

## NINGÚN PACIENTE DE FENILCETONURIA SIN UN TRATAMIENTO EFICAZ

---



La fenilcetonuria es una enfermedad rara que afecta a 1 de cada 10.000 recién nacidos. Actualmente, los pacientes deben seguir una dieta especial muy estricta durante toda su vida para evitar daños neurológicos, y existe únicamente un fármaco eficaz para algunas variantes de la enfermedad. La identificación y desarrollo de nuevos compuestos útiles en terapia (chaperonas) supondrá una gran ayuda para mejorar la calidad de vida de los pacientes con fenilcetonuria y sus familias.

### ✓ OBJETIVO

---

Mínimo: 4.000 €  
Óptimo: 20.000 €

### ✓ UBICACIÓN

---

Zaragoza





## Descripción

Según los datos del consorcio Orphanet la prevalencia de PKU se calcula en 1/10.000 nacidos vivos en Europa

<http://www.orpha.net/consor/cgi-bin/index.php>



## ¿Qué está ocurriendo?

La fenilcetonuria es un trastorno metabólico hereditario que se caracteriza por la carencia o la deficiente actividad de una enzima, la fenilalanina hidroxilasa o PAH, que es necesaria para convertir la fenilalanina en tirosina. La fenilalanina es un aminoácido que forma parte de prácticamente todas las proteínas y por tanto está presente en la gran mayoría de alimentos. Los individuos afectados por esta enfermedad no son capaces de transformar la fenilalanina en tirosina. En consecuencia, la acumulación de fenilalanina y de las sustancias en que se convierte al no funcionar la enzima, resulta tóxica para el sistema nervioso. Si la fenilcetonuria no se trata a tiempo se pueden producir daños cerebrales y retraso mental. (<http://www.genagen.es/area-pacientes/informacion-genetica-y-enfermedades-hereditarias/enfermedades-geneticas-mas-frecuentes/fenilcetonuria/>)

Para evitarlo es imprescindible identificar la deficiencia enzimática con una prueba que se realiza al recién nacido, conocida como 'prueba del talón', que utiliza como muestra una gota de sangre del talón del neonato.

El nivel de fenilalanina recomendado es entre 120 y 360 micromol/L en los recién nacidos y por encima de 600 micromol/L en pacientes mayores. No existe, sin embargo, consenso sobre el nivel de fenilalanina por encima del cual se debe iniciar el tratamiento, y las recomendaciones varían de un país a otro. (<http://www.socialstyrelsen.se/rarediseases/phenylketonuria>)

Desde mediados de los años 70 y hasta marzo de 2017, se han descrito 991 variantes de la enzima implicada en fenilcetonuria (<http://biopku.org/biopku/search-start.asp>). Conocer las mutaciones concretas de cada paciente requiere pruebas de diagnóstico adicionales a la prueba del talón inicial, pero con ellas se hace posible un tratamiento más correcto y específico. Por ejemplo, algunas de las variantes de la enzima identificadas en estas pruebas no responden al tratamiento con el fármaco Kuvan. En estos casos, las nuevas chaperonas que se están desarrollando podrían conseguir mejorar la calidad de vida de mayor número de pacientes afectados de



fenilcetonuria.



### ¿Por qué?

La identificación precoz evita el desarrollo temprano de la enfermedad, pero exige que el paciente la mantenga controlada mediante una dieta que es bastante difícil de seguir y que provoca muchos problemas de adherencia en adolescentes y adultos. La única alternativa terapéutica es el fármaco Kuvan que resulta eficaz en aproximadamente un tercio de los pacientes. La mayor parte, sin embargo, no responde a este tratamiento y esto les exige muchas restricciones de hábitos de vida, principalmente de alimentación.

La razón por la que el fármaco indicado no funciona en todos los pacientes es la variabilidad de las mutaciones presentes en la secuencia del gen que codifica la enzima PAH. Además, como esta enzima se fabrica en nuestro organismo utilizando la información de los dos genes que heredamos de nuestros progenitores, la enzima concreta de cada paciente presenta una combinación singular de las mutaciones descritas. Por ello, es necesario encontrar nuevos compuestos químicos (chaperonas) que consigan reparar esta enzima en las personas para las que el fármaco Kuvan es ineficaz.



### ¿Y ahora qué podemos hacer?

Promover y apoyar la investigación en nuevas chaperonas que conviertan en activa la enzima PAH con mutaciones perjudiciales y permita específicamente transformar la fenilalanina en tirosina sin necesidad de controlar alimentos “prohibidos” para estos pacientes ni utilizar suplementos en su alimentación.



