muestra tratada con iduronato-2-sulfatasa (trazo rojo) se muestran en el cromatograma. Se muestran las estructuras de NRE coherentes con los valores de  $m/z$  para las especies detectadas después de cada tratamiento.

La **Figura 14** ilustra el análisis GRIL-LC/MS del NRE de sulfato de condroitina de MPS VI. GAG purificada a partir de fibroblastos de MPS VI (GM00519) se despolimerizó enzimáticamente con condroitinasa ABC seguido de un análisis GRIL-LC/MS. Se muestra la corriente iónica acumulativa extraída para valores de  $m/z$  correspondientes a patrones de estructuras de NRE de monosacáridos GalNAc6S (a6) y GalNAc4S (a4) marcados con [ $^{13}\text{C}_6$ ] anilina (trazo rojo inferior) y a4 endógeno marcado con [ $^{12}\text{C}_6$ ] anilina detectado en la muestra de MPS VI (trazo negro superior). El espectro de masas indicado para el pico de a4 en el trazo superior se muestra en el recuadro con los valores de  $m/z$  para los grupos isotópicos para a4 endógeno marcado con [ $^{12}\text{C}_6$ ] anilina ( $m/z = 377, 11$ ) y el patrón de a4 marcado con [ $^{13}\text{C}_6$ ] anilina ( $m/z = 383, 13$ ).

La **Figura 15** ilustra la eliminación del biomarcador del extremo no reductor en MPS IIIA mediante sulfamidasa. El sulfato de heparán purificado a partir de fibroblastos de dos pacientes con MPS IIIA (GM00643 y GM00934) se trató bien con BSA (barras negras) o con sulfamidasa (barras gris claro) antes del análisis GRIL-LC/MS. El patrón S0 marcado con [ $^{13}\text{C}_6$ ]anilina (10 pmol) se añadió a cada muestra y se utilizó para calcular la recuperación de S0.

La **Figura 16** ilustra el análisis CID de trisacáridos de NRE que se encontraron en subclases de Sanfilippo. Estructuras representativas de NRE de trisacárido detectadas en sulfato de heparán procedente de fibroblastos de pacientes con MPS IIIA, MPS IIIB y MPS IIIC, fueron sometidas a disociación inducida por colisión. Las estructuras más probables están indicadas junto con los iones del producto detectados. Los parámetros estructurales para cada ion primario se muestran debajo de cada estructura. Para confirmar la presencia de un residuo de glucosamina no sustituido en los trisacáridos de MPS IIIC, las muestras marcadas con anilina se acilaron con anhídrido propiónico (PA), que reacciona tanto con aminas primarias como secundarias. Las flechas negras señalan las aminas primarias y secundarias susceptibles de acilación mediante anhídrido propiónico. Todos los trisacáridos de MPS IIIC ganaron masa, lo que es consistente con la adición de dos grupos propionilo. En contraste, los trisacáridos de MPS IIIA y IIB adquirieron un solo grupo propionilo debido a una propionilación en la amina secundaria que formaba un puente, obtenida por una aminación reductora con anilina. Por lo tanto, la adición de un segundo grupo propionato a los trisacáridos de MPS IIIC es coherente con contener una unidad de glucosamina no sustituida. Debido a la detección de solo dos iones de producto para el trisacárido de NRE de MPS IIIC, son posibles dos estructuras potenciales.

### Descripción detallada de la invención

Los glicosaminoglicanos comprenden un extremo reductor y un extremo no reductor. Los procesos biológicos normales degradan los glicosaminoglicanos (tales como sulfato de heparán, que tiene un componente normal de aproximadamente 50-80 kDa) en monosacáridos. Los trastornos asociados con una degradación, biosíntesis y/o acumulación anormal de glicosaminoglicano pueden dar lugar a una acumulación de glicosaminoglicanos y fragmentos de los mismos.

Muchas enfermedades humanas están causadas o se correlacionan con cambios en los glicosaminoglicanos. Con el fin de utilizar estos cambios como biomarcadores de una enfermedad, se emplean métodos analíticos para cuantificar los cambios. Algunos métodos usan anticuerpos, técnicas de cromatografía y/o de espectrometría de masas para identificar y cuantificar los glicanos intactos o parcialmente intactos. El uso de tales métodos es un reto debido a la complejidad y a la cantidad de posibles estructuras de glicano presentes en las muestras biológicas. Para hacer frente a la complejidad, se han desarrollado métodos que emplean enzimas que digieren glicanos para liberar y cuantificar los oligosacáridos homogéneos generados a partir de glicosaminoglicanos poliméricos. El uso de oligosacáridos individuales como el biomarcador de una enfermedad puede que no sea suficiente. Como resultado, existe una oportunidad para combinar los biomarcadores de oligosacárido para proporcionar un conocimiento necesario relacionado con la presencia de la enfermedad, la predicción de la gravedad y la caracterización de la respuesta al tratamiento.

En esta memoria se proporciona un método para detectar una acumulación anormal de glicano, por ejemplo, en una enfermedad humana. En algunos casos, el procedimiento descrito en esta memoria incluye una estrategia para cuantificar los cambios midiendo la abundancia de todos los glicanos con un compuesto residual de glicano relacionado con una enfermedad, en el extremo no reductor de glicanos procedentes de una muestra biológica (por

ejemplo, monosacáridos y/o sus modificaciones tales como sulfatación, acetilación, fosforilación o similares).

En ciertas realizaciones de este documento se proporcionan métodos para detectar una acumulación de glicano en una muestra biológica, comprendiendo el método:

- 5 a. la transformación de un glicano de una muestra biológica con una enzima de degradación de glicano que funciona normalmente para liberar un compuesto residual de glicano desde el extremo no reductor del glicano;
- b. la medición de la cantidad del compuesto residual de glicano liberado por la enzima de degradación de glicano que funciona con un dispositivo analítico.

En ciertas realizaciones, el método se asocia con el diagnóstico de un individuo con una acumulación anormal de glicano o un trastorno asociado con la misma.

10 Por lo tanto, en realizaciones específicas, en esta memoria se proporciona un método para diagnosticar si un individuo tiene una acumulación de glicano anormal o un trastorno asociado con una acumulación de glicano anormal, comprendiendo el método:

- a. la transformación de un glicano de una muestra biológica con una enzima de degradación de glicano que funciona normalmente para liberar un compuesto residual de glicano desde el extremo no reductor del glicano;
- 15 b. la medición de la cantidad del compuesto residual de glicano liberado por la enzima de degradación de glicano que funciona con un dispositivo analítico; y
- c. determinar si la cantidad de residuo de glicano liberado es anormal.

20 En ciertos casos, los métodos de detección de una acumulación anormal de glicano que se basa en la observación de que los glicanos alterados generados en un estado de enfermedad están causados por una alteración en la actividad de una enzima biosintética (por ejemplo, a través de un aumento de la expresión, aumento de la actividad, aumento del sustrato o similares) lo que conduce a la producción de miles de estructuras únicas.

25 Por ejemplo, en ciertos casos, la inducción de una alfa 2,3 sialiltransferasa conduce a la expresión novedosa de miles de diferentes glicanos (potencialmente procedentes de múltiples clases de glicanos) que presentan un ácido siálico ligado a alfa 2,3 terminal no reductor. Mediante una cuantificación de un conjunto limitado de estas nuevas estructuras usando métodos actuales, se mide solo una fracción de las estructuras relacionadas con la enfermedad. En lugar de ello, según se proporciona en ciertas realizaciones en el presente documento, si una muestra que contiene glicanos (en bruto o purificados para una clase de glicano específica) se trata con una alfa 2,3 sialidasa para liberar el ácido siálico del extremo no reductor, se puede medir el ácido siálico libre (residuos de glicano con extremo no reductor). Esta señal representaría una porción más grande de las miles de estructuras de glicano alteradas que se han formado en el estado de enfermedad, debido a la expresión alterada de la alfa 2,3 sialiltransferasa. Además, en ciertas realizaciones, dependiendo de la señal (es decir, la medición) del ácido siálico liberado, se realiza una determinación de si la acumulación de ácido siálico es anormal o no y/o de si esos niveles de ácido siálico acumulado están asociados o no con un trastorno.

35 Otro ejemplo del procedimiento incluye un método que implica una muestra biológica que contiene glicanos (purificados o no) que se trata con una exo-glicosidasa (por ejemplo, una  $\beta$ -galactosidasa). En algunas de tales realizaciones, el tratamiento enzimático escinde monosacáridos con extremo no reductor dentro de la especificidad enzimática seleccionada (por ejemplo, residuos de galactosa ligados a  $\beta$ ) y los libera como un monosacárido libre (por ejemplo, galactosa). En diversas realizaciones, el monosacárido libre se aísla y se cuantifica por cualquier método analítico (HPLC, MS, GC, etc.) y se detecta o se diagnostica cualquier enfermedad que presenta cambios en los niveles de los residuos de galactosa ligada a  $\beta$  con extremo no reductor.

40 Métodos similares se utilizan también opcionalmente en métodos de seguimiento y/o de determinación de la terapéutica de un tratamiento o un régimen de tratamiento, particularmente en el tratamiento de un trastorno asociado con una acumulación anormal de glicano. Por ejemplo, en ciertas realizaciones en el presente documento, se proporciona un método para realizar el seguimiento del tratamiento de trastornos asociados con la degradación, biosíntesis y/o acumulación anormal de glicanos, comprendiendo el método:

- a. después de la administración de un agente para tratar un trastorno asociado con la degradación, biosíntesis y/o acumulación anormal de glicanos a un individuo que lo requiere, utilizando un instrumento analítico para medir la cantidad de una población de un residuo de glicano con extremo no reductor presente en una muestra biológica transformada que se ha preparado mediante:
- 50 el tratamiento de una población de glicanos, en una muestra biológica, o aislada a partir de la misma, tomada del individuo, con al menos una enzima de degradación de glicano que funciona normalmente para liberar un residuo de glicano con extremo no reductor;
- b. determinar si la cantidad de residuo de glicano con extremo no reductor liberado ha disminuido o ha aumentado con una tasa más lenta, en comparación con la cantidad o la tasa de aumento antes de la

administración del agente para el tratamiento de un trastorno asociado con la degradación, biosíntesis y/o acumulación anormal de glicanos.

En algunas realizaciones, cualquier procedimiento descrito en esta memoria comprende:

- 5 a. comparar una cantidad de una población de uno o varios compuestos residuales de glicano presentes en una muestra biológica transformada con una cantidad de una población de uno o varios compuestos residuales de glicano presentes en una muestra biológica de control que se ha tratado de una manera sustancialmente similar a la muestra biológica transformada.

10 En ciertas realizaciones, una muestra biológica de control utilizada en cualquier procedimiento descrito en el presente documento se proporciona a partir de un individuo que no padece un trastorno que se va a diagnosticar. En otras realizaciones, una muestra biológica de control se toma a partir de un individuo que padece un trastorno que se va a diagnosticar. En ciertas realizaciones, el resultado obtenido a partir de la muestra biológica de control se almacena en una base de datos. En tales casos, una muestra de ensayo se compara opcionalmente con una pluralidad de datos de control en una base de datos. Además, en ciertas realizaciones, cualquier procedimiento de diagnóstico descrito en esta memoria se emplea opcionalmente solo o en combinación con otras técnicas de diagnóstico. Otras técnicas de diagnóstico incluyen, a modo de ejemplo no limitativo, el análisis de síntomas, biopsias, detección de una acumulación de otros compuestos en muestras biológicas o similares. En algunas realizaciones, las muestras biológicas de control se toman opcionalmente a partir del mismo individuo, sustancialmente al mismo tiempo, simplemente desde un punto diferente (por ejemplo, una del líquido sinovial de una articulación inflamada/artrítica, frente a otra de una articulación sinovial contralateral no artrítica). En otras realizaciones, las muestras biológicas de control se toman opcionalmente a partir del mismo individuo en diferentes momentos (por ejemplo, antes de la terapia y después de la terapia si el método que se está utilizando es un método para el seguimiento de una terapia de tratamiento).

15 En algunas realizaciones, en esta memoria se proporciona un método para realizar un seguimiento del tratamiento de un trastorno asociado con la degradación, biosíntesis y/o acumulación anormal de glicanos, comprendiendo el método:

- 25 a. después de la administración de un agente para tratar un trastorno asociado con la degradación, biosíntesis y/o acumulación anormal de glicanos a un individuo que lo requiere, utilizando un instrumento analítico para medir la cantidad de una población de un biomarcador que comprende compuestos residuales de glicano con extremos no reductores presentes en una muestra biológica transformada, el biomarcador que se genera mediante el tratamiento de una población de glicanos, en una muestra biológica, o aislado a partir de la misma, procedente de un individuo con al menos una enzima que digiere glicanos, en donde antes del tratamiento enzimático, el biomarcador no está presente en abundancia en las muestras de individuos con la enfermedad o la afección en relación con individuos sin la enfermedad o la afección, y

- 30 b. determinar si la cantidad de biomarcador ha disminuido o ha aumentado con una tasa más lenta, en comparación con la cantidad o la tasa de aumento antes de la administración del agente para el tratamiento de un trastorno asociado con la degradación, biosíntesis y/o acumulación anormal de glicanos.

35 En algunas realizaciones, el trastorno asociado con la degradación, biosíntesis y/o acumulación anormal de glicanos es una enfermedad de almacenamiento lisosómico, una enfermedad cancerosa, una enfermedad inflamatoria, una enfermedad infecciosa, una enfermedad del sistema nervioso central o una enfermedad cardiovascular.

40 En algunas realizaciones, la enzima de degradación de glicano que funciona normalmente es una glicosidasa, sulfatasa, fosforilasa, desacetilasa o una combinación de las mismas. En algunas realizaciones, la enzima de degradación de glicano que funciona normalmente es una glicosidasa que se selecciona a partir de una exo-glicosidasa y una endo-glicosidasa. En algunas realizaciones, el compuesto residual de glicano es un monosacárido, sulfato, fosfato, acetato o una combinación de los mismos. En algunas realizaciones, la transformación de un glicano de una muestra biológica con una enzima de degradación de glicano que funciona normalmente comprende la transformación de un glicano de una muestra biológica con una pluralidad de enzimas de degradación de glicano que funcionan normalmente. En algunas realizaciones, el glicano se trata con una pluralidad de enzimas de degradación de glicano que funcionan normalmente de forma concurrente, secuencial o una combinación de las mismas.

45 En algunas realizaciones, antes de medir la cantidad de una población de compuestos residuales de glicano con extremo no reductor, los compuestos residuales de glicano con extremo no reductor se marcan con un marcador detectable. En algunas realizaciones, el marcador detectable es un marcador de masas, un marcador de radioisótopo, un marcador fluorescente, un marcador cromóforo o un marcador de afinidad. En algunas realizaciones, la cantidad de glicano liberado se mide usando espectroscopía UV-Vis, espectroscopia de RI, espectrometría de masas o una combinación de las mismas.

50 En ciertas realizaciones del presente documento se proporcionan:

- 55 a. Métodos que utilizan un biomarcador de glicano con extremo no reductor (NRE) junto con al menos otro

biomarcador de glicano (por ejemplo, un biomarcador de glicano con extremo no reductor, un biomarcador con extremo reductor y/o un biomarcador de glicano interno). En algunos casos, el uso de los dos biomarcadores proporciona una herramienta muy valiosa que proporciona una información detallada acerca de la gravedad de la enfermedad y/o de la respuesta a una terapia. En diversos aspectos, los biomarcadores detectados y/o analizados de acuerdo con el procesamiento descrito en el presente documento, se comparan de cualquier manera adecuada, por ejemplo, en una relación o una comparación simultánea.

b. Métodos que utilizan al menos dos biomarcadores de glicanos diferentes (por ejemplo, en donde cada biomarcador se selecciona individualmente a partir de un biomarcador de glicano con extremo no reductor, un biomarcador con extremo reductor y/o un biomarcador de glicano interno) para la identificación o el diagnóstico de enfermedades causadas por deficiencias en la acumulación y/o la biosíntesis de glicosaminoglicanos.

En ciertos aspectos, tales métodos comprenden la comparación de las cantidades de tales biomarcadores entre sí. En realizaciones específicas, la comparación implica determinar relaciones de los biomarcadores, en donde los biomarcadores son fragmentos de glicano generados por la digestión con una liasa de glicosaminoglicano.

En ciertas realizaciones en el presente documento se proporciona un método para diagnosticar si un individuo tiene una enfermedad o una afección asociada con la biosíntesis, la degradación o la acumulación anormal de glicano, comprendiendo el método:

a. generar un biomarcador que comprende uno o varios compuestos residuales de glicano con extremo no reductor, en donde el biomarcador se genera mediante el tratamiento de una población de glicanos, en una muestra biológica, o aislado a partir de la misma, procedente de un individuo, con al menos una enzima que digiere glicano, en donde antes del tratamiento enzimático, el biomarcador no está presente en abundancia en muestras de individuos con la enfermedad o la afección, en relación con individuos sin la enfermedad o la afección, y

b. utilizar un instrumento analítico para detectar la presencia y/o medir la cantidad del biomarcador producido y mostrar o determinar la presencia o una medida de una población del biomarcador;

en donde la presencia y/o la medición de la cantidad del biomarcador se emplea para determinar la presencia, la identidad y/o la gravedad de la enfermedad o la afección.

En algunas realizaciones, la enfermedad o el trastorno está causado por una enzima de degradación de glicano que funciona anormalmente y en donde la enzima de degradación de glicano que funciona anormalmente y la enzima de degradación de glicano que funciona normalmente son del mismo tipo. En algunas realizaciones, la enzima de degradación de glicano que funciona anormalmente, funciona anormalmente como resultado de estar presente en una cantidad anormalmente baja, funcionar incorrectamente o una combinación de las mismas. En algunas realizaciones, la acumulación anormal de glicano comprende la acumulación de cantidades anormales de glicanos. En algunas realizaciones, la acumulación anormal de glicano comprende la acumulación de cantidades anormales de glicanos normales. En algunas realizaciones, la acumulación anormal de glicano comprende la acumulación de cantidades anormales de glicanos anormales.

En algunas realizaciones, la enzima de degradación de glicano que funciona normalmente es una glicosidasa, sulfatasa, fosforilasa, desacetilasa o una combinación de las mismas. En algunas realizaciones, la enzima de degradación de glicano que funciona normalmente es una glicosidasa seleccionada a partir de una exo-glicosidasa y una endo-glicosidasa. En algunas realizaciones, la glicosidasa es una exo-glicosidasa seleccionada a partir del grupo que consiste en una galactosidasa y una glucuronidasa. En algunas realizaciones, el compuesto residual de glicano es un monosacárido. En algunas realizaciones, el compuesto residual de glicano es sulfato, fosfato, acetato o una combinación de los mismos.

En algunas realizaciones, una muestra biológica se purifica antes de la transformación de un glicano de la misma. En algunas realizaciones, el procedimiento de purificación de una muestra biológica comprende la eliminación de los monosacáridos de la misma, la eliminación de sulfatos de la misma, la eliminación de fosfatos de la misma, la eliminación de acetato de la misma o una combinación de las mismas. En algunas realizaciones, la transformación de un glicano de una muestra biológica con una enzima de degradación de glicano que funciona normalmente comprende la transformación de un glicano de una muestra biológica con una pluralidad de enzimas de degradación de glicano que funcionan normalmente. En algunas realizaciones, el glicano se trata con una pluralidad de enzimas de degradación de glicano que funcionan normalmente de forma concurrente, secuencial o una combinación de las mismas.

En algunas realizaciones, el trastorno asociado con una acumulación anormal de glicano es MPS I, MPS II, MPS IIIA, MPS IVA, MPSVI o enfermedad de Fabry.

En algunas realizaciones, la determinación de si la cantidad de residuo de glicano liberado es anormal, comprende marcar el residuo de glicano con un marcador detectable y medir la cantidad de residuo de glicano marcado con un instrumento analítico. En algunas realizaciones, el marcador detectable es un marcador de masas, un marcador de radioisótopo, un marcador fluorescente, un marcador cromóforo o un marcador de afinidad. En algunas

realizaciones, la cantidad de glicano liberado se mide usando espectroscopía UV-Vis, espectroscopia de RI, espectrometría de masas o una combinación de las mismas.

En esta memoria, en ciertas realizaciones, se proporciona un método para diagnosticar si un individuo tiene una enfermedad o afección (por ejemplo, asociada con la biosíntesis, la degradación o la acumulación anormal de glicano), comprendiendo el método:

- 5 a. generar un primer biomarcador que comprende un compuesto residual de glicano, en donde el primer biomarcador se genera mediante el tratamiento de una población de glicanos, en una muestra biológica o aislada a partir de la misma, procedente del individuo, con al menos una enzima que digiere glicano, en donde antes del tratamiento enzimático, el primer biomarcador no está presente en abundancia en muestras de individuos con la enfermedad o la afección, en relación con individuos sin la enfermedad o la afección,
- 10 b. generar un segundo biomarcador que comprende un compuesto residual de glicano, en donde el segundo biomarcador se genera mediante el tratamiento de una población de glicanos, en una muestra biológica o aislada a partir de la misma, procedente del individuo, con al menos una enzima que digiere glicano en la misma etapa o una etapa diferente de la digestión que la que se proporciona en la etapa (a), en donde antes del tratamiento enzimático, el segundo biomarcador no está presente en abundancia en muestras de individuos con la enfermedad o la afección, en relación con individuos sin la enfermedad o la afección,
- 15 c. emplear un instrumento analítico para detectar la presencia y/o medir la cantidad del primer y segundo biomarcador producido y mostrar o determinar la presencia o una medida de una población del primer y segundo biomarcador, y
- 20 d. realizar un seguimiento y/o comparar las cantidades del primer y segundo biomarcador en una muestra biológica;

en donde la presencia y/o la medición de las cantidades del primer y segundo biomarcador se emplean para determinar la presencia, identidad y/o gravedad de la enfermedad o la afección.

En algunas realizaciones, el primer biomarcador es un compuesto residual de glicano con extremo no reductor. En algunas realizaciones, la enfermedad o el trastorno está causado por una enzima de degradación de glicano que funciona anormalmente y en donde la enzima de degradación de glicano que funciona anormalmente y la enzima que digiere glicano son del mismo tipo. En algunas realizaciones, el compuesto residual de glicano con extremo no reductor es un monosacárido. En algunas realizaciones, el compuesto residual de glicano con extremo no reductor no es un monosacárido.

En algunas realizaciones, el segundo biomarcador se obtiene o se genera a partir del extremo reductor del mismo glicano a partir del cual se había generado el primer biomarcador del compuesto residual de glicano con extremo no reductor. En algunas realizaciones, el segundo biomarcador se obtiene o se genera a partir de las estructuras de oligosacáridos internos del mismo glicano a partir del cual se había generado el primer biomarcador del compuesto residual de glicano con extremo no reductor. En algunas realizaciones, la enfermedad o el trastorno está causado por la función anormal de una enzima de degradación de glicano en el individuo y en donde el segundo biomarcador se puede generar tratando el primer biomarcador del compuesto residual de glicano con extremo no reductor con la enzima de degradación de glicano que funciona de forma anormal en el individuo.

En algunas realizaciones, la enfermedad o la afección asociada con la biosíntesis, la degradación o la acumulación anormal de glicano es una enfermedad de almacenamiento lisosómico. En algunas realizaciones, la enfermedad de almacenamiento lisosómico es mucopolisacaridosis. En algunas realizaciones, la mucopolisacaridosis es MPS I, II, IIIA, IIIB, IIIC, IIID, IVA, IVB, VI o VII. En algunas realizaciones, la enfermedad o la afección asociada con la biosíntesis, la degradación o la acumulación anormal de glicano es leucodistrofia metacromática o enfermedad de Krabbe. En algunas realizaciones, la enfermedad o la afección asociada con la biosíntesis, la degradación o la acumulación anormal de glicano es gangliosidosis. En algunas realizaciones, la gangliosidosis es gangliosidosis de Tay Sachs, Sandhoff, variante AB o GM-1.

En algunas realizaciones, la presencia y/o la medición del primer biomarcador del compuesto residual de glicano con extremo no reductor en combinación o en relación con el segundo biomarcador, se utiliza para realizar un seguimiento del tratamiento de un trastorno asociado con la biosíntesis anormal de glicanos. En algunas realizaciones, la presencia y/o la medición del primer biomarcador del compuesto residual de glicano con extremo no reductor en combinación o en relación con el segundo biomarcador, se utiliza para realizar un seguimiento del tratamiento de un trastorno asociado con la degradación o la acumulación anormal de glicanos. En algunas realizaciones, el tratamiento es una terapia de reemplazo enzimático. En algunas realizaciones, la ausencia de un aumento en el segundo biomarcador combinada con una reducción en el biomarcador del compuesto residual de glicano con extremo no reductor, indica una respuesta positiva frente al tratamiento de la enfermedad asociada con una degradación o acumulación anormal de glicanos.

## Acumulación de glicanos:

5 En varios casos, la acumulación de glicano se produce en una muestra biológica como el resultado de procesos naturales biosintéticos y/o de degradación de glicano. En algunos casos, la acumulación anormal de glicano se produce en una muestra biológica como resultado de un trastorno o una enfermedad en un individuo a partir del cual se obtiene la muestra biológica.

En ciertas realizaciones, la acumulación anormal de glicano que es observable por métodos descritos en el presente documento, está asociada con la acumulación de glicanos en una forma que normalmente no se produce en individuos que no tienen un estado de enfermedad.

10 En algunas realizaciones, esa acumulación incluye la acumulación de glicanos anormales. En ciertos casos, esos glicanos anormales incluyen glicanos que no se producen normalmente en un individuo o una muestra biológica particular del mismo, en ausencia de un estado de enfermedad particular. Por lo tanto, en algunas realizaciones, una acumulación anormal de glicano incluye la acumulación de glicanos, siendo los glicanos anormales por sí mismos, especialmente en cualquier cantidad significativa. En otras palabras, tales glicanos son glicanos anormales en individuos o muestras biológicas particulares de los mismos, cuando tales individuos están en un estado de tipo no enfermo, normal o natural.

15 En algunas realizaciones, esa acumulación incluye la acumulación anormal de glicanos. En algunos casos, esos glicanos son glicanos que normalmente están presentes en individuos en un estado no enfermo, pero a niveles más bajos o más altos, o son anormales solamente debido a la ubicación en la que se producen. Por lo tanto, en algunas realizaciones, una acumulación anormal de glicano incluye la acumulación de cantidades anormales de glicanos o de la ubicación de las mismas, en donde los glicanos se producen normalmente o son anormales. En otras palabras, la cantidad de acumulación de glicano es anormal en los individuos, o en muestras biológicas particulares de los mismos, cuando esos individuos están en un estado de tipo no enfermo, normal o natural.

## Muestra biológica:

25 Las muestras biológicas adecuadas para un análisis de acuerdo con los métodos y procedimientos descritos en esta memoria, incluyen a modo de ejemplo no limitativo, sangre, suero, orina, pelo, saliva, piel, tejido, plasma, líquido cefalorraquídeo (LCR), líquido amniótico, aspirado de pezón, esputo, lágrimas, aspirado de pulmón, semen, heces, líquido sinovial, uñas o similares. En realizaciones específicas, las muestras biológicas adecuadas para un análisis de acuerdo con los métodos y procedimientos descritos en esta memoria, incluyen a modo de ejemplo no limitativo, orina, suero, plasma o LCR. En ciertas realizaciones, los procedimientos para la detección de glicano en una muestra comprenden proporcionar, a partir de un individuo, una muestra biológica de ensayo que comprende glicano. En algunas realizaciones, proporcionar una muestra biológica de ensayo procedente de un individuo, incluye la obtención de la muestra a partir del individuo o la obtención de la muestra a partir de otra fuente (por ejemplo, de un técnico o una institución que ha obtenido la muestra del individuo). En algunas realizaciones, la muestra biológica se obtiene a partir de cualquier fuente adecuada, por ejemplo, cualquier tejido o célula (por ejemplo, orina, suero, plasma o LCR) de un individuo. En ciertas realizaciones, el tejido y/o la célula a partir de la que se recuperan los glicanos, se obtiene a partir de tejido o células del hígado, tejido o células cerebrales o tejido o células renales o similares.

35 En ciertas realizaciones, una muestra biológica de acuerdo con cualquier procedimiento descrito en esta memoria, se toma a partir de cualquier individuo. En algunas realizaciones, el individuo es un individuo sospechoso de padecer un trastorno asociado con una acumulación, biosíntesis y/o degradación anormal de glicano. En ciertas realizaciones, el individuo es un recién nacido o un feto.

40 En algunas realizaciones, se proporciona en esta memoria una composición que comprende glicanos aislados, en donde los glicanos se han aislado a partir de una muestra biológica y una o varias enzimas de degradación de glicano. En ciertas realizaciones, la composición comprende además uno o varios biomarcadores generados de acuerdo con cualquier método descrito en esta memoria (por ejemplo, en donde el biomarcador es un compuesto residual de glicano con extremo no reductor). En ciertas realizaciones, se proporciona en esta memoria un biomarcador descrito en esta memoria (por ejemplo, un compuesto residual de glicano con extremo no reductor marcado o no marcado) y un instrumento analítico o una resina cromatográfica.

## Enzimas de degradación:

50 En ciertas realizaciones, se emplea opcionalmente cualquier enzima adecuada para eliminar un compuesto residual de glicano del extremo no reductor de un glicano. En ciertos trastornos, por ejemplo, como se describe en el presente documento, se producen diversos tipos de acumulación anormal de glicano. En ciertos casos, ese tipo de acumulación de glicano se detecta y/o se mide usando cualquier enzima adecuada, por ejemplo, como se describe en el presente documento. Por ejemplo, las Tablas 1-4 ilustran diversas enzimas que se utilizan en diversas realizaciones de los procedimientos descritos en esta memoria. Cualquier enzima con la especificidad deseada se utiliza opcionalmente en cualquier procedimiento en el presente documento (es decir, para liberar las estructuras del extremo no reductor). Las enzimas adecuadas para uso en los procedimientos descritos en el presente documento incluyen, a modo de ejemplo no limitativo, enzimas eucariotas, procariotas, naturales o recombinantes.

En ciertas realizaciones, un trastorno asociado con una acumulación anormal de glicano incluye un trastorno asociado con la misma, que está causado por una enzima de degradación de glicano que funciona anormalmente. En diversas realizaciones, la enzima de degradación de glicano que funciona anormalmente, funciona anormalmente como resultado de estar presente en una cantidad anormalmente baja, funcionar incorrectamente o una combinación de las mismas. Por ejemplo, una enzima de degradación de glicano que funciona anormalmente, funciona anormalmente como resultado de estar presente en una cantidad menor del 50%, menor del 40%, menor del 30%, menor del 20%, menor del 10% o menor del 5% que está presente en un individuo con cantidades normales de la enzima de degradación de glicano (por ejemplo, un individuo en un estado de tipo no enfermo, normal o natural). En realizaciones adicionales o alternativas, las enzimas de degradación de glicano que funcionan anormalmente están presentes en una cantidad normal, pero no funcionan correctamente en la degradación de glicanos. Por ejemplo, tales enzimas pueden tener sustituciones de aminoácidos en las secuencias de los mismos que reducen o eliminan las propiedades de degradación de glicano de la enzima.

En algunas realizaciones, en las que una acumulación anormal de glicano es la consecuencia, al menos parcialmente, de una enzima de degradación de glicano que funciona anormalmente, una degradación de glicano que funciona normalmente se utiliza opcionalmente, en particular cuando la enzima de degradación de glicano que funciona anormalmente y la enzima de degradación de glicano que funciona normalmente son del mismo tipo.

Las enzimas de degradación de glicano que funcionan normalmente que se utilizan en diversas realizaciones descritas en esta memoria, incluyen a modo de ejemplo no limitativo, glicosidasas, sulfatasas, fosforilasas, desacetilasas, sialidasas o combinaciones de las mismas. En realizaciones más específicas, una enzima de degradación de glicano que funciona normalmente es una glicosidasa, por ejemplo, una exo-glicosidasa o una endo-glicosidasa. En realizaciones más específicas, la glicosidasa es una exo-glicosidasa, por ejemplo, galactosidasa y glucuronidasa. En algunas realizaciones, tales enzimas sirven para separar diversos compuestos residuales de glicano, tales como, monosacáridos, sulfato, fosfato, acetato, ácido siálico o combinaciones de los mismos, que se detectan y/o se miden en métodos descritos en esta memoria.

En ciertas realizaciones, una o varias enzimas de degradación de glicano que funcionan normalmente se utilizan opcionalmente para liberar un compuesto residual de glicano diana. Tratamientos enzimáticos múltiples de glicanos en una muestra biológica son útiles en diversas realizaciones, por ejemplo, en donde una enzima particular no es capaz de liberar un compuesto de glicano residual diana sin modificar primero el extremo no reductor del glicano. Por ejemplo, una primera enzima se utiliza opcionalmente para separar un sulfato de modo que se puede emplear una segunda enzima para separar un monosacárido. En diversas realizaciones, los glicanos se tratan con una pluralidad de enzimas de degradación de glicano que funcionan normalmente de forma concurrente, secuencial o una combinación de las mismas.

Diversas enzimas que se utilizan en diversas realizaciones de los métodos descritos en esta memoria incluyen, a modo de ejemplo no limitativo, una glicosidasa. Ejemplos no limitantes de glicosidasas que se emplean opcionalmente en los métodos descritos en esta memoria incluyen, a modo de ejemplo no limitativo, enzimas clasificadas como 3.2.1.X por BRENDA (el sistema global de información enzimática) que incluyen 3.2.1.1 alfa-amilasa, 3.2.1.B1 agarasa extracelular, 3.2.1.2 beta-amilasa, 3.2.1.3 glicano 1,4-alfa-glucosidasa, 3.2.1.4 celulasa, 3.2.1.5 licheninasa, 3.2.1.6 endo-1,3(4)-beta-glucanasa, 3.2.1.7 inulinasa, 3.2.1.8 endo-1,4-beta-xilanas, 3.2.1.9 amilopectina-1,6-glucosidasa, 3.2.1.10 oligo-1,6-glucosidasa, 3.2.1.11 dextranasa, 3.2.1.12 cicloheptaglukanasa, 3.2.1.13 ciclohexaglukanasa, 3.2.1.14 quitinasa, 3.2.1.15 poligalacturonasa, 3.2.1.16 alginasa, 3.2.1.17 lisozima, 3.2.1.18 exo-alfa-sialidasa, 3.2.1.19 heparinasa, 3.2.1.20 alfa-glucosidasa, 3.2.1.21 beta-glucosidasa, 3.2.1.22 alfa-galactosidasa, 3.2.1.23 beta-galactosidasa, 3.2.1.24 alfa-manosidasa, 3.2.1.25 beta-manosidasa, 3.2.1.26 beta-fructofuranosidasa, 3.2.1.27 alfa-1,3-glucosidasa, 3.2.1.28 alfa,alfa-trehalasa, 3.2.1.29 chitobiasa, 3.2.1.30 beta-D-acetilglucosaminidasa, 3.2.1.31 beta-glucuronidasa, 3.2.1.32 xilano endo-1,3-beta-xilosidasa, 3.2.1.33 amilo-alfa-1,6-glucosidasa, 3.2.1.34 condroitinasa, 3.2.1.35 hialuronoglucosaminidasa, 3.2.1.36 hialuronoglucuronidasa, 3.2.1.37 xilano 1,4-beta-xilosidasa, 3.2.1.38 beta-D-fucosidasa, 3.2.1.39 glucano endo-1,3-beta-D-glucosidasa, 3.2.1.40 alfa-L-ramnosidasa, 3.2.1.41 pululanasa, 3.2.1.42 GDP-glucosidasa, 3.2.1.43 beta-L-ramnosidasa, 3.2.1.44 fucoianasa, 3.2.1.45 glucosilceramidasa, 3.2.1.46 galactosilceramidasa, 3.2.1.47 galactosilgalactosilglucosilceramidasa, 3.2.1.48 sacarosa alfa-glucosidasa, 3.2.1.49 alfa-N-acetilgalactosaminidasa, 3.2.1.50 alfa-N-acetilglucosaminidasa, 3.2.1.51 alfa-L-fucosidasa, 3.2.1.52 beta-N-acetilhexosaminidasa, 3.2.1.53 beta-N-acetilgalactosaminidasa, 3.2.1.54 ciclomaltodextrinasa, 3.2.1.55 alfa-N-arabinofuranosidasa, 3.2.1.56 glucuronosildisulfoglucosamina glucuronidasa, 3.2.1.57 isopululanasa, 3.2.1.58 glucano 1,3-beta-glucosidasa, 3.2.1.59 glucano endo-1,3-alfa-glucosidasa, 3.2.1.60 glucano 1,4-alfa-maltotetrahidrolasa, 3.2.1.61 micodextranasa, 3.2.1.62 glicosilceramidasa, 3.2.1.63 1,2-alfa-L-fucosidasa, 3.2.1.64 2,6-beta-fructano 6-levanbiohidrolasa, 3.2.1.65 levanasa, 3.2.1.66 quercitrinasa, 3.2.1.67 galacturano 1,4-alfa-galacturonidasa, 3.2.1.68 isoamilasa, 3.2.1.69 amilopectina 6-glucanohidrolasa, 3.2.1.70 glucano 1,6-alfa-glucosidasa, 3.2.1.71 glucano endo-1,2-beta-glucosidasa, 3.2.1.72 xilano 1,3-beta-xilosidasa, 3.2.1.73 licheninasa, 3.2.1.74 glucano 1,4-beta-glucosidasa, 3.2.1.75 glucano endo-1,6-beta-glucosidasa, 3.2.1.76 L-iduronidasa, 3.2.1.77 manano 1,2-(1,3)-alfa-manosidasa, 3.2.1.78 manano endo-1,4-beta-manosidasa, 3.2.1.79 alfa-L-arabinofuranosido hidrolasa, 3.2.1.80 fructano beta-fructosidasa, 3.2.1.81 beta-agarasa, 3.2.1.82 exo-poli-alfa-galacturonosidasa, 3.2.1.83 kappacarragenasa, 3.2.1.84 glucano 1,3-alfa-glucosidasa, 3.2.1.85 6-fosfo-beta-galactosidasa, 3.2.1.86 6-fosfo-beta-glucosidasa, 3.2.1.87 polisacárido capsular endo-1,3-alfa-galactosidasa, 3.2.1.88 beta-L-arabinosidasa, 3.2.1.89 arabinogalactano endo-1,4-beta-galactosidasa, 3.2.1.90 arabinogalactano endo-1,3-beta-galactosidasa, 3.2.1.91 celulosa 1,4-beta-celobiosidasa, 3.2.1.92 peptidoglicano beta-N-

acetilmuramidasa, 3.2.1.93 alfa,alfa-fosfotrehalasa, 3.2.1.94 glucano 1,6-alfa-isomaltosidasa, 3.2.1.95 dextrano 1,6-alfa-isomaltotriosidasa, 3.2.1.96 manosilglicoproteína endo-beta-N-acetilglucosaminidasa, 3.2.1.97 glicopéptido alfa-N-acetilgalactosaminidasa, 3.2.1.98 glucano 1,4-alfa-maltohexaosidasa, 3.2.1.99 arabinano endo-1,5-alfa-L-arabinosidasa, 3.2.1.100 manano 1,4-manobiosidasa, 3.2.1.101 manano endo-1,6-alfa-manosidasa, 3.2.1.102 sustancia de grupo sanguíneo endo-1,4-beta-galactosidasa, 3.2.1.103 queratansulfato endo-1,4-beta-galactosidasa, 3.2.1.104 esteril-beta-glucosidasa, 3.2.1.105 3alfa(S)-estrictosidina beta-glucosidasa, 3.2.1.106 manosil-oligosacárido glucosidasa, 3.2.1.107 proteinaglicosilgalactosilhidroxilisina glucosidasa, 3.2.1.108 lactasa, 3.2.1.109 endogalactosaminidasa, 3.2.1.110 mucinaminilserina mucinaminidasa, 3.2.1.111 1,3-alfa-L-fucosidasa, 3.2.1.112 2-desoxiglucosidasa, 3.2.1.113 manosil-oligosacárido 1,2-alfa-manosidasa, 3.2.1.114 manosil-oligosacárido 1,3-1,6-alfa-manosidasa, 3.2.1.115 dextrano ramificado exo-1,2-alfa-glucosidasa, 3.2.1.116 glucano 1,4-alfa-maltotriohidrolasa, 3.2.1.117 amigdalina beta-glucosidasa, 3.2.1.118 prunasina beta-glucosidasa, 3.2.1.119 vicianina beta-glucosidasa, 3.2.1.120 oligoxiloglucano betaglicosidasa, 3.2.1.121 polimanuronato hidrolasa, 3.2.1.122 maltosa-6'-fosfato glucosidasa, 3.2.1.123 endoglicosilceramidasa, 3.2.1.124 3-desoxi-2-oculosonidasa, 3.2.1.125 raucafricina beta-glucosidasa, 3.2.1.126 coniferina beta-glucosidasa, 3.2.1.127 1,6-alfa-L-fucosidasa, 3.2.1.128 glicirricinato beta-glucuronidasa, 3.2.1.129 endo-alfa-sialidasa, 3.2.1.130 glicoproteína endo-alfa-1,2-manosidasa, 3.2.1.131 xilano alfa-1,2-glucuronosidasa, 3.2.1.132 chitosanasa, 3.2.1.133 glucano 1,4-alfa-maltohidrolasa, 3.2.1.134 anhídrido de difructosa sintasa, 3.2.1.135 neopululanasa, 3.2.1.136 glucuronoarabinoxilano endo-1,4-beta-xilanasa, 3.2.1.137 manano exo-1,2-1,6-alfa-manosidasa, 3.2.1.138 anhidrosialidasa, 3.2.1.139 alfa-glucuronidasa, 3.2.1.140 lacto-N-biosidasa, 3.2.1.141 4-alfa-D-((1->4)-alfa-D-glucano)trehalosa trehalohidrolasa, 3.2.1.142 dextrinasa limite, 3.2.1.143 poli(ADP-ribosa) glicohidrolasa, 3.2.1.144 3-desoxioctulosonasa, 3.2.1.145 galactano 1,3-beta-galactosidasa, 3.2.1.146 beta-galactofuranosidasa, 3.2.1.147 tioglucosidasa, 3.2.1.148 ribosilhomocisteinasa, 3.2.1.149 beta-primeverosidasa, 3.2.1.150 celobiohidrolasa específica del extremo reductor de oligoxiloglucano, 3.2.1.151 endo-beta-1,4-glucanasa específica de xiloglucano, 3.2.1.152 manosilglicoproteína endo-beta-manosidasa, 3.2.1.153 fructano beta-(2,1)-fructosidasa, 3.2.1.154 fructano beta-(2,6)-fructosidasa, 3.2.1.155 exo-beta-1,4-glucanasa específica de xiloglucano, 3.2.1.156 xilanasa reductora de extremo de oligosacárido, 3.2.1.157 iota-carragenasa, 3.2.1.158 alfa-agarasa, 3.2.1.159 alfa-neoagarar-oligosacárido hidrolasa, 3.2.1.160 exobeta-1,4-glucanasa específica de xiloglucano, 3.2.1.161 beta-aposil-beta-glucosidasa, 3.2.1.162 lambda-carragenasa, 3.2.1.163 1,6-alfa-D-manosidasa, 3.2.1.164 galactano endo-1,6-beta-galactosidasa, 3.2.1.165 exo-1,4-beta-D-glucosaminidasa, o una combinación de las mismas.

Otras enzimas que se utilizan en diversas realizaciones de los métodos descritos en esta memoria incluyen, a modo de ejemplo no limitativo, una sulfatasa que incluye, por ejemplo, enzimas clasificadas como 3.1.6.X por BRENDA (el sistema global de información enzimática) que incluyen 3.1.6.1 arilsulfatasa, 3.1.6.2 esteril-sulfatasa, 3.1.6.3 glicosulfatasa, 3.1.6.4 N-acetilgalactosamina-6-sulfatasa, 3.1.6.5 sinigrina sulfohidrolasa; mirosulfatasa, 3.1.6.6 colina-sulfatasa, 3.1.6.7 celulosa-polisulfatasa, 3.1.6.8 cerebrosido-sulfatasa, 3.1.6.9 condro-4-sulfatasa, 3.1.6.10 condro-6-sulfatasa, 3.1.6.11 disulfoglucosamina-6-sulfatasa, 3.1.6.12 N-acetilgalactosamina-4-sulfatasa, 3.1.6.13 iduronato-2-sulfatasa, 3.1.6.14 N-acetilglucosamina-6-sulfatasa, 3.1.6.15 N-sulfoglucosamina-3-sulfatasa, 3.1.6.16 monometil-sulfatasa, 3.1.6.17 D-lactato-2-sulfatasa, 3.1.6.18 glucuronato-2-sulfatasa, 3.10.1.1 N-sulfoglucosamina sulfohidrolasa, o combinaciones de las mismas.

Ciertas enzimas que se utilizan en diversas realizaciones de los métodos descritos en esta memoria incluyen, a modo de ejemplo no limitativo, una desacetilasa, por ejemplo, un exo-desacetilasa, que incluye, a modo de ejemplo no limitativo, la alfa-glucosaminida N-acetiltransferasa (2.3.1.78) o enzimas similares.

Ciertas enzimas que se utilizan en diversas realizaciones de los métodos descritos en esta memoria incluyen, a modo de ejemplo no limitativo, una fosfatasa de hidratos de carbono que incluye, por ejemplo, 3.1.3.1 fosfatasa alcalina, 3.1.3.2 fosfatasa ácida, 3.1.3.B2 diacilglicerol pirofosfato fosfatasa, 3.1.3.3 fosfoserina fosfatasa, 3.1.3.4 fosfatidato fosfatasa, 3.1.3.5 5'-nucleotidasa, 3.1.3.6 3'-nucleotidasa, 3.1.3.7 3'(2'),5'-bifosfato nucleotidasa, 3.1.3.8 3-fitasa, 3.1.3.9 glucosa-6-fosfatasa, 3.1.3.10 glucosa-1-fosfatasa, 3.1.3.11 fructosa-bisfosfatasa, 3.1.3.12 trehalosa-fosfatasa, 3.1.3.13 bisfosfoglicerato fosfatasa, 3.1.3.14 metilfosfotiglicerato fosfatasa, 3.1.3.15 histidinol-fosfatasa, 3.1.3.16 fosfoproteína fosfatasa, 3.1.3.17 [fosforilasa] fosfatasa, 3.1.3.18 fosfoglicolato fosfatasa, 3.1.3.19 glicerol-2-fosfatasa, 3.1.3.20 fosfoglicerato fosfatasa, 3.1.3.21 glicerol-1-fosfatasa, 3.1.3.22 manitol-1-fosfatasa, 3.1.3.23 azúcar-fosfatasa, 3.1.3.24 sacarosa-fosfato fosfatasa, 3.1.3.25 inositol fosfato fosfatasa, 3.1.3.26 4-fitasa, 3.1.3.27 fosfatidilglicerofosfatasa, 3.1.3.28 ADP-fosfoglicerato fosfatasa, 3.1.3.29 N-acilneuraminato-9-fosfatasa, 3.1.3.30 3'-fosfoadenililsulfato 3'-fosfatasa, 3.1.3.31 nucleotidasa, 3.1.3.32 polinucleótido 3'-fosfatasa, 3.1.3.33 polinucleótido 5'-fosfatasa, 3.1.3.34 desoxinucleótido 3'-fosfatasa, 3.1.3.35 timidilato 5'-fosfatasa, 3.1.3.36 fosfoinosítido 5-fosfatasa, 3.1.3.37 sedoheptulosa-bisfosfatasa, 3.1.3.38 3-fosfoglicerato fosfatasa, 3.1.3.39 estreptomycin-6-fosfatasa, 3.1.3.40 guanidinodesoxiescilo-inositol-4-fosfatasa, 3.1.3.41 4-nitrofenilfosfatasa, 3.1.3.42 [glucógeno-sintasa-D] fosfatasa, 3.1.3.43 [piruvato deshidrogenasa (que transfiere acetilo)]-fosfatasa, 3.1.3.44 [acetil-CoA carboxilasa]-fosfatasa, 3.1.3.45 3-desoxi-mano-octulosonato-8-fosfatasa, 3.1.3.46 fructosa-2,6-bisfosfato 2-fosfatasa, 3.1.3.47 [hidroximetilglutaril-CoA reductasa (NADPH)]-fosfatasa, 3.1.3.48 proteína-tirosina-fosfatasa, 3.1.3.49 [piruvato cinasa]-fosfatasa, 3.1.3.50 sorbitol-6-fosfatasa, 3.1.3.51 dolcil-fosfatasa, 3.1.3.52 [3-metil-2-oxobutanoato deshidrogenasa (que transfiere 2-metilpropanoilo)]-fosfatasa, 3.1.3.53 [miosina de cadena ligera] fosfatasa, 3.1.3.54 fructosa-2,6-bisfosfato 6-fosfatasa, 3.1.3.55 caldesmon-fosfatasa, 3.1.3.56 inositol-polifosfato 5-fosfatasa, 3.1.3.57 inositol-1,4-bifosfato 1-fosfatasa, 3.1.3.58 azúcar-terminal-fosfatasa, 3.1.3.59 alquilacetilglicerofosfatasa, 3.1.3.60 fosfoenolpiruvato fosfatasa, 3.1.3.61 inositol-1,4,5-trifosfato 1-fosfatasa, 3.1.3.62 múltiple inositol-polifosfato

fosfatasa, 3.1.3.63 2-carboxi-D-arabinitol-1-fosfatasa, 3.1.3.64 fosfatidilinositol-3-fosfatasa, 3.1.3.65 inositol-1,3-bifosfato 3-fosfatasa, 3.1.3.66 fosfatidilinositol-3,4-bifosfato 4-fosfatasa, 3.1.3.67 fosfatidilinositol-3,4,5-trifosfato 3-fosfatasa, 3.1.3.68 2-desoxiglucosa-6-fosfatasa, 3.1.3.69 glucosilglicerol 3-fosfatasa, 3.1.3.70 manosil-3-fosfoglicerato fosfatasa, 3.1.3.71 2-fosfosulfolactato fosfatasa, 3.1.3.72 5-fitasa, 3.1.3.73 alfa-ribazol fosfatasa, 3.1.3.74 piridoxal fosfatasa, 3.1.3.75 fosfoetanolamina/fosfocolina fosfatasa, 3.1.3.76 lípido-fosfato fosfatasa, 3.1.3.77 acireductona sintasa, 3.1.3.78 fosfatidilinositol-4,5-bifosfato 4-fosfatasa o 3.1.3.79 manosilfructosa-fosfato fosfatasa o una combinación de las mismas.

