

# CARACTERIZACIÓN GENO-FENOTÍPICA Y ESTRUCTURAL DE UNA NUEVA VARIANTE DEL GEN ALPL ASOCIADO A HIPOFOSFATASIA

Raquel Sanabria-de la Torre (1,2,6), Cristina García-Fontana (1,2,3), Francisco Andújar-Vera (2), Iván Iglesias-Baena (4), Juan Miguel Villa-Suárez, (2,5,6), Sheila González-Salvatierra (1,2,6), María Ferrer-Millán (1,2,6), Nuria Cabrera-Gómez (2,6,8), Ángela Jiménez-Ortas (2,6,8), Manuel Muñoz-Torres (1,2,3,6), Beatriz García-Fontana (1,2,3,7).

1. Unidad de Endocrinología y Nutrición. Hospital Universitario Clínico San Cecilio. Granada, España. 2. Instituto de Investigación Biosanitaria de Granada (Ibs.GRANADA). Granada, España. 3. CIBERFES. Instituto de Salud Carlos III. Madrid, España. 4. Genactive Clinic & Research. Granada, España. 5. Unidad de Análisis Clínicos. Hospital Universitario Clínico San Cecilio. Granada, España. 6. Dpto. de Medicina. Universidad de Granada. Granada, España. 7. Área de Regulación Génica de Células Madre y Desarrollo-GENYO. Centro de Genómica e Investigación Oncológica. Pfizer-Universidad de Granada-Junta de Andalucía. Granada, España. 8. Dpto. Bioquímica y Biología Molecular I, Universidad de Granada. Granada, España.

## INTRODUCCIÓN

La hipofosfatasa (HPP) es una enfermedad genética rara, grave y potencialmente mortal causada por una o varias mutaciones en el gen ALPL que codifica la fosfatasa alcalina no específica de tejido (TNSALP). Este trastorno se caracteriza por una deficiente mineralización ósea y por alteraciones en la regulación de los fosfatos y del calcio que dan lugar a un deterioro progresivo de numerosos órganos vitales. Debido a su baja prevalencia, este trastorno metabólico suele estar infradiagnosticado. Su sintomatología inespecífica lleva frecuentemente a un diagnóstico equivocado confundiendo con otros trastornos óseos más prevalentes

## OBJETIVO

Caracterización de la nueva variante genética c.1135C>A (His379Asn) del gen ALPL a nivel funcional y estructural. Establecer la relación de los datos estructurales y de actividad enzimática de la variante con las manifestaciones clínicas del paciente afectado.

MANIFESTACIONES CLÍNICAS

ACTIVIDAD DE ALP *in vivo* e *in vitro*

ESTRUCTURA PROTEICA 3D

## RESULTADOS

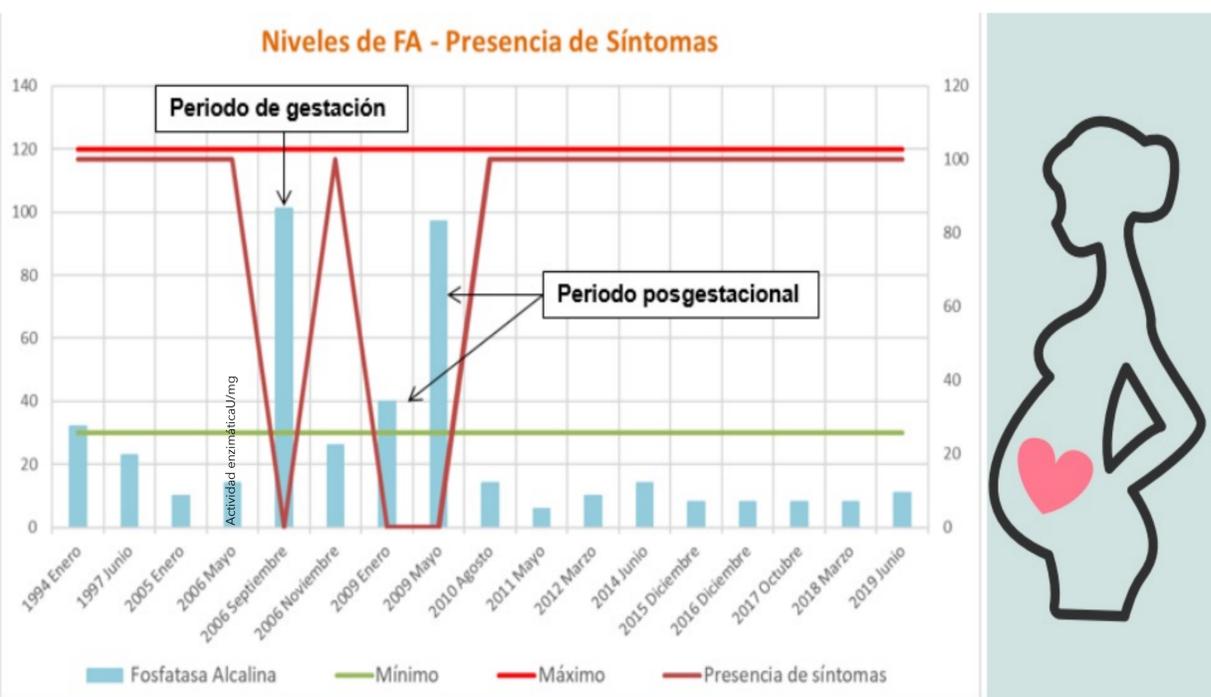


Fig. 1. Relación entre los valores séricos de fosfatasa alcalina con la presencia de sintomatología asociada.

