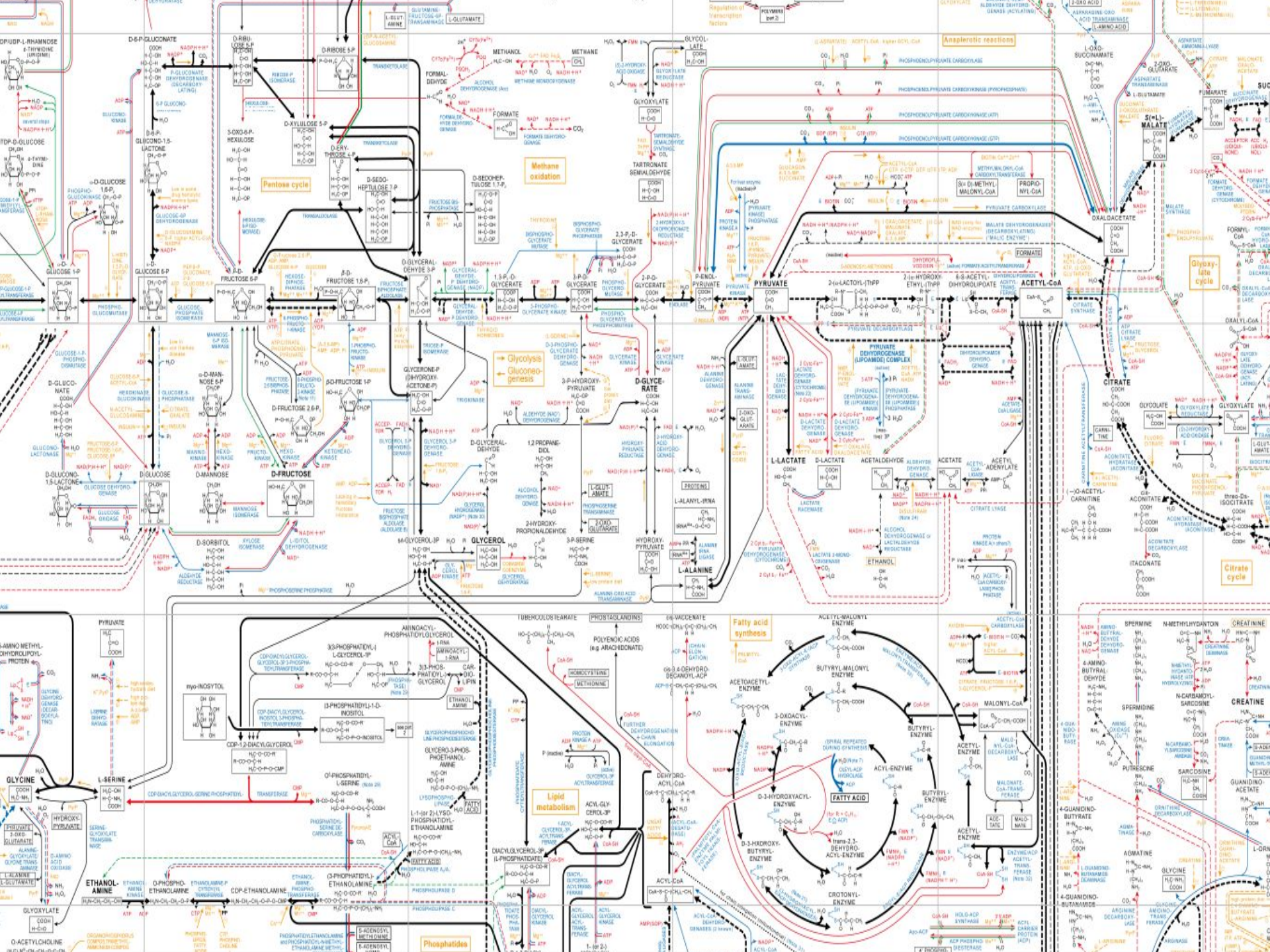


IJCS2023

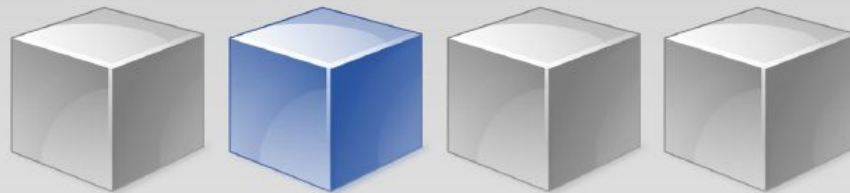
FENILCETONURIA EN CANARIAS





Estrategia de Enfermedades Raras de Canarias

2022-2026

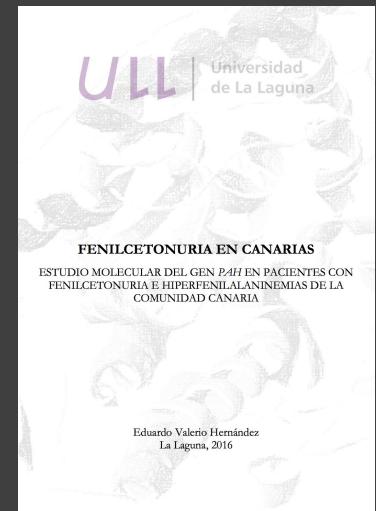


1. Sistemas de información y registro de enfermedades raras
2. Prevención y diagnóstico precoz
3. Organización de la atención sanitaria
4. Abordaje integral de forma coordinada con otros ámbitos de atención
5. Acceso a los tratamientos
6. Investigación y formación a profesionales
7. Concienciación y educación a la población