En algunas realizaciones, los procedimientos descritos en esta memoria incluyen la incubación y la digestión con una primera enzima para retirar una estructura específica de extremo no reductor, la incubación y la digestión con una segunda enzima. En ciertas realizaciones, este enfoque multienzimático es útil con el fin de reducir el ruido de fondo. Por ejemplo, en MPS II tratando la muestra con una iduronidasa y/o glucuronidasa para retirar todos los ácidos urónicos del extremo no reductor no sulfatados (esta enzima no escindirán los ácidos idurónicos sulfatados) antes del tratamiento con la 2-O sulfatasa. Este enfoque retirará todos los ácidos idurónicos no sulfatados del extremo no reductor de manera que tras la desulfatación con la 2-O sulfatasa, los ácidos urónicos nuevos liberables serán aquellos que se habían sulfatado previamente (y por lo tanto eran resistentes a la acción de la iduronidasa y/o glucuronidasa).

Compuestos residuales de glicano:

Los compuestos residuales de glicano detectados, medidos, analizados y/o caracterizados de otra manera de acuerdo con cualquier procedimiento descrito en esta memoria, incluyen cualquier residuo de glicano adecuado que es liberado desde el extremo no reductor de un glicano (por ejemplo, un glicano obtenido a partir de una muestra biológica de un individuo). En casos específicos, los compuestos residuales de glicano incluyen, por ejemplo, oligosacáridos, monosacáridos, sulfato, fosfato, ácido siálico, acetato o similares.

Los compuestos residuales de glicano específicos, útiles en cualquier procedimiento en el presente documento, se describen en las Tablas 1-4.

En algunas realizaciones, el biomarcador generado es un compuesto residual de glicano. En algunas realizaciones, el compuesto residual de glicano es un monosacárido. En ciertas realizaciones, el compuesto residual de glicano es sulfato, fosfato, acetato o una combinación de los mismos. En ciertas realizaciones, el compuesto residual de glicano tiene un peso molecular menor de 2000 g/mol, menor de 1500 g/mol, menor de 1000 g/mol, menor de 500 g/mol, menor de 400 g/mol, menor de 300 g/mol, menor de 260 g/mol, menor de 200 g/mol, menor de 100 g/mol o similar (por ejemplo, antes de marcar con cualquier marcador detectable que puede estar incluido en un procedimiento descrito en esta memoria).

Relaciones de biomarcadores:

En varios aspectos proporcionados en esta memoria, la medición o las relaciones simultáneas de diversos biomarcadores (por ejemplo, estructuras saturadas con extremo no reductor o disacáridos insaturados internos generados por despolimerización enzimática de glicosaminoglicanos) revelan una información acerca de la gravedad de la enfermedad y la respuesta a la terapia. Dependiendo de la enfermedad específica que se va a diagnosticar o que se analiza de otra manera, estas comparaciones (por ejemplo, medición o relación simultánea) emplean diversas estructuras saturadas y no saturadas.

Por ejemplo, en algunas realizaciones, uno o varios de los biomarcadores utilizados en cualquier procedimiento descrito en esta memoria, incluye uno de los biomarcadores saturados (fragmentos de glicano) indicados en la Tabla 1. En realizaciones específicas, el trastorno que se va a diagnosticar o analizar de otra manera es MPS I. En algunas realizaciones, el primer y el segundo biomarcador son biomarcadores de la Tabla 1. En otras realizaciones, el primer biomarcador es un biomarcador de la Tabla 1 y el segundo biomarcador es un biomarcador de la Tabla 9, 3, 4 o 6. En realizaciones adicionales o alternativas, tanto el primer como el segundo biomarcador son de la Tabla 1.

Tabla 1:

Obtenido a partir de HS	Obtenido a partir de CS/DS
IdoA-GlcNS	IdoA-GalNAc4S
IdoA-GlcNS6S	IdoA-GalNAc6S
IdoA-GlcNAc	IdoA-GalNAc
IdoA-GlcNAc6S	IdoA-GalNAc4S6S

5 En realizaciones adicionales, uno o varios de los biomarcadores utilizados en cualquier procedimiento descrito en esta memoria, incluye uno de los biomarcadores saturados (fragmentos de glicano) indicados en la Tabla 2. En realizaciones específicas, el trastorno que se va a diagnosticar o analizar de otra manera es MPS II. En algunas realizaciones, el primer biomarcador es un biomarcador de la Tabla 2 y el segundo biomarcador es un biomarcador de la Tabla 1. En realizaciones adicionales, el primer biomarcador es un biomarcador de la Tabla 2 y el segundo biomarcador es un biomarcador de la Tabla 9. En realizaciones adicionales o alternativas, tanto el primer como el segundo biomarcador son de la Tabla 2.

Tabla 2:

Obtenido a partir de HS	Obtenido a partir de CS/DS
IdoA2S-GlcNS	IdoA2S-GalNAc4S
IdoA2S-GlcNS6S	IdoA2S-GalNAc6S
IdoA2S-GlcNAc	IdoA2S-GalNAc
IdoA2S-GlcNAc6S	IdoA2S-GalNAc4S6S

10 En realizaciones adicionales, uno o varios de los biomarcadores utilizados en cualquier procedimiento descrito en esta memoria, incluye uno de los biomarcadores saturados (fragmentos de glicano) indicados en la Tabla 3. En realizaciones específicas, el trastorno que se va a diagnosticar o analizar de otra manera es MPS IIIA. En algunas realizaciones, el primer biomarcador es un biomarcador de la Tabla 3 y el segundo biomarcador es un biomarcador de la Tabla 5. En otras realizaciones, el primer biomarcador es un biomarcador de la Tabla 3 y el segundo biomarcador es un biomarcador de la Tabla 9. En realizaciones adicionales o alternativas, tanto el primer como el segundo biomarcador son de la Tabla 3.

Tabla 3:

Obtenido a partir de HS
GlcNS
GlcNS+/-6S-UA+/-2S-GlcNAc+/-6S
GlcNS+/-6S-UA+/-2S-GlcNS+/-6S

20 En realizaciones adicionales, uno o varios de los biomarcadores utilizados en cualquier procedimiento descrito en esta memoria, incluye uno de los biomarcadores saturados (fragmentos de glicano) indicados en la Tabla 4. En realizaciones específicas, el trastorno que se va a diagnosticar o analizar de otra manera es MPS IIIB. En algunas realizaciones, el primer biomarcador es un biomarcador de la Tabla 4 y el segundo biomarcador es un biomarcador de la Tabla 1, 2 o 8. En otras realizaciones, el primer biomarcador es un biomarcador de la Tabla 4 y el segundo biomarcador es un biomarcador de Tabla 9. En realizaciones adicionales o alternativas, tanto el primer como el segundo biomarcador son de la Tabla 4.

Tabla 4:

Obtenido a partir de HS
GlcNAc
GlcNAc-UA+/-2S-GlcNAc+/-6S
GlcNAc-UA+/-2S-GlcNS+/-6S

30 En realizaciones adicionales, uno o varios de los biomarcadores utilizados en cualquier procedimiento descrito en esta memoria, incluye uno de los biomarcadores saturados (fragmentos de glicano) indicados en la Tabla 5. En realizaciones específicas, el trastorno que se va a diagnosticar o analizar de otra manera es MPS IIIC. En algunas

realizaciones, el primer biomarcador es un biomarcador de la Tabla 5 y el segundo biomarcador es un biomarcador de la Tabla 4. En otras realizaciones, el primer biomarcador es un biomarcador de la Tabla 5 y el segundo biomarcador es un biomarcador de la Tabla 9. En realizaciones adicionales o alternativas, tanto el primer como el segundo biomarcador son de la Tabla 5.

5 Tabla 5:

<b>Obtenido a partir de HS</b>
GlcN
GlcN+/-6S-UA+/-2S-GlcNAc+/-6S
GlcN+/-6S-UA+/-2S-GlcNS+/-6S

10 En realizaciones adicionales, uno o varios de los biomarcadores utilizados en cualquier procedimiento descrito en esta memoria, incluye uno de los biomarcadores saturados (fragmentos de glicano) indicados en la Tabla 6. En realizaciones específicas, el trastorno que se va a diagnosticar o analizar de otra manera es MPS IIID. En algunas realizaciones, el primer biomarcador es un biomarcador de la Tabla 6 y el segundo biomarcador es un biomarcador de la Tabla 4 o 5. En otras realizaciones, el primer biomarcador es un biomarcador de la Tabla 6 y el segundo biomarcador es un biomarcador de la Tabla 9. En realizaciones adicionales o alternativas, tanto el primer como el segundo biomarcador son de la Tabla 6.

Tabla 6:

<b>Obtenido a partir de HS</b>
GlcN6S
GlcNAc6S
GlcN6S-UA+/-2S-GlcNAc+/-6S
GlcNAc6S-UA+/-2S-GlcNAc+/-6S
GlcN 6S-UA+/-2S-GlcNS+/-6S
GlcNAc6S-UA+/-2S-GlcNS+/-6S

15 En realizaciones adicionales, uno o varios de los biomarcadores utilizados en cualquier procedimiento descrito en esta memoria, incluye uno de los biomarcadores saturados (fragmentos de glicano) indicado en la Tabla 7. En realizaciones específicas, el trastorno que se va a diagnosticar o analizar de otra manera es MPS VI. En algunas realizaciones, el primer biomarcador es un biomarcador de la Tabla 7 y el segundo biomarcador es un biomarcador de la Tabla 8. En otras realizaciones, el primer biomarcador es un biomarcador de la Tabla 7 y el segundo biomarcador es un biomarcador de la Tabla 9. En realizaciones adicionales o alternativas, tanto el primer como el segundo biomarcador son de la Tabla 7.

Tabla 7:

<b>Obtenido a partir de CS</b>
GalNAc4S
GalNAc4S-UA-GalNAc
GalNAc4S-UA-GalNAc4S
GalNAc4S-UA-GalNAc6S

<b>Obtenido a partir de CS</b>
GalNAc4S-UA-GalNAc4S6S
GalNAc4S-UA2S-GalNAc
GalNAc4S-UA2S-GalNAc4S
GalNAc4S-UA2S-GalNAc6S
GalNAc4S-UA2S-GalNAc4S6S

5

En realizaciones adicionales, uno o varios de los biomarcadores utilizados en cualquier procedimiento descrito en esta memoria, incluye uno de los biomarcadores saturados (fragmentos de glicano) indicados en la Tabla 8. En realizaciones específicas, el trastorno que se va a diagnosticar o analizar de otra manera es MPS VII. En algunas realizaciones, el primer biomarcador es un biomarcador de la Tabla 8 y el segundo biomarcador es un biomarcador de la Tabla 3, 4, 6 o 7. En otras realizaciones, el primer biomarcador es un biomarcador de la Tabla 8 y el segundo biomarcador es un biomarcador de la Tabla 9. En realizaciones adicionales o alternativas, tanto el primer como el segundo biomarcador son de la Tabla 1.

Tabla 8:

<b>Obtenido a partir de HS</b>	<b>Obtenido a partir de CS</b>	<b>Obtenido a partir de KS</b>
GlcA-GlcNAc	GlcA-GalNAc	Gal-GlcNAc
GlcA-GlcNS	GlcA-GalNAc4S	Gal-GlcNAc6S
GlcA-GlcNAc6S	GlcA-GalNAc6S	Gal6S-GlcNAc
GlcA-GlcNS6S	GlcA-GalNAc4S6S	Gal6S-GlcNAc6S
		GlcNAc-Gal
		GlcNAc-Gal6S
		GlcNAc6S-Gal
		GlcNAc6S-Gal6S

10

En realizaciones adicionales, uno o varios de los biomarcadores utilizados en cualquier procedimiento descrito en esta memoria, incluye uno de los biomarcadores insaturados (fragmentos de glicano) indicado en la Tabla 9. En realizaciones adicionales o alternativas, tanto el primer como el segundo biomarcador son de la Tabla 9.

Tabla 9:

<b>Obtenido a partir de HS</b>	<b>Obtenido a partir de CS</b>
$\Delta$ UA-GlcN	$\Delta$ UA-GaNAc
$\Delta$ UA-GlcN6S	$\Delta$ UA-GaNAc4S
$\Delta$ UA2S-GlcN	$\Delta$ UA-GaNAc6S
AUAS-GlcN6S	$\Delta$ UA2S-GaNAc
$\Delta$ UA-GlcNAc	$\Delta$ UA2S-GaNAc4S

Obtenido a partir de HS	Obtenido a partir de CS
$\Delta$ UA-GlcNAc6S	$\Delta$ UA2S-GaNAc6S
$\Delta$ UA2S-GlcNAc	$\Delta$ UA-GaNAc4S6S
$\Delta$ UA2S-GlcNAc6S	$\Delta$ UA2S-GaNAc4S6S
$\Delta$ UA-GlcNS	
$\Delta$ UA-GlcNS6S	
$\Delta$ UA-GlcNS3S	
$\Delta$ UA2S-GlcNS	
$\Delta$ UA2S-GlcNS6S	
$\Delta$ UA2S-GlcNS3S	
$\Delta$ UA-GlcNS6S3S	
$\Delta$ UA2S-GlcNS6S3S	

5 En realizaciones adicionales, uno o varios de los biomarcadores utilizados en cualquier procedimiento descrito en esta memoria, incluye uno de los biomarcadores saturados (fragmentos de glicano) indicados en la Tabla 10. En realizaciones específicas, el trastorno que se va a diagnosticar o analizar de otra manera es MPS IVA. En algunas realizaciones, el primer biomarcador es un biomarcador de la Tabla 10 y el segundo biomarcador es un biomarcador de la Tabla 8. En otras realizaciones, el primer biomarcador es un biomarcador de la Tabla 10 y el segundo biomarcador es un biomarcador de la Tabla 9. En realizaciones adicionales o alternativas, tanto el primer como el segundo biomarcador son de la Tabla 10.

Tabla 10:

Obtenido a partir de KS	Obtenido a partir de CS
Gal6S	GalNAc6S
Gal6S-GlcNAc	GalNAc6S4S
Gal6S-GlcNAc6S	GalNAc6S-UA-GalNAc
Gal6S-GlcNAc-Gal	GalNAc6S-UA-GalNAc4S
Gal6S-GlcNAc-Gal6S	GalNAc6S-UA-GalNAc6S
Gal6S-GlcNAc6S-Gal	GalNAc6S-UA-GalNAc4S6S
Gal6S-GlcNAc6S-Gal6S	GalNAc6S-UA2S-GalNAc
	GalNAc6S-UA2S-GalNAc4S
	GalNAc6S-UA2S-GalNAc6S
	GalNAc6S-UA2S-GalNAc4S6S
	GalNAc6S4S-UA-GalNAc
	GalNAc6S4S-UA-GalNAc4S

Obtenido a partir de KS	Obtenido a partir de CS
	GalNAc6S4S-UA-GalNAc6S
	GalNAc6S4S-UA-GalNAc4S6S
	GalNAc6S4S-UA2S-GalNAc
	GalNAc6S4S-UA2S-GalNAc4S
	GalNAc6S4S-UA2S-GalNAc6S
	GalNAc6S4S-UA2S-GalNAc4S6S

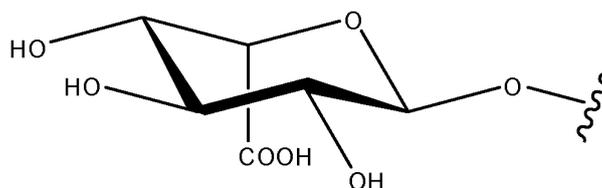
5 En realizaciones adicionales, uno o varios de los biomarcadores utilizados en cualquier procedimiento descrito en esta memoria, incluye uno de los biomarcadores saturados (fragmentos de glicano) indicados en la Tabla 11. En realizaciones específicas, el trastorno que se va a diagnosticar o analizar de otra manera es MPS IVB. En algunas realizaciones, el primer biomarcador es un biomarcador de la Tabla 11 y el segundo biomarcador es un biomarcador de la Tabla 8. En otras realizaciones, el primer biomarcador es un biomarcador de la Tabla 11 y el segundo biomarcador es un biomarcador de la Tabla 9. En realizaciones adicionales o alternativas, tanto el primer como el segundo biomarcador son de la Tabla 11.

Tabla 11:

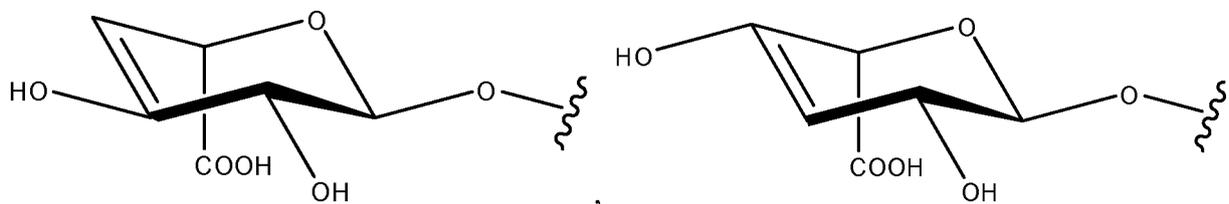
Obtenido a partir de KS	Obtenido a partir de CS	Obtenido a partir de glicolípido
Gal	GalNAc	Gal-GalNAc-Gal-Glu
Gal-GlcNAc	GalNAc4S	Gal-GalNAc-Gal-Glu + 1 Ácido siálico
Gal-GlcNAc6S	GalNAc-UA-GalNAc	Gal-GalNAc-Gal-Glu + 2 Ácidos siálicos
Gal-GlcNAc-Gal	GalNAc-UA-GalNAc4S	Gal-GalNAc-Gal-Glu + 3 Ácidos siálicos
Gal-GlcNAc-Gal6S	GalNAc-UA-GalNAc6S	
Gal-GlcNAc6S-Gal	GalNAc-UA-GalNAc4S6S	
Gal-GlcNAc6S-Gal6S	GalNAc-UA2S-GalNAc	
	GalNAc-UA2S-GalNAc4S	
	GalNAc-UA2S-GalNAc6S	
	GalNAc-UA2S-GalNAc4S6S	
	GalNAc4S-UA-GalNAc	
	GalNAc4S-UA-GalNAc4S	
	GalNAc4S-UA-GalNAc6S	
	GalNAc4S-UA-GalNAc4S6S	
	GalNAc4S-UA2S-GalNAc	
	GalNAc4S-UA2S-GalNAc4S	
	GalNAc4S-UA2S-GalNAc6S	
	GalNAc4S-UA2S-GalNAc4S6S	

Tal y como se usa en el presente documento, IdoA y  son residuos de sacárido de ácido idurónico (por ejemplo, ácido  $\alpha$ -L-idurónico). Tal y como se usa en el presente documento, GlcA y  son residuos de sacárido de ácido glucurónico (por ejemplo, ácido  $\beta$ -L-glucurónico). Tal y como se usa en esta memoria,  son ácidos urónicos insaturados (UA), tales como IdoA y GlcA. Tal y como se usa en el presente documento, GlcN y  son residuos de sacárido de glucosamina (por ejemplo, 2-desoxi-2-amino- $\beta$ -D-glucopiranosil). Tal y como se usa en el presente documento, GlcN(Ac)1 y  son un residuo de sacárido de glucosamina (por ejemplo, 2-desoxi-2-amino- $\beta$ -D-glucopiranosil) en donde el grupo 2-amino está acetilado. Tal y como se usa en el presente documento, Gal y  son un residuo de sacárido de galactosa. En varios casos específicos, los residuos de sacárido de ácido idurónico, ácido glucurónico, glucosamina y/o galactosa están saturados en los carbonos 4 y 5 del residuo de sacárido del extremo no reductor o no tienen una insaturación carbono-carbono. En otros casos, uno cualquiera o varios de los residuos de sacárido está insaturado, por ejemplo, en las posiciones de los carbonos 4 y 5 del residuo de sacárido en el extremo no reductor de un oligosacárido proporcionado en esta memoria. La nomenclatura simbólica empleada en esta memoria sigue la nomenclatura de "Symbol and Text Nomenclature for Representation of Glycan Structure" promulgada por el Comité de Nomenclatura para el Consorcio para Glinómica Funcional, tal y como se modificó en octubre de 2007.

A modo de ejemplo ilustrativo de residuos de sacárido del extremo no reductor que están saturados e insaturados en las posiciones C4 y C5, un residuo de ácido L-idurónico (IdoA) que está saturado en las posiciones C4 y C5 tiene una estructura del modo siguiente:



mientras que un residuo de ácido L-idurónico (IdoA) en el extremo no reductor del oligosacárido que está insaturado en las posiciones C4 y C5 puede tener una estructura del modo siguiente:



o similares. Los oligosacáridos que tienen residuos de sacárido en el extremo no reductor que están saturados en la posición C4 y C5, se denominan en esta memoria "oligosacáridos saturados en C4-C5 del extremo no reductor".

Relaciones de biomarcadores de NRE:

En ciertas realizaciones, un método proporcionado en esta memoria comprende la comparación de un primer biomarcador que es un biomarcador de NRE con un segundo biomarcador que es un biomarcador de NRE diferente. En algunas realizaciones, el primer biomarcador es específico para una enfermedad particular (por ejemplo, una enfermedad MPS u otra enfermedad asociada con la síntesis o degradación alterada de GAG). En ciertas realizaciones, el segundo biomarcador es un biomarcador de NRE que no se esperaría para la enfermedad particular (por ejemplo, de acuerdo con las tablas proporcionadas en el presente documento).

En algunas realizaciones, un método descrito en esta memoria se utiliza junto con una terapia ERT. En algunas de tales realizaciones, se utiliza el método para realizar un seguimiento de la eficacia de una terapia ERT.

En ciertos aspectos, mediante el examen de la relación de abundancia entre uno o varios NREs específicos de una enfermedad y el o los NREs que se generan después de la acción de una terapia de reemplazo enzimático (ERT) en uso, se puede verificar si la ERT está actuando en el compartimiento celular deseado (el lisosoma). En algunos casos, esto es importante con el fin de asegurar que una reducción en el sustrato de glicano como respuesta al tratamiento, refleja la acción beneficiosa de la ERT en el lisosoma o la acción no terapéuticamente beneficiosa de la enzima fuera del lisosoma. Esto es especialmente importante en enfoques terapéuticos que requieren tomar muestras de fluidos para el análisis de biomarcadores a través de la misma entrada por la que se administró la ERT - tal como una administración intratecal de ERT. Si la ERT está actuando fuera de la célula (en la sangre, LCR o en una entrada para toma de muestras) las enzimas lisosómicas posteriores no degradarán de manera eficiente el

glicano resultante. Esto conduce a la eliminación del NRE específico de la enfermedad y la generación de un NRE típicamente asociado con una enfermedad diferente.

5 Por ejemplo, en una realización específica, la enfermedad que se va a diagnosticar o analizar de otra manera es MPS II. En algunos de esos casos, el primer biomarcador es un biomarcador de NRE específico de la enfermedad MPS II, tal como IdoA2S-GlcN(+/-NS, +/-6S). Si la ERT (2-sulfatasa) actúa en el lisosoma, este NRE se desulfata en 2-O produciendo IdoA- GlcN(+/-NS, +/-6S) que es eliminado rápidamente por las enzimas lisosómicas posteriores que son funcionales en pacientes con MPS II. En contraste, si la ERT actúa fuera del lisosoma, el primer marcador (el biomarcador de NRE de MPS II) [[IdoA2S-GlcN(+/-NS, +/-6S)] se elimina y se genera el segundo biomarcador (por ejemplo, un NRE de MPS I, tal como [IdoA- GlcN(+/-NS, +/-6S)] (el NRE de acción extracelular, EANRE). En algunos casos, debido a que las otras enzimas lisosómicas no están presentes en cantidades significativamente activas fuera del lisosoma, los marcadores de MPS I son estables. En algunos casos los NREs se pueden convertir en otras estructuras de NRE a través de la acción de otras enzimas endógenas. En algunos aspectos, mediante el uso de tales técnicas y mediante la para la realización de un seguimiento simultáneo de los NREs de MPS II y MPS I, se determinan la gravedad de la enfermedad y la respuesta específica a la terapia. Métodos similares para los otros trastornos de MPS o cualquier otro trastorno que implica una acumulación, biosíntesis y/o degradación anormal de glicano, se contemplan en el presente documento.

20 En realizaciones a modo de ejemplo, la generación de un biomarcador de NRE de MPS I en un paciente con MPS II después de un tratamiento ERT, indica que la ERT no está actuando de manera efectiva en el lisosoma. En diversos aspectos, las relaciones específicas de la enfermedad entre NRE y EANRE que son relevantes para cada enfermedad son diferentes para cada clase de enfermedad dependiente del NRE de la enfermedad diana y los EANREs relevantes que se generan por la ERT. En realizaciones específicas a modo de ejemplo, los métodos descritos en esta memoria utilizan los siguientes primer y segundo biomarcadores específicos cuando se utilizan con la enfermedad indicada:

- 25 ◦ MPS I
  - NREs específicos de la enfermedad (fragmentos saturados)
    - Disacáridos IdoA-GlcN(+/-NS, +/- 6S)
  - EANREs
    - Mono y trisacáridos de la familia MPS IIIA y MPS IIIB
- 30 ◦ MPS II
  - NREs específicos de la enfermedad (fragmentos saturados)
    - Disacáridos IdoA2S-GlcN(+/-NS, +/-6S)
  - EANREs
    - Disacáridos de la familia MPS I
- 35 ◦ MPS IIIA
  - NREs específicos de la enfermedad (fragmentos saturados)
    - Trisacáridos: GlcNS-GlcA/IdoA(+/-2S)-GlcN(+/-NS, +/-6S)
  - EANREs
    - Disacáridos de la familia MPS IIIC
- 40 ◦ MPS IIIB
  - NREs específicos de la enfermedad (fragmentos saturados)
    - Trisacáridos: GlcNAc-GlcA/IdoA(+/-2S)-GlcN(+/-NS, +/-6S)
  - EANREs
    - Disacáridos de las familias MPS I, II y VII
- 45 ◦ MPS IIIC
  - NREs específicos de la enfermedad (fragmentos saturados)

- Trisacáridos: GlcN-GlcA/IdoA(+/-2S)-GlcN(+/-NS, +/-6S)
- EANREs
  - Disacáridos de la familia MPS IIIB
- MPS IIID
- 5     ▪ NREs específicos de la enfermedad (fragmentos saturados)
  - Trisacáridos: GlcN(+/-NS)6S-GlcA/IdoA(+/-2S)-GlcN(+/-NS, +/-6S)
- EANREs
  - Disacáridos de las familias MPS IIIA y IIIB
- MPS IVA
- 10    ▪ NREs específicos de la enfermedad (fragmentos saturados)
  - Mono-, di y trisacáridos obtenidos a partir de KS: Gal6S, Gal6S-GlcNAc(+/-6S), Gal6S-UA(+/-2S)-Gal(+/-6S)
  - Mono-, di y trisacáridos obtenidos a partir de CS: GalNAc6S(+/-4S), GalNAc6S(+/-4S)-UA(+/-2S)-GalNAc(+/-4S, +/-6S)
- 15    ▪ EANREs
  - Mono y disacáridos de la familia MPS IVB
- MPS VI
- NREs específicos de la enfermedad (fragmentos saturados)
  - Mono y trisacáridos obtenidos a partir de CS: GalNAc4S, GalNAc4S-UA(+/-2S)-GalNAc(+/-4S, +/-6S)
- 20    ▪ EANREs
  - NREs procedentes de carencias de hexosaminidasa
- MPS VII
- NREs específicos de la enfermedad (fragmentos saturados)
  - Disacáridos: GlcA-GlcN(+/-NS, +/-6S)
- 25    ▪ EANREs
  - Disacáridos de las familias MPS IIIA, IIIB y IIID

Relaciones de biomarcadores de NRE y no NRE:

- 30 En ciertas realizaciones, un método proporcionado en la presente memoria comprende la comparación de un primer biomarcador que es un biomarcador de NRE con un segundo biomarcador que es un biomarcador de no NRE (por ejemplo, un biomarcador de extremo reductor o de residuo de glicano interno). En algunas realizaciones, el primer biomarcador es específico de una enfermedad particular (por ejemplo, enfermedad MPS). En realizaciones específicas, el segundo biomarcador es un biomarcador interno (por ejemplo, de la Tabla 9). En realizaciones más específicas, tales métodos se utilizan en combinación con una terapia para el tratamiento de un trastorno asociado con la biosíntesis, degradación y/o acumulación anormal de glicano.
- 35 En ciertas realizaciones, el segundo biomarcador es un marcador de no NRE (por ejemplo, en lugar de un EANRE descrito anteriormente). Debido a que la acción no terapéutica de la ERT solo elimina la estructura del NRE específico, pero no reduce el nivel de glicano acumulado, también se pueden emplear relaciones de NRE específico de una enfermedad con otras estructuras que no son NRE para determinar el sitio de acción de la ERT.
- 40 En una realización ejemplar, en la que la enfermedad que se va a diagnosticar o analizar de otro modo es MPS II, un NRE específico de la enfermedad es IdoA2S-GlcN(+/-NS, +/-6S). Si la ERT (2-sulfatasa) actúa en el lisosoma, este NRE se desulfata en 2-O produciendo un fragmento GAG que termina con IdoA-GlcN(+/-NS, +/-6S). Ese fragmento se elimina rápidamente por las enzimas lisosómicas posteriores que son funcionales en pacientes con MPS II. Por el contrario, si la ERT actúa fuera del lisosoma, la abundancia de fragmentos de HS internos liberados por la digestión con liasa permanece constante. Por lo tanto, mediante la realización de un seguimiento simultáneo de estructuras

obtenidas a partir de MPS II y HS interno, tales como  $\Delta$ UA-GlcNAc o  $\Delta$ UA-GlcNS, se puede medir la verdadera actividad lisosómica del tratamiento.

5 En algunas realizaciones, se utiliza un método descrito en el presente documento para determinar la gravedad de una enfermedad descrita en esta memoria. En algunas de esas realizaciones, las relaciones de abundancia de diferentes biomarcadores (por ejemplo, biomarcadores de NRE) se pueden analizar y utilizar para determinar la gravedad de la enfermedad y/o la respuesta a la terapia.

10 Por ejemplo, cada clase de MPS tiene una variedad de estructuras específicas de NRE que se acumulan. En algunas realizaciones, la relación de las diferentes estructuras específicas cambia a medida que cambia la gravedad de la enfermedad. Por ejemplo, en MPS II hay una serie de NREs obtenidos a partir de HS (IdoA2S-GlcNS, IdoA2S-GlcNS6S, IdoA2S-GlcNAc, IdoA2S-GlcNAc6S) y NREs obtenidos a partir de CS/DS (IdoA2S-GalNAc4S, IdoA2S-GalNAc6S, IdoA2S-GalNAc, IdoA2S-GalNAc4S6S) que se encuentran con una abundancia diferente dependiendo de la gravedad de la enfermedad. Mediante la realización de un seguimiento de la relación de esas diversas estructuras de NREs, se puede obtener información sobre la gravedad de la enfermedad y la respuesta a la terapia.

15 En algunas realizaciones, un método descrito en el presente documento se utiliza para identificar una enfermedad. En realizaciones específicas, relaciones de biomarcadores de NRE o biomarcadores generados con GAG liasa interna, se utilizan en tales métodos. En casos específicos, las relaciones de abundancia de diferentes NRE y sacáridos insaturados internos generados después de la digestión con liasa, se pueden utilizar para indicar la presencia de una enfermedad humana.

20 En realizaciones específicas, un método descrito en el presente documento se utiliza para identificar la displasia de Schneckbecken (que conduce a una reducción de los donantes de azúcar UDP lo que altera las relaciones de los fragmentos generados con la glicosaminoglicano liasa procedentes de HS, CS y DS). En otras realizaciones a modo de ejemplo, una deficiencia en una enzima requerida para la sulfatación en 2-O de sulfato de heparán, se puede identificar mediante el examen de la relación entre disacáridos sulfatados en 2-O insaturados (generados mediante una digestión con liasa) y disacáridos no sulfatados en 2-O. En algunos casos, una reducción de esta relación indica la alteración de la sulfatación en 2-O del sulfato de heparán y la presencia de una enfermedad humana. En realizaciones adicionales a modo de ejemplo, una deficiencia en la biosíntesis de condroitina sulfatada en 4-O y sulfato de dermatán se puede identificar mediante el examen de la relación entre disacáridos insaturados sulfatados en 4-O (generados después de la digestión con liasa a disacáridos sulfatados en 4-O). En algunos casos, una reducción de esta relación indica la alteración de la sulfatación del sulfato de condroitina en 4-O y la presencia de una enfermedad humana. En otras realizaciones adicionales a modo de ejemplo, una deficiencia en la síntesis o el transporte de PAPs (3-prima-fosfoadenosina 5-prima-fosfosulfato) se pueden identificar por cambios en la relación de abundancia o la relación de fragmentos de glicosaminoglicano generados con liasa.

#### Trastornos:

35 En ciertas realizaciones, un trastorno asociado con una acumulación anormal de glicano incluye un trastorno asociado con la misma causado por una enzima de degradación de glicano que funciona anormalmente. En diversas realizaciones, la enzima de degradación de glicano que funciona anormalmente, funciona anormalmente como resultado de estar presente en una cantidad anormalmente baja, funcionando incorrectamente o una combinación de los mismos. Por ejemplo, una enzima de degradación de glicano que funciona anormalmente, funciona anormalmente como resultado de estar presente en una cantidad 50% menor, 40% menor, 30% menor, 20% menor, 10% menor o 5% menor que la que está presente en un individuo con cantidades normales de la enzima de degradación de glicano (por ejemplo, un individuo en un estado de no enfermedad, normal o natural). En realizaciones adicionales o alternativas, las enzimas de degradación de glicano que funcionan anormalmente están presentes en una cantidad normal, pero no funcionan correctamente en la degradación de glicanos. Por ejemplo, tales enzimas pueden tener sustituciones de aminoácidos en las secuencias de los mismos que reducen o eliminan las propiedades de degradación de glicano de la enzima.

50 MPS I es una enfermedad genética humana causada por una deficiencia en la enzima L-iduronidasa lisosómica. Esta enzima es necesaria en el lisosoma para degradar glicanos que contienen ácido idurónico. Debido a esta deficiencia enzimática, los glicanos con un ácido idurónico en el extremo no reductor, se acumulan a niveles elevados (incluyendo sulfato de heparán y sulfato de dermatán). En ciertas realizaciones, utilizando el método descrito en el presente documento, MPS I se diagnostica en un individuo a partir de una muestra biológica tomada del mismo. Por ejemplo, en algunas realizaciones, una muestra biológica se coloca opcionalmente en una columna de centrifugación con valor de corte de PM definido (retiene moléculas grandes cuando gira), se lava opcionalmente (por ejemplo, con agua o tampón) para eliminar los monosacáridos libres, después se trata con una iduronidasa (por ejemplo, para liberar un ácido idurónico del compuesto residual de glicano). En ciertas realizaciones, después de la incubación, el ácido idurónico liberado se aísla, por ejemplo, mediante lavado del monosacárido libre a través de una membrana con valor de corte de PM definido (u otros métodos). En algunas de esas realizaciones, el monosacárido estaría en el flujo a través. La solución de monosacárido aislada se seca opcionalmente o se trata de otro modo para concentrar la muestra y posteriormente analizar el contenido en ácido idurónico mediante cualquier técnica analítica adecuada (por ejemplo, HPLC, MS, GC o similares, con o sin derivatización química o enzimática antes de la detección). Este método se puede utilizar para detectar la enfermedad MPS I, medir la gravedad de la enfermedad o

para medir la respuesta a la terapia.

MPS II es una enfermedad genética humana causada por una deficiencia en la enzima 2-sulfatasa lisosómica. Esta enzima es necesaria en el lisosoma para degradar glicanos que contienen ácidos urónicos sulfatados en 2-O. Debido a esta deficiencia enzimática, los glicanos con un ácido idurónico sulfatado en 2 en el extremo no reductor, se acumulan a niveles elevados (incluyendo sulfato de heparán y sulfato de dermatán). En ciertas realizaciones, utilizando el método descrito en el presente documento, MPS II se diagnostica en un individuo a partir de una muestra biológica tomada del mismo. Por ejemplo, en algunas realizaciones, una muestra biológica se coloca opcionalmente en una columna de centrifugación con valor de corte de PM definido (retiene moléculas grandes cuando gira), se lava opcionalmente (por ejemplo, con 1 o más volúmenes de agua o tampón para eliminar el sulfato libre), y se trata con una 2-sulfatasa (por ejemplo, para liberar un sulfato del compuesto residual de glicano). En ciertas realizaciones, después de la incubación, el sulfato liberado se aísla opcionalmente mediante el lavado del monosacárido libre (por ejemplo, a través de una membrana con valor de corte de PM definido, o cualquier otro método adecuado). En algunas de esas realizaciones, el sulfato libre estaría en el flujo a través. En ciertas realizaciones, la solución aislada resultante se seca opcionalmente o se trata de otro modo para concentrar la muestra y posteriormente analizar el contenido en sulfato mediante cualquier técnica analítica adecuada (por ejemplo, HPLC, MS, GC, detección de pH o similares, con o sin derivatización química o enzimática antes de la detección). Este método se puede utilizar para detectar la enfermedad MPS II, medir la gravedad de la enfermedad o para medir la respuesta a la terapia. En otras realizaciones ejemplares, después del tratamiento con una 2-sulfatasa, los residuos resultantes de ácido urónico con extremo no reductor desulfatados en 2-O, se liberan opcionalmente con una iduronidasa o glucuronidasa. En algunas de tales realizaciones, el monosacárido liberado resultante se aísla opcionalmente, por ejemplo, lavando el monosacárido libre (por ejemplo, a través de la membrana con valor de corte de PM definido o cualquier otro método adecuado). En algunas de tales realizaciones, el ácido idurónico o glucurónico libre está en el flujo a través. En ciertas realizaciones, la solución aislada resultante se seca opcionalmente o se trata de otro modo para concentrar la muestra y, posteriormente, analizar el contenido en monosacáridos por cualquier técnica analítica adecuada (por ejemplo, HPLC, MS, GC o similares, con o sin una derivatización química o enzimática antes de la detección). Este método se puede utilizar para detectar la enfermedad MPS II, medir la gravedad de la enfermedad o medir la respuesta a la terapia.

MPS IIIA es una enfermedad genética humana causada por una deficiencia en la enzima N-sulfatasa lisosómica. Esta enzima es necesaria en el lisosoma para degradar glicanos que contienen residuos de glucosamina sulfatados en N. Debido a esta deficiencia enzimática, los glicanos con residuos de glucosamina sulfatados en N en el extremo no reductor, se acumulan a niveles elevados (incluyendo sulfato de heparán). En ciertas realizaciones, utilizando el método descrito en el presente documento, MPS IIIA se diagnostica en un individuo a partir de una muestra biológica tomada del mismo. Por ejemplo, en algunas realizaciones, una muestra biológica se coloca opcionalmente en una columna de centrifugación con valor de corte de PM definido (retiene moléculas grandes cuando gira), se lava opcionalmente (por ejemplo, con 1 o más volúmenes de agua o tampón) para eliminar el sulfato libre, y se trata con una N-sulfatasa. En ciertas realizaciones, después de la incubación, el sulfato liberado se aísla opcionalmente mediante el lavado del monosacárido libre (por ejemplo, a través de una membrana con valor de corte de PM definido, o cualquier otro método adecuado). En algunas de esas realizaciones, el sulfato libre para una detección y/o cuantificación está presente en el flujo a través. En ciertas realizaciones, la solución aislada resultante se seca opcionalmente o se trata de otro modo para concentrar la muestra y posteriormente analizar el contenido en sulfato mediante cualquier técnica analítica adecuada (por ejemplo, HPLC, MS, GC, detección de pH o similares, con o sin derivatización química o enzimática antes de la detección). Este método se puede utilizar para detectar la enfermedad MPS IIIA, medir la gravedad de la enfermedad o para la respuesta a la terapia. En realizaciones adicionales o alternativas, después del tratamiento con una N-sulfatasa, los residuos de glucosamina desulfatados en N en el extremo no terminal, resultantes, se liberan opcionalmente con una hexosaminidasa. En algunas de tales realizaciones, el monosacárido liberado se aísla opcionalmente (por ejemplo, lavando el monosacárido libre, tal como a través de la membrana con valor de corte de PM definido o cualquier otro método adecuado). En algunas de tales realizaciones, la glucosamina libre para la detección y/o cuantificación está en el flujo a través. En ciertas realizaciones, la solución aislada resultante se seca opcionalmente o se trata de otro modo para concentrar la muestra y, posteriormente, analizar el contenido en monosacáridos por cualquier técnica analítica adecuada (por ejemplo, HPLC, MS, GC o similares, con o sin una derivatización química o enzimática antes de la detección). Este método se puede utilizar para detectar la enfermedad MPS IIIA, medir la gravedad de la enfermedad o medir la respuesta a la terapia.

Como se ha descrito anteriormente, en ciertas realizaciones, utilizando el método descrito en el presente documento, se diagnostica MPS IIIA en un individuo a partir de una muestra biológica tomada del mismo. Por ejemplo, en algunas realizaciones, una muestra biológica se coloca opcionalmente en una columna de centrifugación con valor de corte de PM definido (retiene moléculas grandes cuando gira), se lava opcionalmente (por ejemplo, con 1 o más volúmenes de agua o tampón) para eliminar el monosacárido libre, y se trata con una N-sulfo glucosaminidasa tal como heparina liasa. En ciertas realizaciones, el monosacárido sulfatado liberado se aísla opcionalmente, p. ej., mediante el lavado del monosacárido libre (por ejemplo, a través de una membrana con valor de corte de PM definido, o cualquier otro método adecuado). En algunas de esas realizaciones, la glucosamina N-sulfatada libre para una detección y/o cuantificación está presente en el flujo a través. En ciertas realizaciones, la solución aislada resultante se seca opcionalmente o se trata de otro modo para concentrar la muestra y

posteriormente analizar el contenido en monosacárido mediante cualquier técnica analítica adecuada (por ejemplo, HPLC, MS, GC o similares, con o sin derivatización química o enzimática antes de la detección). Este método se puede utilizar para detectar la enfermedad MPS IIIA, medir la gravedad de la enfermedad o para medir la respuesta a la terapia.

5 Como se ha descrito anteriormente, en ciertas realizaciones, utilizando el método descrito en el presente documento, se diagnostica MPS IIIA en un individuo a partir de una muestra biológica tomada del mismo. Por ejemplo, en algunas realizaciones, una muestra biológica se coloca opcionalmente en una columna de centrifugación con valor de corte de PM definido (retiene moléculas grandes cuando gira), se lava opcionalmente (por ejemplo, con 1 o más volúmenes de agua o tampón) para eliminar el monosacárido libre, y se trata con una N-sulfatasa. En ciertas realizaciones, el glicano resultante se trata posteriormente de manera que los residuos de glucosamina N-desulfatada del extremo no reductor se acetilan (por ejemplo, con una N-acetil transferasa) y posteriormente se liberan con una hexosaminidasa. En algunas de esas realizaciones, el monosacárido liberado resultante se aísla opcionalmente, por ejemplo, lavando el monosacárido libre (por ejemplo, a través de una membrana con valor de corte de PM definido o cualquier otro método adecuado). En algunas de tales realizaciones, la N-acetil glucosamina libre para la detección y/o cuantificación está presente en el flujo a través. En ciertas realizaciones, la composición aislada resultante se seca opcionalmente o se trata de otro modo para concentrar la muestra y, posteriormente, analizar el contenido en monosacáridos por cualquier técnica analítica adecuada (por ejemplo, HPLC, MS, GC o similares, con o sin una derivatización química o enzimática antes de la detección). Este método se puede utilizar para detectar la enfermedad MPS IIIA, medir la gravedad de la enfermedad o medir la respuesta a la terapia.

MPS IIIB es una enfermedad genética humana causada por una deficiencia en la enzima N-acetil glucosaminidasa. Esta enzima es necesaria en el lisosoma para degradar glicanos que contienen residuos de N-acetil glucosamina. Debido a esta deficiencia enzimática, los glicanos con un residuo de N-acetil glucosamina en el extremo no reductor, se acumulan a niveles elevados (incluyendo sulfato de heparán). En ciertas realizaciones, utilizando el método descrito en el presente documento, MPS IIIB se diagnostica en un individuo a partir de una muestra biológica tomada del mismo. Por ejemplo, en algunas realizaciones, una muestra biológica se coloca opcionalmente en una columna de centrifugación con valor de corte de PM definido (retiene moléculas grandes cuando gira), se lava opcionalmente (por ejemplo, con 1 o más volúmenes de agua o tampón para eliminar la N-acetil glucosamina libre), y se trata con N-acetil glucosaminidasa o una heparina liasa (p. ej., para liberar una N-acetil glucosamina del compuesto residual de glicano). En ciertas realizaciones, después de la incubación, la N-acetil glucosaminidasa liberada se aísla opcionalmente mediante el lavado del monosacárido libre (por ejemplo, a través de una membrana con valor de corte de PM definido, o cualquier otro método adecuado). En algunas de esas realizaciones, el monosacárido libre está en el flujo a través. En ciertas realizaciones, la solución aislada resultante se seca opcionalmente o se trata de otro modo para concentrar la muestra y posteriormente analizar el contenido en monosacáridos mediante cualquier técnica analítica adecuada (por ejemplo, HPLC, MS, GC, detección de pH o similares, con o sin derivatización química o enzimática antes de la detección). Este método se puede utilizar para detectar la enfermedad MPS IIIB, medir la gravedad de la enfermedad o medir la respuesta a la terapia.