### PRECIPITANDO ¿A qué se dedicará tu aportación?

Tanto si conseguimos el objetivo mínimo (4.000 euros) como el óptimo (20.000 euros), como si en el mejor de los casos superamos estos 20.000 euros previstos como óptimos, la ayuda se invertirá en la contratación de un/a graduado/a en biotecnología u otras ciencias biológicas, que se encargará de los ensayos de eficacia de las nuevas chaperonas ya identificadas. Para avanzar con rapidez en este proyecto, contratar a una persona bien formada que se dedique exclusivamente a realizar los ensayos de eficacia es fundamental para obtener los mejores resultados lo antes posible.



 ¿Quieres saber más?

<http://www.arapkuotm.es/>

<http://metabolicos.es/>

<http://pirepred.com/>

<https://redmut.wordpress.com/>

<http://neuromed.bifi.es/>

<http://www.bifi.es/es/biofisica/>

<https://es.slideshare.net/metabolicos/investigacin-en-chaperonas-para-pku-53029927>

 Repercusiones del proyecto

El proyecto, con las nuevas chaperonas identificadas y la realización de los estudios de eficacia, puede tener una repercusión directa en los pacientes afectados de fenilcetonuria que no responden a la actual terapia así como en sus familias, si su variante responde a las nuevas chaperonas.

Si conseguimos identificar chaperonas eficaces en modelos animales de la enfermedad podremos plantear la realización de los ensayos clínicos necesarios para convertirlas en nuevos fármacos.

Por otra parte el reto conseguido permitirá, mediante las actividades de difusión, promover la comunicación de los resultados que se obtengan. Se llevarán a cabo actividades conjuntas con las asociaciones de pacientes, lo cual facilitará que los pacientes y sus familias comprendan mejor la fenilcetonuria y sus posibilidades terapéuticas y así puedan desempeñar un papel más activo en la gestión de esta enfermedad crónica.

 Otros datos

**Publicaciones científicas**

Identification of pharmacological chaperones as potential therapeutic



agents to treat phenylketonuria. A.L Pey, M. Ying, N. Cremades, A. Velázquez-Campoy, T. Scherer, B. Thöny, J. Sancho and A. Martinez. Journal of Clinical Investigation. 118:2858-2867 (2008).

Structural and mechanistic basis of the interaction between a pharmacological chaperone and human phenylalanine hydroxylase. R. Torreblanca, E.Lira-Navarrete, J. Sancho, and R. Hurtado-Guerrero. ChemBiochem 13:1266 – 1269 (2012)

### **Patente**

Ángel Pey, Ming Ying, Nunilo Cremades Casasín, Adrián Velázquez Campoy, Javier Sancho Sanz, Aurora Martínez Compositions for the treatment of hyperphenylalaninemia.

Nº de solicitud: 070126826-1216

País de prioridad: Noruega

Fecha de prioridad: 28/06/2007

Países a los que se ha extendido: UE, USA, Canadá, Japón

Entidad Titular: Universidad de Zaragoza

### **Proyectos de investigación**

NEUROMED. Diagnóstico y combate molecular de tres enfermedades neurodegenerativas (parkinson, fenilcetonuria y amiloidosis TTR) SOE4/P1/E831 Interreg?SUDOE Periodo 2014?2015

PIPEPRED: Red Transfronteriza de interpretación del cribado neonatal: de la mutación al paciente. EFA86/15 INTERREG?POCTEFA Periodo: 2016?2019

Estructura, energética y simulación de conformaciones (parcialmente) desplegadas de las proteínas. Hacia modelos atómicos cuantitativos de la estabilidad de las proteínas BFU2016-78232-P Ministerio de Economía y Competitividad Periodo: 2016-2019

Estabilidad conformacional de proteínas: principios generales, análisis estabilidad función del r?LDL y búsqueda de nuevas chaperonas farmacológicas. BFU2010-16297 Ministerio de Economía y Competitividad.Periodo: 2011?2013

Estabilidad de proteínas: principios básicos de los estados (parcialmente) desplegados y estudios moleculares en enfermedades conformacionales. 01/01/14-31/12/16. BFU2013-47064-P: MINECO. IP: Javier Sancho (A. Velazquez, ColP).

Comprensión, predicción y validación del fenotipo de las mutaciones



patológicas: transformando los resultados básicos en herramientas de diagnóstico. 01/12/14-30/11/16. BIO2014-57314- REDT: MINECO. IP: Javier Sancho.