Universidad
de La Laguna



TESIS DOCTORAL

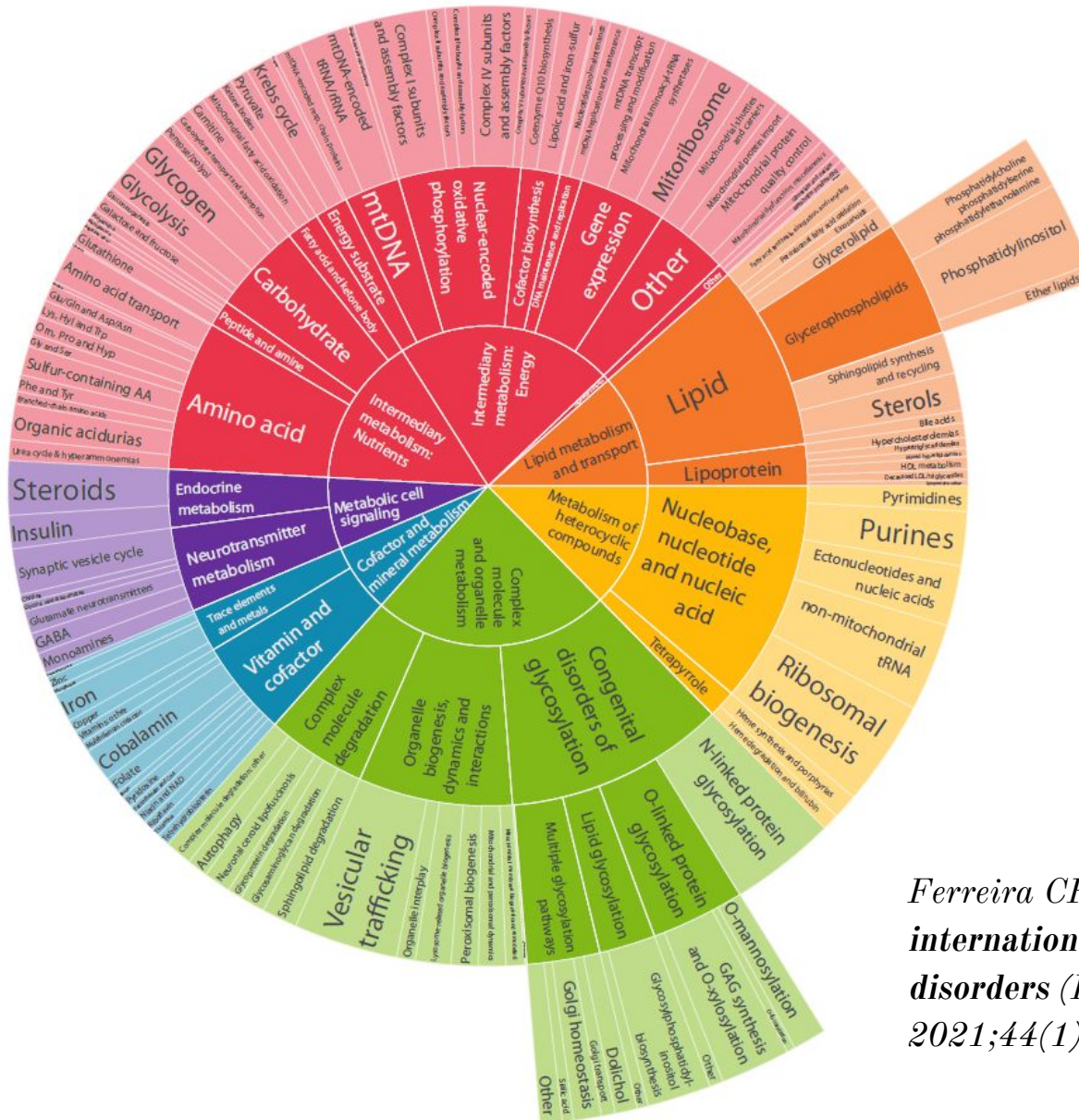
FENILCETONURIA EN CANARIAS

Estudio molecular del gen *PAH* en pacientes con fenilcetonuria
e hiperfenilalaninemias de la Comunidad Canaria

EDUARDO VALERIO HERNÁNDEZ

DIRECTOR: DR. D. *EDUARDO SALIDO RUIZ*

LA LAGUNA, 22 DE ENERO DE 2016



Ferreira CR, Rahman S, Keller M, Zschocke J. An international classification of inherited metabolic disorders (ICIMD). *J Inherit Metab Dis.* 2021;44(1):164–77.

INTERNATIONAL CLASSIFICATION OF INHERITED METABOLIC DISORDERS (ICIMD)

- ICIMD is a hierarchical, group-based collation of all currently known inherited metabolic disorders.
- ICIMD includes any primary genetic condition in which alteration of a biochemical pathway is intrinsic to specific biochemical, clinical and/or pathophysiological features.
- ICIMD aims to facilitate an improved understanding of the interconnections between conditions that share functional, clinical and diagnostic features.



DETAILED INFORMATION ON ICIMD CAN BE FOUND HERE

The ICIMD has been collated by Carlos R. Ferreira (Bethesda, USA), Shamima Rahman (London, UK), and Johannes Zschocke (Innsbruck, Austria), together with the ICIMD Advisory Group listed [here](#).