Como se ha descrito anteriormente, en ciertas realizaciones, utilizando el método descrito en el presente documento, se diagnostica MPS IIIA en un individuo a partir de una muestra biológica tomada del mismo. Por ejemplo, en algunas realizaciones, una muestra biológica se coloca opcionalmente en una columna de centrifugación con valor de corte de PM definido (retiene moléculas grandes cuando gira), se lava opcionalmente (por ejemplo, con 1 o más volúmenes de agua o tampón) para eliminar el acetato libre, y se trata con una desacetilasa. El acetato liberado se aísla opcionalmente, por ejemplo, lavando el acetato libre (tal como a través de una membrana con valor de corte de PM definido o cualquier otro método adecuado). En algunas de tales realizaciones, el acetato libre para la detección y/o la cuantificación está presente en el flujo a través. En algunas realizaciones, la solución aislada resultante se seca opcionalmente o se trata de otro modo para concentrar la muestra y analizar posteriormente el contenido en acetato mediante cualquier técnica analítica adecuada (por ejemplo, HPLC, MS, GC, detección de pH o similares, con o sin una derivatización química o enzimática antes de la detección). Este método se puede utilizar para detectar la enfermedad MPS IIIB, medir la gravedad de la enfermedad o medir la respuesta a la terapia.

MPS IIIC es una enfermedad genética humana causada por una deficiencia en la enzima N-acetiltransferasa. Esta enzima es necesaria en el lisosoma para degradar glicanos que contienen residuos de glucosamina. Debido a esta deficiencia enzimática, los glicanos con un residuo de glucosamina en el extremo no reductor se acumulan a niveles elevados (incluyendo sulfato de heparán). En ciertas realizaciones, utilizando el método descrito en el presente documento, MPS IIIC se diagnostica en un individuo a partir de una muestra biológica tomada del mismo. Por ejemplo, en algunas realizaciones, una muestra biológica se coloca opcionalmente en una columna de centrifugación con valor de corte de PM definido (retiene moléculas grandes cuando gira), se lava opcionalmente (por ejemplo, con 1 o más volúmenes de agua o tampón para eliminar la glucosamina libre), y se trata con hexosaminidasa o heparina liasa (p. ej., para liberar una glucosamina del compuesto residual de glicano). En ciertas realizaciones, después de la incubación, la glucosamina liberada se aísla opcionalmente mediante el lavado de la glucosamina libre (por ejemplo, a través de una membrana con valor de corte de PM definido, o cualquier otro método adecuado). En algunas de esas realizaciones, la glucosamina libre para la detección y/o cuantificación está presente en el flujo a través. En ciertas realizaciones, la solución aislada resultante se seca opcionalmente o se trata

de otro modo para concentrar la muestra y posteriormente analizar el contenido en monosacáridos mediante cualquier técnica analítica adecuada (por ejemplo, HPLC, MS, GC, detección de pH o similares, con o sin derivatización química o enzimática antes de la detección). Este método se puede utilizar para detectar la enfermedad MPS IIIC, medir la gravedad de la enfermedad o medir la respuesta a la terapia.

5 Como se ha descrito anteriormente, en ciertas realizaciones, utilizando el método descrito en el presente documento, se diagnostica MPS IIIC en un individuo a partir de una muestra biológica tomada del mismo. Por ejemplo, en algunas realizaciones, una muestra biológica se coloca opcionalmente en una columna de centrifugación con valor de corte de PM definido (retiene moléculas grandes cuando gira), se lava opcionalmente (por ejemplo, con 1 o más volúmenes de agua o tampón para eliminar la glucosamina y/o la N-acetil glucosamina libre), y se trata con una glucosamina N-acetiltransferasa seguida de una hexosaminidasa (por ejemplo, para liberar una N-acetil glucosamina del compuesto residual de glicano). En algunas realizaciones, después de la incubación, la N-acetil glucosamina liberada se aísla opcionalmente mediante lavado de la N-acetil glucosamina libre (tal como a través de una membrana con valor de corte de PM definido o cualquier otro método adecuado). En algunas de tales realizaciones, la N-acetil glucosamina libre para la detección y/o la cuantificación está presente en el flujo a través.

10 En algunas realizaciones, la solución aislada resultante se seca opcionalmente o se trata de otro modo para concentrar la muestra y analizar posteriormente el contenido en monosacárido mediante cualquier técnica analítica adecuada (por ejemplo, HPLC, MS, GC, detección de pH o similares, con o sin una derivatización química o enzimática antes de la detección). Este método se puede utilizar para detectar la enfermedad MPS IIIC, medir la gravedad de la enfermedad o medir la respuesta a la terapia.

20 MPS IIID es una enfermedad genética humana causada por una deficiencia en la enzima glucosamina 6-O sulfatasa. Esta enzima es necesaria en el lisosoma para degradar glicanos que contienen residuos de glucosamina sulfatados en 6-O. Debido a esta deficiencia enzimática, los glicanos con un residuo de N-acetil glucosamina sulfatada en 6-O en el extremo no reductor, se acumulan a niveles elevados (incluyendo sulfato de heparán). En ciertas realizaciones, utilizando el método descrito en el presente documento, MPS IIIC se diagnostica en un individuo a partir de una muestra biológica tomada del mismo. Por ejemplo, en algunas realizaciones, una muestra biológica se coloca opcionalmente en una columna de centrifugación con valor de corte de PM definido (retiene moléculas grandes cuando gira), se lava opcionalmente (por ejemplo, con 1 o más volúmenes de agua o tampón para eliminar el sulfato libre) y se trata con una 6-O-sulfatasa (por ejemplo, para liberar un sulfato de un compuesto residual de glicano). En ciertas realizaciones, después de la incubación, el sulfato liberado se aísla opcionalmente mediante el lavado del sulfato libre (por ejemplo, a través de una membrana con valor de corte de PM definido, o cualquier otro método adecuado). En algunas de esas realizaciones, el sulfato libre para una detección y/o cuantificación está presente en el flujo a través. En ciertas realizaciones, la solución aislada resultante se seca opcionalmente o se trata de otro modo para concentrar la muestra y posteriormente analizar el contenido en sulfato mediante cualquier técnica analítica adecuada (por ejemplo, HPLC, MS, GC, detección de pH o similares, con o sin derivatización química o enzimática antes de la detección). Este método se puede utilizar para detectar la enfermedad MPS IIID, medir la gravedad de la enfermedad o medir una respuesta a la terapia.

25

30

35

Como se ha descrito anteriormente, en ciertas realizaciones, utilizando el método descrito en el presente documento, se diagnostica MPS IIID en un individuo a partir de una muestra biológica tomada del mismo. Por ejemplo, en algunas realizaciones, una muestra biológica se coloca opcionalmente en una columna de centrifugación con valor de corte de PM definido (retiene moléculas grandes cuando gira), se lava opcionalmente (por ejemplo, con 1 o más volúmenes de agua o tampón para eliminar el sulfato y/o la N-acetil glucosamina libre), y se trata con una 6-O-sulfatasa y una hexosaminidasa (por ejemplo, para liberar una N-acetil glucosamina del compuesto residual de glicano). En algunas realizaciones, después de la incubación, la N-acetil glucosamina liberada se aísla opcionalmente mediante lavado de la N-acetil glucosamina libre (tal como a través de una membrana con valor de corte de PM definido o cualquier otro método adecuado). En algunas de tales realizaciones, el monosacárido libre para la detección y/o la cuantificación está presente en el flujo a través. En algunas realizaciones, la solución aislada resultante se seca opcionalmente o se trata de otro modo para concentrar la muestra y analizar posteriormente el contenido en monosacárido mediante cualquier técnica analítica adecuada (por ejemplo, HPLC, MS, GC o similares, con o sin una derivatización química o enzimática antes de la detección). Este método se puede utilizar para detectar la enfermedad MPS IIID, medir la gravedad de la enfermedad o medir la respuesta a la terapia.

40

45

50

Como se ha descrito anteriormente, en ciertas realizaciones, utilizando el método descrito en el presente documento, se diagnostica MPS IIID en un individuo a partir de una muestra biológica tomada del mismo. Por ejemplo, en algunas realizaciones, una muestra biológica se coloca opcionalmente en una columna de centrifugación con valor de corte de PM definido (retiene moléculas grandes cuando gira), se lava opcionalmente (por ejemplo, con 1 o más volúmenes de agua o tampón para eliminar el sulfato y/o la N-acetil glucosamina 6-O sulfato libre), y se trata con una hexosaminidasa o heparina liasa (por ejemplo, para liberar una N-acetil glucosamina 6-O sulfato del compuesto residual de glicano). En algunas realizaciones, después de la incubación, la N-acetil glucosamina 6-O sulfato liberada se aísla opcionalmente mediante lavado de la N-acetil glucosamina 6-O sulfato libre (tal como a través de una membrana con valor de corte de PM definido o cualquier otro método adecuado). En algunas de tales realizaciones, el monosacárido libre para la detección y/o la cuantificación está presente en el flujo a través. En algunas realizaciones, la solución aislada resultante se seca opcionalmente o se trata de otro modo para concentrar la muestra y analizar posteriormente el contenido en monosacárido mediante cualquier técnica

55

60

analítica adecuada (por ejemplo, HPLC, MS, GC, detección de pH o similares, con o sin una derivatización química o enzimática antes de la detección). Este método se puede utilizar para detectar la enfermedad MPS IIID, medir la gravedad de la enfermedad o medir la respuesta a la terapia.

5 MPS IVA es una enfermedad genética humana causada por una deficiencia en la enzima lisosómica galactosa/N-acetil galactosamina 6-O sulfatasa. Esta enzima es necesaria en el lisosoma para degradar glicanos que contienen  
10 residuos de galactosa sulfatados en 6-O y N-acetil galactosamina sulfatados en 6-O. Debido a esta deficiencia enzimática, los glicanos con residuos de galactosa sulfatados en 6-O y N-acetil galactosamina sulfatados en 6-O en el extremo no reductor se acumulan a niveles elevados (incluyendo condroitina y sulfato de queratán). En ciertas realizaciones, utilizando el método descrito en el presente documento, MPS IVA se diagnostica en un individuo a partir de una muestra biológica tomada del mismo. Por ejemplo, en algunas realizaciones, una muestra biológica se coloca opcionalmente en una columna de centrifugación con valor de corte de PM definido (retiene moléculas grandes cuando gira), se lava opcionalmente (por ejemplo, con 1 o más volúmenes de agua o tampón para eliminar el monosacárido libre) y se trata con una galactosa 6-O-sulfatasa y/o una N-acetil galactosamina 6-O sulfatasa y una galactosidasa y/o hexosaminidasa (por ejemplo, para liberar Gal y/o GalNAc del compuesto residual de glicano). En algunas realizaciones, después de la incubación, el monosacárido liberado se aísla opcionalmente mediante lavado del monosacárido libre (tal como a través de una membrana con valor de corte de PM definido o cualquier otro método adecuado). En algunas de tales realizaciones, el monosacárido libre para la detección y/o la cuantificación está presente en el flujo a través. En algunas realizaciones, la solución aislada resultante se seca opcionalmente o se trata de otro modo para concentrar la muestra y analizar posteriormente el contenido en monosacárido mediante cualquier técnica analítica adecuada (por ejemplo, HPLC, MS, GC o similares, con o sin una derivatización química o enzimática antes de la detección). Este método se puede utilizar para detectar la enfermedad MPS IVA, medir la gravedad de la enfermedad o medir la respuesta a la terapia.

25 Como se ha descrito anteriormente, en ciertas realizaciones, utilizando el método descrito en el presente documento, se diagnostica MPS IVA en un individuo a partir de una muestra biológica tomada del mismo. Por ejemplo, en algunas realizaciones, una muestra biológica se coloca opcionalmente en una columna de centrifugación con valor de corte de PM definido (retiene moléculas grandes cuando gira), se lava opcionalmente (por ejemplo, con 1 o más volúmenes de agua o tampón para eliminar el sulfato libre), y se trata con una 6-O-sulfatasa capaz de desulfatar residuos de galactosa sulfatada en 6-O y/o de N-acetil galactosamina sulfatada en 6-O (por ejemplo, para liberar un sulfato del compuesto residual de glicano). En algunas realizaciones, después de la incubación, el sulfato liberado se aísla opcionalmente mediante lavado del sulfato libre (tal como a través de una membrana con valor de corte de PM definido o cualquier otro método adecuado). En algunas de tales realizaciones, el sulfato libre para la detección y/o la cuantificación está presente en el flujo a través. En algunas realizaciones, la solución aislada resultante se seca opcionalmente o se trata de otro modo para concentrar la muestra y analizar posteriormente el contenido en sulfato mediante cualquier técnica analítica adecuada (por ejemplo, HPLC, MS, GC, detección de pH o similares, con o sin una derivatización química o enzimática antes de la detección). Este método se puede utilizar para detectar la enfermedad MPS IVA, medir la gravedad de la enfermedad o medir la respuesta a la terapia.

40 MPS IVB es una enfermedad genética humana causada por una deficiencia en la enzima lisosómica  $\beta$ -galactosidasa. Esta enzima es necesaria en el lisosoma para degradar glicanos que contienen residuos de galactosa. Debido a esta deficiencia enzimática, glicanos con residuos de  $\beta$ -galactosa en el extremo no reductor se acumulan a niveles elevados (incluyendo sulfato de queratán y otros glicanos). En ciertas realizaciones, utilizando el método descrito en el presente documento, MPS IVB se diagnostica en un individuo a partir de una muestra biológica tomada del mismo. Por ejemplo, en algunas realizaciones, una muestra biológica se coloca opcionalmente en una columna de centrifugación con valor de corte de PM definido (retiene moléculas grandes cuando gira), se lava opcionalmente (por ejemplo, con 1 o más volúmenes de agua o tampón para eliminar el monosacárido libre) y se trata con una galactosidasa (por ejemplo, para liberar Gal de un compuesto residual de glicano). En ciertas realizaciones, después de la incubación, el monosacárido liberado se aísla opcionalmente mediante el lavado del monosacárido libre (por ejemplo, a través de una membrana con valor de corte de PM definido, o cualquier otro método adecuado). En algunas de esas realizaciones, el monosacárido libre para una detección y/o cuantificación está presente en el flujo a través. En ciertas realizaciones, la solución aislada resultante se seca opcionalmente o se trata de otro modo para concentrar la muestra y posteriormente analizar el contenido en monosacárido mediante cualquier técnica analítica adecuada (por ejemplo, HPLC, MS, GC o similares, con o sin derivatización química o enzimática antes de la detección). Este método se puede utilizar para detectar la enfermedad MPS IVB, medir la gravedad de la enfermedad o medir una respuesta a la terapia.

55 MPS VI es una enfermedad genética humana causada por una deficiencia en la enzima sulfatasa 4-O que desulfata la N-acetil galactosamina. Esta enzima es necesaria en el lisosoma para degradar glicanos que contienen residuos de N-acetil galactosamina sulfatados en 4-O. Debido a esta deficiencia enzimática, glicanos con residuos de N-acetil galactosamina sulfatados en 4-O en el extremo no reductor se acumulan a niveles elevados (incluyendo sulfato de condroitina). En ciertas realizaciones, utilizando el método descrito en el presente documento, MPS VI se diagnostica en un individuo a partir de una muestra biológica tomada del mismo. Por ejemplo, en algunas realizaciones, una muestra biológica se coloca opcionalmente en una columna de centrifugación con valor de corte de PM definido (retiene moléculas grandes cuando gira), se lava opcionalmente (por ejemplo, con 1 o más volúmenes de agua o tampón para eliminar el sulfato libre) y se trata con una 4-O-sulfatasa que puede desulfatar

- residuos de N-acetil galactosamina sulfatados en 4-O (por ejemplo, para liberar un sulfato de un compuesto residual de glicano). En ciertas realizaciones, después de la incubación, el sulfato liberado se aísla opcionalmente mediante el lavado del sulfato libre (por ejemplo, a través de una membrana con valor de corte de PM definido, o cualquier otro método adecuado). En algunas de esas realizaciones, el sulfato libre para una detección y/o cuantificación está presente en el flujo a través. En ciertas realizaciones, la solución aislada resultante se seca opcionalmente o se trata de otro modo para concentrar la muestra y posteriormente analizar el contenido en sulfato mediante cualquier técnica analítica adecuada (por ejemplo, HPLC, MS, GC, detección de pH o similares, con o sin derivatización química o enzimática antes de la detección). Este método se puede utilizar para detectar la enfermedad MPS IV, medir la gravedad de la enfermedad o medir una respuesta a la terapia.
- Como se ha descrito anteriormente, en ciertas realizaciones, utilizando el método descrito en el presente documento, se diagnostica MPS IV en un individuo a partir de una muestra biológica tomada del mismo. Por ejemplo, en algunas realizaciones, una muestra biológica se coloca opcionalmente en una columna de centrifugación con valor de corte de PM definido (retiene moléculas grandes cuando gira), se lava opcionalmente (por ejemplo, con 1 o más volúmenes de agua o tampón para eliminar la N-acetil galactosamina libre), y se trata con una 4-O-sulfatasa capaz de desulfatar residuos de N-acetil galactosamina sulfatados en 4-O tratados después con una hexosaminidasa (por ejemplo, para liberar N-acetil galactosamina del compuesto residual de glicano). En algunas realizaciones, después de la incubación, la N-acetil galactosamina liberada se aísla opcionalmente mediante lavado del monosacárido libre (tal como a través de una membrana con valor de corte de PM definido o cualquier otro método adecuado). En algunas de tales realizaciones, el monosacárido libre para la detección y/o la cuantificación está presente en el flujo a través. En algunas realizaciones, la solución aislada resultante se seca opcionalmente o se trata de otro modo para concentrar la muestra y analizar posteriormente el contenido en monosacárido mediante cualquier técnica analítica adecuada (por ejemplo, HPLC, MS, GC o similares, con o sin una derivatización química o enzimática antes de la detección). Este método se puede utilizar para detectar la enfermedad MPS IV, medir la gravedad de la enfermedad o medir la respuesta a la terapia.
- MPS VII es una enfermedad genética humana causada por una deficiencia en la enzima lisosómica beta-glucuronidasa. Esta enzima es necesaria en el lisosoma para degradar glicanos que contienen residuos de ácido glucurónico. Debido a esta deficiencia enzimática, glicanos con residuos de ácido glucurónico en el extremo no reductor se acumulan a niveles elevados (incluyendo sulfato de condroitina, sulfato de heparán y otros). En ciertas realizaciones, utilizando el método descrito en el presente documento, MPS VII se diagnostica en un individuo a partir de una muestra biológica tomada del mismo. Por ejemplo, en algunas realizaciones, una muestra biológica se coloca opcionalmente en una columna de centrifugación con valor de corte de PM definido (retiene moléculas grandes cuando gira), se lava opcionalmente (por ejemplo, con 1 o más volúmenes de agua o tampón para eliminar el ácido glucurónico libre) y se trata con una glucuronidasa (por ejemplo, para liberar ácido glucurónico de un compuesto residual de glicano). En ciertas realizaciones, después de la incubación, el monosacárido liberado se aísla opcionalmente mediante el lavado del monosacárido libre (por ejemplo, a través de una membrana con valor de corte de PM definido, o cualquier otro método adecuado). En algunas de esas realizaciones, el monosacárido libre para una detección y/o cuantificación está presente en el flujo a través. En ciertas realizaciones, la solución aislada resultante se seca opcionalmente o se trata de otro modo para concentrar la muestra y posteriormente analizar el contenido en monosacárido mediante cualquier técnica analítica adecuada (por ejemplo, HPLC, MS, GC, detección de pH o similares, con o sin derivatización química o enzimática antes de la detección). Este método se puede utilizar para detectar la enfermedad MPS VII, medir la gravedad de la enfermedad o medir una respuesta a la terapia.
- Los métodos descritos en esta memoria también se pueden utilizar para definir la presencia relativa de diferentes clases de glicano.
- La enfermedad de Fabry es una enfermedad genética humana causada por una deficiencia en la  $\alpha$ -galactosidasa lisosómica. Debido a esta deficiencia enzimática, glicanos con residuos de  $\alpha$ -galactosa terminales en el extremo no reductor son abundantes. En ciertas realizaciones, utilizando el método descrito en el presente documento, la enfermedad de Fabry se diagnostica en un individuo a partir de una muestra biológica tomada del mismo. Por ejemplo, en algunas realizaciones, una muestra biológica se coloca opcionalmente en una columna de centrifugación con valor de corte de PM definido (retiene moléculas grandes cuando gira), se lava opcionalmente (por ejemplo, con 1 o más volúmenes de agua o tampón para eliminar el monosacárido libre) y se trata con una galactosidasa que es capaz de liberar un monosacárido con extremo no reductor (por ejemplo, para liberar un compuesto residual de glicano). En ciertas realizaciones, después de la incubación, el compuesto residual de glicano liberado se aísla opcionalmente mediante el lavado del compuesto residual de glicano libre (por ejemplo, a través de una membrana con valor de corte de PM definido, o cualquier otro método adecuado). En algunas de esas realizaciones, el compuesto residual de glicano libre para una detección y/o cuantificación está presente en el flujo a través. En ciertas realizaciones, la solución aislada resultante se seca opcionalmente o se trata de otro modo para concentrar la muestra y posteriormente analizar el contenido en compuesto residual de glicano mediante cualquier técnica analítica adecuada (por ejemplo, HPLC, MS, GC, detección de pH o similares, con o sin derivatización química o enzimática antes de la detección). Este método se puede utilizar para detectar la enfermedad de Fabry, medir la gravedad de la enfermedad o medir una respuesta a la terapia.

En algunas realizaciones, como se describe en la Tabla 1, otras enzimas y procedimientos se utilizan opcionalmente

para el diagnóstico de otras enfermedades de almacenamiento lisosómico (LSDs). Como se describe en la tabla, la o las enzimas apropiadas se pueden seleccionar si son apropiadas para la enfermedad específica.

#### Oncología - melanoma y neuroblastoma a través de ácido siálico

5 Una característica distintiva del cáncer es una glicosilación alterada. Los cambios en la glicosilación son un reflejo de cambios en enzimas y factores que regulan la biosíntesis, el recambio, la presentación, la estabilidad, la solubilidad y la degradación de glicanos. Muchos de estos cambios dan como resultado glicanos que se producen de modo que tienen estructuras alteradas. Los métodos descritos en esta memoria se utilizan en diversas realizaciones para evaluar esos cambios estructurales (por ejemplo, medir una acumulación anormal de glicano) que están presentes en el extremo no reductor de los glicanos presentes en individuos que padecen una enfermedad cancerosa.

10 Algunos ejemplos de enfermedades cancerosas adecuadas para un diagnóstico y/o una terapia de seguimiento de acuerdo con los métodos descritos en el presente documento, incluyen, a modo de ejemplo no limitativo, melanoma y neuroblastoma. En algunos casos, tales cánceres tienen alteraciones en la biosíntesis, el recambio, la presentación, la estabilidad, la solubilidad o la degradación de gangliósidos. En algunos casos, esos glicolípidos modificados con ácido siálico se detectan y/o se caracterizan o analizan de otra manera en una muestra biológica (por ejemplo, suero) de pacientes con esos tipos de tumores. En algunas realizaciones, la abundancia de una población heterogénea de gangliósidos se cuantifica para medir el ácido siálico u otro glicano residual liberado desde los gangliósidos a la sangre.

20 Debido a esta alteración enzimática, los gangliósidos y otros glicanos están presentes en el organismo a niveles elevados. En ciertas realizaciones, utilizando el método descrito en el presente documento, el cáncer (por ejemplo, melanoma o neuroblastoma) se diagnostica en un individuo a partir de una muestra biológica tomada del mismo. Por ejemplo, en algunas realizaciones, una muestra biológica se coloca opcionalmente en una columna de centrifugación con valor de corte de PM definido (retiene moléculas grandes cuando gira), se lava opcionalmente (por ejemplo, con 1 o más volúmenes de agua o tampón para eliminar el ácido siálico libre) y se trata con una sialidasa que es capaz de liberar el ácido siálico (por ejemplo, de liberar ácido siálico de un compuesto residual de glicano). En ciertas realizaciones, después de la incubación, el ácido siálico liberado se aísla opcionalmente mediante el lavado del ácido siálico libre (por ejemplo, a través de una membrana con valor de corte de PM definido, o cualquier otro método adecuado). En algunas de esas realizaciones, el ácido siálico libre para una detección y/o cuantificación está presente en el flujo a través. En ciertas realizaciones, la solución aislada resultante se seca opcionalmente o se trata de otro modo para concentrar la muestra y posteriormente analizar el contenido en ácido siálico mediante cualquier técnica analítica adecuada (por ejemplo, HPLC, MS, GC, detección de pH o similares, con o sin derivatización química o enzimática antes de la detección). Este método se puede utilizar para detectar el cáncer (por ejemplo, melanoma o neuroblastoma), medir la gravedad de la enfermedad o medir una respuesta a la terapia.

#### Oncología - Mieloma a través de extremos no reductores de sulfato de heparán

35 Un ejemplo de un cáncer humano que se diagnostica y/o se realiza un seguimiento de acuerdo con los métodos descritos en el presente documento (es decir, analizando con un método de ese tipo, la degradación alterada de un glicano) es el mieloma múltiple. En ciertos casos, el mieloma múltiple produce comúnmente heparanasa. La heparanasa es una endoglicosidasa que escinde el sulfato de heparán en fragmentos más pequeños, exponiendo nuevas estructuras con extremo no reductor. En ciertas realizaciones descritas en esta memoria, la presencia de esas nuevas estructuras con extremo no reductor se detecta utilizando cualquier método descrito en esta memoria (por ejemplo, mediante la incubación de una muestra biológica con diversas glicosidasas o sulfatasas para detectar la presencia de nuevos extremos no reductores de glicano).

45 Debido a esa alteración enzimática, los glicanos (incluyendo el sulfato de heparán y otros) están presentes en el organismo a niveles altos. En ciertas realizaciones, utilizando el método descrito en el presente documento, el cáncer (por ejemplo, mieloma múltiple) se diagnostica en un individuo a partir de una muestra biológica tomada del mismo. Por ejemplo, en algunas realizaciones, una muestra biológica se coloca opcionalmente en una columna de centrifugación con valor de corte de PM definido (retiene moléculas grandes cuando gira), se lava opcionalmente (por ejemplo, con 1 o más volúmenes de agua o tampón para eliminar monosacáridos y/o sulfato libres) y se trata con una sulfatasa, iduronidasa, glucuronidasa, hexosaminidasa o liasa que es capaz de liberar un monosacárido o sulfato del extremo no reductor. En ciertas realizaciones, después de la incubación, el compuesto residual de glicano liberado se aísla opcionalmente mediante el lavado del compuesto residual de glicano libre (por ejemplo, a través de una membrana con valor de corte de PM definido, o cualquier otro método adecuado). En algunas de esas realizaciones, el compuesto residual de glicano libre para una detección y/o cuantificación está presente en el flujo a través. En ciertas realizaciones, la solución aislada resultante se seca opcionalmente o se trata de otro modo para concentrar la muestra y posteriormente analizar el contenido en compuesto residual de glicano mediante cualquier técnica analítica adecuada (por ejemplo, HPLC, MS, GC, detección de pH o similares, con o sin derivatización química o enzimática antes de la detección). Este método se puede utilizar para detectar el cáncer (por ejemplo, mieloma múltiple), medir la gravedad de la enfermedad o medir una respuesta a la terapia.

#### Oncología - Adenocarcinoma

El adenocarcinoma se asocia con cambios en la glicosilación, incluyendo el aumento de la sialilación y fucosilación. El método descrito se puede utilizar para medir la enfermedad mediante el análisis de los glicanos (totales o purificados o enriquecidos para clases de glicano específicas) de un paciente de cara a la cantidad de ácido siálico o fucosa terminal del extremo no reductor, midiendo la liberación de esos glicanos residuales después del tratamiento con una sialidasa o fucosidasa.

Otras aplicaciones

Como se describe en las Tablas 12-15, diversas enfermedades asociadas con cambios en la glicosilación opcionalmente se diagnostican y/o se realiza un seguimiento de acuerdo con métodos descritos en el presente documento. Varios trastornos incluyen, a modo de ejemplo no limitante, enfermedad de almacenamiento lisosómico, cáncer, enfermedad neurológica (demencia, enfermedad de Alzheimer, etc.), enfermedad hepática, enfermedad ósea, enfermedades infecciosas y similares.

En el presente documento se proporcionan métodos de diagnóstico de individuos (incluyendo, por ejemplo, un estado de enfermedad o la gravedad de un estado de enfermedad) con una enfermedad de almacenamiento lisosómico (LSD) o métodos para realizar un seguimiento del tratamiento de una enfermedad de almacenamiento lisosómico (LSD). En la Tabla 10 se proporcionan realizaciones específicas de la enfermedad que opcionalmente se está diagnosticando y/o realizando un seguimiento de acuerdo con diversas realizaciones descritas en esta memoria. La Tabla 12 también ilustra diversas realizaciones no limitantes de enzima(s) específica(s) que se emplea(n) opcionalmente para tratar una muestra biológica de un individuo que padece o se sospecha (por ejemplo, a través de un proceso de selección previa o preliminar) que padece una LSD. Por otra parte, la Tabla 12 ilustra adicionalmente diversos compuestos residuales de glicano que se liberan en varias realizaciones descritas en el presente documento, tales compuestos residuales de glicano liberados se detectan opcionalmente y/o se miden con el fin de diagnosticar y/o realizar un seguimiento de una enfermedad de almacenamiento lisosómico (LSD).

Tabla 12:

Usos ejemplares de LSD				
Enfermedad	Estructura del extremo no reductor	Enzima de liberación primaria	Enzima de liberación secundaria	Compuesto residual de glicano
MPS I	IdoA	iduronidasa		IdoA
MPS II	IdoA-2-O sulfato y GlcA-2-O sulfato	2-sulfatasa		Sulfato
MPS II	IdoA-2-O sulfato y GlcA-2-O sulfato	2-sulfatasa	iduronidasa y/o glucuronidasa	IdoA y/o GlcA
MPS IIIA	GlcN-N-sulfato	N-sulfatasa		Sulfato
MPS IIIA	GlcN-N-sulfato	N-sulfatasa	hexosaminidasa	GlcN
MPS IIIA	GlcN-N-sulfato	N-sulfatasa	heparina liasa	GlcN
MPS IIIA	GlcN-N-sulfato	N-sulfatasa	N-acetil transferasa y hexosaminidasa	GlcNAc
MPS IIIA	GlcN-N-sulfato	heparina liasa		GlcN-N-sulfato
MPS IIIB	GlcNAc	hexosaminidasa		GlcNAc
MPS IIIB	GlcNAc	desacetilasa		acetato
MPS IIIB	GlcNAc	heparina liasa		GlcNAc
MPS IIIC	GlcNAc-6-O sulfato	6-O sulfatasa		Sulfato
MPS IIIC	GlcNAc-6-O sulfato	6-O sulfatasa	hexosaminidasa	GlcNAc

Usos ejemplares de LSD				
Enfermedad	Estructura del extremo no reductor	Enzima de liberación primaria	Enzima de liberación secundaria	Compuesto residual de glicano
<b>MPS IIIC</b>	GlcNAc-6-O sulfato	6-O sulfatasa	heparina liasa	GlcNAc
<b>MPS IIIC</b>	GlcNAc-6-O sulfato	heparina liasa		GlcNAc-6-O sulfato
<b>MPS IIID</b>	GlcN	hexosaminidasa		GlcN
<b>MPS IIID</b>	GlcN	heparina liasa		GlcN
<b>MPS IIID</b>	GlcN	N-acetil transferasa	hexosaminidasa	GlcNAc
<b>MPS IVA</b>	Gal-6-O sulfato y GalNAc-6-O sulfato	6-O sulfatasa		Sulfato
<b>MPS IVA</b>	Gal-6-O sulfato y GalNAc-6-O sulfato	galactosidasa		Gal-6-O sulfato
<b>MPS IVA</b>	Gal-6-O sulfato y GalNAc-6-O sulfato	N-acetil galactosidasa		GalNAc-6-O sulfato
<b>MPS IVA</b>	Gal-6-O sulfato y GalNAc-6-O sulfato	hexosaminidasa		GalNAc-6-O sulfato
<b>MPS IVA</b>	Gal-6-O sulfato y GalNAc-6-O sulfato	6-O sulfatasa	galactosidasa	Gal
<b>MPS IVA</b>	Gal-6-O sulfato y GalNAc-6-O sulfato	6-O sulfatasa	N-acetil galactosidasa	GalNAc
<b>MPS IVA</b>	Gal-6-O sulfato y GalNAc-6-O sulfato (+/-4-O-sulfato)	Cualquier combinación de actividades de condroitina liasa A y/o B y/o C)		GalNAc-6-O sulfato (+/- 4-O sulfato)
<b>MPS IVA</b>	Gal-6-O sulfato y GalNAc-6-O sulfato(+/- 4-O-sulfato)	6-O sulfatasa	Cualquier combinación de actividades de condroitina liasa A y/o B y/o C)	GalNAc (+/- 4-O sulfato)
<b>MPS IVB</b>	Gal	galactosidasa		Gal
<b>MPS VI</b>	GalNAc-4-O sulfato	4-O sulfatasa		Sulfato
<b>MPS VI</b>	GalNAc-4-O sulfato	4-O sulfatasa	hexosaminidasa	GalNAc
<b>MPS VI</b>	GalNAc-4-O sulfato	4-O sulfatasa	condroitina liasa	GalNAc
<b>MPS VI</b>	GalNAc-4-O sulfato	condroitina liasa		GalNAc-4-O sulfato
<b>MPS VII</b>	GlcA	$\beta$ -glucuronidasa		GlcA
<b>manosidosis alfa</b>	manosa	manosidasa		Man

<b>Usos ejemplares de LSD</b>				
<b>Enfermedad</b>	<b>Estructura del extremo no reductor</b>	<b>Enzima de liberación primaria</b>	<b>Enzima de liberación secundaria</b>	<b>Compuesto residual de glicano</b>
<b>Aspartilglucosaminuria</b>	GlcNAc	hexosaminidasa		GlcNAc
<b>Fabry</b>	galactosa	galactosidasa		Gal
<b>fucosidosis</b>	fucosa	fucosidasa		Fuc
<b>galactosialidosis</b>	galactosa y/o ácido siálico	galactosidasa y/o sialidasa		Gal y/o ácido siálico
<b>Gaucher</b>	glucosa	glucosidasa		glucosa
<b>Gangliosidosis GM1</b>	beta-galactosa	beta-galactosidasa		galactosa
<b>Gangliosidosis GM1</b>	beta-galactosa	beta-galactosidasa	Hexosaminidasa	GalNAc
<b>Deficiencia del activador GM2</b>	GalNAc	hexosaminidasa		GalNAc
<b>Sialidosis</b>	ácido siálico	Sialidasa		ácido siálico
<b>Sialidosis</b>	ácido siálico	alfa 2,3 Sialidasa		ácido siálico
<b>Sialidosis</b>	ácido siálico	alfa 2,6 Sialidasa		ácido siálico
<b>Sialidosis</b>	ácido siálico	alfa 2,8 Sialidasa		ácido siálico
<b>Krabbe</b>	galactosa	galactosidasa		galactosa
<b>Leucodistrofia metacromática</b>	galactosilceramida sulfatada	3-O sulfatasa		Sulfato
<b>Leucodistrofia metacromática</b>	galactosilceramida sulfatada	3-O sulfatasa	galactosidasa	galactosa
<b>Mucopolipidosis II</b>	Amplia gama de glicanos	Cualquier enzima mencionada		Cualquier monosacárido o sulfato
<b>Mucopolipidosis III</b>	Amplia gama de glicanos	Cualquier enzima mencionada		Cualquier monosacárido o sulfato
<b>Mucopolipidosis IV</b>	Amplia gama de glicanos	Cualquier enzima mencionada		Cualquier monosacárido o sulfato
<b>Deficiencia múltiple de sulfatasas</b>	Glicanos sulfatados	sulfatasa		sulfato
<b>Deficiencia múltiple de sulfatasas</b>	Glicanos sulfatados	sulfatasa	Cualquier glicosidasa	monosacárido
<b>Deficiencia múltiple de sulfatasas</b>	Glicanos sulfatados	Cualquier glicosidasa		Monosacárido sulfatado

Usos ejemplares de LSD				
Enfermedad	Estructura del extremo no reductor	Enzima de liberación primaria	Enzima de liberación secundaria	Compuesto residual de glicano
Enfermedad por almacenamiento de glucógeno (Pompe)	glucosa	glucosidasa		glucosa
Sandhoff	GalNAc	hexosaminidasa		GalNAc
Tay-Sachs	GalNAc	hexosaminidasa		GalNAc
Variante AB	GalNAc	hexosaminidasa		GalNAc
Enfermedad de Schindler	alfa-GalNAc	hexosaminidasa		GalNAc
Enfermedad de Salla	ácido siálico	nada		ácido siálico
manosidosis alfa	alfa manosa	manosidasa		manosa
manosidosis beta	beta manosa	manosidasa		manosa
Leucodistrofia de células globosas	galactosa	galactosidasa		galactosa

5 En el presente documento se proporcionan métodos de diagnóstico de individuos (incluyendo, por ejemplo, un estado de enfermedad o la gravedad de un estado de enfermedad) con un estado de enfermedad cancerosa o para realizar el seguimiento del tratamiento de un cáncer. En la Tabla 13 se proporcionan realizaciones específicas de enfermedades que están opcionalmente diagnosticadas y/o controladas de acuerdo con diversas realizaciones descritas en esta memoria. La Tabla 13 también ilustra diversas realizaciones no limitantes de enzima(s) específica(s) que se emplea(n) opcionalmente para tratar una muestra biológica de un individuo que padece o se sospecha (por ejemplo, a través de un procedimiento de selección previa o preliminar) que padece un estado de enfermedad cancerosa. Por otra parte, la Tabla 13 ilustra adicionalmente diversos compuestos residuales de glicano que se liberan en diversas realizaciones descritas en el presente documento, tales compuestos residuales de glicano liberados se detectan opcionalmente y/o se miden con el fin de diagnosticar y/o realizar un seguimiento de un estado de enfermedad cancerosa.

Tabla 13:

Usos oncológicos ejemplares				
Tipo de cáncer	Estructura del extremo no reductor	Enzima de liberación primaria	Enzima de liberación secundaria	Compuesto residual de glicano
Melanoma	Ácido siálico	Sialidasa		Ácido siálico
Melanoma	Ácido siálico	Alfa 2,8 Sialidasa		Ácido siálico
Melanoma	Ácido siálico	Alfa 2,3 Sialidasa		Ácido siálico
Melanoma	Ácido siálico	Alfa 2,6 Sialidasa		Ácido siálico
Melanoma	GalNAc	Hexosaminidasa		GalNAc
Melanoma	GalNAc	Sialidasa	Hexosaminidasa	GalNAc
Melanoma	Ácido siálico	Hexosaminidasa	Sialidasa	Ácido siálico

<b>Usos oncológicos ejemplares</b>				
<b>Tipo de cáncer</b>	<b>Estructura del extremo no reductor</b>	<b>Enzima de liberación primaria</b>	<b>Enzima de liberación secundaria</b>	<b>Compuesto residual de glicano</b>
<b>Melanoma</b>	Galactosa	Galactosidasa		Galactosa
<b>Melanoma</b>	Galactosa	Sialidasa	Galactosidasa	Galactosa
<b>Melanoma</b>	Fucosa	Fucosidasa		Fucosa
<b>Melanoma</b>	Galactosa	Galactosidasa		Galactosa
<b>Melanoma</b>	GlcNAc	Hexosaminidasa		GlcNAc
<b>Melanoma</b>	Sulfato	Sulfatasa		Sulfato
<b>Melanoma</b>	Hexosa sulfatada	Sulfatasa	Hexosaminidasa	GlcNAc o GalNAc
<b>Melanoma</b>	Ácido urónico sulfatado	Sulfatasa	Iduronidasa o glucuronidasa	IdoA o GlcA
<b>Neuroblastoma</b>	Ácido siálico	Sialidasa		Ácido siálico
<b>Neuroblastoma</b>	Ácido siálico	Alfa 2,8 Sialidasa		Ácido siálico
<b>Neuroblastoma</b>	Ácido siálico	Alfa 2,3 Sialidasa		Ácido siálico
<b>Neuroblastoma</b>	Ácido siálico	Alfa 2,6 Sialidasa		Ácido siálico
<b>Neuroblastoma</b>	GalNAc	Hexosaminidasa		GalNAc
<b>Neuroblastoma</b>	GalNAc	Sialidasa	Hexosaminidasa	GalNAc
<b>Neuroblastoma</b>	Ácido siálico	Hexosaminidasa	Sialidasa	Ácido siálico
<b>Neuroblastoma</b>	Galactosa	Galactosidasa		Galactosa
<b>Neuroblastoma</b>	Galactosa	Sialidasa	Galactosidasa	Galactosa
<b>Neuroblastoma</b>	Fucosa	Fucosidasa		Fucosa
<b>Neuroblastoma</b>	Galactosa	Galactosidasa		Galactosa
<b>Neuroblastoma</b>	GlcNAc	Hexosaminidasa		GlcNAc
<b>Neuroblastoma</b>	Sulfato	Sulfatasa		Sulfato
<b>Neuroblastoma</b>	Hexosa sulfatada	Sulfatasa	Hexosaminidasa	GlcNAc o GalNAc
<b>Neuroblastoma</b>	Ácido urónico sulfatado	Sulfatasa	Iduronidasa o glucuronidasa	IdoA o GlcA
<b>Adenocarcinoma</b>	Ácido siálico	Sialidasa		Ácido siálico
<b>Adenocarcinoma</b>	Ácido siálico	Alfa 2,8 Sialidasa		Ácido siálico
<b>Adenocarcinoma</b>	Ácido siálico	Alfa 2,3 Sialidasa		Ácido siálico

<b>Usos oncológicos ejemplares</b>				
<b>Tipo de cáncer</b>	<b>Estructura del extremo no reductor</b>	<b>Enzima de liberación primaria</b>	<b>Enzima de liberación secundaria</b>	<b>Compuesto residual de glicano</b>
<b>Adenocarcinoma</b>	Ácido siálico	Alfa 2,6 Sialidasa		Ácido siálico
<b>Adenocarcinoma</b>	GalNAc	Hexosaminidasa		GalNAc
<b>Adenocarcinoma</b>	GalNAc	Sialidasa	Hexosaminidasa	GalNAc
<b>Adenocarcinoma</b>	Ácido siálico	Hexosaminidasa	Sialidasa	Ácido siálico
<b>Adenocarcinoma</b>	Galactosa	Galactosidasa		Galactosa
<b>Adenocarcinoma</b>	Galactosa	Sialidasa	Galactosidasa	Galactosa
<b>Adenocarcinoma</b>	Fucosa	Fucosidasa		Fucosa
<b>Adenocarcinoma</b>	Galactosa	Galactosidasa		Galactosa
<b>Adenocarcinoma</b>	GlcNAc	Hexosaminidasa		GlcNAc
<b>Adenocarcinoma</b>	Sulfato	Sulfatasa		Sulfato
<b>Adenocarcinoma</b>	Hexosa sulfatada	Sulfatasa	Hexosaminidasa	GlcNAc o GalNAc
<b>Adenocarcinoma</b>	Ácido urónico sulfatado	Sulfatasa	Iduronidasa o glucuronidasa	IdoA o GlcA
<b>Mieloma</b>	Ácido siálico	Sialidasa		Ácido siálico
<b>Mieloma</b>	Ácido siálico	Alfa 2,8 Sialidasa		Ácido siálico
<b>Mieloma</b>	Ácido siálico	Alfa 2,3 Sialidasa		Ácido siálico
<b>Mieloma</b>	Ácido siálico	Alfa 2,6 Sialidasa		Ácido siálico
<b>Mieloma</b>	GalNAc	Hexosaminidasa		GalNAc
<b>Mieloma</b>	GalNAc	Sialidasa	Hexosaminidasa	GalNAc
<b>Mieloma</b>	Ácido siálico	Hexosaminidasa	Sialidasa	Ácido siálico
<b>Mieloma</b>	Galactosa	Galactosidasa		Galactosa
<b>Mieloma</b>	Galactosa	Sialidasa	Galactosidasa	Galactosa
<b>Mieloma</b>	Fucosa	Fucosidasa		Fucosa
<b>Mieloma</b>	Galactosa	Galactosidasa		Galactosa
<b>Mieloma</b>	GlcNAc	Hexosaminidasa		GlcNAc
<b>Mieloma</b>	Sulfato	Sulfatasa		Sulfato
<b>Mieloma</b>	Hexosa sulfatada	Sulfatasa	Hexosaminidasa	GlcNAc o GalNAc
<b>Mieloma</b>	Ácido urónico	Sulfatasa	Iduronidasa o	IdoA o GlcA

Usos oncológicos ejemplares				
Tipo de cáncer	Estructura del extremo no reductor	Enzima de liberación primaria	Enzima de liberación secundaria	Compuesto residual de glicano
	sulfatado		glucuronidasa	
<b>Mama</b>	Ácido siálico	Sialidasa		Ácido siálico
<b>Mama</b>	Ácido siálico	Alfa 2,8 Sialidasa		Ácido siálico
<b>Mama</b>	Ácido siálico	Alfa 2,3 Sialidasa		Ácido siálico
<b>Mama</b>	Ácido siálico	Alfa 2,6 Sialidasa		Ácido siálico
<b>Mama</b>	GalNAc	Hexosaminidasa		GalNAc
<b>Mama</b>	GalNAc	Sialidasa	Hexosaminidasa	GalNAc
<b>Mama</b>	Ácido siálico	Hexosaminidasa	Sialidasa	Ácido siálico
<b>Mama</b>	Galactosa	Galactosidasa		Galactosa
<b>Mama</b>	Galactosa	Sialidasa	Galactosidasa	Galactosa
<b>Mama</b>	Fucosa	Fucosidasa		Fucosa
<b>Mama</b>	Galactosa	Galactosidasa		Galactosa
<b>Mama</b>	GlcNAc	Hexosaminidasa		GlcNAc
<b>Mama</b>	Sulfato	Sulfatasa		Sulfato
<b>Mama</b>	Hexosa sulfatada	Sulfatasa	Hexosaminidasa	GlcNAc o GalNAc
<b>Mama</b>	Ácido urónico sulfatado	Sulfatasa	Iduronidasa o glucuronidasa	IdoA o GlcA
<b>Ovario</b>	Ácido siálico	Sialidasa		Ácido siálico
<b>Ovario</b>	Ácido siálico	Alfa 2,8 Sialidasa		Ácido siálico
<b>Ovario</b>	Ácido siálico	Alfa 2,3 Sialidasa		Ácido siálico
<b>Ovario</b>	Ácido siálico	Alfa 2,6 Sialidasa		Ácido siálico
<b>Ovario</b>	GalNAc	Hexosaminidasa		GalNAc
<b>Ovario</b>	GalNAc	Sialidasa	Hexosaminidasa	GalNAc
<b>Ovario</b>	Ácido siálico	Hexosaminidasa	Sialidasa	Ácido siálico
<b>Ovario</b>	Galactosa	Galactosidasa		Galactosa
<b>Ovario</b>	Galactosa	Sialidasa	Galactosidasa	Galactosa
<b>Ovario</b>	Fucosa	Fucosidasa		Fucosa
<b>Ovario</b>	Galactosa	Galactosidasa		Galactosa