Principios de estabilidad conformacional de proteínas, análisis estructural y energético de conformaciones no nativas e identificación de ligandos bioactivos. BFU2007-61476/BMC MEC. 01/10/07-04/10/10. IP: Javier Sancho.

Análisis de nueva algorítmica para acelerar la simulación de plegamiento de proteínas. PLEBIOTIC S.L. 01/05/09-31/12/09. IP: Javier Sancho.

Principios de estabilidad conformacional y estabilización de proteínas sencillas y moderadamente complejas. BFU2004-01411. MCyT. 13/12/04-12/12/07. IP: Javier Sancho.

### Convenio con empresa

Convenio de colaboración para el desarrollo de nuevos antibióticos. Genoma España (2008?2013). IP: Javier Sancho.



### Ubicación

Instituto de Biocomputación y Física de Sistemas Complejos (BIFI)



### ¿Quién está detrás de este proyecto?



**Investigador principal:** Javier Sancho

**Investigadores:** Juan José Galano, María Conde, Sandra Salillas y Alejandro Mahía

Nuestro grupo de investigación, Protmol (<http://www.bifi.es/es/biofisica/>), está liderado por el Profesor Javier Sancho, Catedrático de Bioquímica y Biología Molecular y Director del Instituto de Investigación en Biocomputación y Física de Sistemas Complejos (BIFI) de la Universidad de Zaragoza. Javier se licenció y doctoró en Ciencias (Químicas) por la Universidad de Zaragoza en 1984 y 1988, respectivamente, y realizó una estancia postdoctoral en el Centro de Ingeniería de Proteínas de la Universidad de Cambridge (UK) en los años 1989-1991.

Nuestro trabajo se ha centrado en tratar de comprender cómo la secuencia de aminoácidos de las proteínas determina su estructura tridimensional, su capacidad de reconocer a otras moléculas y, finalmente, su función biológica. Nuestro grupo de investigación combina habitualmente estudios experimentales y computacionales que realiza sobre las mismas proteínas de modo que podemos contrastar los resultados de las simulaciones con los experimentos realizados en el laboratorio. Nuestros logros científico-técnicos más relevantes en relación a este proyecto son: el desarrollo de procedimientos de cribado de quimiotecas basados en estabilización de la diana, el descubrimiento de chaperonas farmacológicas para fenilcetonuria y la primera descripción completa del espacio mutacional de un dominio proteico y sus consecuencias fenotípicas. En la actualidad nos dedicamos a desarrollar métodos fiables de estabilización racional de proteínas, a descubrir y desarrollar antibióticos y chaperonas farmacológicas para diversas enfermedades de origen infeccioso o molecular y a desarrollar métodos fiables para predecir computacionalmente el fenotipo causado por las mutaciones genéticas que afectan a un sólo nucleótido. Nuestra trayectoria científica se pone de manifiesto en la del director del grupo, el Profesor Javier Sancho, con 119 artículos científicos en revistas internacionales, la presentación de 14 patentes (1 en explotación) y la dirección de 17 Tesis Doctorales (5 en los últimos 5 años).

Nuestros laboratorios en el BIFI y en la Facultad de Ciencias están equipados para realizar investigación integrativa combinando técnicas de Biología Molecular y Celular, Bioquímica, Biofísica, y Computación. Durante 25 años hemos estudiado los principios de la estabilidad, plegamiento e interacción de las proteínas, y la relación entre su dinámica y su función. La estabilidad de las proteínas es un fenómeno muy importante, tanto desde la perspectiva teórica como aplicada, del que todavía se carece de suficiente comprensión cuantitativa.



Somos también muy activos en descubrimiento de fármacos. En los últimos años hemos investigado en enfermedades conformacionales para entender sus causas moleculares y para descubrir y perfeccionar pequeñas moléculas orgánicas para desarrollar nuevas terapias. Nuestros proyectos incluyen ensayos en animales modelo de nuevos antimicrobianos contra el patógeno *Helicobacter pylori*, y el descubrimiento y mejora racional de chaperonas farmacológicas para rescatar enzimas humanas defectuosas (p. ej. PAH mutada responsable de fenilcetonuria) y para inhibir la agregación de proteínas y péptidos humanos relacionados con enfermedades amiloides (p.ej. Alzheimer, Parkinson).

Más que en técnicas concretas, estamos interesados en entender y resolver problemas y, por ello, combinamos aproximaciones experimentales y computacionales, según resulta necesario. Así hemos desarrollado modelos atómicos del conjunto desplegado de las proteínas (ProtSA), un predictor de priones a escala genómica (PrionScan), un predictor de segmentos localmente inestables de las proteínas (ProteinLIPS), y herramientas de Dinámica Molecular para identificar SNPs involucrados en enfermedades conformacionales.