ICIMD PUBLICATION

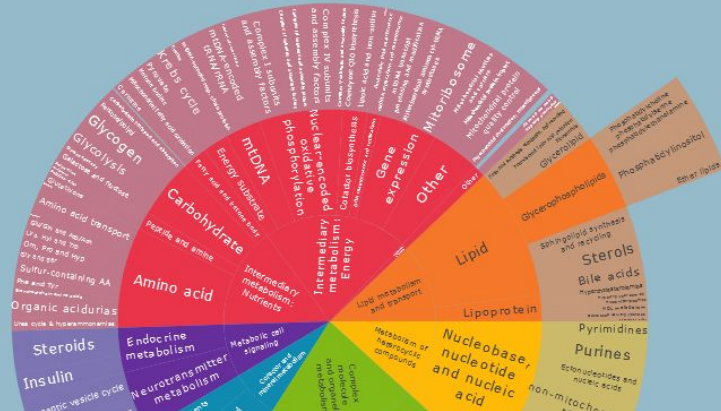


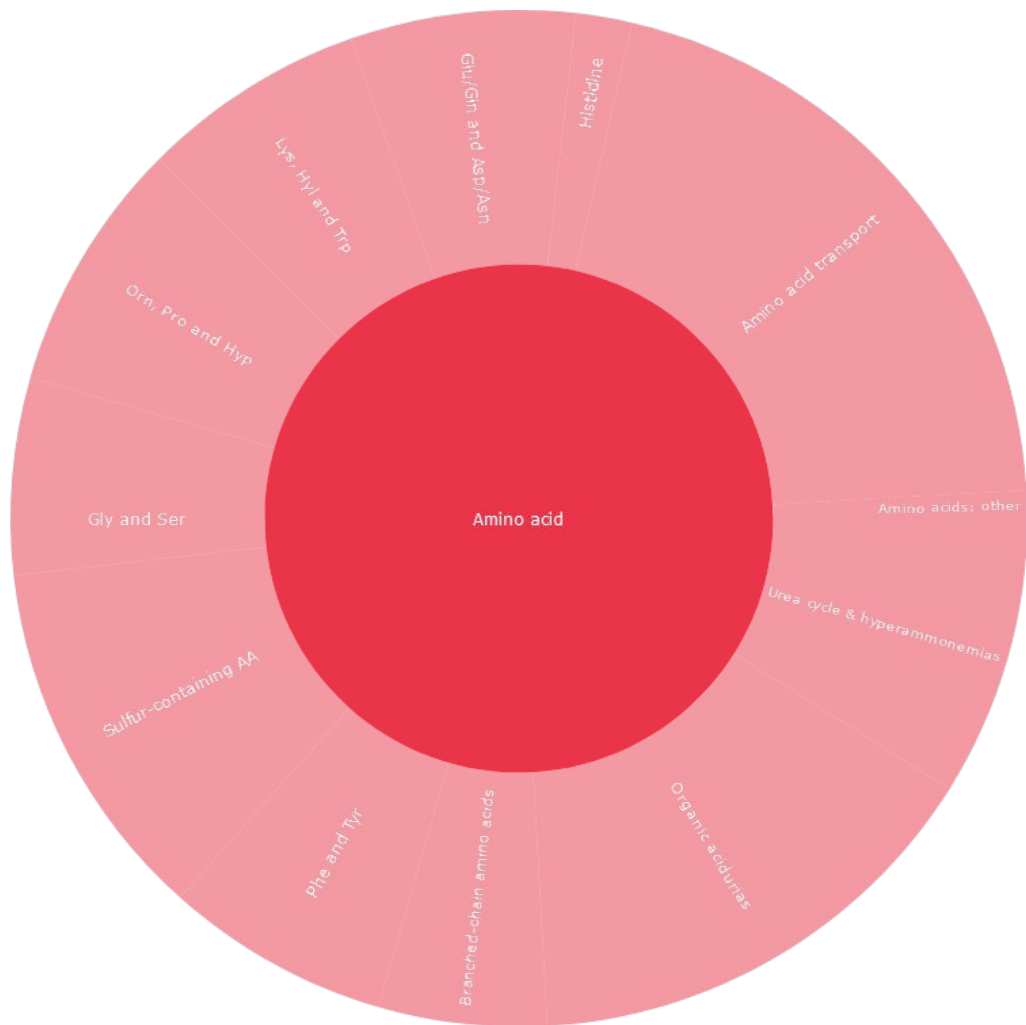
THE SUNBURST PLOT BELOW VISUALIZES ICIMD GROUPS AND SUBGROUPS; CLICKING ON THEM OPENS THE RESPECTIVE DISEASE TABLE WITH ADDITIONAL INFORMATION:

- Disease name → [Orphanet database](#)
- Gene name → [HUGO Gene Nomenclature Committee \(HGNC\) database](#)
- OMIM Number → [Online Mendelian Inheritance in Man database](#)
- IEMbase → [Inborn Errors of Metabolism Knowledgebase](#)

SUNBURST PLOT

suche

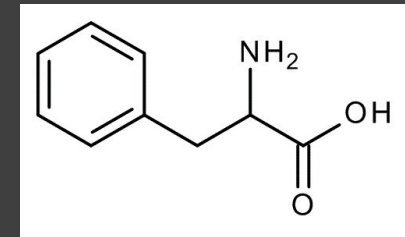




Fenilalanina y PKU

□ L-Phe ($C_9H_{11}NO_2$)

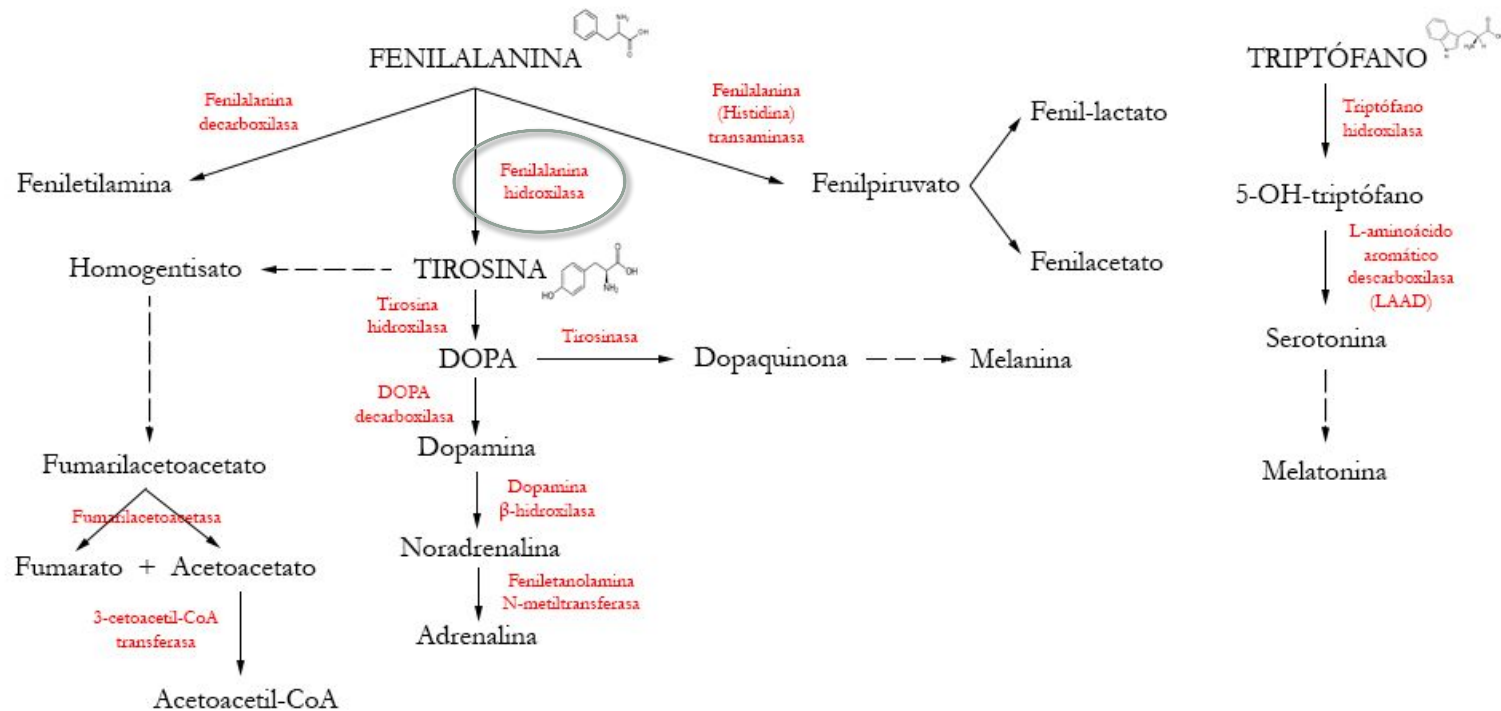
- Aminoácido esencial
 - Componente de estructuras proteicas
 - Precursor de L-Tirosina (L-Tyr)
- Ruta metabólica