<b>Usos oncológicos ejemplares</b>				
<b>Tipo de cáncer</b>	<b>Estructura del extremo no reductor</b>	<b>Enzima de liberación primaria</b>	<b>Enzima de liberación secundaria</b>	<b>Compuesto residual de glicano</b>
<b>Ovario</b>	GlcNAc	Hexosaminidasa		GlcNAc
<b>Ovario</b>	Sulfato	Sulfatasa		Sulfato
<b>Ovario</b>	Hexosa sulfatada	Sulfatasa	Hexosaminidasa	GlcNAc o GalNAc
<b>Ovario</b>	Ácido urónico sulfatado	Sulfatasa	Iduronidasa o glucuronidasa	IdoA o GlcA
<b>Estómago</b>	Ácido siálico	Sialidasa		Ácido siálico
<b>Estómago</b>	Ácido siálico	Alfa 2,8 Sialidasa		Ácido siálico
<b>Estómago</b>	Ácido siálico	Alfa 2,3 Sialidasa		Ácido siálico
<b>Estómago</b>	Ácido siálico	Alfa 2,6 Sialidasa		Ácido siálico
<b>Estómago</b>	GalNAc	Hexosaminidasa		GalNAc
<b>Estómago</b>	GalNAc	Sialidasa	Hexosaminidasa	GalNAc
<b>Estómago</b>	Ácido siálico	Hexosaminidasa	Sialidasa	Ácido siálico
<b>Estómago</b>	Galactosa	Galactosidasa		Galactosa
<b>Estómago</b>	Galactosa	Sialidasa	Galactosidasa	Galactosa
<b>Estómago</b>	Fucosa	Fucosidasa		Fucosa
<b>Estómago</b>	Galactosa	Galactosidasa		Galactosa
<b>Estómago</b>	GlcNAc	Hexosaminidasa		GlcNAc
<b>Estómago</b>	Sulfato	Sulfatasa		Sulfato
<b>Estómago</b>	Hexosa sulfatada	Sulfatasa	Hexosaminidasa	GlcNAc o GalNAc
<b>Estómago</b>	Ácido urónico sulfatado	Sulfatasa	Iduronidasa o glucuronidasa	IdoA o GlcA
<b>Pulmón</b>	Ácido siálico	Sialidasa		Ácido siálico
<b>Pulmón</b>	Ácido siálico	Alfa 2,8 Sialidasa		Ácido siálico
<b>Pulmón</b>	Ácido siálico	Alfa 2,3 Sialidasa		Ácido siálico
<b>Pulmón</b>	Ácido siálico	Alfa 2,6 Sialidasa		Ácido siálico
<b>Pulmón</b>	GalNAc	Hexosaminidasa		GalNAc
<b>Pulmón</b>	GalNAc	Sialidasa	Hexosaminidasa	GalNAc
<b>Pulmón</b>	Ácido siálico	Hexosaminidasa	Sialidasa	Ácido siálico

<b>Usos oncológicos ejemplares</b>				
<b>Tipo de cáncer</b>	<b>Estructura del extremo no reductor</b>	<b>Enzima de liberación primaria</b>	<b>Enzima de liberación secundaria</b>	<b>Compuesto residual de glicano</b>
<b>Pulmón</b>	Galactosa	Galactosidasa		Galactosa
<b>Pulmón</b>	Galactosa	Sialidasa	Galactosidasa	Galactosa
<b>Pulmón</b>	Fucosa	Fucosidasa		Fucosa
<b>Pulmón</b>	Galactosa	Galactosidasa		Galactosa
<b>Pulmón</b>	GlcNAc	Hexosaminidasa		GlcNAc
<b>Pulmón</b>	Sulfato	Sulfatasa		Sulfato
<b>Pulmón</b>	Hexosa sulfatada	Sulfatasa	Hexosaminidasa	GlcNAc o GalNAc
<b>Pulmón</b>	Ácido urónico sulfatado	Sulfatasa	Iduronidasa o glucuronidasa	IdoA o GlcA
<b>Pancreático</b>	Ácido siálico	Sialidasa		Ácido siálico
<b>Pancreático</b>	Ácido siálico	Alfa 2,8 Sialidasa		Ácido siálico
<b>Pancreático</b>	Ácido siálico	Alfa 2,3 Sialidasa		Ácido siálico
<b>Pancreático</b>	Ácido siálico	Alfa 2,6 Sialidasa		Ácido siálico
<b>Pancreático</b>	GalNAc	Hexosaminidasa		GalNAc
<b>Pancreático</b>	GalNAc	Sialidasa	Hexosaminidasa	GalNAc
<b>Pancreático</b>	Ácido siálico	Hexosaminidasa	Sialidasa	Ácido siálico
<b>Pancreático</b>	Galactosa	Galactosidasa		Galactosa
<b>Pancreático</b>	Galactosa	Sialidasa	Galactosidasa	Galactosa
<b>Pancreático</b>	Fucosa	Fucosidasa		Fucosa
<b>Pancreático</b>	Galactosa	Galactosidasa		Galactosa
<b>Pancreático</b>	GlcNAc	Hexosaminidasa		GlcNAc
<b>Pancreático</b>	Sulfato	Sulfatasa		Sulfato
<b>Pancreático</b>	Hexosa sulfatada	Sulfatasa	Hexosaminidasa	GlcNAc o GalNAc
<b>Pancreático</b>	Ácido urónico sulfatado	Sulfatasa	Iduronidasa o glucuronidasa	IdoA o GlcA
<b>Oral</b>	Ácido siálico	Sialidasa		Ácido siálico
<b>Oral</b>	Ácido siálico	Alfa 2,8 Sialidasa		Ácido siálico
<b>Oral</b>	Ácido siálico	Alfa 2,3 Sialidasa		Ácido siálico

<b>Usos oncológicos ejemplares</b>				
<b>Tipo de cáncer</b>	<b>Estructura del extremo no reductor</b>	<b>Enzima de liberación primaria</b>	<b>Enzima de liberación secundaria</b>	<b>Compuesto residual de glicano</b>
<b>Oral</b>	Ácido siálico	Alfa 2,6 Sialidasa		Ácido siálico
<b>Oral</b>	GalNAc	Hexosaminidasa		GalNAc
<b>Oral</b>	GalNAc	Sialidasa	Hexosaminidasa	GalNAc
<b>Oral</b>	Ácido siálico	Hexosaminidasa	Sialidasa	Ácido siálico
<b>Oral</b>	Galactosa	Galactosidasa		Galactosa
<b>Oral</b>	Galactosa	Sialidasa	Galactosidasa	Galactosa
<b>Oral</b>	Fucosa	Fucosidasa		Fucosa
<b>Oral</b>	Galactosa	Galactosidasa		Galactosa
<b>Oral</b>	GlcNAc	Hexosaminidasa		GlcNAc
<b>Oral</b>	Sulfato	Sulfatasa		Sulfato
<b>Oral</b>	Hexosa sulfatada	Sulfatasa	Hexosaminidasa	GlcNAc o GalNAc
<b>Oral</b>	Ácido urónico sulfatado	Sulfatasa	Iduronidasa o glucuronidasa	IdoA o GlcA
<b>Colorrectal</b>	Ácido siálico	Sialidasa		Ácido siálico
<b>Colorrectal</b>	Ácido siálico	Alfa 2,8 Sialidasa		Ácido siálico
<b>Colorrectal</b>	Ácido siálico	Alfa 2,3 Sialidasa		Ácido siálico
<b>Colorrectal</b>	Ácido siálico	Alfa 2,6 Sialidasa		Ácido siálico
<b>Colorrectal</b>	GalNAc	Hexosaminidasa		GalNAc
<b>Colorrectal</b>	GalNAc	Sialidasa	Hexosaminidasa	GalNAc
<b>Colorrectal</b>	Ácido siálico	Hexosaminidasa	Sialidasa	Ácido siálico
<b>Colorrectal</b>	Galactosa	Galactosidasa		Galactosa
<b>Colorrectal</b>	Galactosa	Sialidasa	Galactosidasa	Galactosa
<b>Colorrectal</b>	Fucosa	Fucosidasa		Fucosa
<b>Colorrectal</b>	Galactosa	Galactosidasa		Galactosa
<b>Colorrectal</b>	GlcNAc	Hexosaminidasa		GlcNAc
<b>Colorrectal</b>	Sulfato	Sulfatasa		Sulfato
<b>Colorrectal</b>	Hexosa sulfatada	Sulfatasa	Hexosaminidasa	GlcNAc o GalNAc
<b>Colorrectal</b>	Ácido urónico	Sulfatasa	Iduronidasa o	IdoA o GlcA

Usos oncológicos ejemplares				
Tipo de cáncer	Estructura del extremo no reductor	Enzima de liberación primaria	Enzima de liberación secundaria	Compuesto residual de glicano
	sulfatado		glucuronidasa	
<b>Riñón</b>	Ácido siálico	Sialidasa		Ácido siálico
<b>Riñón</b>	Ácido siálico	Alfa 2,8 Sialidasa		Ácido siálico
<b>Riñón</b>	Ácido siálico	Alfa 2,3 Sialidasa		Ácido siálico
<b>Riñón</b>	Ácido siálico	Alfa 2,6 Sialidasa		Ácido siálico
<b>Riñón</b>	GalNAc	Hexosaminidasa		GalNAc
<b>Riñón</b>	GalNAc	Sialidasa	Hexosaminidasa	GalNAc
<b>Riñón</b>	Ácido siálico	Hexosaminidasa	Sialidasa	Ácido siálico
<b>Riñón</b>	Galactosa	Galactosidasa		Galactosa
<b>Riñón</b>	Galactosa	Sialidasa	Galactosidasa	Galactosa
<b>Riñón</b>	Fucosa	Fucosidasa		Fucosa
<b>Riñón</b>	Galactosa	Galactosidasa		Galactosa
<b>Riñón</b>	GlcNAc	Hexosaminidasa		GlcNAc
<b>Riñón</b>	Sulfato	Sulfatasa		Sulfato
<b>Riñón</b>	Hexosa sulfatada	Sulfatasa	Hexosaminidasa	GlcNAc o GalNAc
<b>Riñón</b>	Ácido urónico sulfatado	Sulfatasa	Iduronidasa o glucuronidasa	IdoA o GlcA
<b>Vejiga</b>	Ácido siálico	Sialidasa		Ácido siálico
<b>Vejiga</b>	Ácido siálico	Alfa 2,8 Sialidasa		Ácido siálico
<b>Vejiga</b>	Ácido siálico	Alfa 2,3 Sialidasa		Ácido siálico
<b>Vejiga</b>	Ácido siálico	Alfa 2,6 Sialidasa		Ácido siálico
<b>Vejiga</b>	GalNAc	Hexosaminidasa		GalNAc
<b>Vejiga</b>	GalNAc	Sialidasa	Hexosaminidasa	GalNAc
<b>Vejiga</b>	Ácido siálico	Hexosaminidasa	Sialidasa	Ácido siálico
<b>Vejiga</b>	Galactosa	Galactosidasa		Galactosa
<b>Vejiga</b>	Galactosa	Sialidasa	Galactosidasa	Galactosa
<b>Vejiga</b>	Fucosa	Fucosidasa		Fucosa
<b>Vejiga</b>	Galactosa	Galactosidasa		Galactosa

<b>Usos oncológicos ejemplares</b>				
<b>Tipo de cáncer</b>	<b>Estructura del extremo no reductor</b>	<b>Enzima de liberación primaria</b>	<b>Enzima de liberación secundaria</b>	<b>Compuesto residual de glicano</b>
<b>Vejiga</b>	GlcNAc	Hexosaminidasa		GlcNAc
<b>Vejiga</b>	Sulfato	Sulfatasa		Sulfato
<b>Vejiga</b>	Hexosa sulfatada	Sulfatasa	Hexosaminidasa	GlcNAc o GalNAc
<b>Vejiga</b>	Ácido urónico sulfatado	Sulfatasa	Iduronidasa o glucuronidasa	IdoA o GlcA
<b>Próstata</b>	Ácido siálico	Sialidasa		Ácido siálico
<b>Próstata</b>	Ácido siálico	Alfa 2,8 Sialidasa		Ácido siálico
<b>Próstata</b>	Ácido siálico	Alfa 2,3 Sialidasa		Ácido siálico
<b>Próstata</b>	Ácido siálico	Alfa 2,6 Sialidasa		Ácido siálico
<b>Próstata</b>	GalNAc	Hexosaminidasa		GalNAc
<b>Próstata</b>	GalNAc	Sialidasa	Hexosaminidasa	GalNAc
<b>Próstata</b>	Ácido siálico	Hexosaminidasa	Sialidasa	Ácido siálico
<b>Próstata</b>	Galactosa	Galactosidasa		Galactosa
<b>Próstata</b>	Galactosa	Sialidasa	Galactosidasa	Galactosa
<b>Próstata</b>	Fucosa	Fucosidasa		Fucosa
<b>Próstata</b>	Galactosa	Galactosidasa		Galactosa
<b>Próstata</b>	GlcNAc	Hexosaminidasa		GlcNAc
<b>Próstata</b>	Sulfato	Sulfatasa		Sulfato
<b>Próstata</b>	Hexosa sulfatada	Sulfatasa	Hexosaminidasa	GlcNAc o GalNAc
<b>Próstata</b>	Ácido urónico sulfatado	Sulfatasa	Iduronidasa o glucuronidasa	IdoA o GlcA
<b>Uterino</b>	Ácido siálico	Sialidasa		Ácido siálico
<b>Uterino</b>	Ácido siálico	Alfa 2,8 Sialidasa		Ácido siálico
<b>Uterino</b>	Ácido siálico	Alfa 2,3 Sialidasa		Ácido siálico
<b>Uterino</b>	Ácido siálico	Alfa 2,6 Sialidasa		Ácido siálico
<b>Uterino</b>	GalNAc	Hexosaminidasa		GalNAc
<b>Uterino</b>	GalNAc	Sialidasa	Hexosaminidasa	GalNAc
<b>Uterino</b>	Ácido siálico	Hexosaminidasa	Sialidasa	Ácido siálico

<b>Usos oncológicos ejemplares</b>				
<b>Tipo de cáncer</b>	<b>Estructura del extremo no reductor</b>	<b>Enzima de liberación primaria</b>	<b>Enzima de liberación secundaria</b>	<b>Compuesto residual de glicano</b>
<b>Uterino</b>	Galactosa	Galactosidasa		Galactosa
<b>Uterino</b>	Galactosa	Sialidasa	Galactosidasa	Galactosa
<b>Uterino</b>	Fucosa	Fucosidasa		Fucosa
<b>Uterino</b>	Galactosa	Galactosidasa		Galactosa
<b>Uterino</b>	GlcNAc	Hexosaminidasa		GlcNAc
<b>Uterino</b>	Sulfato	Sulfatasa		Sulfato
<b>Uterino</b>	Hexosa sulfatada	Sulfatasa	Hexosaminidasa	GlcNAc o GalNAc
<b>Uterino</b>	Ácido urónico sulfatado	Sulfatasa	Iduronidasa o glucuronidasa	IdoA o GlcA
<b>Tiroides</b>	Ácido siálico	Sialidasa		Ácido siálico
<b>Tiroides</b>	Ácido siálico	Alfa 2,8 Sialidasa		Ácido siálico
<b>Tiroides</b>	Ácido siálico	Alfa 2,3 Sialidasa		Ácido siálico
<b>Tiroides</b>	Ácido siálico	Alfa 2,6 Sialidasa		Ácido siálico
<b>Tiroides</b>	GalNAc	Hexosaminidasa		GalNAc
<b>Tiroides</b>	GalNAc	Sialidasa	Hexosaminidasa	GalNAc
<b>Tiroides</b>	Ácido siálico	Hexosaminidasa	Sialidasa	Ácido siálico
<b>Tiroides</b>	Galactosa	Galactosidasa		Galactosa
<b>Tiroides</b>	Galactosa	Sialidasa	Galactosidasa	Galactosa
<b>Tiroides</b>	Fucosa	Fucosidasa		Fucosa
<b>Tiroides</b>	Galactosa	Galactosidasa		Galactosa
<b>Tiroides</b>	GlcNAc	Hexosaminidasa		GlcNAc
<b>Tiroides</b>	Sulfato	Sulfatasa		Sulfato
<b>Tiroides</b>	Hexosa sulfatada	Sulfatasa	Hexosaminidasa	GlcNAc o GalNAc
<b>Tiroides</b>	Ácido urónico sulfatado	Sulfatasa	Iduronidasa o glucuronidasa	IdoA o GlcA
<b>Hígado</b>	Ácido siálico	Sialidasa		Ácido siálico
<b>Hígado</b>	Ácido siálico	Alfa 2,8 Sialidasa		Ácido siálico
<b>Hígado</b>	Ácido siálico	Alfa 2,3 Sialidasa		Ácido siálico

<b>Usos oncológicos ejemplares</b>				
<b>Tipo de cáncer</b>	<b>Estructura del extremo no reductor</b>	<b>Enzima de liberación primaria</b>	<b>Enzima de liberación secundaria</b>	<b>Compuesto residual de glicano</b>
<b>Hígado</b>	Ácido siálico	Alfa 2,6 Sialidasa		Ácido siálico
<b>Hígado</b>	GalNAc	Hexosaminidasa		GalNAc
<b>Hígado</b>	GalNAc	Sialidasa	Hexosaminidasa	GalNAc
<b>Hígado</b>	Ácido siálico	Hexosaminidasa	Sialidasa	Ácido siálico
<b>Hígado</b>	Galactosa	Galactosidasa		Galactosa
<b>Hígado</b>	Galactosa	Sialidasa	Galactosidasa	Galactosa
<b>Hígado</b>	Fucosa	Fucosidasa		Fucosa
<b>Hígado</b>	Galactosa	Galactosidasa		Galactosa
<b>Hígado</b>	GlcNAc	Hexosaminidasa		GlcNAc
<b>Hígado</b>	Sulfato	Sulfatasa		Sulfato
<b>Hígado</b>	Hexosa sulfatada	Sulfatasa	Hexosaminidasa	GlcNAc o GalNAc
<b>Hígado</b>	Ácido urónico sulfatado	Sulfatasa	Iduronidasa o glucuronidasa	IdoA o GlcA
<b>Esófago</b>	Ácido siálico	Sialidasa		Ácido siálico
<b>Esófago</b>	Ácido siálico	Alfa 2,8 Sialidasa		Ácido siálico
<b>Esófago</b>	Ácido siálico	Alfa 2,3 Sialidasa		Ácido siálico
<b>Esófago</b>	Ácido siálico	Alfa 2,6 Sialidasa		Ácido siálico
<b>Esófago</b>	GalNAc	Hexosaminidasa		GalNAc
<b>Esófago</b>	GalNAc	Sialidasa	Hexosaminidasa	GalNAc
<b>Esófago</b>	Ácido siálico	Hexosaminidasa	Sialidasa	Ácido siálico
<b>Esófago</b>	Galactosa	Galactosidasa		Galactosa
<b>Esófago</b>	Galactosa	Sialidasa	Galactosidasa	Galactosa
<b>Esófago</b>	Fucosa	Fucosidasa		Fucosa
<b>Esófago</b>	Galactosa	Galactosidasa		Galactosa
<b>Esófago</b>	GlcNAc	Hexosaminidasa		GlcNAc
<b>Esófago</b>	Sulfato	Sulfatasa		Sulfato
<b>Esófago</b>	Hexosa sulfatada	Sulfatasa	Hexosaminidasa	GlcNAc o GalNAc
<b>Esófago</b>	Ácido urónico	Sulfatasa	Iduronidasa o	IdoA o GlcA

<b>Usos oncológicos ejemplares</b>				
<b>Tipo de cáncer</b>	<b>Estructura del extremo no reductor</b>	<b>Enzima de liberación primaria</b>	<b>Enzima de liberación secundaria</b>	<b>Compuesto residual de glicano</b>
	sulfatado		glucuronidasa	
<b>Cerebro</b>	Ácido siálico	Sialidasa		Ácido siálico
<b>Cerebro</b>	Ácido siálico	Alfa 2,8 Sialidasa		Ácido siálico
<b>Cerebro</b>	Ácido siálico	Alfa 2,3 Sialidasa		Ácido siálico
<b>Cerebro</b>	Ácido siálico	Alfa 2,6 Sialidasa		Ácido siálico
<b>Cerebro</b>	GalNAc	Hexosaminidasa		GalNAc
<b>Cerebro</b>	GalNAc	Sialidasa	Hexosaminidasa	GalNAc
<b>Cerebro</b>	Ácido siálico	Hexosaminidasa	Sialidasa	Ácido siálico
<b>Cerebro</b>	Galactosa	Galactosidasa		Galactosa
<b>Cerebro</b>	Galactosa	Sialidasa	Galactosidasa	Galactosa
<b>Cerebro</b>	Fucosa	Fucosidasa		Fucosa
<b>Cerebro</b>	Galactosa	Galactosidasa		Galactosa
<b>Cerebro</b>	GlcNAc	Hexosaminidasa		GlcNAc
<b>Cerebro</b>	Sulfato	Sulfatasa		Sulfato
<b>Cerebro</b>	Hexosa sulfatada	Sulfatasa	Hexosaminidasa	GlcNAc o GalNAc
<b>Cerebro</b>	Ácido urónico sulfatado	Sulfatasa	Iduronidasa o glucuronidasa	IdoA o GlcA
<b>Linfomas</b>	Ácido siálico	Sialidasa		Ácido siálico
<b>Linfomas</b>	Ácido siálico	Alfa 2,8 Sialidasa		Ácido siálico
<b>Linfomas</b>	Ácido siálico	Alfa 2,3 Sialidasa		Ácido siálico
<b>Linfomas</b>	Ácido siálico	Alfa 2,6 Sialidasa		Ácido siálico
<b>Linfomas</b>	GalNAc	Hexosaminidasa		GalNAc
<b>Linfomas</b>	GalNAc	Sialidasa	Hexosaminidasa	GalNAc
<b>Linfomas</b>	Ácido siálico	Hexosaminidasa	Sialidasa	Ácido siálico
<b>Linfomas</b>	Galactosa	Galactosidasa		Galactosa
<b>Linfomas</b>	Galactosa	Sialidasa	Galactosidasa	Galactosa
<b>Linfomas</b>	Fucosa	Fucosidasa		Fucosa
<b>Linfomas</b>	Galactosa	Galactosidasa		Galactosa

<b>Usos oncológicos ejemplares</b>				
<b>Tipo de cáncer</b>	<b>Estructura del extremo no reductor</b>	<b>Enzima de liberación primaria</b>	<b>Enzima de liberación secundaria</b>	<b>Compuesto residual de glicano</b>
<b>Linfomas</b>	GlcNAc	Hexosaminidasa		GlcNAc
<b>Linfomas</b>	Sulfato	Sulfatasa		Sulfato
<b>Linfomas</b>	Hexosa sulfatada	Sulfatasa	Hexosaminidasa	GlcNAc o GalNAc
<b>Linfomas</b>	Ácido urónico sulfatado	Sulfatasa	Iduronidasa o glucuronidasa	IdoA o GlcA
<b>Leucemias</b>	Ácido siálico	Sialidasa		Ácido siálico
<b>Leucemias</b>	Ácido siálico	Alfa 2,8 Sialidasa		Ácido siálico
<b>Leucemias</b>	Ácido siálico	Alfa 2,3 Sialidasa		Ácido siálico
<b>Leucemias</b>	Ácido siálico	Alfa 2,6 Sialidasa		Ácido siálico
<b>Leucemias</b>	GalNAc	Hexosaminidasa		GalNAc
<b>Leucemias</b>	GalNAc	Sialidasa	Hexosaminidasa	GalNAc
<b>Leucemias</b>	Ácido siálico	Hexosaminidasa	Sialidasa	Ácido siálico
<b>Leucemias</b>	Galactosa	Galactosidasa		Galactosa
<b>Leucemias</b>	Galactosa	Sialidasa	Galactosidasa	Galactosa
<b>Leucemias</b>	Fucosa	Fucosidasa		Fucosa
<b>Leucemias</b>	Galactosa	Galactosidasa		Galactosa
<b>Leucemias</b>	GlcNAc	Hexosaminidasa		GlcNAc
<b>Leucemias</b>	Sulfato	Sulfatasa		Sulfato
<b>Leucemias</b>	Hexosa sulfatada	Sulfatasa	Hexosaminidasa	GlcNAc o GalNAc
<b>Leucemias</b>	Ácido urónico sulfatado	Sulfatasa	Iduronidasa o glucuronidasa	IdoA o GlcA

5 En el presente documento se proporcionan métodos de diagnóstico de individuos (incluyendo, por ejemplo, un estado de enfermedad o la gravedad de un estado de enfermedad) con un estado de enfermedad asociado con la acumulación anormal de glicano. En la Tabla 14 se proporcionan realizaciones específicas de enfermedades que están opcionalmente diagnosticadas y/o controladas de acuerdo con diversas realizaciones descritas en esta memoria. La Tabla 14 también ilustra diversas realizaciones no limitantes de enzima(s) específica(s) que se emplea(n) opcionalmente para tratar una muestra biológica de un individuo que padece o se sospecha (por ejemplo, a través de un procedimiento de selección previa o preliminar) que padece diversos estados de enfermedad asociados con una acumulación anormal de glicanos. Por otra parte, la Tabla 14 ilustra adicionalmente diversos compuestos residuales de glicano que se liberan en diversas realizaciones descritas en el presente documento, tales como 10 compuestos residuales de glicano liberados se detectan opcionalmente y/o se miden con el fin de diagnosticar y/o realizar un seguimiento de diversos estados de enfermedad.

Tabla 14:

Enfermedad	Estructura del extremo no reductor	Enzima de liberación primaria	Enzima de liberación secundaria	Compuesto residual de glicano
<b>Alzheimer</b>	Ácido siálico	Sialidasa		Ácido siálico
<b>Alzheimer</b>	Ácido siálico	Alfa 2,8 Sialidasa		Ácido siálico
<b>Alzheimer</b>	Ácido siálico	Alfa 2,3 Sialidasa		Ácido siálico
<b>Alzheimer</b>	Ácido siálico	Alfa 2,6 Sialidasa		Ácido siálico
<b>Alzheimer</b>	GalNAc	Hexosaminidasa		GalNAc
<b>Alzheimer</b>	GalNAc	Sialidasa	Hexosaminidasa	GalNAc
<b>Alzheimer</b>	Ácido siálico	Hexosaminidasa	Sialidasa	Ácido siálico
<b>Alzheimer</b>	Galactosa	Galactosidasa		Galactosa
<b>Alzheimer</b>	Galactosa	Sialidasa	Galactosidasa	Galactosa
<b>Alzheimer</b>	Fucosa	Fucosidasa		Fucosa
<b>Alzheimer</b>	Galactosa	Galactosidasa		Galactosa
<b>Alzheimer</b>	GlcNAc	Hexosaminidasa		GlcNAc
<b>Alzheimer</b>	Sulfato	Sulfatasa		Sulfato
<b>Alzheimer</b>	Hexosa sulfatada	Sulfatasa	Hexosaminidasa	GlcNAc o GalNAc
<b>Alzheimer</b>	Ácido urónico sulfatado	Sulfatasa	Iduronidasa o glucuronidasa	IdoA o GlcA
<b>Esclerosis lateral amiotrófica</b>	Ácido siálico	Sialidasa		Ácido siálico
<b>Esclerosis lateral amiotrófica</b>	Ácido siálico	Alfa 2,8 Sialidasa		Ácido siálico
<b>Esclerosis lateral amiotrófica</b>	Ácido siálico	Alfa 2,3 Sialidasa		Ácido siálico
<b>Esclerosis lateral amiotrófica</b>	Ácido siálico	Alfa 2,6 Sialidasa		Ácido siálico
<b>Esclerosis lateral amiotrófica</b>	GalNAc	Hexosaminidasa		GalNAc
<b>Esclerosis lateral amiotrófica</b>	GalNAc	Sialidasa	Hexosaminidasa	GalNAc
<b>Esclerosis lateral amiotrófica</b>	Ácido siálico	Hexosaminidasa	Sialidasa	Ácido siálico
<b>Esclerosis lateral amiotrófica</b>	Galactosa	Galactosidasa		Galactosa
<b>Esclerosis lateral</b>	Galactosa	Sialidasa	Galactosidasa	Galactosa

ES 2 704 104 T3

<b>Enfermedad</b>	<b>Estructura del extremo no reductor</b>	<b>Enzima de liberación primaria</b>	<b>Enzima de liberación secundaria</b>	<b>Compuesto residual de glicano</b>
<b>amiotrófica</b>				
<b>Esclerosis lateral amiotrófica</b>	Fucosa	Fucosidasa		Fucosa
<b>Esclerosis lateral amiotrófica</b>	Galactosa	Galactosidasa		Galactosa
<b>Esclerosis lateral amiotrófica</b>	GlcNAc	Hexosaminidasa		GlcNAc
<b>Esclerosis lateral amiotrófica</b>	Sulfato	Sulfatasa		Sulfato
<b>Esclerosis lateral amiotrófica</b>	Hexosa sulfatada	Sulfatasa	Hexosaminidasa	GlcNAc o GalNAc
<b>Esclerosis lateral amiotrófica</b>	Ácido urónico sulfatado	Sulfatasa	Iduronidasa o glucuronidasa	IdoA o GlcA
<b>Parálisis cerebral</b>	Ácido siálico	Sialidasa		Ácido siálico
<b>Parálisis cerebral</b>	Ácido siálico	Alfa 2,8 Sialidasa		Ácido siálico
<b>Parálisis cerebral</b>	Ácido siálico	Alfa 2,3 Sialidasa		Ácido siálico
<b>Parálisis cerebral</b>	Ácido siálico	Alfa 2,6 Sialidasa		Ácido siálico
<b>Parálisis cerebral</b>	GalNAc	Hexosaminidasa		GalNAc
<b>Parálisis cerebral</b>	GalNAc	Sialidasa	Hexosaminidasa	GalNAc
<b>Parálisis cerebral</b>	Ácido siálico	Hexosaminidasa	Sialidasa	Ácido siálico
<b>Parálisis cerebral</b>	Galactosa	Galactosidasa		Galactosa
<b>Parálisis cerebral</b>	Galactosa	Sialidasa	Galactosidasa	Galactosa
<b>Parálisis cerebral</b>	Fucosa	Fucosidasa		Fucosa
<b>Parálisis cerebral</b>	Galactosa	Galactosidasa		Galactosa
<b>Parálisis cerebral</b>	GlcNAc	Hexosaminidasa		GlcNAc
<b>Parálisis cerebral</b>	Sulfato	Sulfatasa		Sulfato
<b>Parálisis cerebral</b>	Hexosa sulfatada	Sulfatasa	Hexosaminidasa	GlcNAc o GalNAc
<b>Parálisis cerebral</b>	Ácido urónico sulfatado	Sulfatasa	Iduronidasa o glucuronidasa	IdoA o GlcA
<b>Esquizofrenia</b>	Ácido siálico	Sialidasa		Ácido siálico
<b>Esquizofrenia</b>	Ácido siálico	Alfa 2,8 Sialidasa		Ácido siálico

ES 2 704 104 T3

<b>Enfermedad</b>	<b>Estructura del extremo no reductor</b>	<b>Enzima de liberación primaria</b>	<b>Enzima de liberación secundaria</b>	<b>Compuesto residual de glicano</b>
<b>Esquizofrenia</b>	Ácido siálico	Alfa 2,3 Sialidasa		Ácido siálico
<b>Esquizofrenia</b>	Ácido siálico	Alfa 2,6 Sialidasa		Ácido siálico
<b>Esquizofrenia</b>	GalNAc	Hexosaminidasa		GalNAc
<b>Esquizofrenia</b>	GalNAc	Sialidasa	Hexosaminidasa	GalNAc
<b>Esquizofrenia</b>	Ácido siálico	Hexosaminidasa	Sialidasa	Ácido siálico
<b>Esquizofrenia</b>	Galactosa	Galactosidasa		Galactosa
<b>Esquizofrenia</b>	Galactosa	Sialidasa	Galactosidasa	Galactosa
<b>Esquizofrenia</b>	Fucosa	Fucosidasa		Fucosa
<b>Esquizofrenia</b>	Galactosa	Galactosidasa		Galactosa
<b>Esquizofrenia</b>	GlcNAc	Hexosaminidasa		GlcNAc
<b>Esquizofrenia</b>	Sulfato	Sulfatasa		Sulfato
<b>Esquizofrenia</b>	Hexosa sulfatada	Sulfatasa	Hexosaminidasa	GlcNAc o GalNAc
<b>Esquizofrenia</b>	Ácido urónico sulfatado	Sulfatasa	Iduronidasa o glucuronidasa	IdoA o GlcA
<b>Trastorno bipolar</b>	Ácido siálico	Sialidasa		Ácido siálico
<b>Trastorno bipolar</b>	Ácido siálico	Alfa 2,8 Sialidasa		Ácido siálico
<b>Trastorno bipolar</b>	Ácido siálico	Alfa 2,3 Sialidasa		Ácido siálico
<b>Trastorno bipolar</b>	Ácido siálico	Alfa 2,6 Sialidasa		Ácido siálico
<b>Trastorno bipolar</b>	GalNAc	Hexosaminidasa		GalNAc
<b>Trastorno bipolar</b>	GalNAc	Sialidasa	Hexosaminidasa	GalNAc
<b>Trastorno bipolar</b>	Ácido siálico	Hexosaminidasa	Sialidasa	Ácido siálico
<b>Trastorno bipolar</b>	Galactosa	Galactosidasa		Galactosa
<b>Trastorno bipolar</b>	Galactosa	Sialidasa	Galactosidasa	Galactosa
<b>Trastorno bipolar</b>	Fucosa	Fucosidasa		Fucosa
<b>Trastorno bipolar</b>	Galactosa	Galactosidasa		Galactosa
<b>Trastorno bipolar</b>	GlcNAc	Hexosaminidasa		GlcNAc
<b>Trastorno bipolar</b>	Sulfato	Sulfatasa		Sulfato
<b>Trastorno bipolar</b>	Hexosa sulfatada	Sulfatasa	Hexosaminidasa	GlcNAc o GalNAc

ES 2 704 104 T3

<b>Enfermedad</b>	<b>Estructura del extremo no reductor</b>	<b>Enzima de liberación primaria</b>	<b>Enzima de liberación secundaria</b>	<b>Compuesto residual de glicano</b>
<b>Trastorno bipolar</b>	Ácido urónico sulfatado	Sulfatasa	Iduronidasa o glucuronidasa	IdoA o GlcA
<b>Depresión</b>	Ácido siálico	Sialidasa		Ácido siálico
<b>Depresión</b>	Ácido siálico	Alfa 2,8 Sialidasa		Ácido siálico
<b>Depresión</b>	Ácido siálico	Alfa 2,3 Sialidasa		Ácido siálico
<b>Depresión</b>	Ácido siálico	Alfa 2,6 Sialidasa		Ácido siálico
<b>Depresión</b>	GalNAc	Hexosaminidasa		GalNAc
<b>Depresión</b>	GalNAc	Sialidasa	Hexosaminidasa	GalNAc
<b>Depresión</b>	Ácido siálico	Hexosaminidasa	Sialidasa	Ácido siálico
<b>Depresión</b>	Galactosa	Galactosidasa		Galactosa
<b>Depresión</b>	Galactosa	Sialidasa	Galactosidasa	Galactosa
<b>Depresión</b>	Fucosa	Fucosidasa		Fucosa
<b>Depresión</b>	Galactosa	Galactosidasa		Galactosa
<b>Depresión</b>	GlcNAc	Hexosaminidasa		GlcNAc
<b>Depresión</b>	Sulfato	Sulfatasa		Sulfato
<b>Depresión</b>	Hexosa sulfatada	Sulfatasa	Hexosaminidasa	GlcNAc o GalNAc
<b>Depresión</b>	Ácido urónico sulfatado	Sulfatasa	Iduronidasa o glucuronidasa	IdoA o GlcA
<b>Epilepsia</b>	Ácido siálico	Sialidasa		Ácido siálico
<b>Epilepsia</b>	Ácido siálico	Alfa 2,8 Sialidasa		Ácido siálico
<b>Epilepsia</b>	Ácido siálico	Alfa 2,3 Sialidasa		Ácido siálico
<b>Epilepsia</b>	Ácido siálico	Alfa 2,6 Sialidasa		Ácido siálico
<b>Epilepsia</b>	GalNAc	Hexosaminidasa		GalNAc
<b>Epilepsia</b>	GalNAc	Sialidasa	Hexosaminidasa	GalNAc
<b>Epilepsia</b>	Ácido siálico	Hexosaminidasa	Sialidasa	Ácido siálico
<b>Epilepsia</b>	Galactosa	Galactosidasa		Galactosa
<b>Epilepsia</b>	Galactosa	Sialidasa	Galactosidasa	Galactosa
<b>Epilepsia</b>	Fucosa	Fucosidasa		Fucosa
<b>Epilepsia</b>	Galactosa	Galactosidasa		Galactosa

ES 2 704 104 T3

<b>Enfermedad</b>	<b>Estructura del extremo no reductor</b>	<b>Enzima de liberación primaria</b>	<b>Enzima de liberación secundaria</b>	<b>Compuesto residual de glicano</b>
<b>Epilepsia</b>	GlcNAc	Hexosaminidasa		GlcNAc
<b>Epilepsia</b>	Sulfato	Sulfatasa		Sulfato
<b>Epilepsia</b>	Hexosa sulfatada	Sulfatasa	Hexosaminidasa	GlcNAc o GalNAc
<b>Epilepsia</b>	Ácido urónico sulfatado	Sulfatasa	Iduronidasa o glucuronidasa	IdoA o GlcA
<b>Migraña</b>	Ácido siálico	Sialidasa		Ácido siálico
<b>Migraña</b>	Ácido siálico	Alfa 2,8 Sialidasa		Ácido siálico
<b>Migraña</b>	Ácido siálico	Alfa 2,3 Sialidasa		Ácido siálico
<b>Migraña</b>	Ácido siálico	Alfa 2,6 Sialidasa		Ácido siálico
<b>Migraña</b>	GalNAc	Hexosaminidasa		GalNAc
<b>Migraña</b>	GalNAc	Sialidasa	Hexosaminidasa	GalNAc
<b>Migraña</b>	Ácido siálico	Hexosaminidasa	Sialidasa	Ácido siálico
<b>Migraña</b>	Galactosa	Galactosidasa		Galactosa
<b>Migraña</b>	Galactosa	Sialidasa	Galactosidasa	Galactosa
<b>Migraña</b>	Fucosa	Fucosidasa		Fucosa
<b>Migraña</b>	Galactosa	Galactosidasa		Galactosa
<b>Migraña</b>	GlcNAc	Hexosaminidasa		GlcNAc
<b>Migraña</b>	Sulfato	Sulfatasa		Sulfato
<b>Migraña</b>	Hexosa sulfatada	Sulfatasa	Hexosaminidasa	GlcNAc o GalNAc
<b>Migraña</b>	Ácido urónico sulfatado	Sulfatasa	Iduronidasa o glucuronidasa	IdoA o GlcA
<b>Esclerosis múltiple</b>	Ácido siálico	Sialidasa		Ácido siálico
<b>Esclerosis múltiple</b>	Ácido siálico	Alfa 2,8 Sialidasa		Ácido siálico
<b>Esclerosis múltiple</b>	Ácido siálico	Alfa 2,3 Sialidasa		Ácido siálico
<b>Esclerosis múltiple</b>	Ácido siálico	Alfa 2,6 Sialidasa		Ácido siálico
<b>Esclerosis múltiple</b>	GalNAc	Hexosaminidasa		GalNAc
<b>Esclerosis múltiple</b>	GalNAc	Sialidasa	Hexosaminidasa	GalNAc
<b>Esclerosis múltiple</b>	Ácido siálico	Hexosaminidasa	Sialidasa	Ácido siálico
<b>Esclerosis múltiple</b>	Galactosa	Galactosidasa		Galactosa

Enfermedad	Estructura del extremo no reductor	Enzima de liberación primaria	Enzima de liberación secundaria	Compuesto residual de glicano
<b>Esclerosis múltiple</b>	Galactosa	Sialidasa	Galactosidasa	Galactosa
<b>Esclerosis múltiple</b>	Fucosa	Fucosidasa		Fucosa
<b>Esclerosis múltiple</b>	Galactosa	Galactosidasa		Galactosa
<b>Esclerosis múltiple</b>	GlcNAc	Hexosaminidasa		GlcNAc
<b>Esclerosis múltiple</b>	Sulfato	Sulfatasa		Sulfato
<b>Esclerosis múltiple</b>	Hexosa sulfatada	Sulfatasa	Hexosaminidasa	GlcNAc o GalNAc
<b>Esclerosis múltiple</b>	Ácido urónico sulfatado	Sulfatasa	Iduronidasa o glucuronidasa	IdoA o GlcA
<b>Parkinson</b>	Ácido siálico	Sialidasa		Ácido siálico
<b>Parkinson</b>	Ácido siálico	Alfa 2,8 Sialidasa		Ácido siálico
<b>Parkinson</b>	Ácido siálico	Alfa 2,3 Sialidasa		Ácido siálico
<b>Parkinson</b>	Ácido siálico	Alfa 2,6 Sialidasa		Ácido siálico
<b>Parkinson</b>	GalNAc	Hexosaminidasa		GalNAc
<b>Parkinson</b>	GalNAc	Sialidasa	Hexosaminidasa	GalNAc
<b>Parkinson</b>	Ácido siálico	Hexosaminidasa	Sialidasa	Ácido siálico
<b>Parkinson</b>	Galactosa	Galactosidasa		Galactosa
<b>Parkinson</b>	Galactosa	Sialidasa	Galactosidasa	Galactosa
<b>Parkinson</b>	Fucosa	Fucosidasa		Fucosa
<b>Parkinson</b>	Galactosa	Galactosidasa		Galactosa
<b>Parkinson</b>	GlcNAc	Hexosaminidasa		GlcNAc
<b>Parkinson</b>	Sulfato	Sulfatasa		Sulfato
<b>Parkinson</b>	Hexosa sulfatada	Sulfatasa	Hexosaminidasa	GlcNAc o GalNAc
<b>Parkinson</b>	Ácido urónico sulfatado	Sulfatasa	Iduronidasa o glucuronidasa	IdoA o GlcA
<b>Artritis reumatoide</b>	Ácido siálico	Sialidasa		Ácido siálico
<b>Artritis reumatoide</b>	Ácido siálico	Alfa 2,8 Sialidasa		Ácido siálico
<b>Artritis reumatoide</b>	Ácido siálico	Alfa 2,3 Sialidasa		Ácido siálico
<b>Artritis reumatoide</b>	Ácido siálico	Alfa 2,6 Sialidasa		Ácido siálico
<b>Artritis reumatoide</b>	GalNAc	Hexosaminidasa		GalNAc

ES 2 704 104 T3

Enfermedad	Estructura del extremo no reductor	Enzima de liberación primaria	Enzima de liberación secundaria	Compuesto residual de glicano
Artritis reumatoide	GalNAc	Sialidasa	Hexosaminidasa	GalNAc
Artritis reumatoide	Ácido siálico	Hexosaminidasa	Sialidasa	Ácido siálico
Artritis reumatoide	Galactosa	Galactosidasa		Galactosa
Artritis reumatoide	Galactosa	Sialidasa	Galactosidasa	Galactosa
Artritis reumatoide	Fucosa	Fucosidasa		Fucosa
Artritis reumatoide	Galactosa	Galactosidasa		Galactosa
Artritis reumatoide	GlcNAc	Hexosaminidasa		GlcNAc
Artritis reumatoide	Sulfato	Sulfatasa		Sulfato
Artritis reumatoide	Hexosa sulfatada	Sulfatasa	Hexosaminidasa	GlcNAc o GalNAc
Artritis reumatoide	Ácido urónico sulfatado	Sulfatasa	Iduronidasa o glucuronidasa	IdoA o GlcA
Artritis psoriásica	Ácido siálico	Sialidasa		Ácido siálico
Artritis psoriásica	Ácido siálico	Alfa 2,8 Sialidasa		Ácido siálico
Artritis psoriásica	Ácido siálico	Alfa 2,3 Sialidasa		Ácido siálico
Artritis psoriásica	Ácido siálico	Alfa 2,6 Sialidasa		Ácido siálico
Artritis psoriásica	GalNAc	Hexosaminidasa		GalNAc
Artritis psoriásica	GalNAc	Sialidasa	Hexosaminidasa	GalNAc
Artritis psoriásica	Ácido siálico	Hexosaminidasa	Sialidasa	Ácido siálico
Artritis psoriásica	Galactosa	Galactosidasa		Galactosa
Artritis psoriásica	Galactosa	Sialidasa	Galactosidasa	Galactosa
Artritis psoriásica	Fucosa	Fucosidasa		Fucosa
Artritis psoriásica	Galactosa	Galactosidasa		Galactosa
Artritis psoriásica	GlcNAc	Hexosaminidasa		GlcNAc
Artritis psoriásica	Sulfato	Sulfatasa		Sulfato
Artritis psoriásica	Hexosa sulfatada	Sulfatasa	Hexosaminidasa	GlcNAc o GalNAc
Artritis psoriásica	Ácido urónico sulfatado	Sulfatasa	Iduronidasa o glucuronidasa	IdoA o GlcA
Asma	Ácido siálico	Sialidasa		Ácido siálico
Asma	Ácido siálico	Alfa 2,8 Sialidasa		Ácido siálico

ES 2 704 104 T3

<b>Enfermedad</b>	<b>Estructura del extremo no reductor</b>	<b>Enzima de liberación primaria</b>	<b>Enzima de liberación secundaria</b>	<b>Compuesto residual de glicano</b>
<b>Asma</b>	Ácido siálico	Alfa 2,3 Sialidasa		Ácido siálico
<b>Asma</b>	Ácido siálico	Alfa 2,6 Sialidasa		Ácido siálico
<b>Asma</b>	GalNAc	Hexosaminidasa		GalNAc
<b>Asma</b>	GalNAc	Sialidasa	Hexosaminidasa	GalNAc
<b>Asma</b>	Ácido siálico	Hexosaminidasa	Sialidasa	Ácido siálico
<b>Asma</b>	Galactosa	Galactosidasa		Galactosa
<b>Asma</b>	Galactosa	Sialidasa	Galactosidasa	Galactosa
<b>Asma</b>	Fucosa	Fucosidasa		Fucosa
<b>Asma</b>	Galactosa	Galactosidasa		Galactosa
<b>Asma</b>	GlcNAc	Hexosaminidasa		GlcNAc
<b>Asma</b>	Sulfato	Sulfatasa		Sulfato
<b>Asma</b>	Hexosa sulfatada	Sulfatasa	Hexosaminidasa	GlcNAc o GalNAc
<b>Asma</b>	Ácido urónico sulfatado	Sulfatasa	Iduronidasa o glucuronidasa	IdoA o GlcA
<b>Enfermedad pulmonar obstructiva crónica</b>	Ácido siálico	Sialidasa		Ácido siálico
<b>Enfermedad pulmonar obstructiva crónica</b>	Ácido siálico	Alfa 2,8 Sialidasa		Ácido siálico
<b>Enfermedad pulmonar obstructiva crónica</b>	Ácido siálico	Alfa 2,3 Sialidasa		Ácido siálico
<b>Enfermedad pulmonar obstructiva crónica</b>	Ácido siálico	Alfa 2,6 Sialidasa		Ácido siálico
<b>Enfermedad pulmonar obstructiva crónica</b>	GalNAc	Hexosaminidasa		GalNAc
<b>Enfermedad pulmonar obstructiva crónica</b>	GalNAc	Sialidasa	Hexosaminidasa	GalNAc
<b>Enfermedad pulmonar obstructiva crónica</b>	Ácido siálico	Hexosaminidasa	Sialidasa	Ácido siálico
<b>Enfermedad pulmonar obstructiva crónica</b>	Galactosa	Galactosidasa		Galactosa
<b>Enfermedad pulmonar obstructiva crónica</b>	Galactosa	Sialidasa	Galactosidasa	Galactosa
<b>Enfermedad pulmonar obstructiva crónica</b>	Fucosa	Fucosidasa		Fucosa