Nuestro grupo da la bienvenida a nuevos estudiantes doctorales y postdoctorales talentosos y motivados que estén interesados en este trabajo.

## PUBLICACIONES RELEVANTES

- 1.- Exploring the complete mutational space of the LDL receptor LA5 domain using molecular dynamics: Linking SNPs with disease phenotypes in familial hypercholesterolemia. V. E. Angarica, M. Orozco and J. Sancho. *Human Molecular Genetics*, 25:1233-1246 (2016).
- 2.- Rational stabilization of complex proteins: a divide and combine approach. Lamazares, Emilio; Clemente, Isabel; Bueno, Marta Velázquez-Campoy A, Sancho J. *Scientific Reports*, 5, 9129 (2015).
- 3.- Predicting stabilizing mutations in proteins using Poisson-Boltzmann based models: study of unfolded state ensemble models and development of a successful binary classifier based on residue interaction energies. Jorge Estrada, Pablo Echenique, Javier Sancho. *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 17:31044-31054 (2015).
- 4.- The FurA regulon in *Anabaena* sp PCC 7120: in silico prediction and experimental validation of novel target genes. A. González, V. E. Angarica; J. Sancho; M.F. Fillat. *Nucleic Acids Research*, 42:4833-4846 (2014).
- 5.- Improved flavodoxin inhibitors with potential therapeutic effects against *Helicobacter pylori* infection. J.J. Galano, M. Alías, R. Pérez, A.





Velázquez-Campoy, P. S. Hoffman, J. Sancho. *Journal of Medicinal Chemistry*. 56-15, pp.6248-6258 (2013).

6.- Discovery of novel inhibitors of amyloid b-peptide 1-42 aggregation. L. C. López, S. Dos-Reis, A. Espargaró, J. A. Carrodegua, M-L Maddelein, S Ventura, J Sancho. *J. Med. Chem.*55:9521-9530 (2012).

7.- Contribution of disulfide bonds to stability, folding, and amyloid fibril formation: The PI3-SH3 domain case. R. Graña-Montes, N. S. de Groot, V. Castillo, J. Sancho, A. Velazquez-Campoy, and S. Ventura. *Antioxidants and Redox Signaling*. 16:1-15 (2012).

8.- ProtSA: A web application for calculating sequence specific protein solvent accessibilities in the unfolded ensemble. J. Estrada, P. Bernadó, M. Blackledge, J. Sancho. *BMC Bioinformatics*. 10:article104 (2009).

9.- Identification of pharmacological chaperones as potential therapeutic agents to treat phenylketonuria. A.L Pey, M. Ying, N. Cremades, A. Velázquez-Campoy, T. Scherer, B. Thöny, J. Sancho and A. Martínez. *Journal of Clinical Investigation*. 118:2858-2867 (2008).

10.- The mechanism of LDL release in the endosome: Implications of the stability and Ca<sup>++</sup> affinity of the fifth binding module of the LDL receptor. X. Arias-Moreno, A. Velázquez-Campoy, JC Rodríguez, M. Pocoví & J. Sancho. *J. Biol. Chem.* 283:22670-22679 (2008).

11.- The native-state ensemble of proteins provides clues for folding, misfolding and function. N. Cremades, J. Sancho and E. Freire. *Trends in Biochemical Sciences*, 31:494-496 (2006).

12.- Do proteins always benefit from a stability increase? Relevant and residual stabilization in a three-state protein by charge optimization. Luis A. Campos, María M. Garcia-Mira, Raquel Godoy-Ruiz, José M. Sánchez-Ruiz and Javier Sancho. *J. Mol.Biol.*344: 223-237 (2004).

13.- The tryptophan/histidine interaction in  $\alpha$ -helices. J. Fernández-Recio, A. Vázquez, C. Civera, P. Sevilla & J. Sancho. *J. Mol. Biol.*267: 184-197 (1997).

14.- Closure of a tyrosine/tryptophane aromatic gate leads to a compact fold in apoflavodoxin. C.G. Genzor, A. Perales-Alcón, J. Sancho & A. Romero. *Nature Structural Biology*, 3:329-332 (1996).

15.- Effect of alanine versus glycine in alpha-helices on protein stability. L. Serrano, J.L. Neira, J. Sancho & A.R. Fersht. *Nature*, 356:453-455 (1992).