□ HIPERFENILALANINEMIAS / PKU (Aminoacidopatía)

- Herencia AR, gen *PAH* (12q23.2)
 - Enzima PAH (Hígado, 452 aa, 3 dominios, cofactor BH₄)
- Clínica
 - “Clásica”
 - Neuropsicológica, metabolismo óseo, PKU materna, etc.
- Diagnóstico
 - Bioquímico / Cribado neonatal (Phe > 2 mg/dL, Phe/Tyr > 2,5)
- Clasificación
- Tratamiento
 - Dieta (Limitada en Phe)
 - Chaperonas (BH₄), TES (PAL)
 - Otros (LNAA, glucomacropéptidos)
 - Fenilalanina amonio-liasa (PAL, pegvaliasa, Palynziq®)

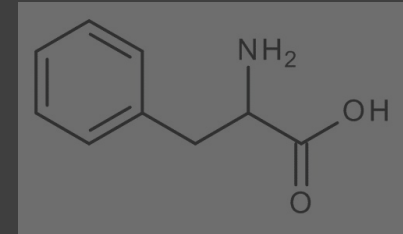
Ruta metabólica



Fenilalanina y PKU

□ L-Phe ($C_9H_{11}NO_2$)

- Aminoácido esencial
 - Componente de estructuras proteicas
 - Precursor de L-Tirosina (L-Tyr)
- Ruta metabólica



□ HIPERFENILALANINEMIAS / PKU (Aminoacidopatía)

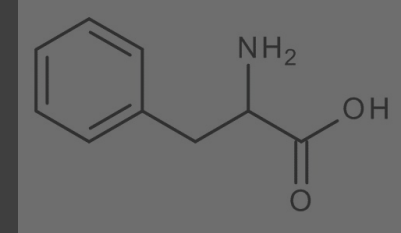
- Herencia AR, gen *PAH* (12q23.2)
 - Enzima PAH (Hígado, 452 aa, 3 dominios, cofactor BH₄)
- Clínica
 - “Clásica”
 - Neuropsicológica, metabolismo óseo, PKU materna, etc.
- Diagnóstico
 - Bioquímico / Cribado neonatal (Phe > 2 mg/dL, Phe/Tyr > 2,5)
- Clasificación
- Tratamiento
 - Dieta (Limitada en Phe)
 - Chaperonas (Kuvan®, BH₄)
 - Otros (LNAA, glucomacropéptidos)
 - Fenilalanina amonio-liasa (PAL, pegvaliasa, Palynziq®)



Fenilalanina y PKU

□ L-Phe ($C_9H_{11}NO_2$)

- Aminoácido esencial
 - Componente de estructuras proteicas
 - Precursor de L-Tirosina (L-Tyr)
- Ruta metabólica

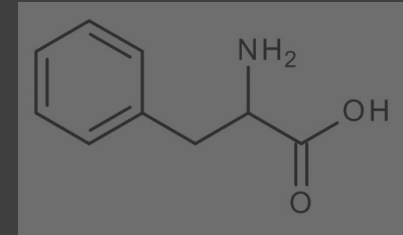


	Phe al nacimiento ($\mu\text{mol/L}$)	mg/dL	Tolerancia Phe (mg/día)
HPA Benigna	120-360	2-6	Dieta libre
PKU Leve	360-600	6-10	400-600
PKU Moderada	600-1200	10-20	350-400
PKU Clásica	> 1200	> 20	< 350

Fenilalanina y PKU

□ L-Phe ($C_9H_{11}NO_2$)

- Aminoácido esencial
 - Componente de estructuras proteicas
 - Precursor de L-Tirosina (L-Tyr)
- Ruta metabólica



□ HIPERFENILALANINEMIAS / PKU (Aminoacidopatía)

- Herencia AR, gen *PAH* (12q23.2)
 - Enzima PAH (Hígado, 452 aa, 3 dominios, cofactor BH₄)
- Clínica
 - “Clásica”
 - Neuropsicológica, metabolismo óseo, PKU materna, etc.
- Diagnóstico
 - Bioquímico / Cribado neonatal (Phe > 2 mg/dL, Phe/Tyr > 2,5)
- Clasificación
- Tratamiento
 - Dieta (Limitada en Phe)
 - Chaperonas (Kuvan®, BH₄)
 - Otros (LNAA, glucomacropéptidos)
 - Fenilalanina amonio-liasa (PAL, pegvaliasa, Palynziq®)



Diagnóstico genético

- ❑ Recomendaciones de realización (*NIH Consensus Development Conference Statement, 2001*)
- ❑ Fundamentos:
 - Relación genotipo-fenotipo (pronóstico)
 - Nuevas terapias dependientes de mutaciones (tratamiento)
 - Consejo genético (Nueva descendencia, estado de portador)
 - Protocolos diagnósticos (Zonas, diferencias regionales)
 - Nuevas mutaciones (Bases de datos, estudios “*in silico*” e “*in vitro*”)

Herramientas bioinformáticas

- ❑ Bases de datos (**BIOPKUdb**, PAHdb, HGMD,...)
- ❑ SNP, splicing, delecciones,...
 - Grantham (No bioinformática)
 - **SIFT**, **Polyphen-2**, SusPEct, **PROVEAN**, SNAP2, PredictSNP, Mutation Taster
 - ASSEDA, SplicePort, **Human Splicing Finder**, SplicePredictor
 - **mCSM**
- ❑ Visores 3D y de secuencias (Blast)
 - RasMol, **Swiss-PDB Viewer**, **YASARA**
 - 4Peaks, **FinchTV**
- ❑ Predicción a nivel molecular vs. fenotipo clínico (ClinVar,...)

Situación previa en Canarias

- ❑ 44 pacientes en seguimiento (3 hospitales)
 - 5 pacientes con estudio molecular previo (CEDEM)
- ❑ Ninguna orientación sobre la epidemiología molecular regional
- ❑ Consejo genético familiar básico
- ❑ Pronóstico clínico del paciente
- ❑ Otras opciones terapéuticas (BH₄)

Frecuencias mutacionales de Canarias

DATOS ESTADÍSTICOS

Estadísticas

- ❑ Pacientes en seguimiento: 44 (41 familias)
 - 23 TF
 - 21 GC
- ❑ Analizados: 40 pacientes
 - Total de pacientes con estudio: 45 (42 familias)
- ❑ Resultados mutacionales
 - 83/84 alelos mutados (98,8%)
 - 24 mutaciones diferentes
 - Homocigotos: 31,1% (TF 71,4%); heterocigotos compuestos: 66,6%
 - Tipo de mutación: *missense* (83,33%), *splicing* (12,5%) y *delección* (4,16%).
 - Por dominios: regulador (17,28%), catalítico (70,31%), N-terminal (1,23%)
- ❑ Distribución por sexos (V 45%, M 55%)
- ❑ Incidencia: **1:10.222 RN (1999)**