ES 2 704 104 T3

Enfermedad	Estructura del extremo no reductor	Enzima de liberación primaria	Enzima de liberación secundaria	Compuesto residual de glicano
Enfermedad pulmonar obstructiva crónica	Galactosa	Galactosidasa		Galactosa
Enfermedad pulmonar obstructiva crónica	GlcNAc	Hexosaminidasa		GlcNAc
Enfermedad pulmonar obstructiva crónica	Sulfato	Sulfatasa		Sulfato
Enfermedad pulmonar obstructiva crónica	Hexosa sulfatada	Sulfatasa	Hexosaminidasa	GlcNAc o GalNAc
Enfermedad pulmonar obstructiva crónica	Ácido urónico sulfatado	Sulfatasa	Iduronidasa o glucuronidasa	IdoA o GlcA
<b>Lupus</b>	Ácido siálico	Sialidasa		Ácido siálico
<b>Lupus</b>	Ácido siálico	Alfa 2,8 Sialidasa		Ácido siálico
<b>Lupus</b>	Ácido siálico	Alfa 2,3 Sialidasa		Ácido siálico
<b>Lupus</b>	Ácido siálico	Alfa 2,6 Sialidasa		Ácido siálico
<b>Lupus</b>	GalNAc	Hexosaminidasa		GalNAc
<b>Lupus</b>	GalNAc	Sialidasa	Hexosaminidasa	GalNAc
<b>Lupus</b>	Ácido siálico	Hexosaminidasa	Sialidasa	Ácido siálico
<b>Lupus</b>	Galactosa	Galactosidasa		Galactosa
<b>Lupus</b>	Galactosa	Sialidasa	Galactosidasa	Galactosa
<b>Lupus</b>	Fucosa	Fucosidasa		Fucosa
<b>Lupus</b>	Galactosa	Galactosidasa		Galactosa
<b>Lupus</b>	GlcNAc	Hexosaminidasa		GlcNAc
<b>Lupus</b>	Sulfato	Sulfatasa		Sulfato
<b>Lupus</b>	Hexosa sulfatada	Sulfatasa	Hexosaminidasa	GlcNAc o GalNAc
<b>Lupus</b>	Ácido urónico sulfatado	Sulfatasa	Iduronidasa o glucuronidasa	IdoA o GlcA
<b>Hepatitis</b>	Ácido siálico	Sialidasa		Ácido siálico
<b>Hepatitis</b>	Ácido siálico	Alfa 2,8 Sialidasa		Ácido siálico
<b>Hepatitis</b>	Ácido siálico	Alfa 2,3 Sialidasa		Ácido siálico
<b>Hepatitis</b>	Ácido siálico	Alfa 2,6 Sialidasa		Ácido siálico
<b>Hepatitis</b>	GalNAc	Hexosaminidasa		GalNAc

<b>Enfermedad</b>	<b>Estructura del extremo no reductor</b>	<b>Enzima de liberación primaria</b>	<b>Enzima de liberación secundaria</b>	<b>Compuesto residual de glicano</b>
<b>Hepatitis</b>	GalNAc	Sialidasa	Hexosaminidasa	GalNAc
<b>Hepatitis</b>	Ácido siálico	Hexosaminidasa	Sialidasa	Ácido siálico
<b>Hepatitis</b>	Galactosa	Galactosidasa		Galactosa
<b>Hepatitis</b>	Galactosa	Sialidasa	Galactosidasa	Galactosa
<b>Hepatitis</b>	Fucosa	Fucosidasa		Fucosa
<b>Hepatitis</b>	Galactosa	Galactosidasa		Galactosa
<b>Hepatitis</b>	GlcNAc	Hexosaminidasa		GlcNAc
<b>Hepatitis</b>	Sulfato	Sulfatasa		Sulfato
<b>Hepatitis</b>	Hexosa sulfatada	Sulfatasa	Hexosaminidasa	GlcNAc o GalNAc
<b>Hepatitis</b>	Ácido urónico sulfatado	Sulfatasa	Iduronidasa o glucuronidasa	IdoA o GlcA
<b>Enfermedad renal</b>	Ácido siálico	Sialidasa		Ácido siálico
<b>Enfermedad renal</b>	Ácido siálico	Alfa 2,8 Sialidasa		Ácido siálico
<b>Enfermedad renal</b>	Ácido siálico	Alfa 2,3 Sialidasa		Ácido siálico
<b>Enfermedad renal</b>	Ácido siálico	Alfa 2,6 Sialidasa		Ácido siálico
<b>Enfermedad renal</b>	GalNAc	Hexosaminidasa		GalNAc
<b>Enfermedad renal</b>	GalNAc	Sialidasa	Hexosaminidasa	GalNAc
<b>Enfermedad renal</b>	Ácido siálico	Hexosaminidasa	Sialidasa	Ácido siálico
<b>Enfermedad renal</b>	Galactosa	Galactosidasa		Galactosa
<b>Enfermedad renal</b>	Galactosa	Sialidasa	Galactosidasa	Galactosa
<b>Enfermedad renal</b>	Fucosa	Fucosidasa		Fucosa
<b>Enfermedad renal</b>	Galactosa	Galactosidasa		Galactosa
<b>Enfermedad renal</b>	GlcNAc	Hexosaminidasa		GlcNAc
<b>Enfermedad renal</b>	Sulfato	Sulfatasa		Sulfato
<b>Enfermedad renal</b>	Hexosa sulfatada	Sulfatasa	Hexosaminidasa	GlcNAc o GalNAc
<b>Enfermedad renal</b>	Ácido urónico sulfatado	Sulfatasa	Iduronidasa o glucuronidasa	IdoA o GlcA
<b>Anemia de células falciformes</b>	Ácido siálico	Sialidasa		Ácido siálico

<b>Enfermedad</b>	<b>Estructura del extremo no reductor</b>	<b>Enzima de liberación primaria</b>	<b>Enzima de liberación secundaria</b>	<b>Compuesto residual de glicano</b>
<b>Anemia de células falciformes</b>	Ácido siálico	Alfa 2,8 Sialidasa		Ácido siálico
<b>Anemia de células falciformes</b>	Ácido siálico	Alfa 2,3 Sialidasa		Ácido siálico
<b>Anemia de células falciformes</b>	Ácido siálico	Alfa 2,6 Sialidasa		Ácido siálico
<b>Anemia de células falciformes</b>	GalNAc	Hexosaminidasa		GalNAc
<b>Anemia de células falciformes</b>	GalNAc	Sialidasa	Hexosaminidasa	GalNAc
<b>Anemia de células falciformes</b>	Ácido siálico	Hexosaminidasa	Sialidasa	Ácido siálico
<b>Anemia de células falciformes</b>	Galactosa	Galactosidasa		Galactosa
<b>Anemia de células falciformes</b>	Galactosa	Sialidasa	Galactosidasa	Galactosa
<b>Anemia de células falciformes</b>	Fucosa	Fucosidasa		Fucosa
<b>Anemia de células falciformes</b>	Galactosa	Galactosidasa		Galactosa
<b>Anemia de células falciformes</b>	GlcNAc	Hexosaminidasa		GlcNAc
<b>Anemia de células falciformes</b>	Sulfato	Sulfatasa		Sulfato
<b>Anemia de células falciformes</b>	Hexosa sulfatada	Sulfatasa	Hexosaminidasa	GlcNAc o GalNAc
<b>Anemia de células falciformes</b>	Ácido urónico sulfatado	Sulfatasa	Iduronidasa o glucuronidasa	IdoA o GlcA
<b>Fibromialgia</b>	Ácido siálico	Sialidasa		Ácido siálico
<b>Fibromialgia</b>	Ácido siálico	Alfa 2,8 Sialidasa		Ácido siálico
<b>Fibromialgia</b>	Ácido siálico	Alfa 2,3 Sialidasa		Ácido siálico
<b>Fibromialgia</b>	Ácido siálico	Alfa 2,6 Sialidasa		Ácido siálico
<b>Fibromialgia</b>	GalNAc	Hexosaminidasa		GalNAc
<b>Fibromialgia</b>	GalNAc	Sialidasa	Hexosaminidasa	GalNAc
<b>Fibromialgia</b>	Ácido siálico	Hexosaminidasa	Sialidasa	Ácido siálico

<b>Enfermedad</b>	<b>Estructura del extremo no reductor</b>	<b>Enzima de liberación primaria</b>	<b>Enzima de liberación secundaria</b>	<b>Compuesto residual de glicano</b>
<b>Fibromialgia</b>	Galactosa	Galactosidasa		Galactosa
<b>Fibromialgia</b>	Galactosa	Sialidasa	Galactosidasa	Galactosa
<b>Fibromialgia</b>	Fucosa	Fucosidasa		Fucosa
<b>Fibromialgia</b>	Galactosa	Galactosidasa		Galactosa
<b>Fibromialgia</b>	GlcNAc	Hexosaminidasa		GlcNAc
<b>Fibromialgia</b>	Sulfato	Sulfatasa		Sulfato
<b>Fibromialgia</b>	Hexosa sulfatada	Sulfatasa	Hexosaminidasa	GlcNAc o GalNAc
<b>Fibromialgia</b>	Ácido urónico sulfatado	Sulfatasa	Iduronidasa o glucuronidasa	IdoA o GlcA
<b>Síndrome del intestino irritable</b>	Ácido siálico	Sialidasa		Ácido siálico
<b>Síndrome del intestino irritable</b>	Ácido siálico	Alfa 2,8 Sialidasa		Ácido siálico
<b>Síndrome del intestino irritable</b>	Ácido siálico	Alfa 2,3 Sialidasa		Ácido siálico
<b>Síndrome del intestino irritable</b>	Ácido siálico	Alfa 2,6 Sialidasa		Ácido siálico
<b>Síndrome del intestino irritable</b>	GalNAc	Hexosaminidasa		GalNAc
<b>Síndrome del intestino irritable</b>	GalNAc	Sialidasa	Hexosaminidasa	GalNAc
<b>Síndrome del intestino irritable</b>	Ácido siálico	Hexosaminidasa	Sialidasa	Ácido siálico
<b>Síndrome del intestino irritable</b>	Galactosa	Galactosidasa		Galactosa
<b>Síndrome del intestino irritable</b>	Galactosa	Sialidasa	Galactosidasa	Galactosa
<b>Síndrome del intestino irritable</b>	Fucosa	Fucosidasa		Fucosa
<b>Síndrome del intestino irritable</b>	Galactosa	Galactosidasa		Galactosa
<b>Síndrome del intestino irritable</b>	GlcNAc	Hexosaminidasa		GlcNAc
<b>Síndrome del intestino irritable</b>	Sulfato	Sulfatasa		Sulfato

<b>Enfermedad</b>	<b>Estructura del extremo no reductor</b>	<b>Enzima de liberación primaria</b>	<b>Enzima de liberación secundaria</b>	<b>Compuesto residual de glicano</b>
<b>Síndrome del intestino irritable</b>	Hexosa sulfatada	Sulfatasa	Hexosaminidasa	GlcNAc o GalNAc
<b>Síndrome del intestino irritable</b>	Ácido urónico sulfatado	Sulfatasa	Iduronidasa o glucuronidasa	IdoA o GlcA
<b>Úlcera</b>	Ácido siálico	Sialidasa		Ácido siálico
<b>Úlcera</b>	Ácido siálico	Alfa 2,8 Sialidasa		Ácido siálico
<b>Úlcera</b>	Ácido siálico	Alfa 2,3 Sialidasa		Ácido siálico
<b>Úlcera</b>	Ácido siálico	Alfa 2,6 Sialidasa		Ácido siálico
<b>Úlcera</b>	GalNAc	Hexosaminidasa		GalNAc
<b>Úlcera</b>	GalNAc	Sialidasa	Hexosaminidasa	GalNAc
<b>Úlcera</b>	Ácido siálico	Hexosaminidasa	Sialidasa	Ácido siálico
<b>Úlcera</b>	Galactosa	Galactosidasa		Galactosa
<b>Úlcera</b>	Galactosa	Sialidasa	Galactosidasa	Galactosa
<b>Úlcera</b>	Fucosa	Fucosidasa		Fucosa
<b>Úlcera</b>	Galactosa	Galactosidasa		Galactosa
<b>Úlcera</b>	GlcNAc	Hexosaminidasa		GlcNAc
<b>Úlcera</b>	Sulfato	Sulfatasa		Sulfato
<b>Úlcera</b>	Hexosa sulfatada	Sulfatasa	Hexosaminidasa	GlcNAc o GalNAc
<b>Úlcera</b>	Ácido urónico sulfatado	Sulfatasa	Iduronidasa o glucuronidasa	IdoA o GlcA
<b>Enfermedad del intestino irritable</b>	Ácido siálico	Sialidasa		Ácido siálico
<b>Enfermedad del intestino irritable</b>	Ácido siálico	Alfa 2,8 Sialidasa		Ácido siálico
<b>Enfermedad del intestino irritable</b>	Ácido siálico	Alfa 2,3 Sialidasa		Ácido siálico
<b>Enfermedad del intestino irritable</b>	Ácido siálico	Alfa 2,6 Sialidasa		Ácido siálico
<b>Enfermedad del intestino irritable</b>	GalNAc	Hexosaminidasa		GalNAc
<b>Enfermedad del intestino irritable</b>	GalNAc	Sialidasa	Hexosaminidasa	GalNAc

<b>Enfermedad</b>	<b>Estructura del extremo no reductor</b>	<b>Enzima de liberación primaria</b>	<b>Enzima de liberación secundaria</b>	<b>Compuesto residual de glicano</b>
<b>Enfermedad del intestino irritable</b>	Ácido siálico	Hexosaminidasa	Sialidasa	Ácido siálico
<b>Enfermedad del intestino irritable</b>	Galactosa	Galactosidasa		Galactosa
<b>Enfermedad del intestino irritable</b>	Galactosa	Sialidasa	Galactosidasa	Galactosa
<b>Enfermedad del intestino irritable</b>	Fucosa	Fucosidasa		Fucosa
<b>Enfermedad del intestino irritable</b>	Galactosa	Galactosidasa		Galactosa
<b>Enfermedad del intestino irritable</b>	GlcNAc	Hexosaminidasa		GlcNAc
<b>Enfermedad del intestino irritable</b>	Sulfato	Sulfatasa		Sulfato
<b>Enfermedad del intestino irritable</b>	Hexosa sulfatada	Sulfatasa	Hexosaminidasa	GlcNAc o GalNAc
<b>Enfermedad del intestino irritable</b>	Ácido urónico sulfatado	Sulfatasa	Iduronidasa o glucuronidasa	IdoA o GlcA
<b>Enfermedad de la arteria coronaria</b>	Ácido siálico	Sialidasa		Ácido siálico
<b>Enfermedad de la arteria coronaria</b>	Ácido siálico	Alfa 2,8 Sialidasa		Ácido siálico
<b>Enfermedad de la arteria coronaria</b>	Ácido siálico	Alfa 2,3 Sialidasa		Ácido siálico
<b>Enfermedad de la arteria coronaria</b>	Ácido siálico	Alfa 2,6 Sialidasa		Ácido siálico
<b>Enfermedad de la arteria coronaria</b>	GalNAc	Hexosaminidasa		GalNAc
<b>Enfermedad de la arteria coronaria</b>	GalNAc	Sialidasa	Hexosaminidasa	GalNAc
<b>Enfermedad de la arteria coronaria</b>	Ácido siálico	Hexosaminidasa	Sialidasa	Ácido siálico
<b>Enfermedad de la arteria coronaria</b>	Galactosa	Galactosidasa		Galactosa
<b>Enfermedad de la arteria coronaria</b>	Galactosa	Sialidasa	Galactosidasa	Galactosa
<b>Enfermedad de la arteria coronaria</b>	Fucosa	Fucosidasa		Fucosa

<b>Enfermedad</b>	<b>Estructura del extremo no reductor</b>	<b>Enzima de liberación primaria</b>	<b>Enzima de liberación secundaria</b>	<b>Compuesto residual de glicano</b>
<b>Enfermedad de la arteria coronaria</b>	Galactosa	Galactosidasa		Galactosa
<b>Enfermedad de la arteria coronaria</b>	GlcNAc	Hexosaminidasa		GlcNAc
<b>Enfermedad de la arteria coronaria</b>	Sulfato	Sulfatasa		Sulfato
<b>Enfermedad de la arteria coronaria</b>	Hexosa sulfatada	Sulfatasa	Hexosaminidasa	GlcNAc o GalNAc
<b>Enfermedad de la arteria coronaria</b>	Ácido urónico sulfatado	Sulfatasa	Iduronidasa o glucuronidasa	IdoA o GlcA
<b>Reestenosis</b>	Ácido siálico	Sialidasa		Ácido siálico
<b>Reestenosis</b>	Ácido siálico	Alfa 2,8 Sialidasa		Ácido siálico
<b>Reestenosis</b>	Ácido siálico	Alfa 2,3 Sialidasa		Ácido siálico
<b>Reestenosis</b>	Ácido siálico	Alfa 2,6 Sialidasa		Ácido siálico
<b>Reestenosis</b>	GalNAc	Hexosaminidasa		GalNAc
<b>Reestenosis</b>	GalNAc	Sialidasa	Hexosaminidasa	GalNAc
<b>Reestenosis</b>	Ácido siálico	Hexosaminidasa	Sialidasa	Ácido siálico
<b>Reestenosis</b>	Galactosa	Galactosidasa		Galactosa
<b>Reestenosis</b>	Galactosa	Sialidasa	Galactosidasa	Galactosa
<b>Reestenosis</b>	Fucosa	Fucosidasa		Fucosa
<b>Reestenosis</b>	Galactosa	Galactosidasa		Galactosa
<b>Reestenosis</b>	GlcNAc	Hexosaminidasa		GlcNAc
<b>Reestenosis</b>	Sulfato	Sulfatasa		Sulfato
<b>Reestenosis</b>	Hexosa sulfatada	Sulfatasa	Hexosaminidasa	GlcNAc o GalNAc
<b>Reestenosis</b>	Ácido urónico sulfatado	Sulfatasa	Iduronidasa o glucuronidasa	IdoA o GlcA
<b>Ictus</b>	Ácido siálico	Sialidasa		Ácido siálico
<b>Ictus</b>	Ácido siálico	Alfa 2,8 Sialidasa		Ácido siálico
<b>Ictus</b>	Ácido siálico	Alfa 2,3 Sialidasa		Ácido siálico
<b>Ictus</b>	Ácido siálico	Alfa 2,6 Sialidasa		Ácido siálico
<b>Ictus</b>	GalNAc	Hexosaminidasa		GalNAc

Enfermedad	Estructura del extremo no reductor	Enzima de liberación primaria	Enzima de liberación secundaria	Compuesto residual de glicano
Ictus	GalNAc	Sialidasa	Hexosaminidasa	GalNAc
Ictus	Ácido siálico	Hexosaminidasa	Sialidasa	Ácido siálico
Ictus	Galactosa	Galactosidasa		Galactosa
Ictus	Galactosa	Sialidasa	Galactosidasa	Galactosa
Ictus	Fucosa	Fucosidasa		Fucosa
Ictus	Galactosa	Galactosidasa		Galactosa
Ictus	GlcNAc	Hexosaminidasa		GlcNAc
Ictus	Sulfato	Sulfatasa		Sulfato
Ictus	Hexosa sulfatada	Sulfatasa	Hexosaminidasa	GlcNAc o GalNAc
Ictus	Ácido urónico sulfatado	Sulfatasa	Iduronidasa o glucuronidasa	IdoA o GlcA
Diabetes	Ácido siálico	Sialidasa		Ácido siálico
Diabetes	Ácido siálico	Alfa 2,8 Sialidasa		Ácido siálico
Diabetes	Ácido siálico	Alfa 2,3 Sialidasa		Ácido siálico
Diabetes	Ácido siálico	Alfa 2,6 Sialidasa		Ácido siálico
Diabetes	GalNAc	Hexosaminidasa		GalNAc
Diabetes	GalNAc	Sialidasa	Hexosaminidasa	GalNAc
Diabetes	Ácido siálico	Hexosaminidasa	Sialidasa	Ácido siálico
Diabetes	Galactosa	Galactosidasa		Galactosa
Diabetes	Galactosa	Sialidasa	Galactosidasa	Galactosa
Diabetes	Fucosa	Fucosidasa		Fucosa
Diabetes	Galactosa	Galactosidasa		Galactosa
Diabetes	GlcNAc	Hexosaminidasa		GlcNAc
Diabetes	Sulfato	Sulfatasa		Sulfato
Diabetes	Hexosa sulfatada	Sulfatasa	Hexosaminidasa	GlcNAc o GalNAc
Diabetes	Ácido urónico sulfatado	Sulfatasa	Iduronidasa o glucuronidasa	IdoA o GlcA
Hiperheparanemia	Ácido siálico	Sialidasa		Ácido siálico
Hiperheparanemia	Ácido siálico	Alfa 2,8 Sialidasa		Ácido siálico

ES 2 704 104 T3

Enfermedad	Estructura del extremo no reductor	Enzima de liberación primaria	Enzima de liberación secundaria	Compuesto residual de glicano
Hiperheparanemia	Ácido siálico	Alfa 2,3 Sialidasa		Ácido siálico
Hiperheparanemia	Ácido siálico	Alfa 2,6 Sialidasa		Ácido siálico
Hiperheparanemia	GalNAc	Hexosaminidasa		GalNAc
Hiperheparanemia	GalNAc	Sialidasa	Hexosaminidasa	GalNAc
Hiperheparanemia	Ácido siálico	Hexosaminidasa	Sialidasa	Ácido siálico
Hiperheparanemia	Galactosa	Galactosidasa		Galactosa
Hiperheparanemia	Galactosa	Sialidasa	Galactosidasa	Galactosa
Hiperheparanemia	Fucosa	Fucosidasa		Fucosa
Hiperheparanemia	Galactosa	Galactosidasa		Galactosa
Hiperheparanemia	GlcNAc	Hexosaminidasa		GlcNAc
Hiperheparanemia	Sulfato	Sulfatasa		Sulfato
Hiperheparanemia	Hexosa sulfatada	Sulfatasa	Hexosaminidasa	GlcNAc o GalNAc
Hiperheparanemia	Ácido urónico sulfatado	Sulfatasa	Iduronidasa o glucuronidasa	IdoA o GlcA
Hipergangliosidemia	Ácido siálico	Sialidasa		Ácido siálico
Hipergangliosidemia	Ácido siálico	Alfa 2,8 Sialidasa		Ácido siálico
Hipergangliosidemia	Ácido siálico	Alfa 2,3 Sialidasa		Ácido siálico
Hipergangliosidemia	Ácido siálico	Alfa 2,6 Sialidasa		Ácido siálico
Hipergangliosidemia	GalNAc	Hexosaminidasa		GalNAc
Hipergangliosidemia	GalNAc	Sialidasa	Hexosaminidasa	GalNAc
Hipergangliosidemia	Ácido siálico	Hexosaminidasa	Sialidasa	Ácido siálico
Hipergangliosidemia	Galactosa	Galactosidasa		Galactosa
Hipergangliosidemia	Galactosa	Sialidasa	Galactosidasa	Galactosa
Hipergangliosidemia	Fucosa	Fucosidasa		Fucosa
Hipergangliosidemia	Galactosa	Galactosidasa		Galactosa
Hipergangliosidemia	GlcNAc	Hexosaminidasa		GlcNAc
Hipergangliosidemia	Sulfato	Sulfatasa		Sulfato
Hipergangliosidemia	Hexosa sulfatada	Sulfatasa	Hexosaminidasa	GlcNAc o GalNAc

ES 2 704 104 T3

Enfermedad	Estructura del extremo no reductor	Enzima de liberación primaria	Enzima de liberación secundaria	Compuesto residual de glicano
<b>Hipergangliosidemia</b>	Ácido urónico sulfatado	Sulfatasa	Iduronidasa o glucuronidasa	IdoA o GlcA
<b>Hipermucinemia</b>	Ácido siálico	Sialidasa		Ácido siálico
<b>Hipermucinemia</b>	Ácido siálico	Alfa 2,8 Sialidasa		Ácido siálico
<b>Hipermucinemia</b>	Ácido siálico	Alfa 2,3 Sialidasa		Ácido siálico
<b>Hipermucinemia</b>	Ácido siálico	Alfa 2,6 Sialidasa		Ácido siálico
<b>Hipermucinemia</b>	GalNAc	Hexosaminidasa		GalNAc
<b>Hipermucinemia</b>	GalNAc	Sialidasa	Hexosaminidasa	GalNAc
<b>Hipermucinemia</b>	Ácido siálico	Hexosaminidasa	Sialidasa	Ácido siálico
<b>Hipermucinemia</b>	Galactosa	Galactosidasa		Galactosa
<b>Hipermucinemia</b>	Galactosa	Sialidasa	Galactosidasa	Galactosa
<b>Hipermucinemia</b>	Fucosa	Fucosidasa		Fucosa
<b>Hipermucinemia</b>	Galactosa	Galactosidasa		Galactosa
<b>Hipermucinemia</b>	GlcNAc	Hexosaminidasa		GlcNAc
<b>Hipermucinemia</b>	Sulfato	Sulfatasa		Sulfato
<b>Hipermucinemia</b>	Hexosa sulfatada	Sulfatasa	Hexosaminidasa	GlcNAc o GalNAc
<b>Hipermucinemia</b>	Ácido urónico sulfatado	Sulfatasa	Iduronidasa o glucuronidasa	IdoA o GlcA
<b>Hiperglicanemia ligada a O</b>	Ácido siálico	Sialidasa		Ácido siálico
<b>Hiperglicanemia ligada a O</b>	Ácido siálico	Alfa 2,8 Sialidasa		Ácido siálico
<b>Hiperglicanemia ligada a O</b>	Ácido siálico	Alfa 2,3 Sialidasa		Ácido siálico
<b>Hiperglicanemia ligada a O</b>	Ácido siálico	Alfa 2,6 Sialidasa		Ácido siálico
<b>Hiperglicanemia ligada a O</b>	GalNAc	Hexosaminidasa		GalNAc
<b>Hiperglicanemia ligada a O</b>	GalNAc	Sialidasa	Hexosaminidasa	GalNAc
<b>Hiperglicanemia ligada a O</b>	Ácido siálico	Hexosaminidasa	Sialidasa	Ácido siálico
<b>Hiperglicanemia ligada a O</b>	Galactosa	Galactosidasa		Galactosa
<b>Hiperglicanemia ligada a O</b>	Galactosa	Sialidasa	Galactosidasa	Galactosa
<b>Hiperglicanemia ligada a O</b>	Fucosa	Fucosidasa		Fucosa
<b>Hiperglicanemia ligada a O</b>	Galactosa	Galactosidasa		Galactosa

ES 2 704 104 T3

Enfermedad	Estructura del extremo no reductor	Enzima de liberación primaria	Enzima de liberación secundaria	Compuesto residual de glicano
Hiperglicanemia ligada a O	GlcNAc	Hexosaminidasa		GlcNAc
Hiperglicanemia ligada a O	Sulfato	Sulfatasa		Sulfato
Hiperglicanemia ligada a O	Hexosa sulfatada	Sulfatasa	Hexosaminidasa	GlcNAc o GalNAc
Hiperglicanemia ligada a O	Ácido urónico sulfatado	Sulfatasa	Iduronidasa o glucuronidasa	IdoA o GlcA
Hiperglicanemia ligada a N	Ácido siálico	Sialidasa		Ácido siálico
Hiperglicanemia ligada a N	Ácido siálico	Alfa 2,8 Sialidasa		Ácido siálico
Hiperglicanemia ligada a N	Ácido siálico	Alfa 2,3 Sialidasa		Ácido siálico
Hiperglicanemia ligada a N	Ácido siálico	Alfa 2,6 Sialidasa		Ácido siálico
Hiperglicanemia ligada a N	GalNAc	Hexosaminidasa		GalNAc
Hiperglicanemia ligada a N	GalNAc	Sialidasa	Hexosaminidasa	GalNAc
Hiperglicanemia ligada a N	Ácido siálico	Hexosaminidasa	Sialidasa	Ácido siálico
Hiperglicanemia ligada a N	Galactosa	Galactosidasa		Galactosa
Hiperglicanemia ligada a N	Galactosa	Sialidasa	Galactosidasa	Galactosa
Hiperglicanemia ligada a N	Fucosa	Fucosidasa		Fucosa
Hiperglicanemia ligada a N	Galactosa	Galactosidasa		Galactosa
Hiperglicanemia ligada a N	GlcNAc	Hexosaminidasa		GlcNAc
Hiperglicanemia ligada a N	Sulfato	Sulfatasa		Sulfato
Hiperglicanemia ligada a N	Hexosa sulfatada	Sulfatasa	Hexosaminidasa	GlcNAc o GalNAc
Hiperglicanemia ligada a N	Ácido urónico sulfatado	Sulfatasa	Iduronidasa o glucuronidasa	IdoA o GlcA
<b>Hipersialilemia</b>	Ácido siálico	Sialidasa		Ácido siálico
<b>Hipersialilemia</b>	Ácido siálico	Alfa 2,8 Sialidasa		Ácido siálico
<b>Hipersialilemia</b>	Ácido siálico	Alfa 2,3 Sialidasa		Ácido siálico
<b>Hipersialilemia</b>	Ácido siálico	Alfa 2,6 Sialidasa		Ácido siálico
<b>Hipersialilemia</b>	GalNAc	Hexosaminidasa		GalNAc
<b>Hipersialilemia</b>	GalNAc	Sialidasa	Hexosaminidasa	GalNAc
<b>Hipersialilemia</b>	Ácido siálico	Hexosaminidasa	Sialidasa	Ácido siálico
<b>Hipersialilemia</b>	Galactosa	Galactosidasa		Galactosa

<b>Enfermedad</b>	<b>Estructura del extremo no reductor</b>	<b>Enzima de liberación primaria</b>	<b>Enzima de liberación secundaria</b>	<b>Compuesto residual de glicano</b>
<b>Hipersialilemia</b>	Galactosa	Sialidasa	Galactosidasa	Galactosa
<b>Hipersialilemia</b>	Fucosa	Fucosidasa		Fucosa
<b>Hipersialilemia</b>	Galactosa	Galactosidasa		Galactosa
<b>Hipersialilemia</b>	GlcNAc	Hexosaminidasa		GlcNAc
<b>Hipersialilemia</b>	Sulfato	Sulfatasa		Sulfato
<b>Hipersialilemia</b>	Hexosa sulfatada	Sulfatasa	Hexosaminidasa	GlcNAc o GalNAc
<b>Hipersialilemia</b>	Ácido urónico sulfatado	Sulfatasa	Iduronidasa o glucuronidasa	IdoA o GlcA
<b>Hiperfucosilemia</b>	Ácido siálico	Sialidasa		Ácido siálico
<b>Hiperfucosilemia</b>	Ácido siálico	Alfa 2,8 Sialidasa		Ácido siálico
<b>Hiperfucosilemia</b>	Ácido siálico	Alfa 2,3 Sialidasa		Ácido siálico
<b>Hiperfucosilemia</b>	Ácido siálico	Alfa 2,6 Sialidasa		Ácido siálico
<b>Hiperfucosilemia</b>	GalNAc	Hexosaminidasa		GalNAc
<b>Hiperfucosilemia</b>	GalNAc	Sialidasa	Hexosaminidasa	GalNAc
<b>Hiperfucosilemia</b>	Ácido siálico	Hexosaminidasa	Sialidasa	Ácido siálico
<b>Hiperfucosilemia</b>	Galactosa	Galactosidasa		Galactosa
<b>Hiperfucosilemia</b>	Galactosa	Sialidasa	Galactosidasa	Galactosa
<b>Hiperfucosilemia</b>	Fucosa	Fucosidasa		Fucosa
<b>Hiperfucosilemia</b>	Galactosa	Galactosidasa		Galactosa
<b>Hiperfucosilemia</b>	GlcNAc	Hexosaminidasa		GlcNAc
<b>Hiperfucosilemia</b>	Sulfato	Sulfatasa		Sulfato
<b>Hiperfucosilemia</b>	Hexosa sulfatada	Sulfatasa	Hexosaminidasa	GlcNAc o GalNAc
<b>Hiperfucosilemia</b>	Ácido urónico sulfatado	Sulfatasa	Iduronidasa o glucuronidasa	IdoA o GlcA
<b>Hipersulfogicanemia</b>	Ácido siálico	Sialidasa		Ácido siálico
<b>Hipersulfogicanemia</b>	Ácido siálico	Alfa 2,8 Sialidasa		Ácido siálico
<b>Hipersulfogicanemia</b>	Ácido siálico	Alfa 2,3 Sialidasa		Ácido siálico
<b>Hipersulfogicanemia</b>	Ácido siálico	Alfa 2,6 Sialidasa		Ácido siálico
<b>Hipersulfogicanemia</b>	GalNAc	Hexosaminidasa		GalNAc

Enfermedad	Estructura del extremo no reductor	Enzima de liberación primaria	Enzima de liberación secundaria	Compuesto residual de glicano
Hipersulfogicanemia	GalNAc	Sialidasa	Hexosaminidasa	GalNAc
Hipersulfogicanemia	Ácido siálico	Hexosaminidasa	Sialidasa	Ácido siálico
Hipersulfogicanemia	Galactosa	Galactosidasa		Galactosa
Hipersulfogicanemia	Galactosa	Sialidasa	Galactosidasa	Galactosa
Hipersulfogicanemia	Fucosa	Fucosidasa		Fucosa
Hipersulfogicanemia	Galactosa	Galactosidasa		Galactosa
Hipersulfogicanemia	GlcNAc	Hexosaminidasa		GlcNAc
Hipersulfogicanemia	Sulfato	Sulfatasa		Sulfato
Hipersulfogicanemia	Hexosa sulfatada	Sulfatasa	Hexosaminidasa	GlcNAc o GalNAc
Hipersulfogicanemia	Ácido urónico sulfatado	Sulfatasa	Iduronidasa o glucuronidasa	IdoA o GlcA

En el presente documento se proporcionan métodos de diagnóstico de individuos (incluyendo, por ejemplo, un estado de enfermedad o la gravedad de un estado de enfermedad) con un estado de enfermedad infeccioso asociado con una acumulación anormal de glicano. En la Tabla 15 se proporcionan realizaciones específicas de enfermedades que están opcionalmente diagnosticadas y/o controladas de acuerdo con diversas realizaciones descritas en esta memoria. La Tabla 15 también ilustra diversas realizaciones no limitantes de enzima(s) específica(s) que se emplea(n) opcionalmente para tratar una muestra biológica de un individuo que padece o se sospecha (por ejemplo, a través de un procedimiento de selección previa o preliminar) que padece diversos estados de enfermedad infecciosos asociados con una acumulación anormal de glicanos. Por otra parte, la Tabla 15 ilustra adicionalmente diversos compuestos residuales de glicano que se liberan en diversas realizaciones descritas en el presente documento, siendo detectados y/o medidos tales compuestos residuales de glicano liberados con el fin de diagnosticar y/o realizar un seguimiento de diversos estados de enfermedad infecciosa.

Tabla 15:

<b>Enfermedades infecciosas</b>				
<b>Enfermedad</b>	<b>Estructura del extremo no reductor</b>	<b>Enzima de liberación primaria</b>	<b>Enzima de liberación secundaria</b>	<b>Compuesto residual de glicano</b>
<b>Infecciones bacterianas</b>	manosa	manosidasa		manosa
<b>Infecciones bacterianas</b>	fucosa	fucosidasa		fucosa
<b>Infecciones bacterianas</b>	glucosa	glucosidasa		glucosa
<b>Infecciones bacterianas</b>	galactosa	galactosidasa		galactosa
<b>Infecciones bacterianas</b>	GlcNAc	hexosaminidasa		GlcNAc
<b>Infecciones bacterianas</b>	GalNAc	hexosaminidasa		GalNAc
<b>Infecciones bacterianas</b>	arabinosa	arabinosidasa		arabinosa
<b>Infecciones bacterianas</b>	xilosa	xilosidasa		xilosa
<b>Infecciones bacterianas</b>	ribosa	ribosidasa		ribosa
<b>Infecciones bacterianas</b>	lixosa	lixosidasa		lixosa
<b>Infecciones bacterianas</b>	talosa	talosidasa		talosa
<b>Infecciones bacterianas</b>	idosa	Idosidasa		idosa
<b>Infecciones bacterianas</b>	gulosa	gulosidasa		gulosa
<b>Infecciones bacterianas</b>	altrosa	altrosidasa		altrosa
<b>Infecciones bacterianas</b>	alosa	alosidasa		alosa
<b>Infecciones por hongos</b>	manosa	manosidasa		manosa
<b>Infecciones por hongos</b>	fucosa	fucosidasa		fucosa
<b>Infecciones por hongos</b>	glucosa	glucosidasa		glucosa

<b>Enfermedades infecciosas</b>				
<b>Enfermedad</b>	<b>Estructura del extremo no reductor</b>	<b>Enzima de liberación primaria</b>	<b>Enzima de liberación secundaria</b>	<b>Compuesto residual de glicano</b>
<b>Infecciones por hongos</b>	galactosa	galactosidasa		galactosa
<b>Infecciones por hongos</b>	GlcNAc	hexosaminidasa		GlcNAc
<b>Infecciones por hongos</b>	GalNAc	hexosaminidasa		GalNAc
<b>Infecciones por hongos</b>	arabinosa	arabinosidasa		arabinosa
<b>Infecciones por hongos</b>	xilosa	xilosidasa		xilosa
<b>Infecciones por hongos</b>	ribosa	ribosidasa		ribosa
<b>Infecciones por hongos</b>	lixosa	lixosidasa		lixosa
<b>Infecciones por hongos</b>	talosa	talosidasa		talosa
<b>Infecciones por hongos</b>	idoso	idosidasa		idoso
<b>Infecciones por hongos</b>	gulosa	gulosidasa		gulosa
<b>Infecciones por hongos</b>	altrosa	altrosidasa		altrosa
<b>Infecciones por hongos</b>	alosa	alosidasa		alosa
<b>Infecciones virales</b>	ácido siálico	sialidasa		ácido siálico
<b>Infecciones virales</b>	ácido siálico	alfa 2,8 sialidasa		ácido siálico
<b>Infecciones virales</b>	ácido siálico	alfa 2,3 sialidasa		ácido siálico
<b>Infecciones virales</b>	ácido siálico	alfa 2,6 sialidasa		ácido siálico
<b>Infecciones virales</b>	GalNAc	hexosaminidasa		GalNAc
<b>Infecciones virales</b>	GalNAc	sialidasa	hexosaminidasa	GalNAc
<b>Infecciones virales</b>	ácido siálico	hexosaminidasa	sialidasa	ácido siálico

Enfermedades infecciosas				
Enfermedad	Estructura del extremo no reductor	Enzima de liberación primaria	Enzima de liberación secundaria	Compuesto residual de glicano
Infecciones virales	galactosa	galactosidasa		galactosa
Infecciones virales	galactosa	sialidasa	galactosidasa	galactosa
Infecciones virales	fucosa	fucosidasa		fucosa
Infecciones virales	galactosa	galactosidasa		galactosa
Infecciones virales	GlcNAc	hexosaminidasa		GlcNAc
Infecciones virales	sulfato	sulfatasa		sulfato
Infecciones virales	hexosa sulfatada	sulfatasa	hexosaminidasa	GlcNAc o GalNAc
Infecciones virales	ácido urónico sulfatado	sulfatasa	iduronidasa o glucuronidasa	IdoA o GlcA

La Figura 1 ilustra compuestos presentes en una muestra biológica normal no sujeta a un procedimiento de liberación enzimática residual de glicanos descrito en el presente documento. La Figura 2 ilustra compuestos presentes en una muestra biológica normal sometida a un procedimiento de liberación enzimática residual de glicanos descrito en el presente documento. La Figura 3 ilustra compuestos presentes en una muestra biológica de un individuo que padece un trastorno asociado con la acumulación anormal de glicano, no sujeto a un procedimiento de liberación enzimática residual de glicanos descrito en el presente documento. La Figura 4 ilustra compuestos presentes en una muestra biológica de un individuo que padece un trastorno asociado con una acumulación anormal de glicano, sometida a un procedimiento de liberación enzimática residual de glicanos descrito en el presente documento.

**Detección y medición:**

Los compuestos residuales de glicano (incluyendo, por ejemplo, oligosacáridos, monosacáridos, sulfato, fosfato, ácido siálico, acetato o similares) descritos en esta memoria se detectan y/o miden en procedimientos descritos en esta memoria de cualquier forma adecuada. En algunas realizaciones, los compuestos residuales de glicano se detectan y/o se miden en forma no modificada. En otras realizaciones, los compuestos residuales de glicanos se marcan antes con un marcador detectable y se detecta el compuesto residual de glicano marcado.

En algunas realizaciones, los compuestos no marcados se detectan y/o se miden opcionalmente de cualquier manera adecuada, por ejemplo, mediante el pH, mediante resonancia magnética nuclear (RMN) cuantitativa o similares.

En diversas realizaciones, un método descrito en el presente documento comprende determinar si la cantidad de residuo de glicano liberado es anormal y esa determinación comprende marcar el residuo glicano con un marcador detectable y medir la cantidad de residuo de glicano marcado con un instrumento analítico. En realizaciones específicas, el marcador detectable es un marcador de masas, un marcador de radioisótopo, un marcador fluorescente, un marcador cromóforo o un marcador de afinidad. En algunas realizaciones, la cantidad de glicano liberado se mide usando espectroscopía UV-Vis, espectroscopía de RI, espectrometría de masas o una combinación de las mismas.

En las diversas realizaciones de cualquier procedimiento o método descrito en el presente documento, cualquier marcador detectable adecuado se utiliza opcionalmente. En algunas realizaciones, marcadores detectables útiles en los procedimientos o métodos descritos en esta memoria incluyen, a modo de ejemplo no limitante, marcadores de masas, anticuerpos, marcadores de afinidad, marcadores de radioisótopos, cromóforos, marcadores fluorescentes o

similares.

Los marcadores fluorescentes adecuados para el uso en diversas realizaciones en el presente documento incluyen, a modo de ejemplo no limitativo, 2-aminopiridina (2-AP), ácido 2-aminobenzoico (2-AA), 2-aminobenzamida (2-AB), 2-aminoacridona (AMAC), éster etílico de ácido p-aminobenzoico (ABEE), p-aminobenzonitrilo (ABN), 2-amino-6-cianoetilpiridina (ACP), 7-amino-4-metilcumarina (AMC), 8-aminonaftalen-1,3,6-trisulfato (ANTS), 7-aminonaftalen-1,3-disulfuro (ANDS) y 8-aminopiren-1,3,6-trisulfato (APTS) o similares. Los marcadores fluorescentes se pueden fijar por aminación reductora con el marcador fluorescente y cianoborohidruro de sodio o similares.

Los marcadores de masas adecuados para uso en diversas realizaciones en el presente documento incluyen, a modo de ejemplo no limitativo, ácido D-2-antranílico, D-2-aminopiridina, yoduro de D-metilo, yoduro de metilo  $^{13}\text{C}$ , piridil-amina deuterada, D-biotina o similares. Los marcadores de masas se pueden fijar por permetilación o aminación reductora a través de cualquier método que es conocido por los expertos en la técnica.

Los marcadores de afinidad adecuados para el uso en diversas realizaciones en esta memoria incluyen, a modo de ejemplo no limitativo, biotina y derivados.

Los marcadores de radioisótopos adecuados para el uso en diversas realizaciones en el presente documento incluyen, a modo de ejemplo no limitativo, borotritiuro de sodio ( $\text{NaB}^3\text{H}_4$ ),  $^3\text{H}$ ,  $^{14}\text{C}$ ,  $^{32}\text{P}$ ,  $^{35}\text{S}$  o similares.

Los cromóforos adecuados para uso en diversas realizaciones en el presente documento incluyen, a modo de ejemplo no limitativo, 4-amino-1,1'-azobenceno, 4'-N,N-dimetilamino-4-aminoazobenceno, aminoazobenceno, diaminoazobenceno, Direct Red 16, CI Acid Red 57, CI Acid Blue 45, CI Acid Blue 22, CL Mordant Brown 13, CI Direct Orange 75 o similares. Los cromóforos se pueden marcar mediante cualquier método conocido por los expertos en la técnica, tal como aminación reductora con el cromóforo y cianoborohidruro de sodio.

En algunas realizaciones, el marcador detectable es un anticuerpo. En realizaciones específicas, el anticuerpo está fijado a un compuesto detectable, tal como marcadores de masas, marcadores de radioisótopos, cromóforos, marcadores fluorescentes o similares. En algunas realizaciones, los anticuerpos se detectan por sí mismos y/o son detectables de varias maneras, por ejemplo, como un cromóforo, un fluoróforo o similares; o con una sonda (por ejemplo, utilizando técnicas de transferencia de mancha, técnicas de inmunodetección o similares).

En ciertas realizaciones, los marcadores detectables se detectan y/o se cuantifican de acuerdo con cualquier procedimiento descrito en esta memoria usando cualquier técnica, en particular cualquier técnica adecuada para el marcador detectable utilizado. En algunas realizaciones, las técnicas de detección adecuadas incluyen, a modo de ejemplo no limitativo, una o varias técnicas de espectrometría de masas, de espectrometría de resonancia magnética nuclear, de espectrometría UV-Vis, de espectrometría de IR, un fluorímetro, un fosforímetro, un espectrómetro de radiación (por ejemplo, un contador de centelleo), técnica de cromatografía en capa fina o similares. En ciertas realizaciones, en cualquier procedimiento descrito en el presente documento, los compuestos residuales de glicano opcionalmente se detectan directamente usando una técnica adecuada, tal como la resonancia magnética nuclear cuantitativa. La resonancia magnética nuclear cuantitativa también se utiliza opcionalmente para cuantificar y/o detectar la presencia de un marcador detectable. En ciertas realizaciones, uno o varios compuestos residuales de glicano se detectan opcionalmente usando un espectrómetro de masas de cromatografía líquida adecuado (LC-MS).

En algunas realizaciones, los compuestos residuales de glicano se marcan con un anticuerpo o una sonda y se cuantifican usando cualquier método adecuado (por ejemplo, técnicas de transferencia de manchas, técnicas de inmunodetección (por ejemplo, ELISA) o similares).

Varios métodos analíticos útiles para los procedimientos descritos en esta memoria incluyen, a modo de ejemplo no limitativo, espectrometría de masas, cromatografía, HPLC, UPLC, TLC, GC, HPAEC-PAD, electroforesis - capilar o en gel, o similares. En ciertas realizaciones, en las que se utiliza una técnica cromatográfica, se emplea opcionalmente cualquier sistema disolvente adecuado. En ciertas realizaciones, una columna (por ejemplo, Cosmogel DEAE, Tsk gel DEAE, Cosmogel QA, Cosmogel CM, Cosmogel SP o similares) está cargada opcionalmente con un disolvente para equilibrar (por ejemplo, una solución tampón o salina, tal como una solución de acetato de potasio, solución de cloruro sódico, solución de acetato de sodio, solución de acetato de amonio o similares), por ejemplo, con un pH de aproximadamente 6, 7 u 8. En algunas realizaciones, la solución tampón o salina tiene una concentración de aproximadamente 10 mM, 20 mM, 30 mM, 50 mM, 100 mM, 500 mM, 1 M, 2 M o similar. Se usa cualquier caudal adecuado, por ejemplo, 0,5 ml/min, 1 ml/min, 1,5 ml/min, 2 ml/min o similares. Después de equilibrar, se utiliza opcionalmente un gradiente lineal. En algunas realizaciones, el gradiente lineal se ejecuta 1-20 min, 1-10 min, 10-20 min, 1-5 min, 5-10 min o similares. En ciertas realizaciones, el gradiente es una solución tampón o salina, por ejemplo, como se ha descrito anteriormente (por ejemplo, desde 0 M a 0,5 M, desde 0 M a 3 M, desde 0,5 M a 2 M, desde 0 M a 2 M, desde 1 M a 2 M, desde 0 M a 3 M, desde 2 M a 0 M, desde 3 M a 0 M o similares). Una vez que el gradiente ha alcanzado una concentración final, el eluyente se retiene opcionalmente con la concentración final durante un período de tiempo adecuado (por ejemplo, 1-20 min, 5-10 min, 10-15 min, 1-5 min, 1-10 min, 15-20 min o similares). Después de retener opcionalmente la concentración final, el eluyente se puede cambiar a un segundo disolvente o un sistema de disolvente (por ejemplo, un alcohol, tal como metanol,

etanol o isopropanol, acetonitrilo, agua o similares). El cambio al segundo sistema de disolvente puede ser durante un período de tiempo, por ejemplo, 15 segundos, 30 segundos, 45 segundos, 60 segundos, 2 min, 3 min o similar. El segundo sistema de disolvente se retiene opcionalmente durante un período de tiempo, tal como 1 min, 2 min, 3 min, 4 min, 5 min, 6 min o similar. Después del segundo ciclo del sistema disolvente, la columna se restablece opcionalmente a sus condiciones iniciales de disolvente.