Mutaciones

Mutación	E/I	cDNA	DOMINIO	Tipo	AAMM	TF	GC	% Alelo
p.R408W	12	c.1222C>T	Catalítico	Missense	16	7	9	19,0
p.R68S	3	c.204A>T	Regulatorio	Missense	10	9	1	11,9
p.A403V	12	c.1208C>T	Catalítico	Missense	9	6	3	10,7
p.R176L	6	c.527G>T	Catalítico	Missense	8	2	6	9,5
IVS10-11G>A	i10	c.1066-11G>A	Intrónico	Splice	7	4	3	8,3
p.R297C	8	c.889C>T	Catalítico	Missense	4	4	0	4,8
p.R261Q	7	c.782G>A	Catalítico	Missense	4	3	1	4,8
p.R158Q	5	c.473G>A	Catalítico	Missense	4	1	3	4,8
p.A300S	8	c.898G>T	Catalítico	Missense	3	0	3	3,6
p.D129G	4	c.386A>G	Regulatorio	Missense	2	0	2	2,4

Mutación	E/I	cDNA	DOMINIO	Tipo	AAMM	TF	GC	% Alelo
G352>Vfs	10	c.1055delG	Catalítico	Delección	2	2	0	2,4
p.V388M	11	c.1162G>A	Catalítico	Missense	2	1	1	2,4
p.I65T	3	c.194T>C	Regulatorio	Missense	1	0	1	1,2
p.S87R	3	c.261C>A	Regulatorio	Missense	1	0	1	1,2
p.I164V	5	c.490A>G	Catalítico	Missense	1	1	0	1,2
p.R252W	7	c.754C>T	Catalítico	Missense	1	1	0	1,2
p.M276K	7	c.827T>A	Catalítico	Missense	1	1	0	1,2
p.R243Q	7	c.728G>A	Catalítico	Missense	1	0	1	1,2
p.P281L	7	c.842C>T	Catalítico	Missense	1	0	1	1,2
p.Y414C	12	c.1241A>G	Tetramerización	Missense	1	0	1	1,2
p.N167I	5	c.500A>T	Catalítico	Missense	1	0	1	1,2
p.P409L	12	c.1226C>T	Catalítico	Missense	1	0	1	1,2
IVS4+5G>T	i4	c.441+5G>T	Intrónico	Splice	1	0	1	1,2
IVS2-13T>G	i2	c.169-13T>G	Intrónico	Splice	1	0	1	1,2

Comparativa nacional

ESTUDIOS NACIONALES

Comparativa de estudios nacionales

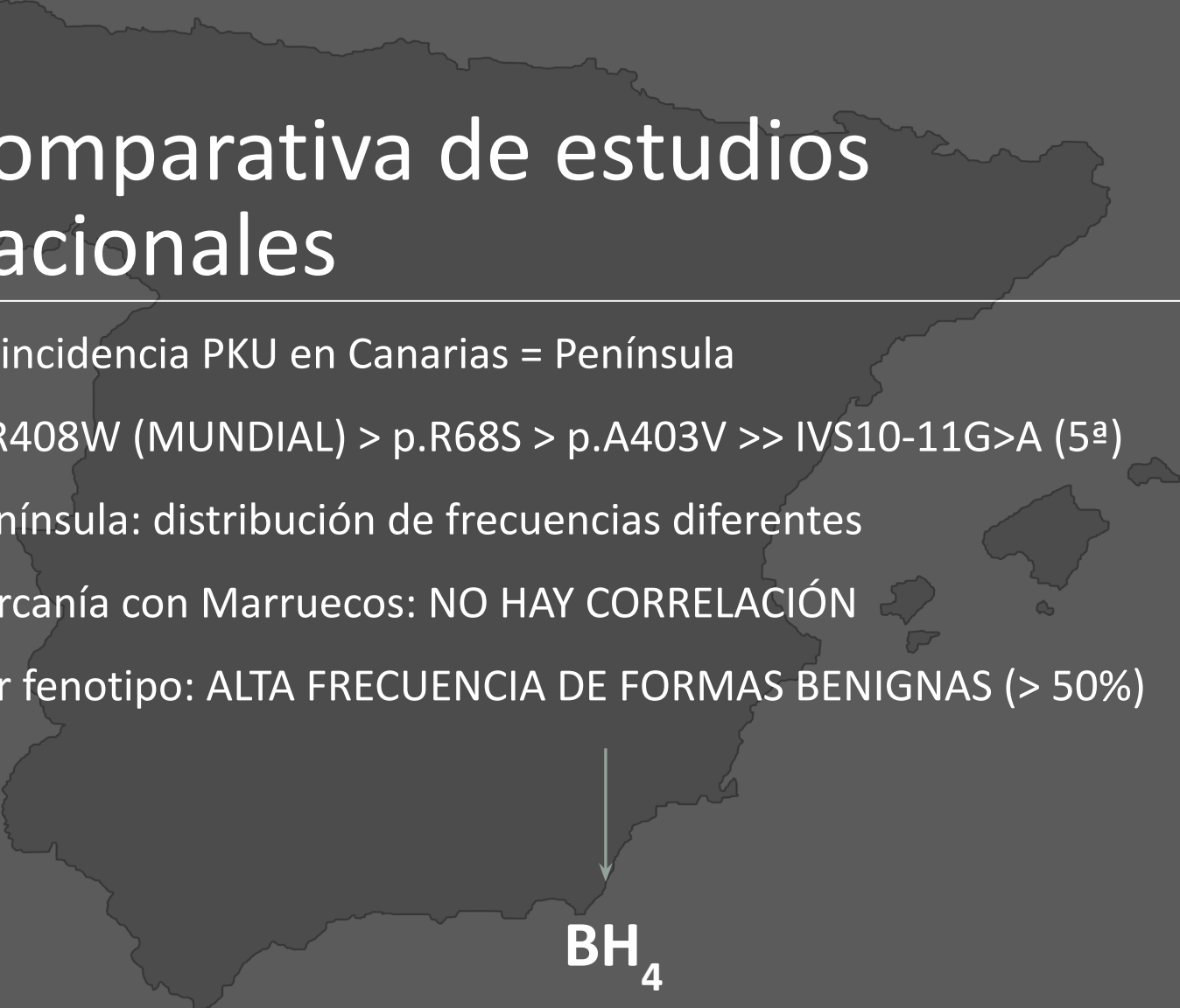
Mutación	Alelos	% Alelo	Pérez et al. (1997)	Desviat et al. (1999)	Mallolas et al. (1999)	Dahri et al. (2009)	Couce et al. (2013)	Bueno et al. (2013)
R408W	16	19,0			2,87		1	2,4
R68S	10	11,9	2,3				1	3
A403V	9	10,7	3,1	8 (1,3-14,6)	5,1		2,4	3,4
R176L	8	9,5	1,5				6,2	0,3
IVS10-11G>A	7	8,3	14,7	10 (8,3-125)	12,6	8,3	13,8	10,9
R297C	4	4,8						
R261Q	4	4,8	3,9	0-10,3	5,6		10,5	4,4
R158Q	4	4,8			2,2		1,4	1,7
A300S	3	3,6	1,5	0-6,4	2,87			1,3
D129G	2	2,4	1,5					

Mutación	Alelos	% Alelo	Pérez et al. (1997)	Desviat et al. (1999)	Mallolas et al. (1999)	Dahri et al. (2009)	Couce et al. (2013)	Bueno et al. (2013)
G352>Vfs	2	2,4			2,87	62,5		0,6
V388M	2	2,4	6,2	2,5-10,4	4,6		6,2	7,4
I65T	1	1,2	8,5	6,7	5,6		2,4	4,4
S87R	1	1,2					1	
I164V	1	1,2			0,5			
R252W	1	1,2	0,8		0,5		1,4	
M276K	1	1,2						
R243Q	1	1,2			3,4	4,17		1,7
P281L	1	1,2	2,3					1
Y414C	1	1,2	2,3		1,15		1,4	2,7
N167I	1	1,2		< 1,5	0,5			
P409L	1	1,2						
IVS4+5G>T	1	1,2			4			
IVS2-13T>G	1	1,2						

Mutación	Alelos	% Alelo	Pérez et al. (1997)	Desviat et al. (1999)	Mallolas et al. (1999)	Dahri et al. (2009)	Couce et al. (2013)	Bueno et al. (2013)
G352>Vfs	2	2,4			2,87	62,5		0,6
V388M	2	2,4	6,2	2,5-10,4	4,6		6,2	7,4
I65T	1	1,2	8,5	6,7	5,6		2,4	4,4
S87R	1	1,2					1	
I164V	1	1,2			0,5			
R252W	1	1,2	0,8		0,5		1,4	
M276K	1	1,2						
R243Q	1	1,2			3,4	4,17		1,7
P281L	1	1,2	2,3					1
Y414C	1	1,2	2,3		1,15		1,4	2,7
N167I	1	1,2		< 1,5	0,5			
P409L	1	1,2						
IVS4+5G>T	1	1,2			4			
IVS2-13T>G	1	1,2						

Comparativa de estudios nacionales

- ❑ La incidencia PKU en Canarias = Península
- ❑ p.R408W (MUNDIAL) > p.R68S > p.A403V >> IVS10-11G>A (5ª)
- ❑ Península: distribución de frecuencias diferentes
- ❑ Cercanía con Marruecos: NO HAY CORRELACIÓN
- ❑ Por fenotipo: ALTA FRECUENCIA DE FORMAS BENIGNAS (> 50%)



BH₄

Sobrecarga de BH₄

REALIZADAS Y PACIENTES SUSCEPTIBLES

Sobrecarga de BH₄

Codificación	GENOTIPO	FENOTIPO	FECHA	0	4 h	8 h	12 h	24 h	%
F001.1	p.R68S / p.R158Q	PKU leve	19/08/03	743	567	357	485	467	52,0
F009.1	p.R68S / p.R68S	PKU moderada	21/12/07	672			315	375	53,1
F009.4	p.R68S / p.R68S	PKU moderada	16/06/11	636	539	357	266	369	58,2
F015.1	p.R68S / p.R68S	PKU moderada	31/12/11	490		430	285	315	41,8

- ❑ Formas leves-moderadas: respondedoras; PKU clásica: no respondedoras.
- ❑ Todos pacientes de la provincia de Tenerife.
- ❑ Los pacientes F001.1 y F009.1 con sobrecarga previa (F009.1 sin conocer genotipo).
- ❑ Los pacientes F009.4 y F015.1, realizadas posteriormente tras conocer resultado a través del presente estudio.

Pacientes susceptibles de BH₄

Paciente	Diagnóstico	Fenotipo	Respuesta BH ₄	Respuesta BH ₄ (BIOPKUdb)
F023.1	D129G (4) / R408W (12)	PKU leve	NO REALIZADA	Sí (100%; 5)
F028.1	A300S (8) / R408W (12)	PKU clásica	NO REALIZADA	Sí (85,71%; 6), No (14,29%; 1)
F040.1	P409L (12) / Y414C (12)	PKU leve	NO REALIZADA	-

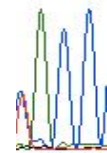
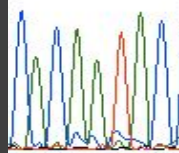
- ❑ Todos los pacientes subsidiarios que quedan pertenecen a la provincia de Las Palmas.
- ❑ A pesar de mostrar un fenotipo clásico, el paciente F028.1 con dicho genotipo muestra una alta tasa de respuesta en las bases de datos consultadas.
- ❑ La sobrecarga en el paciente F040.1 no aportaría información sobre la respuesta de la mutación p.P409L, ya que la mutación p.Y414C sí es respondedora.

Objetivo 5: Analizar las posibles nuevas mutaciones encontradas mediante análisis “*in silico*”.