#### Purificación:

En ciertas realizaciones, los métodos descritos en esta memoria comprenden la purificación de una muestra biológica, por ejemplo, para eliminar los compuestos que no son glicano de la muestra biológica. En algunas realizaciones, una muestra biológica se purifica antes de la transformación de un glicano de la misma.

10 En ciertas realizaciones, una muestra biológica que contiene glicanos (purificados o no) se puede preparar también de modo que todos los compuestos residuales de glicano libres (por ejemplo, monosacáridos) que están presentes de forma natural en la muestra biológica (es decir, tal y como se toma de un individuo y sin tratar) se eliminan de la muestra para reducir la señal de ruido de fondo (por ejemplo, usando diálisis, columna de centrifugación, filtración en gel, etc.).

15 En algunas realizaciones, cualquier procedimiento descrito en el presente documento incluye una etapa de purificación de una muestra biológica que comprende eliminar de la misma los monosacáridos, eliminar de la misma los sulfatos, eliminar de la misma los fosfatos, eliminar de la misma los acetatos, eliminar de la misma los ácidos siálicos o una combinación de las mismas. Por ejemplo, en algunas realizaciones, una muestra biológica se coloca opcionalmente en una columna de centrifugación con valor de corte de PM definido (retiene moléculas grandes cuando gira), se lava opcionalmente (por ejemplo, con 1 o más volúmenes de agua o tampón) y/o similares.

20 En ciertas realizaciones, la purificación de muestras biológicas puede comprender además o alternativamente, por ejemplo, un fraccionamiento, purificación, enriquecimiento o similares de los glicanos contenidos en las mismas. En algunos casos, esas técnicas de purificación son adecuadas para aislar y/o separar diferentes clases de glicano dentro de la muestra biológica antes de la transformación de uno o varios de tales glicanos. En casos más específicos, esas técnicas de purificación se usan para aislar y/o separar subconjuntos diferentes de una sola clase de glicano (como el aislamiento de glicanos ligados en N a complejos procedentes de estructuras ligadas en N a híbridos) antes de la transformación de uno o varios de tales glicanos. En ciertas realizaciones, una muestra biológica se prepara opcionalmente de tal manera que se enriquecen clases de glicano específicas. Por ejemplo, una columna de afinidad de PHA se utiliza opcionalmente para aislar una subfracción de glicanos ligados en N a un complejo, mientras que una columna Con A se podría utilizar para enriquecer un subconjunto diferente de glicanos ligados a N.

25 En algunas realizaciones, cualquier procedimiento descrito en esta memoria comprende la purificación de un compuesto residual de glicano resultante de un procedimiento descrito en esta memoria (por ejemplo, la purificación del compuesto residual de glicano antes del análisis del mismo). Por ejemplo, en algunas realizaciones, el compuesto residual de glicano se aísla opcionalmente mediante cualquier procedimiento adecuado, tal como lavando el compuesto residual de glicano libre (por ejemplo, a través de una membrana con valor de corte de PM definido o por cualquier otro método adecuado). Por otra parte, en ciertas realizaciones, la composición que contiene el compuesto residual de glicano aislado resultante opcionalmente se seca o se trata de otro modo para concentrar la muestra y posteriormente se analiza el contenido en compuesto residual de glicano por cualquier técnica analítica adecuada.

30 En algunas realizaciones, los procedimientos descritos en el presente documento comprenden etapas de tratamiento adicionales de las muestras del ensayo y/o de control. Por ejemplo, en algunas realizaciones, las muestras se homogeneizan y/o se purifican. En realizaciones específicas, la homogeneización se consigue de cualquier manera adecuada incluyendo, a modo de ejemplo no limitativo, con una solución básica, con ultrasonidos, molienda de tejido u otros agentes químicos. En algunas realizaciones, la gravedad de un trastorno se determina si se mide una cierta cantidad umbral (por ejemplo, en comparación con un control o controles) o una señal umbral (por ejemplo, en un fluorímetro u otro dispositivo analítico utilizado para detectar y/o medir el biomarcador generado). Del mismo modo, un vehículo de un trastorno descrito en esta memoria, en ciertas realizaciones, se determina si se mide una cierta cantidad umbral (por ejemplo, en comparación con un control o controles) o una señal umbral (por ejemplo, en un fluorímetro u otro dispositivo analítico utilizado para detectar y/o medir el biomarcador generado).

35 En ciertas realizaciones, las muestras, incluyendo muestras de ensayo y/o muestras de control, descritas en esta memoria se purifican opcionalmente antes del procesamiento del glicano (por ejemplo, un tratamiento con liasa) y/o la caracterización. Las muestras de ensayo y/o las muestras de control (es decir, uno o varios o todos los glicanos que se encuentran en la misma) se purifican opcionalmente usando cualquier técnica de purificación adecuada. Las muestras de ensayo y/o las muestras de control se purifican opcionalmente en cualquier punto adecuado en un procedimiento descrito en el presente documento, incluyendo antes o después de marcar los glicanos encontrados glicanos dentro de la muestra. En ciertas realizaciones, las técnicas de purificación incluyen centrifugación, electroforesis, cromatografía (por ejemplo, cromatografía en gel de sílice o columna de alúmina), cromatografía de gases, cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC) (por ejemplo, HPLC de fase inversa en columnas quirales o

aquirales), cromatografía en capa fina, cromatografía de intercambio iónico, cromatografía en gel (por ejemplo, cromatografía de filtración o permeación en gel o cromatografía de exclusión por tamaño, electroforesis en gel), cromatografía de tamiz molecular, cromatografía por afinidad, exclusión por tamaño, filtración (por ejemplo, a través de un florisil o un tapón de carbono activado), precipitación, ósmosis, recristalización, purificación en fase fluorosa, destilación, extracción, cromatografía de extracción de fluidos supercrítica, cromatografía preparativa ultrarrápida (por ejemplo, cromatografía ultrarrápida utilizando un detector UV-Vis y un espectrómetro de masas (por ejemplo, utilizando el conjunto de productos de Biotage®) o similares.

En algunas realizaciones, glicanos, tales como sulfato de heparán, se encuentran de forma natural fijados a una proteína del núcleo (formando juntos un proteoglicano) o un lípido. En algunas realizaciones, en esta memoria se proporcionan procedimientos de purificación mediante la separación de fragmentos de glicano (por ejemplo, fragmentos de sulfato de heparán) procedentes de proteoglicanos o glicolípidos antes de procesar el glicano para el procesamiento y análisis.

#### Terapia de seguimiento

En ciertas realizaciones se proporcionan métodos para el tratamiento de trastornos asociados con la degradación, biosíntesis y/o acumulación anormal de glicanos, comprendiendo los métodos:

a. administrar un agente para tratar trastornos asociados con la degradación, biosíntesis y/o acumulación anormal de glicanos (por ejemplo, un agente anti-LSD, un agente anticancerígeno o similares) a un individuo que lo requiere;

b. realizar un seguimiento de la acumulación de glicanos en el individuo usando cualquier procedimiento descrito en el presente documento para detectar o cuantificar la cantidad de compuestos residuales de glicano (por ejemplo, monosacáridos, sulfato o similares) presentes en una muestra biológica digerida con liasa (por ejemplo, una muestra de orina, suero, plasma o LCR) de acuerdo con cualquier procedimiento descrito en esta memoria.

En realizaciones adicionales o alternativas se proporcionan métodos para realizar un seguimiento del tratamiento de trastornos asociados con la degradación, biosíntesis y/o acumulación anormal de glicanos, comprendiendo los métodos las siguientes etapas:

a. después de la administración de un agente para tratar un trastorno asociado con la degradación, biosíntesis y/o acumulación anormal de glicanos (por ejemplo, un agente anti-LSD, un agente anticancerígeno o similares) a un individuo que lo requiere, generar un biomarcador que comprende uno o varios compuestos residuales de glicano en el extremo no reductor (por ejemplo, un monosacárido).

En algunas realizaciones, el biomarcador es un monosacárido saturado y se genera mediante el tratamiento de una población de glicanos, en una muestra biológica o aislados a partir de la misma, procedente del individuo, con al menos una enzima que digiere glicano, en donde antes del tratamiento enzimático, el biomarcador no está presente en abundancia en las muestras de individuos con la enfermedad o la afección en relación con los individuos sin la enfermedad o afección. En ciertas realizaciones, la realización de un seguimiento de la acumulación de glicanos comprende el uso de un instrumento analítico para detectar la presencia y/o medir la cantidad del biomarcador producido y mostrar o registrar la presencia o una medida de una población del biomarcador; en donde la presencia y/o la medición de la cantidad del biomarcador se utiliza para realizar un seguimiento del tratamiento.

En algunas realizaciones, el agente se administra una o varias veces. En ciertas realizaciones, el agente se administra varias veces. En algunas realizaciones, el agente se administra en una dosis de carga una o varias veces (por ejemplo, con una pauta de dosificación de carga) y posteriormente se administra en una dosis de mantenimiento (por ejemplo, con una pauta de dosificación de mantenimiento, tal como tres veces al día, dos veces al día, una vez al día, una vez cada dos días, una vez cada tres días, una vez cada cuatro días, una vez a la semana o similares). En algunas realizaciones, cuando la acumulación de glicano (tal y como se mide mediante uno o varios compuestos residuales de glicano) comienza a aumentar o a acelerarse, la dosis se ajusta opcionalmente (por ejemplo, la dosis de mantenimiento se incrementa o se emplea una dosis de carga adicional o una pauta de dosificación).

En algunas realizaciones, realizar un seguimiento de la acumulación de glicanos comprende repetir la etapa de: usar un instrumento analítico para detectar la presencia y/o medir la cantidad de una población de uno o varios compuestos residuales de glicano presentes en una muestra biológica transformada que se ha preparado mediante el tratamiento de una población de glicanos, en una muestra biológica o aislados a partir de la misma, procedentes del individuo, con al menos una liasa que digiere glicano para transformar el glicano en la población de uno o varios compuestos residuales de glicano. En realizaciones específicas, la etapa se repite a intervalos periódicos (por ejemplo, cada día, día sí y día no, cada 2 días, cada 3 días, cada 4 días, cada semana, cada mes, cada 3 meses, cuatrimestralmente, cada 6 meses, anualmente o similares), a intervalos regulares después de una dosis (por ejemplo, 4 horas después de una administración del agente, 6 horas después de la administración del agente, 8 horas después de la administración del agente, 12 horas después de la administración del agente o similares), antes de la administración de la dosis (por ejemplo, inmediatamente antes de la administración del agente, 2 horas antes

administración del agente o similares), o cualquier otra pauta para realizar un seguimiento.

En algunas realizaciones, el seguimiento de la acumulación de glicano se lleva a cabo durante un período de tiempo, por ejemplo, una semana, dos semanas, un mes, dos meses, tres meses, seis meses, un año o similares. En algunas realizaciones, el método para cuantificar la cantidad de uno o varios compuestos residuales de glicano en una muestra biológica digerida con liasa (por ejemplo, orina, suero, plasma o LCR) comprende detectar y/o medir (por ejemplo, con un dispositivo analítico), uno o varios compuestos residuales de glicano dentro de la muestra biológica digerida con liasa del individuo después de tratar la muestra biológica obtenida del individuo con una o varias liasas de glicano. En ciertas realizaciones, tales liasas de glicano son adecuadas para la preparación de compuestos residuales de glicano a partir del glicano presente en la muestra biológica obtenida del individuo. En ciertos casos, una porción representativa de uno o varios compuestos residuales de glicano en la muestra biológica transformada, se marca con cualquier marcador detectable adecuado (por ejemplo, un marcador de masas, un marcador radioisotópico, un marcador fluorescente, un marcador cromóforo, un marcador de afinidad, un anticuerpo). En algunas realizaciones, el procedimiento comprende mostrar o registrar una caracterización de ese tipo de la población de compuestos residuales de glicano y/o de compuestos residuales de glicanos marcados.

En algunas realizaciones, el agente descrito en una terapia de este documento incluye inhibidores de la acumulación de glicano, agentes que promueven la degradación de glicano, agentes que activan enzimas que degradan glicanos, agentes que inhiben la biosíntesis de glicanos o similares. En algunas realizaciones, el agente que modula la biosíntesis de glicanos es un agente que modula selectivamente la biosíntesis de sulfato de heparán, un agente que modula selectivamente la biosíntesis de sulfato de condroitina, un agente que modula selectivamente la biosíntesis de sulfato de dermatán, un agente que modula selectivamente la biosíntesis de sulfato de queratán, un agente que modula selectivamente la biosíntesis de hialuronán, o una combinación de los mismos. Los fármacos anti-LSD incluyen, a modo de ejemplo no limitativo, imiglucerasa (Cerazyme), laronidasa (Aldurazyme), idursulfasa (Elaprase), galsulfasa (Naglazyme), agalsidasa beta (Fabrazyme), alglucosidasa alfa (Myozyme), agalsidasa alfa (Replagal), miglustat (Zavesca).

En algunas realizaciones, uno o varios de los agentes contra el cáncer son agentes proapoptóticos. Ejemplos de agentes contra el cáncer incluyen, a modo de ejemplo no limitativo: gosipol, Genasense, polifenol E, clorofusina, todos los ácidos trans-retinoicos (ATRA), briostatina, ligando inductor de apoptosis relacionado con el factor de necrosis tumoral (TRAIL), 5-aza-2'-desoxicitidina, todos los ácidos trans-retinoicos, doxorubicina, vincristina, etopósido, gemcitabina, imatinib (Gleevec®), geldanamicina, 17-N-alilamino-17-demetoxigeldanamicina (17-AAG), flavopiridol, LY294002, bortezomib, trastuzumab, BAY 11-7082, PKC412 o PD184352, Taxol®, también denominado "paclitaxel", que es un fármaco contra el cáncer bien conocido que actúa mediante una mejora y estabilización de la formación de microtúbulos, y análogos de Taxol®, tales como Taxotere®. Se ha observado que los compuestos que tienen el esqueleto de taxano básico como una característica estructural común, también tienen la capacidad de detener el ciclo celular en las fases G2-M debido a microtúbulos estabilizados y pueden ser útiles para tratar el cáncer en combinación con los compuestos descritos en esta memoria.

Otros ejemplos de agentes contra el cáncer incluyen inhibidores de la señalización de la proteína cinasa activada por mitógeno, por ejemplo, U0126, PD98059, PD184352, PD0325901, ARRY-142886, SB239063, SP600125, BAY 43-9006, wortmanina o LY294002; inhibidores de Syk; inhibidores de mTOR; y anticuerpos (por ejemplo, rituxán).

Otros agentes contra el cáncer incluyen adriamicina, dactinomicina, bleomicina, vinblastina, cisplatino, acivicina; aclarrubicina; clorhidrato de acodazol; acronina; adozelesina; aldesleucina; altretamina; ambomicina; acetato de ametantrona; aminoglutetimida; amsacrina; anastrozol; antramincina; asparaginasa; asperlina; azacitidina; azetepa; azotomicina; batimastat; benzodepa; bicalutamida; clorhidrato de bisantreno; dimesilato de bisnafida; bizelesina; sulfato de bleomicina; brequinar sódico; bropirimina; busulfán; cactinomicina; calusterona; caracemida; carbetímero; carboplatino; carmustina; clorhidrato de carrubicina; carzelesina; cedefingol; clorambucil; cirolemicina; cladribina; mesilato de crisnatol; ciclofosfamida; citarabina; dacarbazina; clorhidrato de daunorrubicina; decitabina; dexormaplatino; dezaguanina; mesilato de dezaguanina; diazicuona; doxorubicina; clorhidrato de doxorubicina; droloxifeno; citrato de droloxifeno; propionato de dromostanolona; duazomicina; edatrexol; clorhidrato de eflornitina; elsamitrucina; enloplatino; enpromato; epipropidina; clorhidrato de epirubicina; erbulozol; clorhidrato de esorubicina; estramustina; fosfato sódico de estramustina; etanidazol; etopósido; fosfato de etopósido; etoprina; clorhidrato de fadrozol; fazarabina; fenretinida; floxuridina; fosfato de fludarabina; fluorouracilo; flurocitabina; fosquidona; fostriecina de sodio; gemcitabina; clorhidrato de gemcitabina; hidroxiaurea; clorhidrato de idarrubicina; ifosfamida; iimofosina; interleucina II (incluyendo interleucina recombinante II o rIL2), interferón alfa-2a; interferón alfa-2b; interferón alfa-n1; interferón alfa-n3; interferón beta-1 a; interferón gamma-1 b; iproplatino; clorhidrato de irinotecán; acetato de lanreotida; letrozol; acetato de leuprolida; clorhidrato de liarozol; lometrexol sódico; lomustina; clorhidrato de losoxantrona; masoprocol; maitansina; clorhidrato de mecloretamina; acetato de megestrol; acetato de melengestrol; melfalán; menogaril; mercaptopurina; metotrexato; metotrexato sódico; metoprina; meturedpa; mitindomida; mitocarcina; mitocromina; mitogilina; mitomalcina; mitomicina; mitospero; mitotano; clorhidrato de mitoxantrona; ácido micofenólico; nocodazoie; nogalamincina; ormaplatino; oxisurano; pegaspargasa; peliomincina; pentamustina; sulfato de peplomicina; perfosfamida; pipobromano; piposulfano; clorhidrato de piroxantrona; plicamicina; plomestano; porfímero sódico; porfiromincina; prednimustina; clorhidrato de procarbazona; puomicina; clorhidrato de puomicina; pirazofurina; riboprina; roglitimida; safingol; clorhidrato de safingol; semustina; simtraceno; esparfosato sódico; esparsomicina; clorhidrato de espirogermanol; espiromustina; espiroplatino; estreptonigrina; estreptozocina;

sulofenur; talisomicina; tecogalán sódico; tegafur; clorhidrato de teloxantrona; temoporfina; tenipósido; teroxirona; testolcatona; tiamiprina; tioguanina; tiotepa; tiazofurina; tirapazamina; citrato de toremifeno; acetato de trestolona; fosfato de triciribina; trimetrexato; glucuronato de trimetrexato; triptorelina; clorhidrato de tubulozol; mostaza de uracilo; uredepa; vapreotida; verteporfina; sulfato de vinblastina; sulfato de vincristina; vindesina; sulfato de vindesina; sulfato de vinepidina; sulfato de vinglicinato; sulfato de vinleurosina; tartrato de vinorelbina; sulfato de vinrosidina; sulfato de vinzolidina; vorozol; ceniplatino; cinostatina; clorhidrato de zorrubicina.

Otros agentes contra el cáncer incluyen: 20-epi-1,25 dihidroxivitamina D3; 5-etiniluracilo; abiraterona; aclarrubicina; acilfulveno; adecipenol; adozelesina; aldesleucina; antagonistas de ALL-TK; altretamina; ambamustina; amidox; amifostina; ácido aminolevulínico; amrubicina; amsacrina; anagrelida; anastrozol; andrografolida; inhibidores de la angiogénesis; antagonista D; antagonista G; antarelix; proteína-1 morfogenética anti-dorsalizante; antiandrógeno, carcinoma prostático; antiestrógeno; antineoplastón; oligonucleótidos antisentido; glicinato de afidicolina; moduladores de genes de la apoptosis; reguladores de la apoptosis; ácido apurínico; ara-CDP-DL-PTBA; desaminasa de arginina; asulacrina; atamestano; atrimustina; axinastatina 1; axinastatina 2; axinastatina 3; azasetrón; azatoxina; azatirosina; derivados de bacatina III; balanol; batimastat; antagonistas de BCR/ABL; benzoclorinas; benzoilestaurosporina; derivados de beta lactama; beta-aletina; betaclamina B; ácido betulínico; inhibidor de bFGF; bicalutamida; bisantreno; bisaziridinilespermina; bisnafida; bistrateno A; bizelesina; breflato; bropirimina; budotitano; butionina sulfoximina; calcipotriol; calfofina C; derivados de camptotecina; IL-2 de varicela de canario; capecitabina; carboxamida-amino-triazol; carboxiamidotriazol; CaRest M3; CARN 700; inhibidor del derivado de cartilago; carzelesina; inhibidores de la caseína cinasa (ICOS); castanospermina; cecropina B; cetorelix; clorlns; sulfonamida cloroquinoxalina; cicaprost; cis-porfirina; cladribina; análogos de clomifeno; clotrimazol; colismicina A; colismicina B; combretastatina A4; análogo de combretastatina; conagenina; crambescidina 816; crisnatol; criptoficina 8; derivados de criptoficina A; curacina A; ciclopentantraquinonas; cicloplatam; cipemicina; ocfosfato de citarabina; factor citolítico; citostatina; dacliximab; decitabina; deshidrodidemina B; deslorelinea; dexametasona; dexifosfamida; dexrazoxano; dextrerapamil; diaziacuona; didemina B; didox; dietilnoespermina; dihidro-5-azacitidina; 9-dioxamicina; difenil espiromustina; docosanol; dolasetrón; doxiluridina; droloxifeno; dronabinol; duocarmicina SA; ebseleno; ecomustina; edelfosina; edrecolomab; eflornitina; elemeno; emitofur; epirubicina; epristerida; análogo de estramustina; agonistas de estrógenos; antagonistas de estrógenos; etanidazol; fosfato de etopósido; exemestano; fadrozol; fazarabina; fenretinida; filgrastim; finasterida; flavopiridol; flezelastina; fluasterona; fludarabina; clorhidrato de fluorodaunorunicina; forfenimex; formestano; fostriecina; fotemustina; texafirina de gadolinio; nitrato de galio; galocitabina; ganirelix; inhibidores de gelatinasa; gemcitabina; inhibidores de glutatión; hepsulfam; heregulina; bisacetamida de hexametileno; hipericina; ácido ibandrónico; idarrubicina; idoxifeno; idramantona; ilmofofina; ilomastato; imidazoacridonas; imiquimod; péptidos inmunoestimulantes; inhibidor del receptor del factor de crecimiento similar a insulina-1; agonistas de interferón; interferones; interleucinas; iobenguano; yododoxorrubicina; ipomeanol, 4-; iroplact; irsogladina; isobengazol; isohomohalicondrina B; itasetrón; jasplacínolida; kahalalida F; triacetato de lamelarina-N; lanreotida; leinamicina; lenograstim; sulfato de lentinán; leptostatina; letrozol; factor inhibidor de leucemia; interferón alfa de leucocitos; leuprolida + estrógeno + progesterona; leuprorelina; levamisol; liarozol; análogo de poliamina lineal; péptido disacárido lipófilo; compuestos de platino lipófilos; lisoclinamida 7; lobaplatino; lombricina; lometrexol; lonidamina; losoxantrona; lovastatina; loxoribina; lurtotecán; texafirina de lutecio; lisofilina; péptidos líticos; maitansina; manostatina A; marimastat; masoprocol; maspina; inhibidores de matrilisina; inhibidores de la metaloproteinasas matricial; menogaril; merbarona; metelerlina; metioninasa; metoclopramida; inhibidor de MIF; mifepristona; miltefosina; mirimostim; ARN de doble cadena desemparejado; mitoguazona; mitolactol; análogos de mitomicina; mitonafida; mitotoxina factor de crecimiento de fibroblastos-saporina; mitoxantrona; mofaroteno; molgramostim; anticuerpo monoclonal, gonadotropina coriónica humana; monofosforil lípido A + sk de pared celular miobacteriana; mopidamol; inhibidor del gen de resistencia a múltiples fármacos; terapia basada en supresor tumoral múltiple 1; agente anticancerígeno de mostaza; micaperóxido B; extracto de pared celular micobacteriana; miriaporona; N-acetilidinalina; benzamidas sustituidas en N; nafarelinea; nagrestip; naloxona + pentazocina; napavina; nafterpina; nartograstim; nedaplatino; nemorrubicina; ácido neridrónico; endopeptidasa neutra; nilutamida; nisamicina; moduladores de óxido nítrico; antioxidante nitróxido; nitrulina; O6-bencilguanina; octreotida; oquicenona; oligonucleótidos; onapristón; ondansetrón; oracina; inductor de citocinas oral; ormaplatino; osaterona; oxaliplatino; oxaunomicina; palauamina; palmitoilrizoxina; ácido pamidrónico; panaxitriol; panomifeno; parabactina; pazeliptina; pegaspargasa; peldesina; polisulfato de pentosán sódico; pentostatina; pentrozol; perflubron; perfosfamida; alcohol perflíco; fenazinomicina; fenilacetato; inhibidores de la fosfatasa; picibanil; clorhidrato de pilocarpina; pirarrubicina; piritrexim; placetina A; placetina B; inhibidor del activador de plasminógeno; complejo de platino; compuestos de platino; complejo de platino-triamina; porfímero sódico; porfiromicina; prednisona; propil bis-acridona; prostaglandina J2; inhibidores del proteasoma; modulador inmune basado en proteína A; inhibidor de la proteína cinasa C; inhibidores de proteína cinasa C, microalgal; inhibidores de la proteína tirosina fosfatasa; inhibidores de la fosforilasa de nucleósidos de purina; purpurinas; pirazoloacridina; conjugado polioxiethylado de hemoglobina piridoxilada; antagonistas de raf; raltitrexed; ramosetrón; inhibidores de la proteína transferasa de ras farnesil; inhibidores de ras; inhibidor de ras-GAP; reteliptina desmetilada; etidronato de renio Re 186; rizoxina; ribozimas; retinamida RII; rogletimida; rohitucina; romurtida; roquinimex; rubiginona B1; ruboxilo; safingol; saintopina; SarCNU; sarcófitol A; sargramostim; miméticos de Sdi 1; semustina; inhibidor 1 derivado de senescencia; oligonucleótidos sentido; inhibidores de la transducción de señales; moduladores de la transducción de señales; proteína que se une a la cadena sencilla de antígeno; sizofirán; sobuzoxano; borocaptato de sodio; fenilacetato de sodio; solverol; proteína que se une a somatomedina; sonermina; ácido esparfósico; espicamicina D; espiromustina;

esplenopentina; espongiatina 1; escualamina; inhibidor de células madre; inhibidores de la división de células madre; estipiámina; inhibidores de estromelina; sulfinosina; antagonista del péptido intestinal superactivo vasoactivo; suradista; suramina; swainsonina; glicosaminoglicanos sintéticos; talimustina; metyoduro de tamoxifeno; tauromustina; tazaroteno; tecogalán sódico; tegafur; telurapirilio; inhibidores de la telomerasa; temoporfina; temozolomida; tenipósido; tetraclorodecaóxido; tetrazomina; taliblastina; tiocoralina; trombopoyetina; mimético de trombopoyetina; timalfasina; agonista del receptor de timopoyetina; timotrinán; hormona estimulante de la tiroides; etil etiopurpurina de estaño; tirapazamina; bicloruro de titanoceno; topsentina; toremifeno; factor de células madre totipotentes; inhibidores de la traducción; tretinoína; triacetiluridina; triciribina; trimetrexato; triptorelina; tropisetron; turosterida; inhibidores de la tirosina cinasa; tirfostinas; inhibidores de la UBC; ubenimex; factor inhibidor del crecimiento derivado del seno urogenital; antagonistas del receptor de urocinasa; vaporeotida; variolina B; sistema de vector, terapia génica con eritrocitos; velaresol; veramina; verdinas; verteporfina; vinorelbina; vinxaltina; vitaxina; vorozol; zanoterona; zeniplatino; zilascorb; y zinostatina estimalamer.

Todavía otros agentes contra el cáncer que incluyen agentes alquilantes, antimetabolitos, productos naturales u hormonas, por ejemplo, mostazas de nitrógeno (por ejemplo, mecloroetamina, ciclofosfamida, clorambucilo, etc.), sulfonatos de alquilo (por ejemplo, busulfán), nitrosoureas (por ejemplo, carmustina, lomustina, etc.) o triazenos (decarbазina, etc.). Ejemplos de antimetabolitos incluyen, pero no se limitan a análogo de ácido fólico (por ejemplo, metotrexato) o análogos de pirimidina (por ejemplo, Citarabina), análogos de purina (por ejemplo, mercaptopurina, tioguanina, pentostatina).

Ejemplos de productos naturales incluyen, pero no se limitan a alcaloides de la vinca (por ejemplo, vinblastina, vincristina), epipodofilotoxinas (por ejemplo, etopósido), antibióticos (por ejemplo, daunorrubicina, doxorrubicina, bleomicina), enzimas (por ejemplo, L-asparaginasa) o modificadores de la respuesta biológica (por ejemplo, interferón alfa).

Ejemplos de agentes alquilantes incluyen, pero no se limitan a, mostazas de nitrógeno (por ejemplo, mecloroetamina, ciclofosfamida, clorambucilo, melfalán, etc.), etilenimina y metilmelaminas (por ejemplo, hexametilmelamina, tiotepa), sulfonatos de alquilo (por ejemplo, busulfán), nitrosoureas (por ejemplo, carmustina, lomustina, semustina, estreptozocina, etc.) o triazenos (decarbазina, etc.). Ejemplos de antimetabolitos incluyen, pero no se limitan a, análogo de ácido fólico (por ejemplo, metotrexato) o análogos de pirimidina (por ejemplo, fluorouracilo, floxouridina, citarabina), análogos de purina (por ejemplo, mercaptopurina, tioguanina, pentostatina).

Ejemplos de hormonas y antagonistas incluyen, pero no se limitan a, adrenocorticosteroides (por ejemplo, prednisona), progestinas (por ejemplo, caproato de hidroxiprogesterona, acetato de megestrol, acetato de medroxiprogesterona), estrógenos (por ejemplo, dietilestilbestrol, etinil estradiol), antiestrógeno (por ejemplo, tamoxifeno), andrógenos (por ejemplo, propionato de testosterona, fluoximesterona), antiandrógeno (por ejemplo, flutamida), análogo de la hormona liberadora de gonadotropina (por ejemplo, leuprolida). Otros agentes que se pueden utilizar en los métodos y composiciones descritos en la presente memoria para el tratamiento o la prevención del cáncer incluyen complejos de coordinación de platino (por ejemplo, cisplatino, carboblatino), antracenediona (por ejemplo, mitoxantrona), urea sustituida (por ejemplo, hidroxurea), derivado de metilhidrazina (por ejemplo, procarbазina), supresor adrenocortical (por ejemplo, mitotano, aminoglutetimida).

En algunos casos, la detección y/o la cuantificación de la identidad y/o la cantidad de compuestos residuales de glicano presentes en una muestra biológica se utilizan para identificar y/o diagnosticar un trastorno asociado con la degradación, la biosíntesis y/o la acumulación anormal de glicano en un individuo sospechoso de tener un trastorno de ese tipo.

En algunos casos, la detección y/o la cuantificación de la identidad y/o la cantidad de compuestos residuales de glicano presentes en la muestra biológica se utiliza para realizar un seguimiento de la gravedad y del curso de la enfermedad en un individuo diagnosticado o que se sospecha que padece un trastorno asociado con la degradación, biosíntesis y/o acumulación anormal de glicanos. En algunos casos, la detección y/o la cuantificación de la identidad y/o la cantidad de compuestos residuales de glicano presentes en la muestra biológica se utilizan para calcular la dosis administrada de un agente que modula (por ejemplo, favorece y/o inhibe) la biosíntesis y/o la degradación de glicano.

En ciertos casos, en los que tras la administración de una dosis seleccionada de un agente terapéutico utilizado en un método terapéutico descrito en esta memoria, el estado de un individuo no mejora, la detección y/o la cuantificación de la identidad y/o la cantidad de compuestos residuales de glicano presentes en una muestra biológica, proporcionan un régimen de tratamiento que se va a modificar en función de la gravedad y el curso de la enfermedad, trastorno o afección, la terapia previa, el estado de salud del individuo y la respuesta a los fármacos y la opinión del médico encargado.

En ciertas realizaciones, realizar un seguimiento de la acumulación de glicanos en el individuo comprende detectar o cuantificar la cantidad de compuestos residuales de glicano (o uno o varios compuestos residuales de glicano) en una muestra obtenida a partir del individuo (por ejemplo, de acuerdo con cualquier método descrito en esta memoria) para obtener un primer resultado de acumulación (por ejemplo, una lectura inicial antes de comenzar con el tratamiento o en cualquier otro momento) y un segundo resultado de acumulación que es posterior a la obtención

del primer resultado. En algunas realizaciones, el segundo resultado se compara con el primer resultado para determinar si el tratamiento está reduciendo, manteniendo o reduciendo efectivamente la tasa de aumento de los niveles de compuestos residuales de glicano en una muestra obtenida de forma sustancialmente idéntica, a partir del individuo que está siendo tratado. En ciertas realizaciones, dependiendo de la diferencia entre el primer y el segundo resultado, el tratamiento se puede alterar, por ejemplo, para aumentar o disminuir la cantidad de agente administrado; para sustituir el agente terapéutico con un agente terapéutico alternativo; o similar. En ciertas realizaciones, la dosis del agente terapéutico disminuye a un nivel de mantenimiento (por ejemplo, si el nivel de compuesto residual de glicano se ha reducido suficientemente); un seguimiento adicional de los niveles de compuestos residuales de glicano es opcional en esa situación, por ejemplo, para asegurar que se alcanzan niveles reducidos o mantenidos de compuestos residuales de glicano (por ejemplo, monosacárido(s)).

Alternativamente, se proporciona en esta memoria un método para detectar una respuesta a una terapia en un individuo o un método para predecir una respuesta a una terapia en un individuo que comprende:

a. la administración de un agente para tratar un trastorno asociado con la degradación, biosíntesis y/o acumulación anormal de glicanos a una pluralidad de células de un individuo que lo requiere (por ejemplo, una pluralidad de fibroblastos, células del suero, plasma o LCR procedentes de un ser humano que padece un trastorno asociado con la degradación, biosíntesis y/o acumulación anormal de glicanos, tal como un LSD o un cáncer);

b. realizar un seguimiento de la acumulación de glicanos en la pluralidad de células usando cualquier procedimiento descrito en el presente documento para detectar o cuantificar la cantidad de compuestos residuales de glicano (por ejemplo, monosacáridos, sulfato, ácido siálico, fosfato, acetato o similares) presentes en una muestra biológica digerida con liasa a partir de la pluralidad de células de acuerdo con cualquier procedimiento descrito en esta memoria.

En realizaciones específicas, el o los compuestos residuales de glicano detectados o medidos son uno o varios monosacáridos. Se entiende que una pluralidad de células procedentes de un individuo incluye células que se toman directamente del individuo y/o células que se toman de un individuo, seguido de un cultivo para expandir la población de las mismas.

## Ejemplos

Ejemplo 1:

Para ilustrar los métodos descritos en el presente documento, hemos empleado una muestra de orina humana procedente de pacientes normales y pacientes con diagnóstico de MPS IIIA. Los pacientes con MPS IIIA tienen una función reducida de la enzima lisosómica que desulfata en N los residuos de glucosamina del extremo no reductor presentes en el sulfato de heparán. Este residuo de glicano único del extremo no reductor (GlcN sulfatada en N) se puede liberar mediante un tratamiento de los glicanos con liasas de heparina y se puede cuantificar por detección fluorescente en HPLC. Como se muestra a continuación, los glicanos preparados de esta manera procedentes de individuos normales, carecen de N-sulfato GlcN mientras que los pacientes con MPS IIIA tienen un nivel muy alto.

Purificación: La muestra biológica (células, tejido, sangre, suero o similares) se homogeneiza y solubiliza en NaOH 0,1 - 1,0 N (por ejemplo, 0,1 N, 0,2 N, 0,3 N, 0,4 N, 0,5 N, 0,6 N, 0,7 N, 0,8 N, 0,9 N o 1,0 N) o en ácido acético y después se neutraliza con ácido acético o NaOH. A continuación se toma una pequeña muestra para medir el contenido en proteína de la muestra utilizando métodos convencionales. Se tratan 0,01 - 0,5 mg/ml (0,01 mg/ml, 0,07 mg/ml, 0,12 mg/ml, 0,17 mg/ml, 0,22 mg/ml, 0,27 mg/ml, 0,32 mg/ml, 0,37 mg/ml, 0,42 mg/ml o 0,5 mg/ml) de proteasa (tripsina, quimotripsina, pepsina, pronasa, papaína o elastasa) en NaCl 0,1 - 0,5 M (por ejemplo, 0,1 M, 0,16 M, 0,23 M, 0,32 M, 0,39 M, 0,44 M o 0,5 M), NaOAc 0,01 - 0,1 M (por ejemplo, 0,01 M, 0,02 M, 0,04 M, 0,06 M, 0,08 M, 0,1 M), a pH 5,5 - 7,5 (por ejemplo, 5,5, 6,0, 6,5, 7,0 o 7,5) y 25 - 40 C (por ejemplo, 25 C, 30 C, 35 C o 40 C) durante 1 - 24 horas (por ejemplo, 1 h, 2 h, 4 h, 6 h, 8 h, 12 h, 18 h, 24 h). La muestra se diluye para reducir la fuerza iónica y se carga sobre una columna de intercambio iónico en NaOAc 5 - 100 mM (por ejemplo, 5 mM, 10 mM, 20 mM, 30 mM, 40 mM, 50 mM, 60 mM, 70 mM, 75 mM, 80 mM, 90 mM, 95 mM, 100 mM) pH 5 - 7, con NaCl 0 - 300 mM. Después del lavado, los glicosaminoglicanos unidos se eluyen con NaOAc 5 - 100 mM, pH 5 - 7 (por ejemplo, 5, 5,5, 6, 6,5, 7) con NaCl 0,8 - 3 M (por ejemplo, 0,8 M, 1 M, 1,2 M, 1,4 M, 1,6 M, 1,8 M, 2 M, 2,5 M o 3 M). Los glicanos eluidos se concentran después y se desalan mediante precipitación con etanol, exclusión por tamaño u otros métodos. Los glicanos purificados se secan para un análisis adicional.

Liberación del residuo del extremo no reductor: Los glicanos purificados se resuspenden en acetato de sodio 10 - 300 mM, tris, fosfato u otro tampón adecuado, acetato de calcio 0,02 - 1 mM (por ejemplo, 0,02, 0,04, 0,06, 0,08, 0,1, 0,2, 0,3, 0,4, 0,5, 0,6, 0,7, 0,8, 0,9 o 1), pH 5 - 8 (por ejemplo, 5, 5,5, 6, 6,5, 7, 7,5 u 8), se digieren con liasas de heparina I, II, III, I y II, I y III, II y III o I, II y III (0,015 - 1,5 miliunidades de cada una en reacciones de 100- $\mu$ l, IBEX, Montreal, Canadá) a 25 a 37°C durante 1 a 24 horas.

Marcado fluorescente del residuo de glicano: La muestra de glicano seca se resuspende en 2 - 100  $\mu$ L de AB, AA, AMAC o colorante Bodipy 0,003 - 0,1 M (por ejemplo, 0,003 M, 0,003 M, 0,03 M, 0,06 M, 0,1 M) y se incuba a temperatura ambiente durante 1 - 120 minutos (por ejemplo, 1-10 min, 10-15 min, 15-20 min, 20-25 min, 25-30 min,

30-40 min, 40-50 min, 50-60 min, 60-90 min, 90-120 min). A continuación, se inicia la reacción con 2 - 100  $\mu\text{L}$  de  $\text{NaCNBH}_4$  1 M (2  $\mu\text{L}$ , 5  $\mu\text{L}$ , 10  $\mu\text{L}$ , 15  $\mu\text{L}$ , 20  $\mu\text{L}$ , 25  $\mu\text{L}$ , 30  $\mu\text{L}$ , 40  $\mu\text{L}$ , 50  $\mu\text{L}$ , 60  $\mu\text{L}$ , 70  $\mu\text{L}$ , 80  $\mu\text{L}$ , 90  $\mu\text{L}$  o 100  $\mu\text{L}$ ) y se deja que la reacción prosiga a 25 - 100 C (por ejemplo, 25 C, 30 C, 35 C, 40 C, 50 C, 60 C, 70 C, 80 C, 90 C, 100 C).

5 Detección del residuo de glicano: La separación por HPLC de sacáridos marcados se realizó utilizando las siguientes condiciones: tipos de columna: 130A BEH partícula fenilo (1,7, 2,5, 3,5, 5 o 10  $\mu\text{M}$  de tamaño de partícula), 130A BEH partícula C18 (1,7, 2,5, 3,5, 5 o 10  $\mu\text{M}$  de tamaño de partícula), HSS partícula C18 (1,8, 3,5 o 5  $\mu\text{M}$  de tamaño de partícula) o 300A BEH partícula C18 (1,7, 3,5, 5, 10  $\mu\text{M}$  de tamaño) con longitud y diámetro interno adecuados.

10 Condiciones del tampón:

A = acetato de amonio, acetato de sodio o cloruro de sodio (por ejemplo, 0 M, 10 mM, 20 mM, 30 mM, 40 mM, 100 mM, 500 mM, 1 M, 2 M) con 0 - 20% de metanol

B = 100% de alcohol, tal como metanol, etanol o isopropanol

Condiciones iniciales: 70 - 95% de A, 0 - 30% de B

15 El caudal es constante a 0,05 - 1 ml/min

Se ejecuta un gradiente hacia abajo hasta 70 - 90% de A, 10 - 30% de B durante 5 - 65 min.

A 8,1 min se ejecuta un gradiente hasta 0 - 20% de A, 80 - 100% de B durante 5 - 20 min.

5 - 65 min se vuelve a las condiciones iniciales

20 La Figura 1 ilustra un registro de HPLC de los compuestos eluidos detectados en la orina de un paciente normal no sujeto a liberación enzimática de residuo de glicano (es decir, proporcionando señales de fondo). La Figura 2 ilustra un registro de HPLC de los compuestos eluidos detectados en orina de un paciente normal sujeto a liberación enzimática de residuo de glicano tal como se expone en el Ejemplo 1. La Figura 3 ilustra un registro de HPLC de los compuestos eluidos detectados en la orina de un paciente con MPS IIIA no sujeto a liberación enzimática de residuo de glicano (es decir, proporcionando señales de fondo). La Figura 4 ilustra un registro de HPLC de los compuestos eluidos detectados en la orina de un paciente con MPS IIIA sujeto a liberación enzimática de residuo de glicano.

Ejemplo 2:

Los procedimientos descritos en el Ejemplo 1 se repiten y/o se modifican para las enfermedades indicadas en las Tablas 1-4, utilizando las enzimas descritas ahí y detectando los compuestos residuales de glicano también descritos en las mismas.

30 Ejemplo 3: Análisis del NRE de células de MPS I, II, VI y VII.

Para demostrar la utilidad potencial de este enfoque, se cultivaron fibroblastos dérmicos de pacientes humanos con MPS I (deficiencia de la  $\alpha$ -iduronidasa [IDUA]) y de donantes humanos normales. Las células se expandieron y se mantuvieron en cultivo hasta 8 semanas para permitir una acumulación lisosómica significativa. Los GAGs restantes en la capa celular se extrajeron y se sometieron a una despolimerización enzimática seguida de aminación reductora con [ $^{12}\text{C}_6$ ]anilina. Las muestras se mezclaron con 10 pmoles de cada patrón disacárido insaturado con [ $^{13}\text{C}_6$ ]anilina y I0S0 marcado con [ $^{13}\text{C}_6$ ]anilina que se había sintetizado. Se buscaron todas las posibles estructuras candidatas (**Fig. 6**) y el cromatograma de iones extraídos se muestra en la **Fig. 7a**. Los picos 1-7 migraban conjuntamente con disacáridos insaturados conocidos y tenían los valores esperados de  $m/z$ . La muestra de MPS I tenía un pico adicional marcado por un asterisco que no estaba presente en la muestra normal de fibroblastos. Este pico tenía la misma posición de elución que el patrón I0S0 marcado con anilina (recuadro ampliado en la **Fig. 7a**). El espectro de masas de este pico proporcionó un  $m/z = 511,1$  y un grupo isotópico consistente con la estructura propuesta de I0S0 y una  $m/z = 517,1$  correspondiente y un grupo isotópico esperado para el patrón marcado con [ $^{13}\text{C}_6$ ]anilina (**Fig. 7b**). Además se llevó a cabo una verificación mediante disociación inducida por colisión (CID), que demostró una identidad estructural con el patrón I0S0 (**Fig. 10**). La digestión de sulfato de heparán de las células obtenidas a partir de pacientes con MPS I también produjo un disacárido de  $m/z = 591,1$  (**Fig. 11a**), consistente con la estructura I0S6. Este material migraba conjuntamente con el disacárido interno D2S0 y por lo tanto estaba contenido dentro del pico 6 en el cromatograma mostrado en la **Fig. 7a**. Sin embargo, se discriminaba fácilmente a partir de D2S0 mediante el detector de masas proporcionando la diferencia de 18 amu. Un tratamiento previo de una muestra de MPS I con  $\alpha$ -L-iduronidasa condujo a la pérdida de las estructuras de NRE naturales que confirmaban su identidad (**Figura 12**). Los fibroblastos de los tres pacientes diferentes con MPS I mostraban especies de NRE identificadas como I0S0 y I0S6. Estas entidades no se observaron en muestras preparadas a partir de fibroblastos humanos normales.

MPS II (deficiencia de idrono-2-sulfatasa [IDS]) y MPS VII (deficiencia de  $\beta$ -D-glucuronidasa [GLCA]) también afectan a la degradación de sulfato de heparán debido a defectos en el procesamiento del ácido urónico terminal no reductor (desulfatación del iduronato-2-sulfato y eliminación de ácido glucurónico, respectivamente). Disacáridos

saturados de NRE se detectaron después de la digestión de GAGs obtenidos a partir de fibroblastos de pacientes con MPS II y MPS VII (**Fig. 6** y **Figs. 11b** y **11c**). Los espectros de masas para los NREs de MPS II y sus posiciones en la elución eran consistentes con los biomarcadores de disacáridos esperados I2S0 y I2S6. Un análisis del sulfato de heparán de MPS VII era más complejo, produciendo cuatro disacáridos, que se identificaron tentativamente como G0A0, G0A6, G0S0 y G0S6. El tratamiento de muestras de MPS II con IDS recombinante convirtió los NRE a los encontrados en MPS I (I0S0 y I0S6, respectivamente; **Fig. 13**).

MPS I, MPS II y MPS VII también afectan a la degradación del sulfato de condroitina y sulfato de dermatán. El análisis de estos GAGs utilizando condroitinasa ABC produjo un conjunto de disacáridos de NRE para diagnóstico de cada trastorno (**Fig. 6**). MPS I produjo disacáridos de NRE monosulfatados I0a4 y I0a6, además del disacárido disulfatado I0a10 (**Fig. 11d**). MPS II produjo I2a4 y I2a6 (**Fig. 11e**) y MPS VII produjo G0a0, G0a4, G0a6 y G0a10 (**Fig. 11f**).

El análisis del sulfato de condroitina y sulfato de dermatán procedente de MPS VI (deficiencia de *N*-acetilgalactosamina 4-sulfatasa [G4S]) demostró la acumulación de *N*-acetilgalactosamina-4-sulfato (a4, **Fig. 6**), que migraba conjuntamente con un patrón a4 marcado con anilina (**Fig. 14**). Se debe tener en cuenta que a4 se determina parcialmente mediante cromatografía líquida a partir de 6-sulfo-*N*-acetilgalactosamina (a6) (panel inferior). Sin embargo, la muestra biológica proporcionaba predominantemente a4, lo que es consistente con la deficiencia en *N*-acetilgalactosamina 4-sulfatasa en esas células. No se detectaron especies de trisacáridos.

Ejemplo 4: Análisis de NRE en células MPS III.