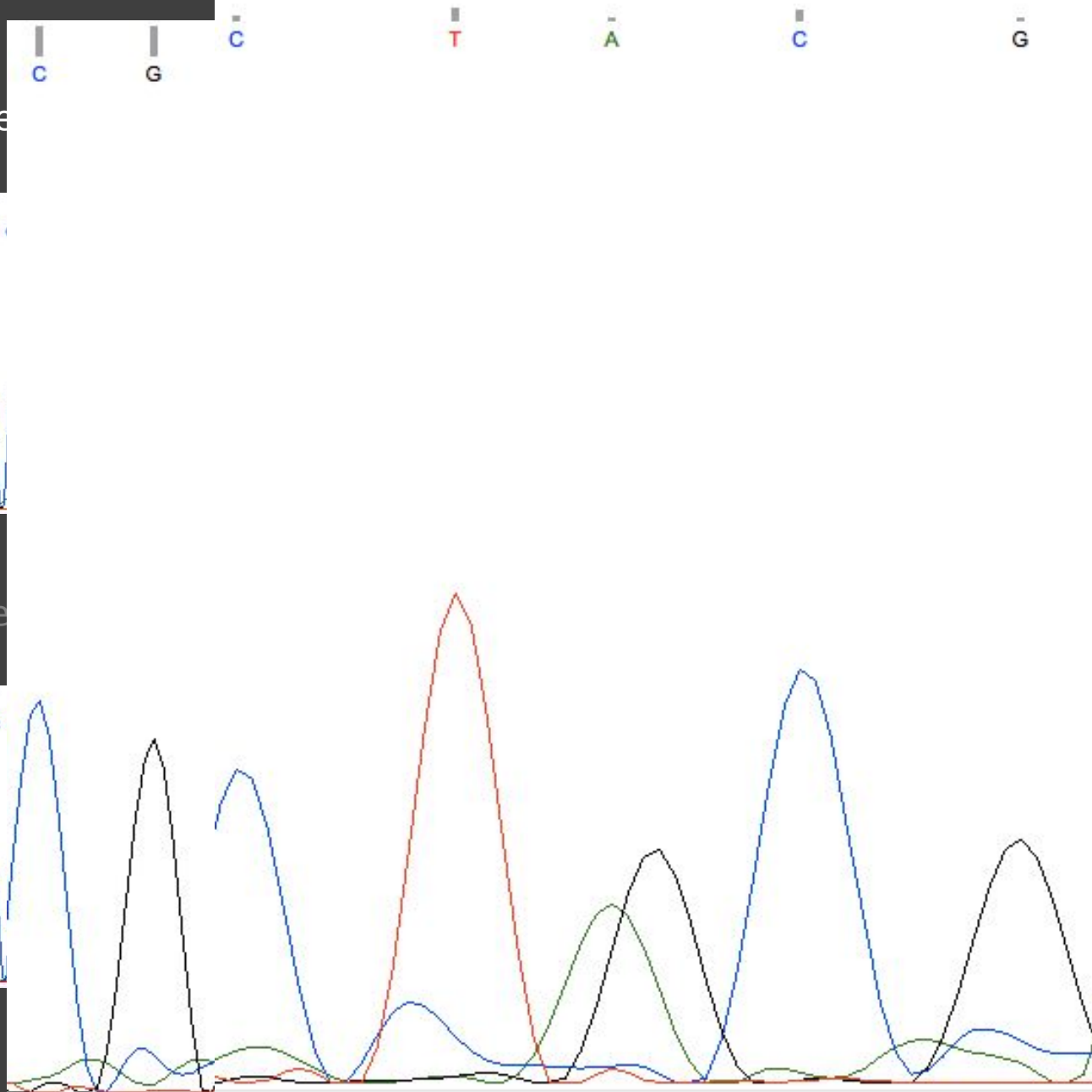
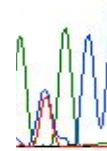
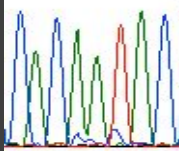
p.P409L

ANÁLISIS DETALLADO

Paciente



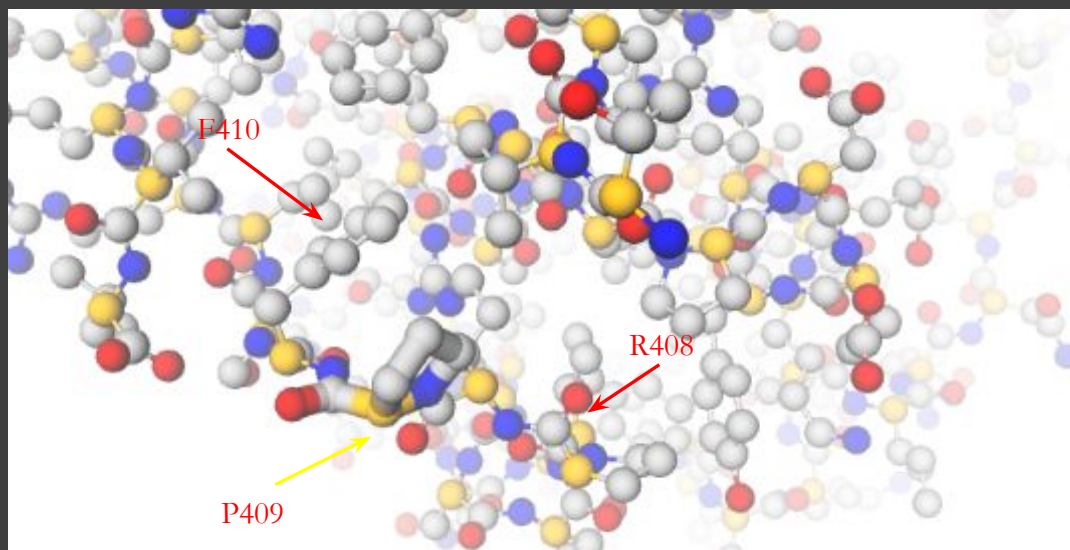
Madre



Análisis bioinformático: SNP

Grantham Score	SIFT [®]	Polyphen-2 [®]	PROVEAN [®]	mCSM ($\Delta\Delta G$)
98 (No conservativo)	0,00 / Dañina	0,981 / Probablemente Dañina	-7,307 / Deletérea	-0,403 Kcal/mol

La predicción para la mutación p.P409L por la herramienta mCSM (Estabilización proteica) es de *desestabilizante*.