La familia Sanfilippo de trastornos de MPS se analizó utilizando el mismo enfoque que anteriormente: MPS IIIA (deficiencia de sulfamidasa [SGSH]), MPS IIIB (deficiencia de  $\alpha$ -*N*-acetilglucosaminidasa [NAGLU]), MPS IIIC (deficiencia de *N*-acetiltransferasa [HGSNAT]) y MPS IIID (deficiencia de glucosamina-6-sulfatasa [GNS]). Estos trastornos solo afectan a la degradación lisosómica de sulfato de heparán y tienen en común deficiencias en las enzimas que procesan el residuo de glucosamina del NRE. Debido a que las heparinas liasas escinden los enlaces entre una unidad de glucosamina y un ácido urónico, se esperaba que el análisis del sulfato de heparán de Sanfilippo produjera monosacáridos para diagnóstico (derivados de glucosamina) o trisacáridos (derivados de glucosamina - ácido urónico - glucosamina) a partir del NRE, en contraposición a los disacáridos observados en MPS I, II y VII.

Un análisis de muestras de MPS IIIA mostró los disacáridos insaturados típicos generados a partir de segmentos internos de las cadenas y un pico único en 38,5 minutos no presente en la muestra de control u otras muestras de MPS. Este material tenía el espectro de masas característico esperado para *N*-sulfoglucosamina marcada con [<sup>12</sup>C<sub>6</sub>]anilina (S0, *m/z* = 335,1) y migraba junto con un patrón auténtico marcado con [<sup>13</sup>C<sub>6</sub>]anilina (*m/z* = 341,1; **Fig. 7c, recuadro**). El tratamiento de dos muestras diferentes de MPS IIIA con sulfamidasa antes de la despolimerización con heparinasa destruía el biomarcador S0, lo que es coherente con su identidad propuesta (**Fig. 15**). La digestión del sulfato de heparán de MPS IIIA también producía trisacáridos que variaban en el número de grupos acetato y sulfato (**Fig. 7c, dp3**). La especie más prominente dp3(0Ac,3S) se analizó mediante CID y proporcionó un patrón de fragmentación coherente con S0U2S0 (**Fig. 16a**). Aunque el ácido urónico podía ser ácido glucurónico, el ácido idurónico predomina en segmentos de la cadena que contienen unidades que se repiten de *N*-sulfoglucosamina.

Un análisis de muestras de MPS IIIB produjo tres trisacáridos del NRE, con valores de *m/z* consistentes con la presencia de 1-2 grupos acetato y 1-3 sulfatos (**Fig. 7d**). Ya que MPS IIIB se caracteriza por la falta de  $\alpha$ -*N*-acetilglucosaminidasa, el azúcar terminal debía ser *N*-acetilglucosamina, lo que se confirmó por análisis CID del trisacárido predominante (*m/z* = 794) identificado como A0U2S0 (**Fig. 16b**). Del mismo modo, se predijo que los NREs de MPS IIIC contendrían una amina libre sin sustituir debido a la deficiencia de glucosamina *N*-acetiltransferasa. Se detectaron cuatro trisacáridos, en donde todos carecían de grupos acetato (**Fig. 7e**). Un análisis CID de dp3(0Ac,3S) y una derivatización con anhídrido de propionilo sugirieron estructuras consistentes con H6U0S6 o H0U2S6 (**Fig. 16c**).

Las células de MPS IIID carecen de la 6-sulfatasa que puede eliminar el grupo 6-O-sulfato de las unidades terminales de *N*-acetilglucosamina. Un análisis del NRE del sulfato de heparán de MPS IIID detectó una sola especie de monosacárido con un valor de *m/z* de 335 que se corresponde a GlcNH<sub>2</sub>6S (H6) no sustituido en *N* (**Fig. 7f**). Aunque H6 es isobárico con S0 encontrado en MPS IIIA, su tiempo de retención era significativamente menor debido a la presencia de la amina sin sustituir y, en consecuencia esos marcadores se discriminaron fácilmente. Además, H6 en MPS IIID coelucía con el patrón H6 marcado con [<sup>13</sup>C<sub>6</sub>]anilina, lo que verificaba su identidad (**Fig. 7f, recuadro**). No se detectó *N*-acetilglucosamina-6-sulfato, ni había ninguna especie de NRE trisacárido que fuera portadora de una unidad terminal no reductora de *N*-acetilglucosamina sulfatada en 6-O (**Fig. 7f**).

Ejemplo 5: Uso de biomarcadores del NRE.

Aunque la mayoría de las muestras de GAG de MPS producían múltiples hidratos de carbono del NRE (**Fig. 6**), fue posible seleccionar NREs únicos individuales como biomarcadores para cada trastorno de MPS y luego combinarlos en un árbol de decisión basado en el tamaño de las estructuras del NRE (mono-, di- y trisacáridos), el grado de sulfatación y el tiempo de retención durante la cromatografía líquida (**Fig. 8**). El árbol de decisión para diagnóstico se

5 hace aún más robusto mediante la inclusión de otros biomarcadores de hidratos de carbono (**Fig. 6**), pero los NRE específicos indicados en la **Fig. 8** son suficientes para diagnosticar los ocho trastornos de MPS. Para determinar la utilidad potencial de esos marcadores para el diagnóstico, se escrutaron nueve muestras diferentes de orina humana procedentes de sujetos de control normales y pacientes que padecían diversos trastornos de Sanfilippo, así como dos muestras caninas de orina (una normal y una con MPS I) y GAGs de hígado, cerebro y riñón de ratones con MPS IIIB. Utilizando el esquema esbozado en la **Fig. 8**, todas las muestras se diagnosticaron correctamente (**Tabla 16**).

10 **Tabla 16. Análisis de muestras de GAG purificadas a partir de tejidos de ratón y orina humana y canina.** GAG se extrajo y se analizó en busca de biomarcadores de MPS de diagnóstico utilizando el esquema que se muestra en la Figura 8. Marcadores de diagnóstico: MPS I, I0S0; MPS II, I2S6; MPS IIIA, S0 y S0U2S0; MPS IIIB, A0U2S0; MPS IIIC dp3(0Ac,3S0<sub>4</sub>), un trisacárido que no contiene grupos acetato y tres grupos sulfato; MPS IIID, H6; MPS VI, a4; MPS VII, G0S0.

Tabla 16:

Muestra	Identidad de la muestra	Biomarcadores de NRE detectados	Análisis Sensi-Pro
Hígado, Ratón-1	No se ve afectado, Vehículo de MPS IIIB (Het)	Trazas	Normal
Hígado, Ratón-2	MPS IIIB	A0U2S0	MPSIIIB
Cerebro, Ratón-1	No se ve afectado, Vehículo de MPS IIIB (Het)	Trazas	Normal
Cerebro, Ratón-2	MPS IIIB	A0U2S0	MPSIIIB
Riñón, Ratón-1	MPS IIIB	A0U2S0	MPSIIIB
Orina, Ser humano-1	Normal	Trazas	Normal
Orina, Ser humano-2	Normal	Trazas	Normal
Orina, Ser humano-3	Normal	Trazas	Normal
Orina, Ser humano-4	Normal	Trazas	Normal
Orina, Ser humano-5	MPS IIIC	dp3(0Ac,3S0 <sub>4</sub> )	MPSIIIC
Orina, Ser humano-6	MPS IIIC	dp3(0Ac,3S0 <sub>4</sub> )	MPSIIIC
Orina, Ser humano-7	MPS IIIC	dp3(0Ac,3S0 <sub>4</sub> )	MPSIIIC
Orina, Ser humano-8	MPS IIIA	S0, S0U2S0	MPSIIIA
Orina, Ser humano-9	MPS IIIB	A0U2S0	MPSIIIB
Orina, Perro-1	No se ve afectado, Vehículo de MPS I (Het)	Trazas	Normal
Orina, Perro-2	MPS I	I0S0	MPS I

15 Un análisis de múltiples líneas celulares de MPS IIIA mostraba una acumulación notable del biomarcador S0, lo que se correspondía bien con el nivel de almacenamiento de sulfato de heparán (**Tabla 17**). Fibroblastos normales

produjeron pequeñas cantidades de S0. En general, las muestras procedentes de células, tejidos y orina normales mostraron menos del 1% de la cantidad de biomarcadores de NRE observada en muestras procedentes de pacientes o animales afectados.

Tabla 17:

5 **Cuantificación de marcadores en células de MPS IIIA y fibroblastos normales**

Línea celular	Actividad enzimática (unidades/mg)	Sulfato de heparán (nmol/mg de proteína celular)	Marcador de MPS IIIA: S0 (pmol/mg de proteína celular)
Normal	9 ± 0,7	0,59 ± 0,22	2 ± 2
GM00629	0,49 ± 0,12	33,6	670
GM00643	0,45 ± 0,08	28,4	720
GM00879	0,62 ± 0,02	17,3	490
GM00934	0,46 ± 0,07	16,6	470
GM06110	0,55 ± 0,36	6,8	220

10 Se analizaron cinco fibroblastos normales (CRL-1634 (fibroblastos de prepucio humano), GM00200 (hermano clínicamente no afectado de un paciente con leucodistrofia metacromática), GM05659, GM08398 y GM15871 (hermano clínicamente no afectado de un paciente con Ehlers-Danlos). Se proporcionan los valores promedio ± desviación estándar. Los valores para las diferentes líneas de MPS IIIA representan análisis por duplicado de la actividad enzimática y determinaciones individuales del almacenamiento de sulfato de heparán y el biomarcador S0.

15 La detección del almacenamiento lisosómico basada en el contenido de GAG en el cerebro y la orina ha sido un reto debido a diversos métodos usados para la detección y la cuantificación, en particular técnicas indirectas basadas en la unión de un colorante o el desplazamiento. Las muestras de orina y cerebrales procedentes de ratones con MPS IIIA (Sgsh<sup>-/-</sup>) y de tipo silvestre y fibroblastos humanos de MPS IIIA, se analizaron utilizando el esquema descrito en la **Figura 8**. Usando ese método, el sulfato de heparán total y el biomarcador S0 mostraban una acumulación 12 veces mayor en las muestras de orina de MPS IIIA, que en comparación con el tipo silvestre (**Fig. 9a**). El biomarcador de trisacárido S0U2S0 era fácilmente detectable en la orina Sgsh<sup>-/-</sup>, pero era prácticamente indetectable en la orina de tipo silvestre. En muestras de cerebro, el nivel de sulfato de heparán se elevaba 12 veces, mientras que el biomarcador S0 aumentaba 60 veces en comparación con el tipo silvestre (**Fig. 9b**). El marcador de trisacárido estaba presente esencialmente solo en la muestra de Sgsh<sup>-/-</sup>.

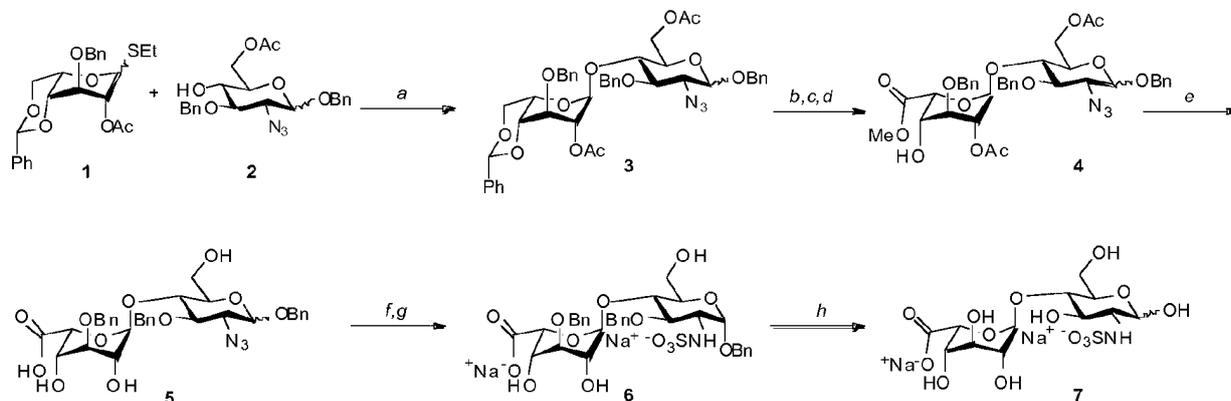
20 Con el fin de someter a ensayo si las estructuras de NRE permiten un ensayo más preciso y sensible para supervisar el reemplazo terapéutico de enzimas, cultivos de fibroblastos humanos con MPS IIIA se complementaron con sulfamidasa recombinante durante 48 horas antes de la extracción y el análisis de GAG. El reemplazo enzimático conducía a una reducción significativa del sulfato de heparán y ambos biomarcadores, S0 y S0U2S0 (**Fig. 9c**). Por tanto, los biomarcadores del NRE, en particular, los trisacáridos, son útiles para el seguimiento de la eficacia terapéutica de las estrategias de intervención.

## Ejemplo 6: Síntesis de I0S0.

30 Todas las reacciones sensibles a la humedad se realizaron bajo una atmósfera de argón usando material de vidrio secado a vacío. Todos los materiales comerciales se usaron sin purificación, a menos que se indique lo contrario. CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> estaba recién destilado a partir de hidruro de calcio bajo nitrógeno antes del uso. Tolueno, DMF, éter dietílico, metanol y THF se adquirieron en forma anhidra y se usaron sin una purificación adicional. Los tamices moleculares (4 Å) se activaron con llama a vacío antes del uso. Todas las reacciones se realizaron a temperatura ambiente a menos que se especifique lo contrario. El análisis de TLC se llevó a cabo sobre gel de sílice 60 F254 (EMD Chemicals Inc.) con detección por absorción UV (254 nm) en su caso y por pulverización con ácido sulfúrico al 20% en etanol seguido de carbonización a ~150°C o por pulverización con una solución de (NH<sub>4</sub>)<sub>6</sub>Mo<sub>7</sub>O<sub>24</sub> H<sub>2</sub>O (25 g/L) en ácido sulfúrico al 10% en etanol seguido de carbonización a ~150°C. La cromatografía en columna se realizó sobre gel de sílice G60 (Silicycle, 60-200 µM, 60 Å) o en Bondapak C-18 (Waters). Los espectros de <sup>1</sup>H y <sup>13</sup>C RMN se registraron en espectrómetros Varian Inova-300 (300/75 MHz), Inova-500 (500/125 MHz) e Inova-600 (600/150 MHz) equipados con estaciones de trabajo Sun. Los desplazamientos químicos se expresan en partes por millón (ppm) en relación con tetrametilsilano (TMS) como patrón interno. Los datos de RMN se presentan del modo siguiente: desplazamiento químico, multiplicidad (s = singlete, d = doblete, t = triplete, dd = doblete de doblete, m =

multiplete y/o resonancias múltiples), constante de acoplamiento en Hertz (Hz), integración. Todas las señales de RMN se asignaron basándose en experimentos  $^1\text{H}$  RMN,  $^{13}\text{C}$  RMN, COSY y HSQC. Los espectros de masas se registraron en un analizador de proteómica 5800 MALDI-TOF de Applied Biosystems. La matriz utilizada era ácido 2,5-dihidroxi-benzoico (DHB) y Ultramark 1621 como patrón interno.

- 5 La síntesis de  $\beta$ -D-idopiranosiluronato)-(1 $\rightarrow$ 4)-(2-*N*-sulfoamino-2-desoxi- $\alpha$ / $\beta$ -D-glucopiranosido) (7) (I0S0) se describe a continuación:



a) NIS, TMSOTf, 0°C, DCM, 73%; b) EtSH, *p*-TsOH, 96%; c) TEMPO, BAIB, DCM, H<sub>2</sub>O, 1 h; d) CH<sub>2</sub>N<sub>2</sub>, THF (2 etapas, 83%); e) LiOH 0,22 M, THF, 99%; f) PMe<sub>3</sub>, NaOH, THF; g) Et<sub>3</sub>N, SO<sub>3</sub>Py, NaOH, (2 etapas, 66%); h) Pd(OH)<sub>2</sub>/C, H<sub>2</sub>, 83%.

10

**Bencil (2-*O*-acetil-3-*O*-bencil-4,6-*O*-bencilideno- $\beta$ -D-glucopiranosil)-(1 $\rightarrow$ 4)-6-*O*-acetil-2-azido-3-*O*-bencil-2-desoxi- $\alpha$ / $\beta$ -D-glucopiranosido (3):** Donante de glicosilo **1** (467 mg, 1,05 mmol) y aceptor de glicosilo **2** (877 mg, 0,375 mmol) se combinaron en un matraz, se evaporaron junto con tolueno (3 x 3 ml) y se disolvieron en DCM (8,7 ml). Se añadieron tamices moleculares de 4 Å en polvo recién activados y la mezcla se agitó durante 30 min a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se enfrió (0°C) y se añadió NIS (0,236 g, 1,052 mmol) y TMSOTf (19,08  $\mu$ L, 0,105 mmol) y la agitación continuó hasta que la TLC indicó el consumo de donante (~10 min). A continuación, la mezcla se inactivó con Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> acuoso de y se extrajo con DCM (2 x 10 ml). Las capas orgánicas combinadas se secaron (MgSO<sub>4</sub>) y se filtraron y el filtrado se concentró *a vacío*. El residuo se purificó por cromatografía en gel de sílice usando gradiente en etapas de tolueno y EtOAc (100-80%) para proporcionar disacárido **3** (658 mg, 73%).  $^1\text{H}$  RMN (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  7,44-7,25 (m, 30H, CH aromático), 5,28 (s, 2H, CH bencilideno x 2), 5,00-4,96 (m, 4H, H<sub>2</sub>, H'<sub>1</sub>, H<sub>1</sub> $\alpha$ , H'<sub>2</sub> CHH Bn), 4,92 (d, 1H, *J* = 11,5 Hz, CHH Bn), 4,84 (d, 1H, *J* = 11,0 Hz, CHH Bn), 4,80 (d, 1H, *J* = 11,0 Hz, CHH Bn), 4,76-4,55 (m, 10H, CHH Bn x 4, CHH Bn x 2, CHH Bn x 2, H<sub>6</sub> $\beta$  $\alpha$ ,  $\beta$ ), 4,45 (dd, 1H, *J* = 2,0 Hz, *J* = 12,5 Hz, H<sub>6</sub> $\alpha$ ), 4,35 (d, 1H, *J* = 8,0 Hz, H<sub>1</sub> $\beta$ ), 4,14 (t, 1H, *J* = 3,5 Hz, H<sub>5</sub> $\alpha$ ), 4,11 (t, 1H, *J* = 4,0 Hz, H<sub>6</sub> $\beta$ ), 3,91-3,75 (m, 3H, H'<sub>5</sub>, H'<sub>4</sub>, H<sub>4</sub> $\beta$ ), 3,71 (bs, 1H, H'<sub>3</sub>), 3,51 (m, 1H, H<sub>2</sub> $\beta$ ), 3,44-3,42 (m, 2H, H<sub>5</sub> $\beta$ , H<sub>2</sub> $\alpha$ ), 3,25 (t, 1H, *J* = 9,5 Hz, H<sub>3</sub> $\beta$ ), 3,19 (d, 1H, *J* = 11,0 Hz, H'<sub>6</sub> $\beta$ ), 3,10 (d, 1H, *J* = 11,5 Hz, H'<sub>6</sub> $\alpha$ ),  $^{13}\text{C}$  RMN (75,5 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  170,4, 170,2, 138,1, 137,9, 137,6, 128,9, 128,4, 128,3, 128,0, 127,9, 127,9, 127,6, 127,4, 127,1, 126,1, 100,4, 98,0, 97,0, 81,2, 77,4, 77,0, 76,5, 75,0, 74,9, 73,8, 73,7, 73,5, 72,1, 69,0, 69,0, 67,1, 62,3, 60,3, 33,9, 24,8, 20,9, 20,8, 19,9, 19,8, 18,4, 18,3, -2,1, -3,3. HRMS-MALDI: (M + Na<sup>+</sup>) calculado para C<sub>44</sub>H<sub>47</sub>N<sub>3</sub>O<sub>12</sub>, 809,3159, encontrado 809,3155.

15

20

25

30

**Bencil (metil 2-*O*-acetil-3-*O*-bencil- $\beta$ -D-idopiranosiluronato)-(1 $\rightarrow$ 4)-(6-*O*-acetil-2-azido-3-*O*-bencil-2-desoxi- $\alpha$ / $\beta$ -D-glucopiranosido) (4):** A una solución del disacárido **3** (0,633 g, 0,781 mmol) en DCM se añadió etanotiol (0,345 ml, 4,68 mmol) y *p*-TsOH (29,6 mg, 0,156 mmol). La mezcla de reacción resultante se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. La mezcla de reacción se inactivó con Et<sub>3</sub>N y se concentró *a vacío*. El residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice usando un gradiente por etapas de tolueno y EtOAc (100-80%) para proporcionar diol puro (0,543 g, 96%). A una solución agitada fuertemente de diol (0,533 g, 0,738 mmol) en una mezcla de DCM: H<sub>2</sub>O (0,15 M, 2/1, v/v) se añadió TEMPO (22,96 mg, 0,147 mmol) y BAIB (0,594 g, 1,845 mmol). Se continuó la agitación hasta que la TLC indicó la conversión completa del material de partida a una mancha de R<sub>f</sub> menor (~45 min). La mezcla de reacción se inactivó con Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> acuoso y la mezcla resultante se extrajo con EtOAc (2 x 10 ml) y las capas orgánicas combinadas se secaron (MgSO<sub>4</sub>) y se filtraron y el filtrado se concentró *a vacío*. El residuo oleoso se disolvió en THE (0,1 M) y se trató con un exceso de solución etérea preparada recientemente de diazometano hasta que la mezcla de reacción se volvió amarilla. El exceso de diazometano se inactivó mediante la adición de AcOH hasta que la mezcla se volvió incolora. La mezcla se concentró *a vacío* y el residuo se evaporó junto con tolueno. El residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice usando un gradiente en etapas de EtOAc tolueno (100-50%) para proporcionar el compuesto **4** (0,34 g, 83%, 2 etapas).  $^1\text{H}$  RMN (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  7,39-7,15 (m, 30H, CH aromático), 5,06 (bs, 2H, H'<sub>1</sub>), 4,98 (d, 1H, *J* = 3,5 Hz, H<sub>1</sub> $\alpha$ ), 4,92-4,88 (m, 3H, H'<sub>2</sub>, H'<sub>5</sub>, CHH Bn), 4,74-4,58 (m, 7H, CHH Bn x 4, CHH Bn x 3), 4,50 (dd, 2H, *J* = 1,5 Hz, 12,0 Hz, H<sub>6</sub> $\beta$  $\alpha$ , H<sub>6</sub> $\beta$ ), 4,36 (d, 1H, *J* = 12,5 Hz, H<sub>6</sub> $\alpha$ ), 4,31 (d, 1H, *J* = 8,0 Hz, H<sub>1</sub> $\beta$ ), 4,22-4,18 (m, 2H, H<sub>5</sub> $\alpha$ , H<sub>6</sub> $\beta$ ), 3,96 (bt, 1H, *J* = 10,0 Hz, H'<sub>4</sub>), 3,88-3,85 (m, 3H, H<sub>3</sub> $\alpha$ , H<sub>4</sub> $\alpha$ , H<sub>4</sub> $\beta$ ), 3,71 (d, 2H, *J* = 2,5 Hz, H'<sub>3</sub>), 3,49-3,47 (m, 1 H, H<sub>2</sub> $\beta$ ), 3,45

45

(s, 3H, CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 3,41-3,36 (m, 2H, H<sub>2</sub>α, H<sub>5</sub>β), 3,25 (t, 1H, *J* = 9,5 Hz, H<sub>3</sub>β), 2,10 (s, 3H, CH<sub>3</sub> Ac), 2,06 (s, 3H, CH<sub>3</sub> Ac), <sup>13</sup>C RMN (75,5 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 170,5, 170,5, 169,4, 169,3, 169,1, 137,8, 137,7, 137,1, 136,4, 128,9, 128,5, 128,4, 128,1, 128,1, 128,0, 127,8, 127,4, 127,3, 127,3, 125,2, 100,2, 97,9, 96,6, 81,1, 78,4, 77,4, 77,0, 76,6, 75,0, 74,6, 74,4, 74,3, 74,3, 73,1, 72,2, 70,8, 69,8, 69,3, 68,4, 67,6, 67,1, 67,0, 66,2, 63,4, 62,0, 51,9, 20,8. HRMS-MALDI: (M + Na<sup>+</sup>) calculado para C<sub>38</sub>H<sub>43</sub>N<sub>3</sub>O<sub>13</sub>, 749,2795, encontrado 749,2790.

**Bencil (3-O-bencil-β-D-idopiranosiluronato)-(1→4)-(2-azido-3-O-bencil-2-desoxi-α/β-D-glucopiranosido) (5):** A una solución del compuesto **4** (70 mg, 0,09 mmol) en THF (1,4 ml) se añadió LiOH (0,4 ml, 0,1 M) a temperatura ambiente. Se continuó agitando durante 40 min, después de lo cual la mezcla de reacción se llevó a pH 9,0 mediante la adición de HCl acuoso (1,0 M), la mezcla resultante se concentró a vacío y el residuo se purificó por cromatografía en columna sobre Latrobeads utilizando un gradiente por etapas de tolueno y metanol (100-70%). Las fracciones apropiadas se concentraron a vacío, para proporcionar el compuesto **5** (60 mg, 99%). <sup>1</sup>H RMN (500 MHz, CD<sub>3</sub>OD): δ 7,44-7,23 (m, 30H, aromático), 5,04-4,98 (m, 4H, H'1, H1α, CHH Bn, CHH Bn), 4,94 (d, 2H, *J* = 12,0 Hz, CHH Bn), 4,92-4,75 (m, 3H, CHH Bn, CHH Bn, CHH Bn), 4,70 (d, 1H, *J* = 12,0 Hz, CHH Bn), 4,63 (t, 2H, *J* = 10,5 Hz, CHH Bn, CHH Bn), 4,58 (d, 1H, *J* = 12,0 Hz, CHH Bn), 4,44 (d, 1H, *J* = 8,0 Hz, H1β), 4,41 (dd, 2H, *J* = 4,5 Hz, *J* = 19,0 Hz, H6βα, H'5), 4,12 (t, 1H, *J* = 9,5 Hz, H4α), 4,04 (t, 1H, *J* = 9,5 Hz, H4β), 3,98-3,79 (m, 5H, H6α,β, H6α, H5α, H3α), 3,57-3,52 (m, 4H, H'2 x 2, H'3 x 2), 3,46-3,43 (m, 2H, H3β, H5β), 3,39-3,35 (m, 2H, H2α, H2β), <sup>13</sup>C RMN (75,5 MHz, CD<sub>3</sub>OD): δ 176,7, 140,2, 140,0, 138,7, 129,3, 129,2, 129,0, 128,3, 101,9, 101,3, 101,2, 98,2, 82,5, 82,2, 82,0, 79,4, 77,5, 77,0, 76,6, 76,0, 75,7, 75,0, 74,9, 73,8, 73,3, 73,0, 72,8, 72,4, 72,2, 71,9, 70,5, 67,9, 64,3, 62,2, 62,1, 49,9, 49,7, 49,4, 49,1, 48,8, 48,5, 48,2; HRMS-MALDI: (M + Na<sup>+</sup>) calculado para C<sub>33</sub>H<sub>37</sub>N<sub>3</sub>O<sub>11</sub>, 651,2428, encontrado 651,2422.

**Bencil (3-O-bencil-β-D-idopiranosiluronato)-(1→4)-(2-N-sulfoamino-3-O-bencil-2-desoxi-α-D-glucopiranosido) (6):** A una solución de compuesto **5** (20 mg, 0,03 mmol) en THF (2 ml) se añadió solución 1,0 M de PM<sub>3</sub> en THF (0,24 ml, 0,24 mmol) y NaOH (0,1 M, 3,0 ml, 0,3 mmol). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 h y el progreso de la reacción se siguió por TLC (H<sub>2</sub>O/acetoneitrilo, 10/90, v/v). La presencia del grupo amino se indicó usando ninhidrina como agente de visualización. Después de la finalización de la reacción, el pH se ajustó a 9,0 mediante una adición cuidadosa de HCl acuoso (0,1 M). La mezcla se concentró a vacío y el residuo se evaporó junto con tolueno. A una solución del residuo bruto en metanol anhidro (5,0 ml) se añadió trióxido de piridinio azufre (23,8 mg, 0,15 mmol) y trietilamina (1,5 ml, 0,30 mmol) e hidróxido sódico (0,6 ml, 0,06 mmol). Se continuó la agitación a temperatura ambiente durante 1 h hasta que la TLC RP-018 (H<sub>2</sub>O/metanol, 60/40, v/v) indicó la desaparición del material de partida. La mezcla se evaporó junto con tolueno a vacío y se disolvió en H<sub>2</sub>O y se pasó a través de una columna corta de resina Na<sup>+</sup> de Bio-Rad 50 x 8 (0,6 x 2,5 cm). El residuo se aplicó a una pequeña columna RP-018, que eluyó con un gradiente por etapas de agua y metanol (90/10 a 60/40, v/v). Las fracciones apropiadas se liofilizaron para proporcionar el compuesto **6** (15 mg, 66%). <sup>1</sup>H RMN (500 MHz, CD<sub>3</sub>OD): δ 7,53-7,23 (m, 15H, CH aromático), 5,38 (d, 1H, *J* = 3,5 Hz, H1α), 4,96 (d, 1H, *J* = 4,5 Hz, H'1), 4,92 (d, 1H, *J* = 10,5 Hz, CHH Bn), 4,87-4,73 (m, 5H, CHH Bn, CHH Bn, CHH Bn, CHH Bn, CHH Bn), 4,59 (d, 1H, *J* = 11,0 Hz, CHH Bn), 4,46 (bs, 1H, H'5), 4,01-3,99 (m, 2H, H'4, H4α), 3,85-3,83 (m, 2H, H6a,b), 3,74 (bd, 1H, *J* = 9,5 Hz, H5α), 3,68 (t, 1H, *J* = 10 Hz, H3α), 3,56 (m, 3H, H2α, H'2, H'3), <sup>13</sup>C RMN (75,5 MHz, D<sub>2</sub>O): δ 176,8, 140,1, 139,53, 129,4, 129,4, 129,2, 129,1, 129,0, 128,5, 128,3, 102,5, 100,5, 80,1, 79,9, 78,1, 74,6, 73,9, 73,5, 72,2, 71,7, 71,6, 71,1, 63,4, 58,2, 49,8, 49,5, 49,3, 49,0, 48,7, 48,4, 48,1.

**β-D-idopiranosiluronato)-(1→4)-(2-N-sulfoamino-2-desoxi-α/β-D-glucopiranosido (7):** Pd/(OH)<sub>2</sub> sobre carbono (tipo Degussa, 20%, 1,5 veces el peso del material de partida) se añadió a la solución de compuesto **6** (4 mg, 6 μmol) en tBuOH y H<sub>2</sub>O (1/1, v/v, 2 ml) y después se colocó bajo atmósfera de hidrógeno. La reacción se completó después de 16 h indicado mediante TLC C18 (H<sub>2</sub>O/acetoneitrilo, 10/90, v/v). La mezcla se filtró a través de Celite y el filtrado se concentró a vacío. El residuo se volvió a disolver en agua y después se pasó a través de una columna corta de resina Na<sup>+</sup> de 50 x 8 Bio-Rad (0,6 x 2,5 cm) utilizando H<sub>2</sub>O como eluyente. Las fracciones apropiadas se liofilizaron para proporcionar el compuesto **7** (2 mg, 83%). <sup>1</sup>H RMN (500 MHz, D<sub>2</sub>O), α-anómero: δ 5,45 (d, 1H, *J* = 3,5 Hz, H1α), 4,81 (t, 2H, *J* = 6,0 Hz, H'1), 4,52 (t, 2H, *J* = 4,5 Hz, H'5), 3,94-3,85 (m, 1H, H5α), 3,84-3,80 (m, 3H, H'4, H6a,b), 3,74-3,61 (m, 3H, H3α, H4α, H'3), 3,47-3,44 (m, 1H, H'2), 3,26 (dd, 1H, *J* = 3,5 Hz, *J* = 10,0 Hz, H2α); <sup>13</sup>C RMN (150 MHz, D<sub>2</sub>O): δ 176,6, 101,2, 91,2, 78,2, 72,7, 71,7, 71,3, 70,5, 69,6, 60,2, 58,2.

## REIVINDICACIONES

1. Un método para determinar en un individuo la presencia, la identidad y/o la gravedad de una enfermedad o una afección asociada con una biosíntesis, degradación o acumulación anormal de glicano, comprendiendo el método:

5 (a) generar un primer biomarcador que comprende un compuesto residual de glicano, en donde el primer biomarcador se genera mediante el tratamiento de una población de glicanos, en una muestra biológica o aislada a partir de la misma, procedente del individuo sospechoso de padecer una enfermedad o una afección asociada con una acumulación, biosíntesis y/o degradación anormal de glicano, con al menos una enzima que digiere glicano, en donde el primer biomarcador es un compuesto residual de glicano con extremo no reductor;

10 (b) generar un segundo biomarcador que comprende un compuesto residual de glicano, en donde el segundo biomarcador se genera mediante el tratamiento de una población de glicanos, en una muestra biológica o aislada a partir de la misma, procedente del individuo sospechoso de padecer una enfermedad o una afección asociada con una acumulación, biosíntesis y/o degradación anormal de glicano, con al menos una enzima que digiere glicano en la misma etapa o en una etapa diferente de la digestión que la que se proporciona en la etapa (a), en donde

15 1) el segundo biomarcador es un compuesto residual de glicano con extremo reductor;

2) el segundo biomarcador es un compuesto residual de glicano interno, o

20 3) cuando se sospecha que el individuo padece una enfermedad o una afección asociada con una acumulación, biosíntesis y/o degradación anormal de glicano, el segundo biomarcador es un biomarcador generado mediante un tratamiento del primer biomarcador de compuesto residual de glicano con extremo no reductor con la enzima de degradación de glicano que está funcionando de manera anormal en dicha enfermedad o afección que se sospecha que padece el individuo;

(c) usar un instrumento analítico para detectar la presencia y/o medir la cantidad del primer y segundo biomarcador producido y mostrar o registrar la presencia o una medida de una población del primer y segundo biomarcador, y

25 (d) realizar un seguimiento y/o comparar las cantidades del primer y segundo biomarcador en la muestra biológica, determinando una relación del primer biomarcador con el segundo biomarcador en el individuo sospechoso de padecer una enfermedad o una afección asociada con una acumulación, biosíntesis y/o degradación anormal de glicano;

30 en donde la relación del primer biomarcador con el segundo biomarcador se utiliza para determinar la presencia, la identidad y/o la gravedad de la enfermedad o afección,

en donde antes del tratamiento enzimático, el primer y el segundo biomarcador no están presentes en abundancia en las muestras procedentes de una población de individuos con la enfermedad o la afección en relación con una población de individuos sin la enfermedad o la afección.

35 2. El método según la reivindicación 1, en donde la enfermedad o la afección está causada por una enzima de degradación de glicano que funciona anormalmente y en donde la enzima de degradación de glicano que funciona anormalmente y la enzima que digiere glicano son del mismo tipo.

3. El método según la reivindicación 1, en donde el compuesto residual de glicano con extremo no reductor es un monosacárido.

40 4. El método según la reivindicación 1, en donde el compuesto residual de glicano con extremo no reductor no es un monosacárido.

45 5. El método según la reivindicación 1, en el que el segundo biomarcador se obtiene o se genera a partir del extremo reductor del mismo glicano a partir del cual se había generado el primer biomarcador de compuesto residual de glicano con extremo no reductor, o en el que el segundo biomarcador se obtiene o se genera a partir de las estructuras internas de oligosacáridos del mismo glicano a partir del cual se había generado el primer biomarcador de compuesto residual de glicano con extremo no reductor.

6. El método según la reivindicación 1, en el que la enfermedad o la afección asociada con una biosíntesis, degradación o acumulación anormal de glicano es una enfermedad de almacenamiento lisosómico.

7. El método según la reivindicación 6, en el que la enfermedad de almacenamiento lisosómico es mucopolisacaridosis.

50 8. El método según la reivindicación 7, en el que la mucopolisacaridosis es MPS I, II, IIIA, IIIB, IIIC, IIID, IVA, IVB, VI o VII.

9. El método según la reivindicación 1, en el que la enfermedad o la afección asociada con una biosíntesis, degradación o acumulación anormal de glicano es leucodistrofia metacromática o enfermedad de Krabbe.
10. El método según la reivindicación 1, en el que la enfermedad o la afección asociada con una biosíntesis, degradación o acumulación anormal de glicano es gangliosidosis y en donde la gangliosidosis es gangliosidosis de Tay Sachs, Sandhoff, variante AB o GM-1.
- 5
11. El método según la reivindicación 1, en el que la relación del primer biomarcador con el segundo biomarcador se utiliza para realizar un seguimiento del tratamiento de un trastorno asociado con la biosíntesis anormal de glicanos.
12. El método según la reivindicación 11, en el que el tratamiento es una terapia de reemplazo enzimático.
- 10
13. El método según la reivindicación 11 o la reivindicación 12, en el que la ausencia de un aumento en el segundo biomarcador combinada con una reducción en el biomarcador de compuesto residual de glicano con extremo no reductor indica una respuesta positiva a un tratamiento del trastorno asociado con una degradación o acumulación anormal de glicanos.

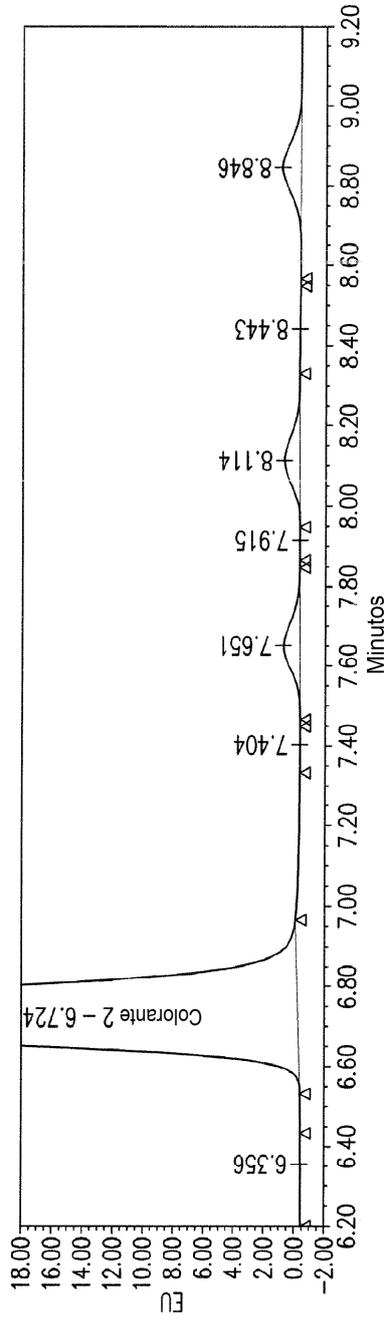


FIG. 1

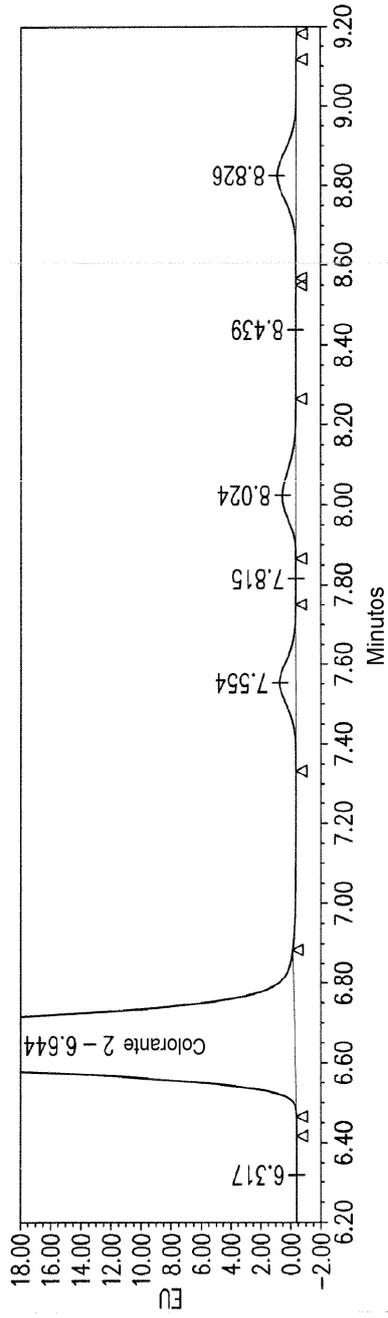


FIG. 2

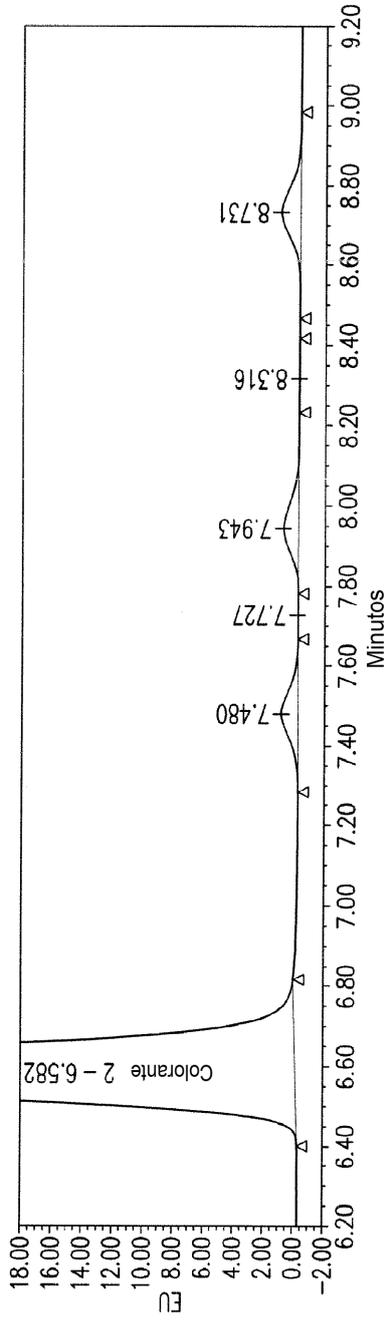


FIG. 3

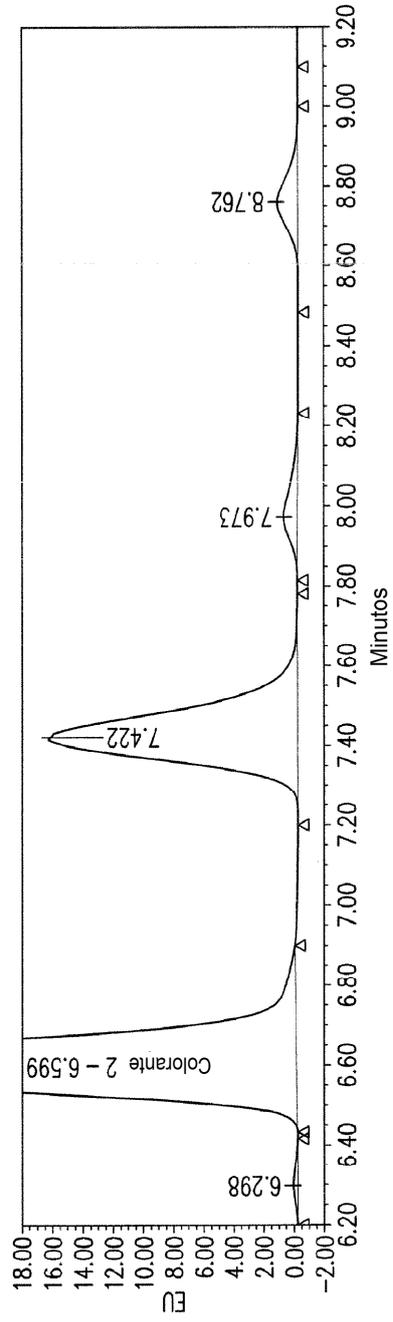


FIG. 4

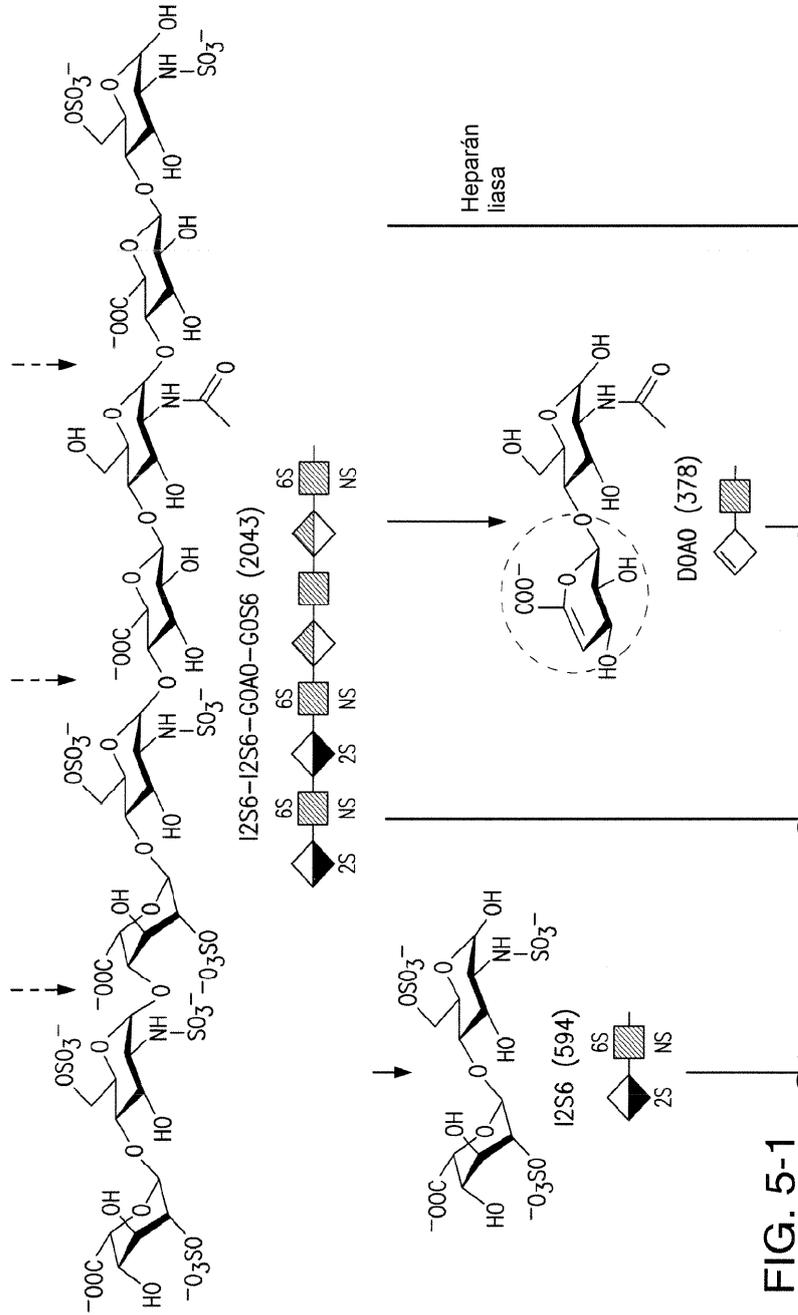


FIG. 5-1

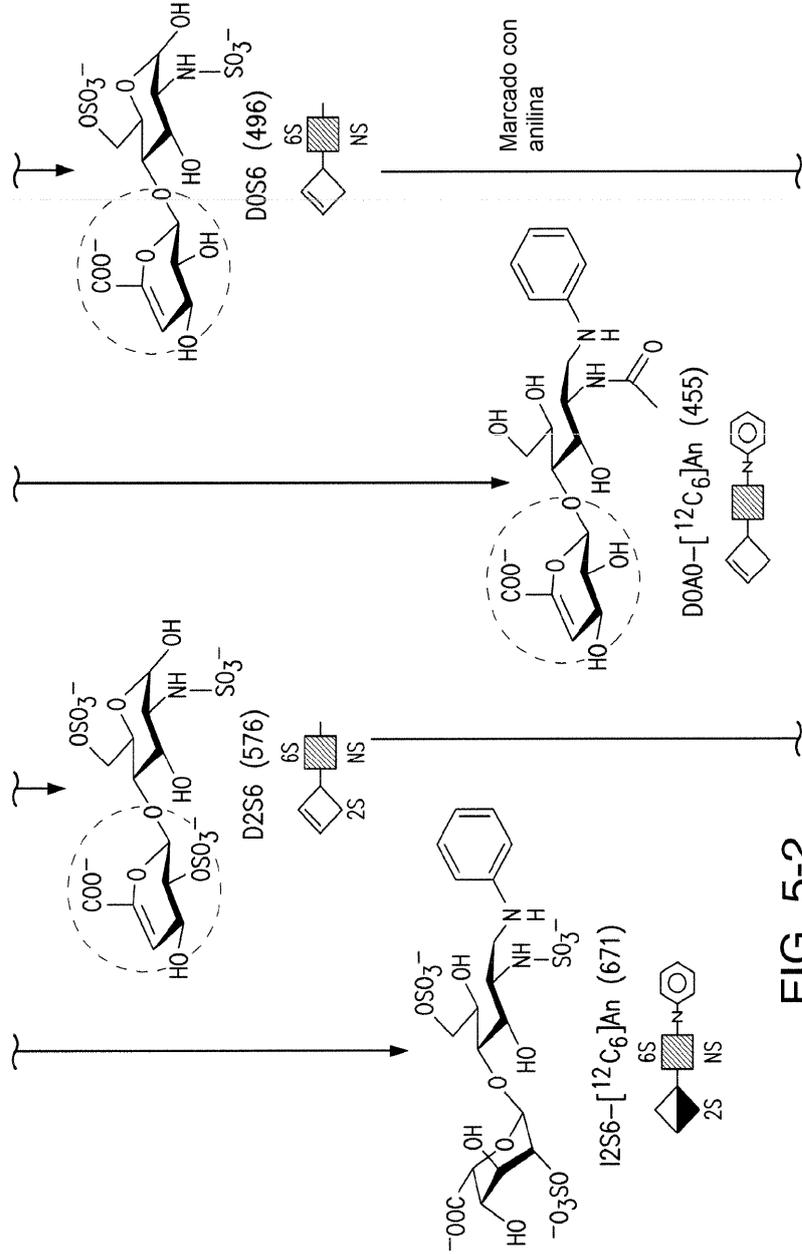


FIG. 5-2

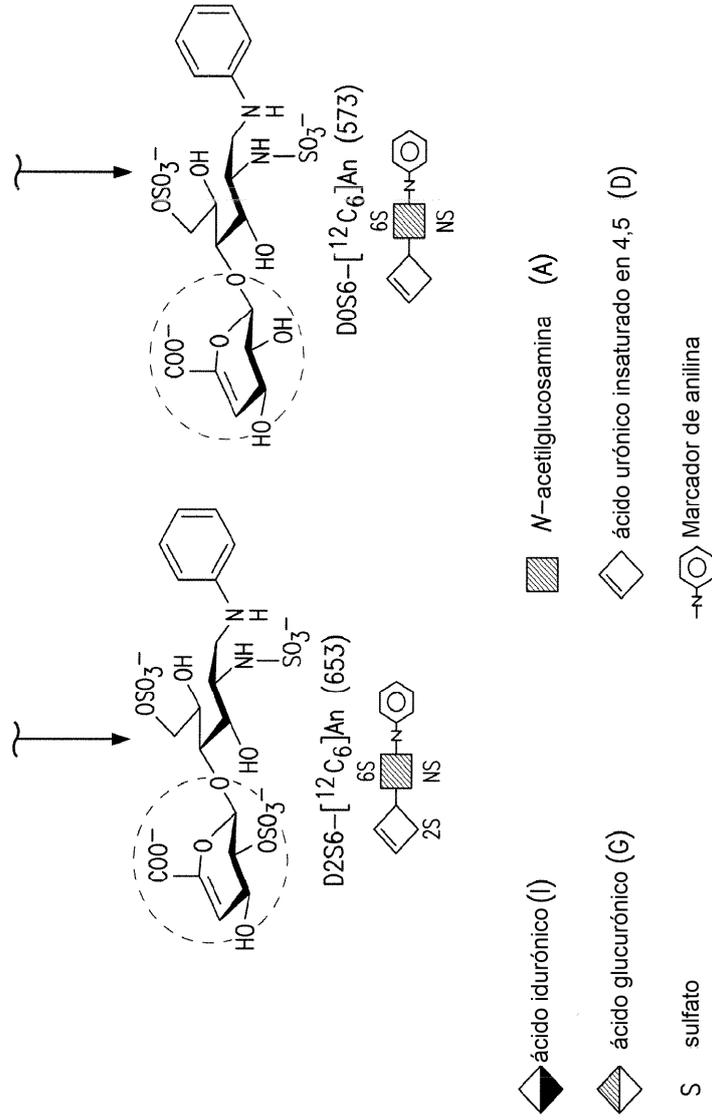


FIG. 5-3

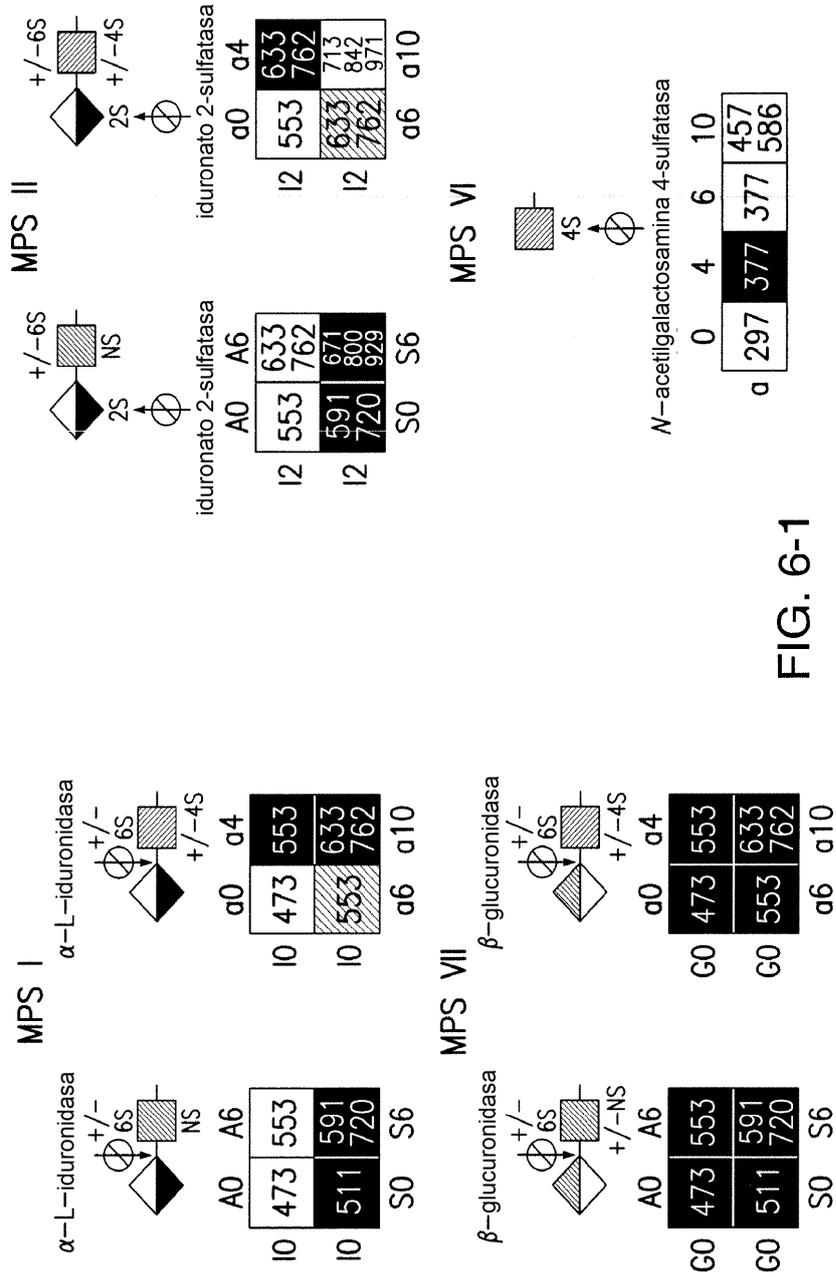


FIG. 6-1

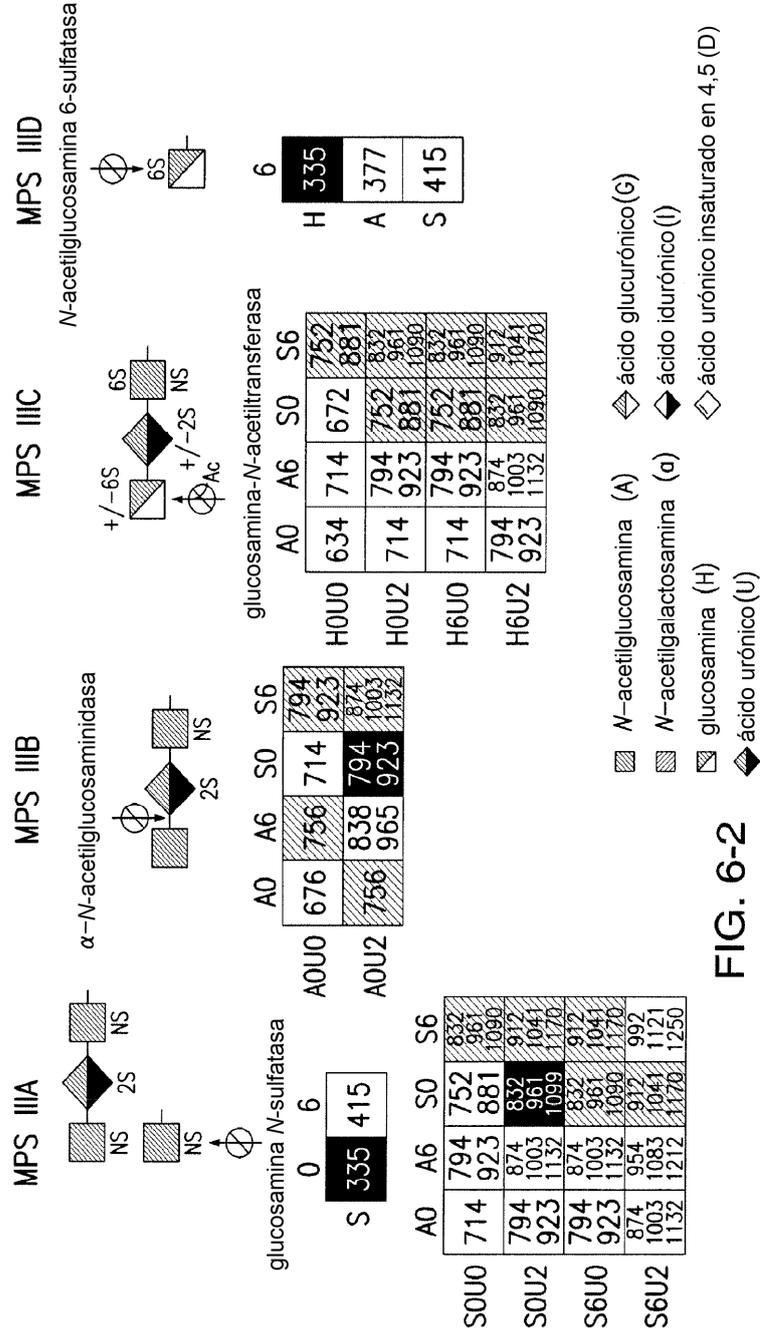


FIG. 6-2

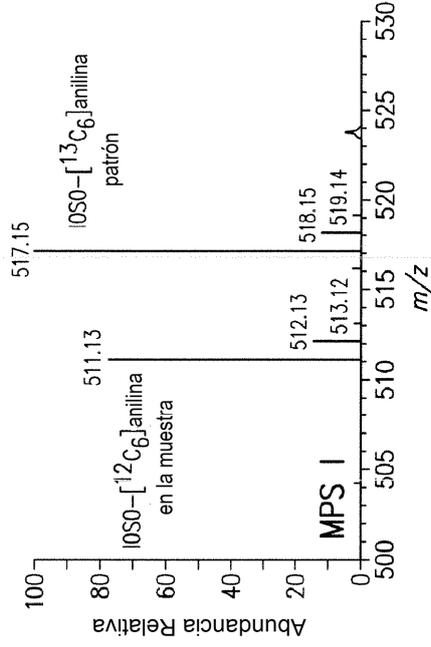


FIG. 7B

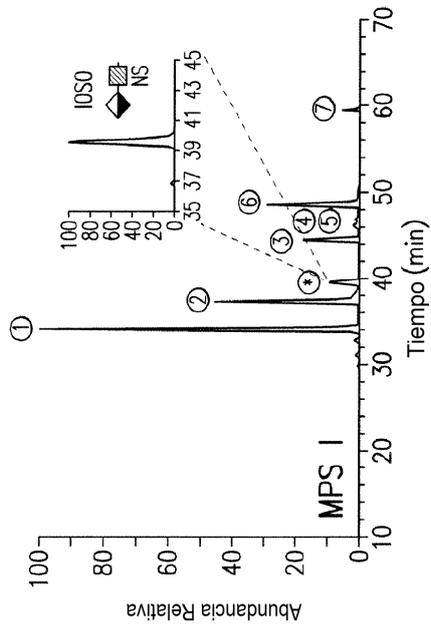
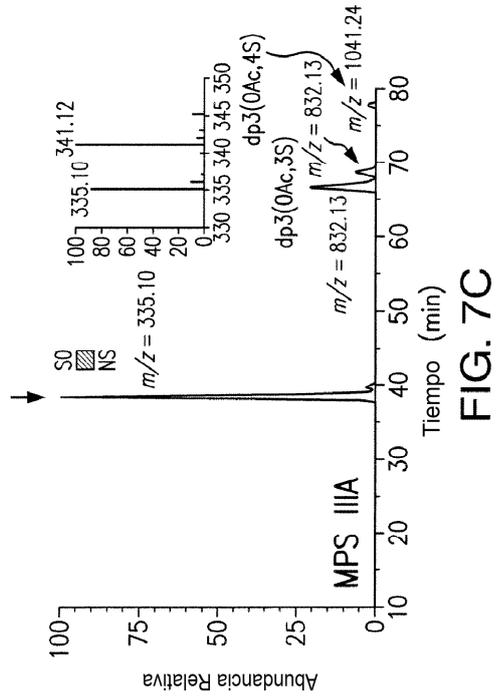
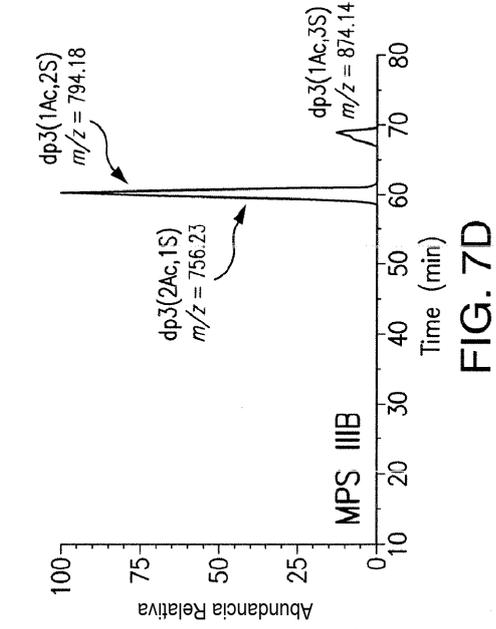
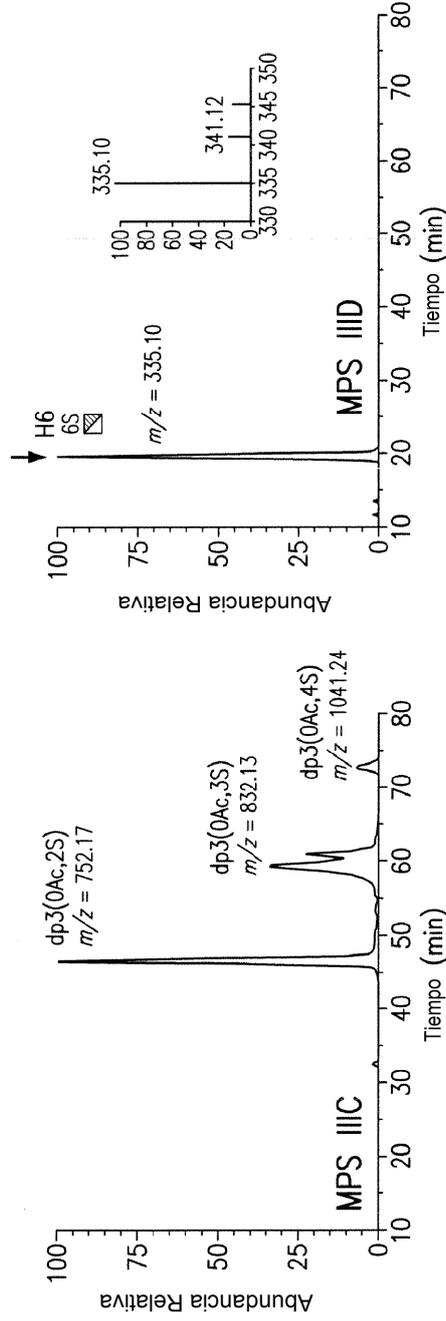


FIG. 7A





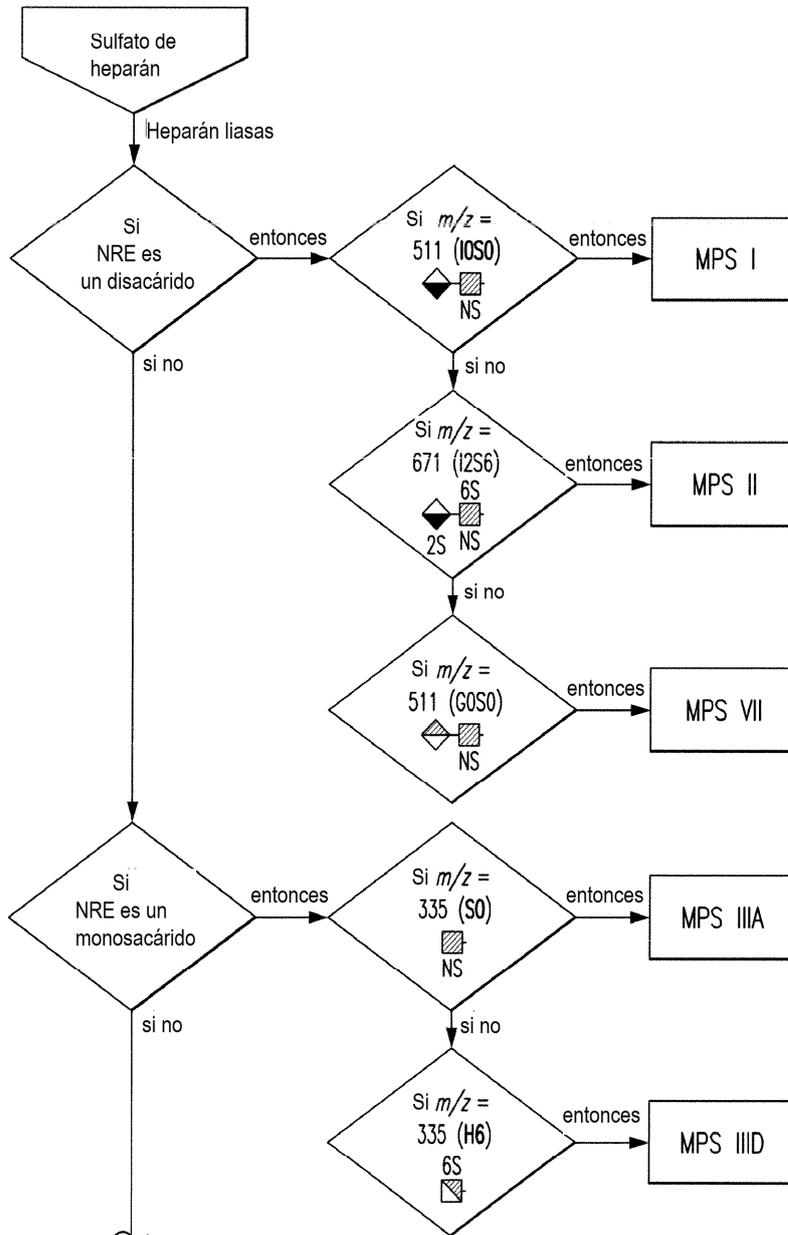


FIG. 8-1

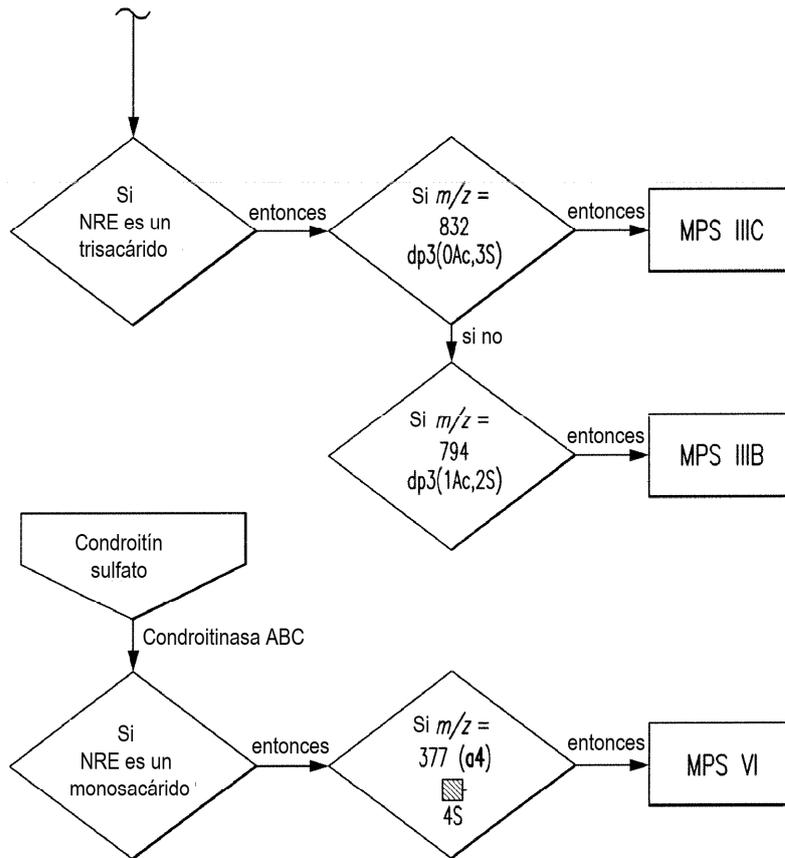
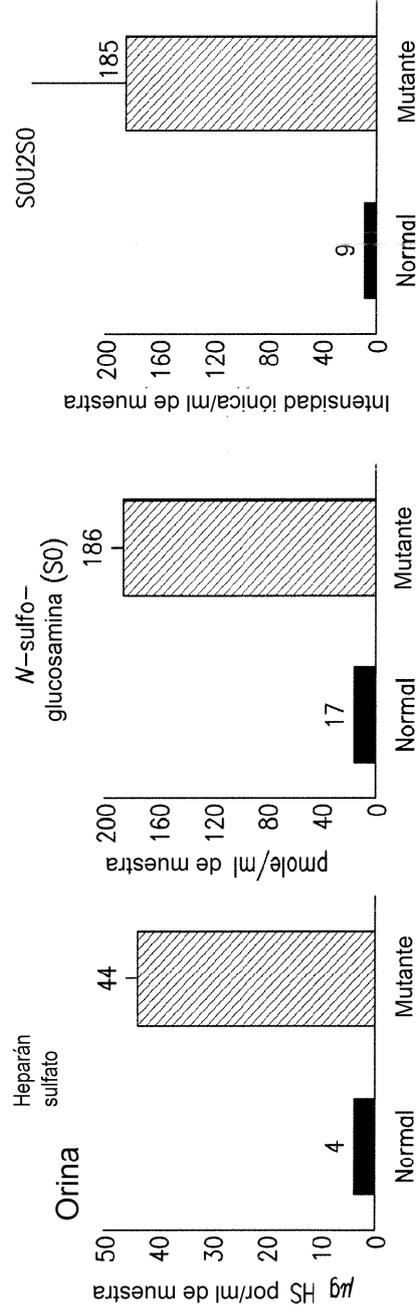


FIG. 8-2



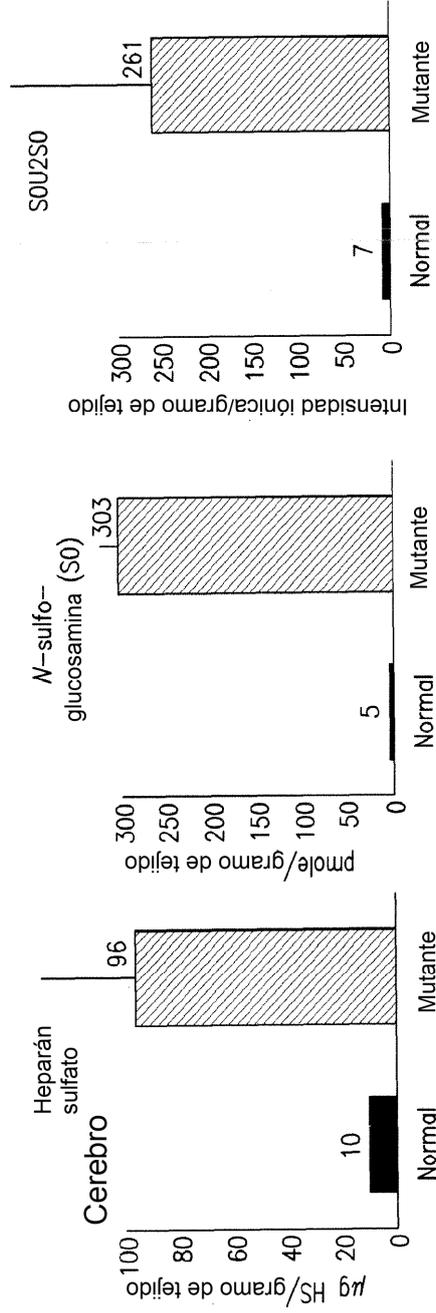


FIG. 9B

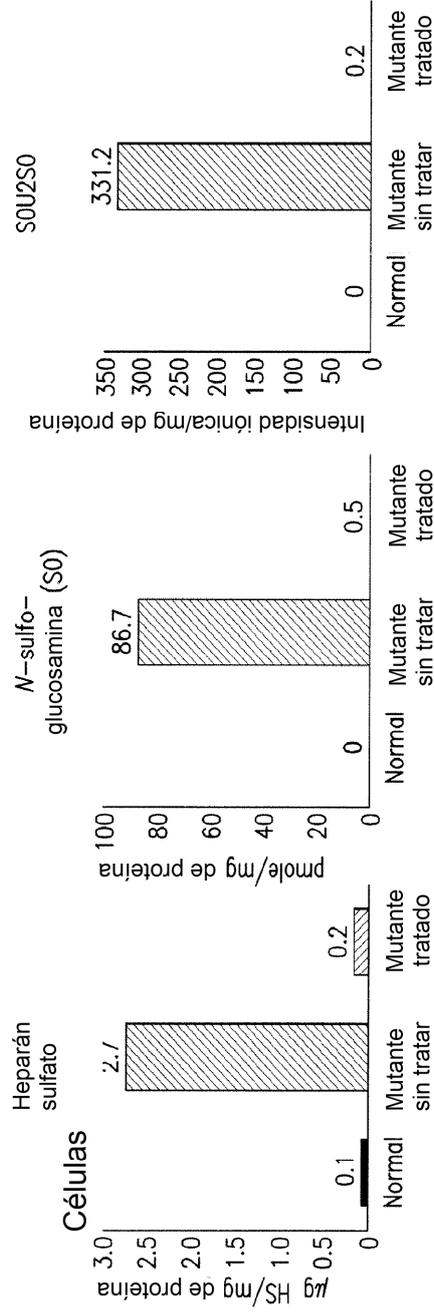


FIG. 9C

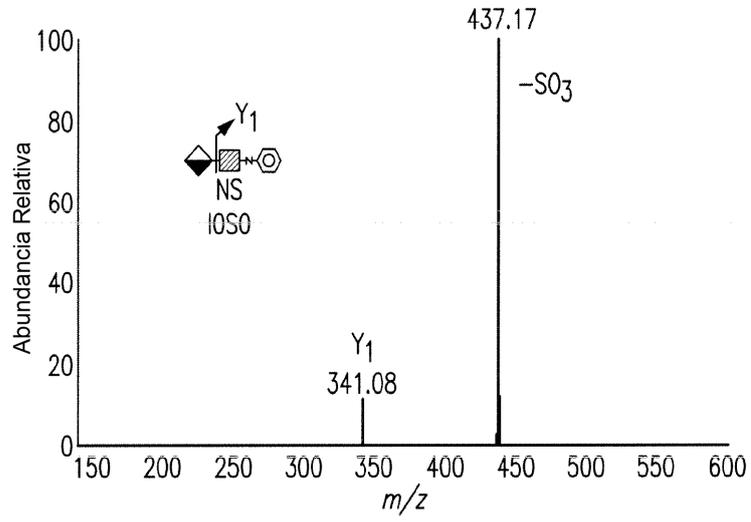


FIG. 10A

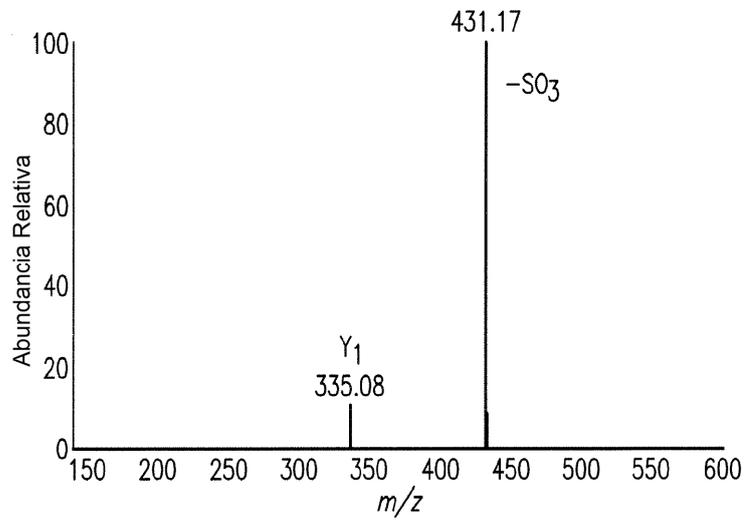


FIG. 10B

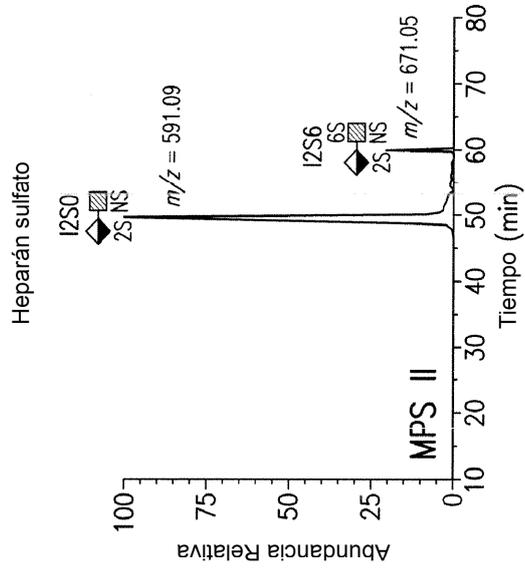


FIG. 11B

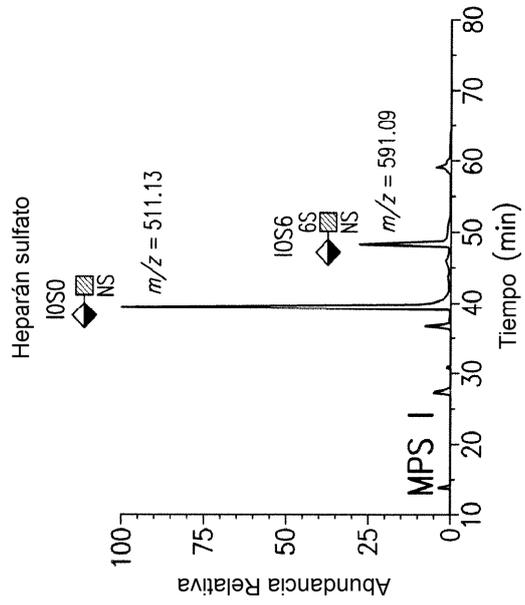


FIG. 11A

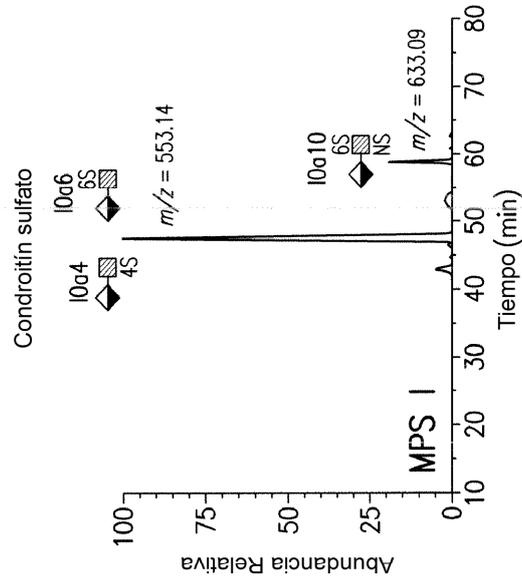


FIG. 11D

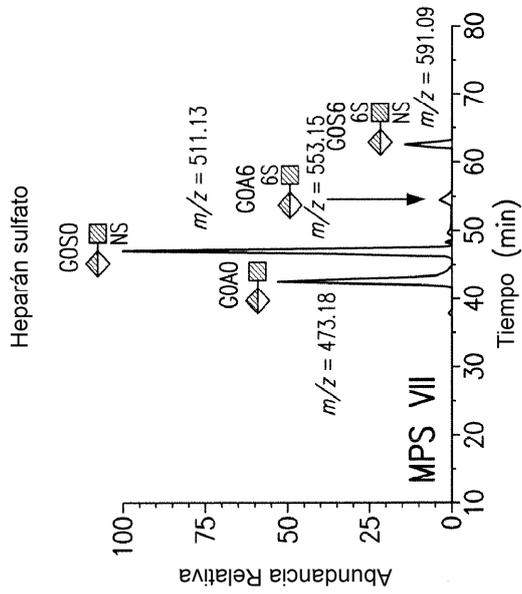


FIG. 11C

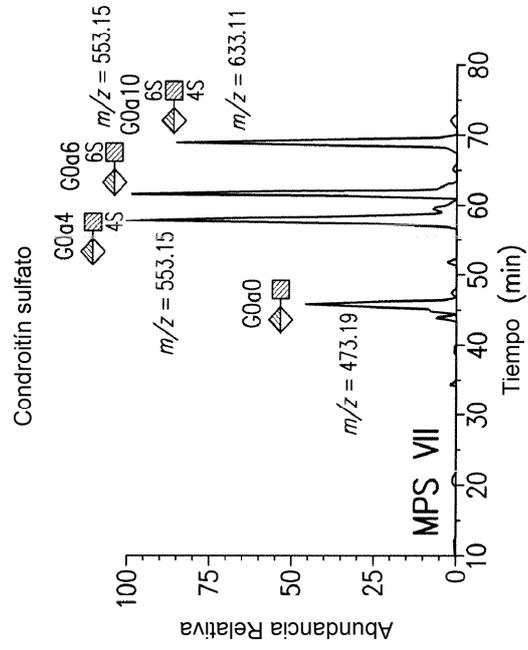


FIG. 11F

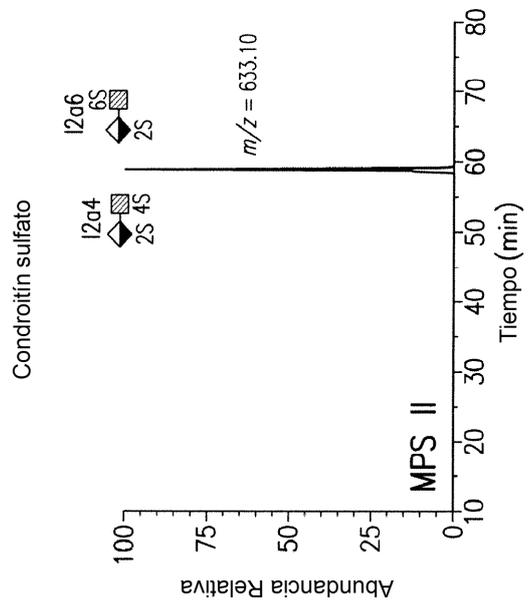


FIG. 11E

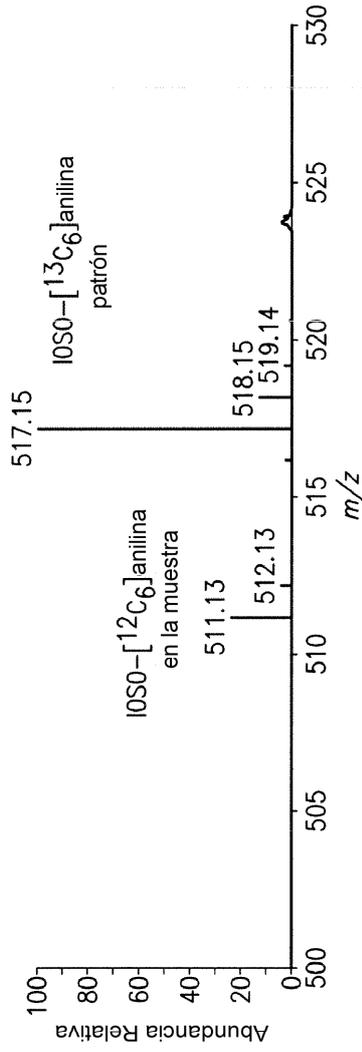


FIG. 12A

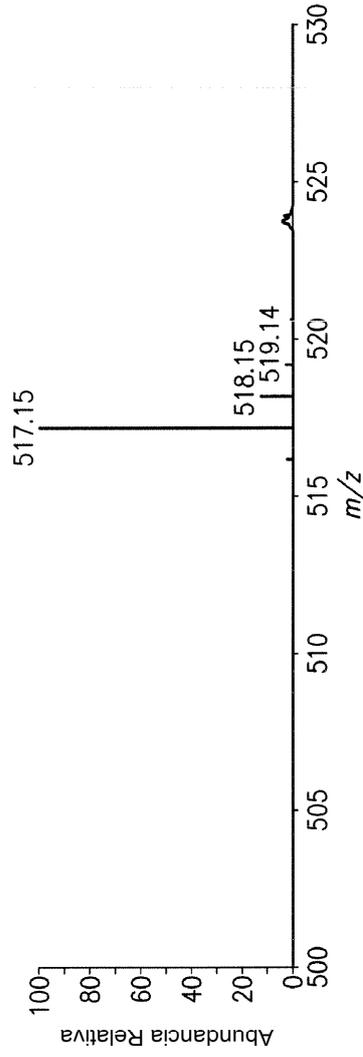


FIG. 12B

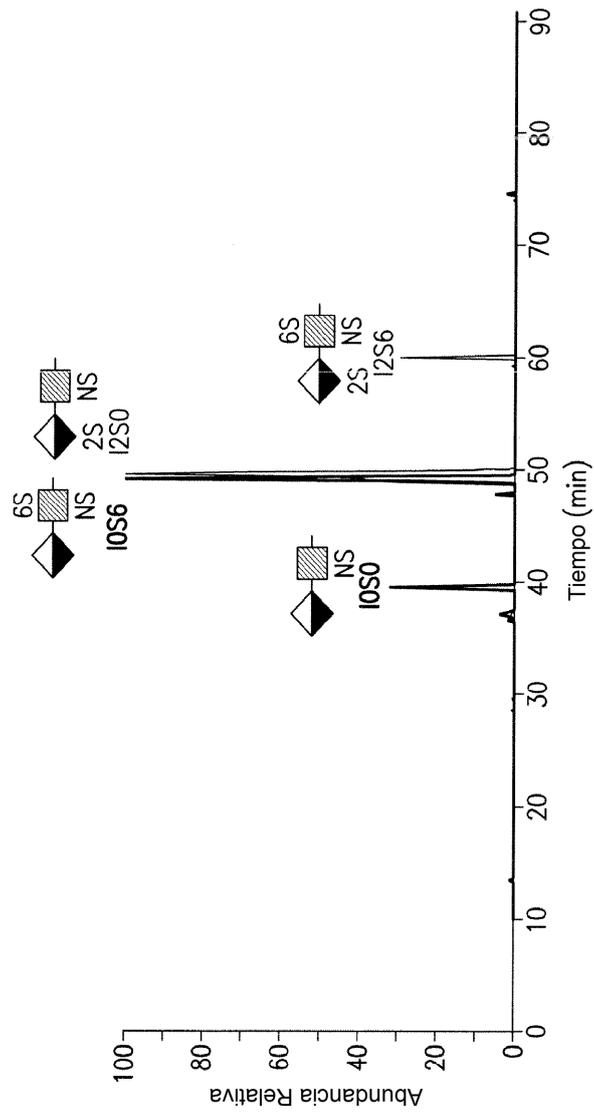


FIG. 13

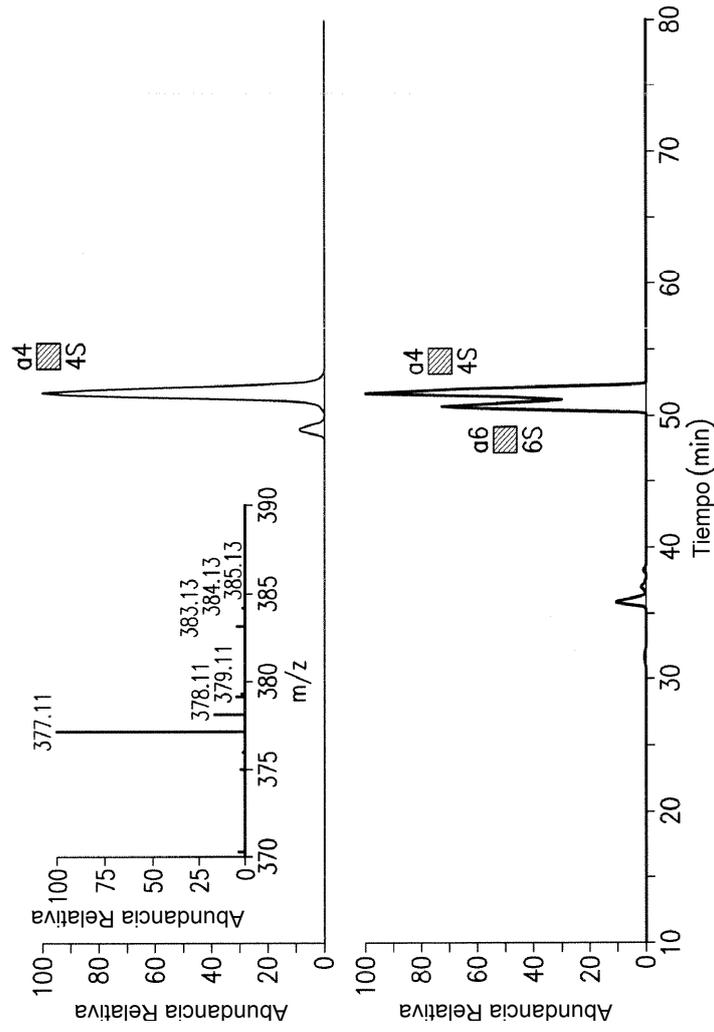


FIG. 14

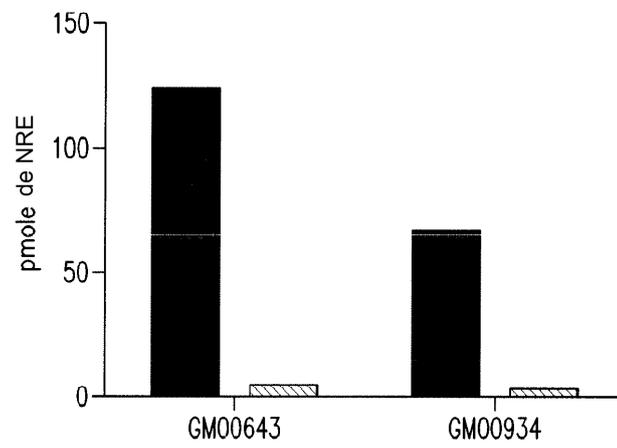


FIG. 15

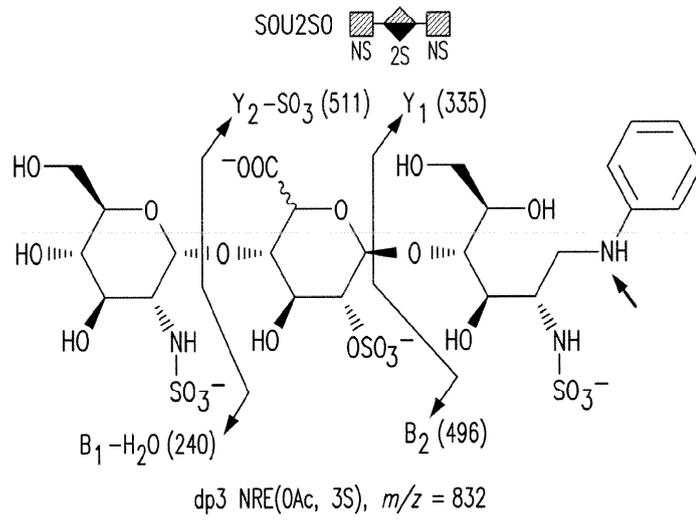


FIG. 16A

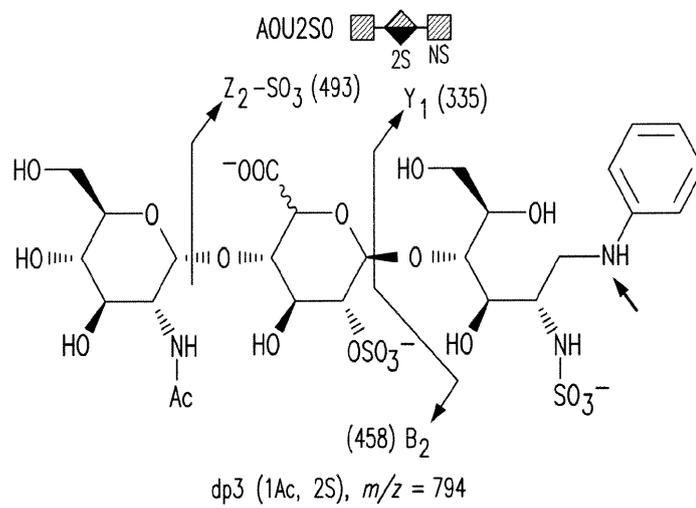


FIG. 16B

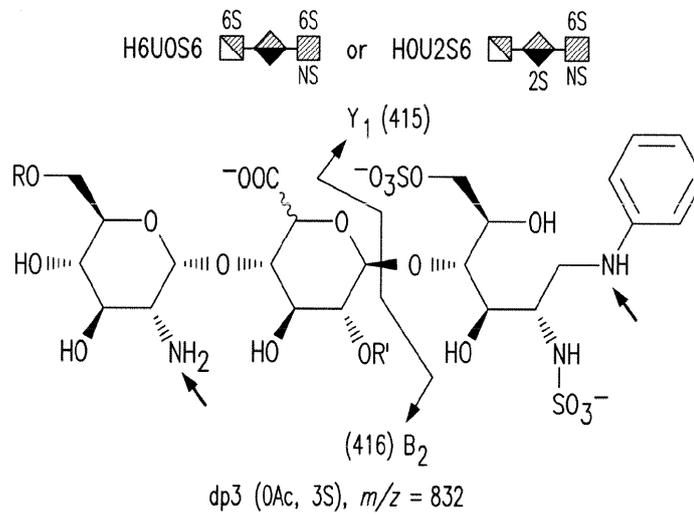


FIG. 16C