Localización de mutaciones

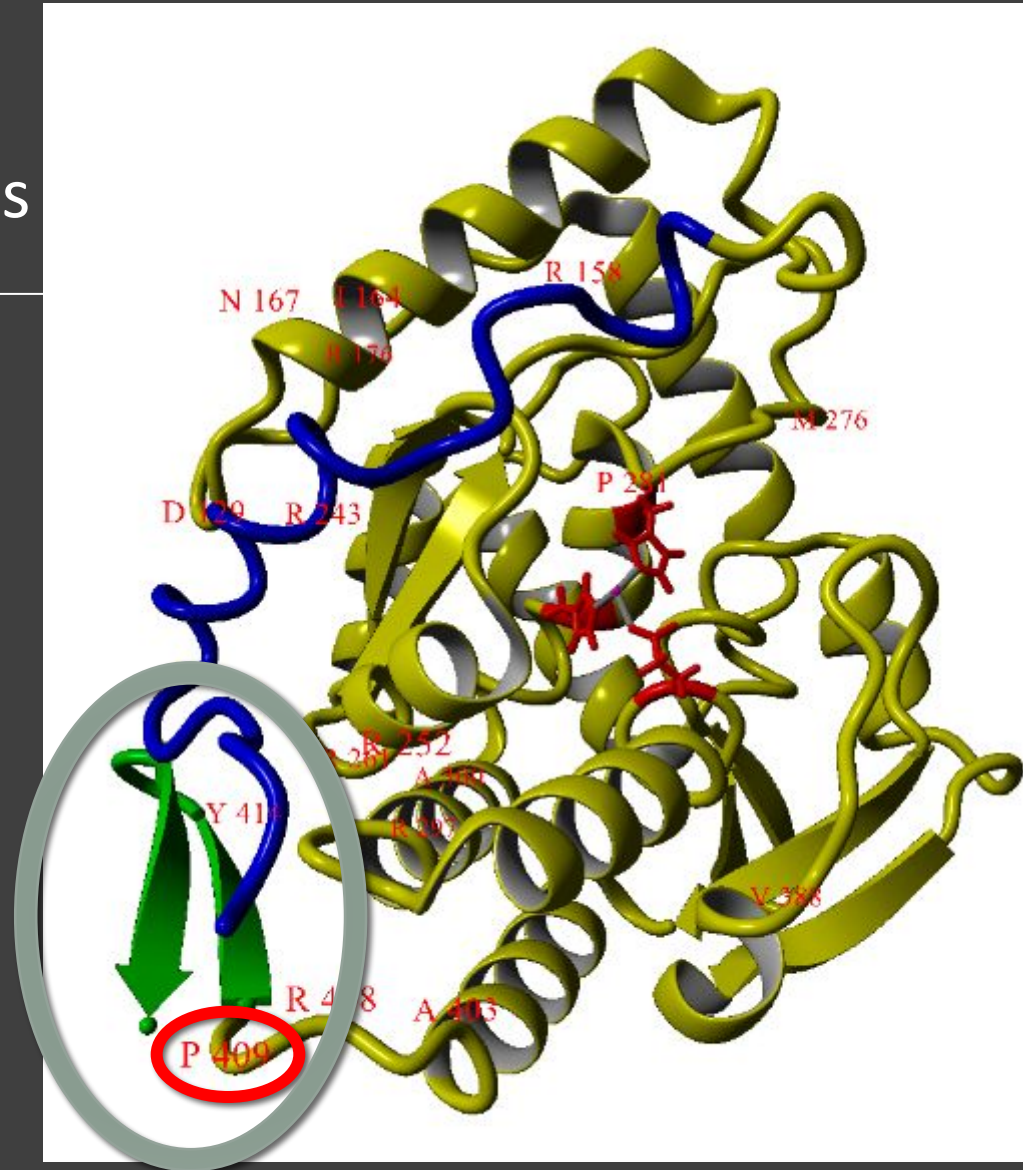
Estructura tridimensional del monómero de la proteína PAH con la localización de las mutaciones exónicas encontradas en la población Canaria.

Codo a nivel P409, previo a dominio de tetramerización.

Cambio estructuralmente complejo.

Alamut Visual Pathogenicity Report	View Report
Experimental_findings	
References	Valerio-Hernandez et al. SSIEM Abstract 2016
Mutalyzer Check/Comments	

BIOPKUdb (<http://www.biopku.org/home/pah.asp>)



Yasara, PDB: 1PAH

CONCLUSIONES

Conclusiones

1. La mutación más prevalente encontrada en la población canaria es la más frecuentemente encontrada a nivel mundial (p.R408W).
2. Las frecuencias mutacionales de Canarias difieren de las encontradas en trabajos previos de la península ibérica, siendo las mutaciones más prevalentes p.R408W (19%), p.R68S (11,9%), p.A403V (10,7%), p.R176L (9,5%), IVS10-11G>A (8,3%). El resto de mutaciones encontradas tienen frecuencias por debajo de esos porcentaje (1,2 - 4,8%).
3. Canarias presenta una alta frecuencia de formas benignas, tal como se ha descrito para la zona mediterránea – sur-europea.
4. En la isla de La Palma viven 2 familias en el mismo pueblo con al menos 5 miembros con mismo genotipo homocigoto para la mutación p.R408W, con un posible efecto fundador en la zona.
5. La nueva mutación encontrada (p.P409L) abre un nuevo campo de estudio *in vitro* en su repercusión sobre la estructura y función de la PAH.
6. **CRIBADO NEONATAL**

**“Sin cribado neonatal,
llegamos demasiado tarde a
todas”**

Atención Primaria



Atención primaria

Hemos perdido manejo y contacto (prueba del talón hospitalaria)

Muy pocos niños

Llegada tras diagnóstico con toda la información → **2as muestras**

Hojas de ruta ante posibles descompensaciones

Objetivos:

- Comorbilidades
- Control inicial de las descompensaciones e interurrencias
- Tratamientos de base (efectos secundarios)
- Feed-back con hospitalaria para PPCC (controles analíticos, revisiones del niño sano)



Piensa en
metabólico



Curso de Cribado Neonatal para AP

ESSSCAN, 15 de noviembre de 2022

Ponentes:

- Alejandra González Delgado
- Felicitas Días-Flores Estévez
- Carmen Rosa Rodríguez Fernández-Oliva
- Eduardo Valerio Hernández



Cribado neonatal metabólico

DIFERENCIAS **ABISMALES** ENTRE PAÍSES

ESPAÑA: diferencias **entre comunidades**

- Sanidad no centralizada
- Criterios políticos, socioculturales y económicos

CANARIAS: *cartera básica*

- Tesis doctoral (2003)
- Previo 2015 (inicios 1980): inició con **PKU (Phe)** e HC (TSH)... posteriormente en 2009 FQ (TIR)
- 2015: cribado ampliado añadiendo mediante MS/MS
 - **Aciduria glutárica tipo 1 (2015)**
 - **Déficit de acil-CoA DH de cadena media (MCADD, 2015)**
 - **Déficit de 3-hidroxiacil CoA-DH de cadena larga (LCHAD, 2015)**
 - **Déficit de biotinidasa (2021)**
 - **Homocistinuria (2022)**
 - **LEUCINOSIS o enfermedad de la orina con olor a jarabe de arce (2022)**
 - **Anemia de células falciformes**



Cribado neonatal metabólico

NOVEDADES 2023

1. Inclusión a partir del 30 de marzo de 2023:
 - a. Atrofia Muscular Espinal (AME)
 - b. Inmunodeficiencia Combinada Grave (IDCG)
 - c. Tirosinemia (TYRN1 y 2)
 - d. Acidemia propiónica (AP) y Acidemia metilmalónica (AMM)
 - e. Deficiencia de Acil Co A deshidrogenasa de cadena muy larga (VLCADD)
 - f. Déficit de transportador de carnitina.
2. Resto de AA e HSC → segundo semestre 2023.

**“Ampliar el cribado neonatal
es la única manera de salvar
vidas”**