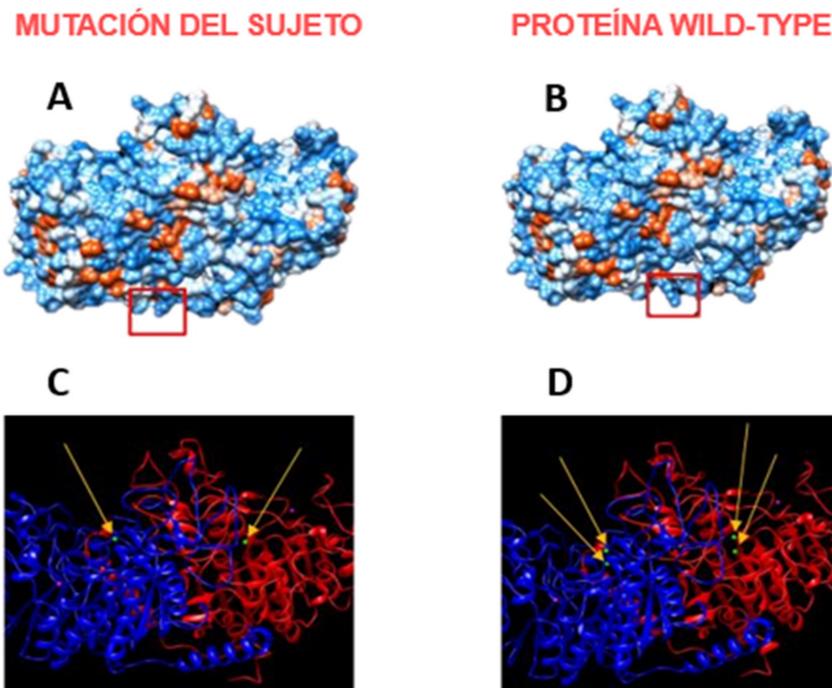


Fig. 2. Modelado 3D de WT y mutante His379Asn de TNSALP. El modelado de la estructura se basa en la homología de secuencia entre TNSALP y la isoenzima placentaria, (PDB ID: 1E2W). Los paneles A y B muestran la estructura 3D en base a la polaridad de TNSALP (la escala de colores en función de la polaridad se muestra al pie de la figura). Los mayores cambios estructurales se señalan con un rectángulo rojo. Los paneles C y D muestran la estructura 3D de TNSALP como una representación de α hélices y láminas β. Los dos monómeros de la proteína se muestran en rojo y azul. Las flechas amarillas señalan los átomos de Zinc en el dímero.

	His379Asn	Rango de normalidad
Actividad ALP (IU/L)	10	30-140
PLP (ug/L)	462	5-50

Tabla 2. Determinaciones bioquímicas de ALP y PLP en el paciente afectado con la mutación c.1135C>A (His379Asn) del gen ALPL.

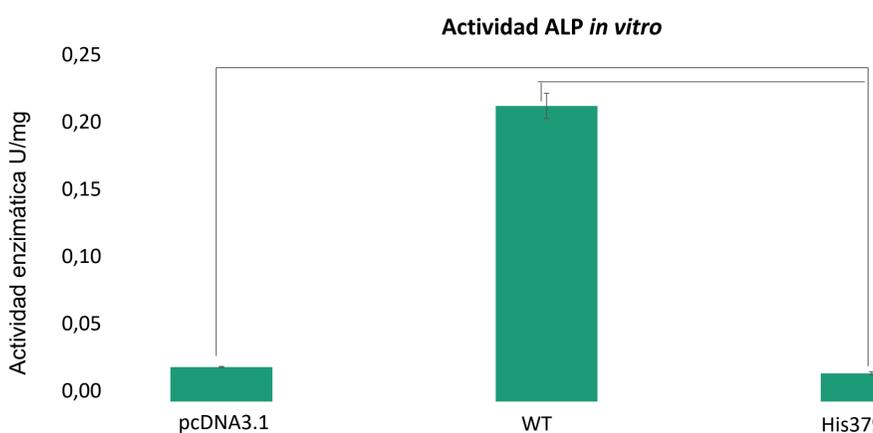


Fig. 3. Actividad fosfatasa alcalina en cultivos celulares de células humanas de riñón transfectadas con el vector pcDNA 3.1 con el gen ALPL wild type (WT) (1ª columna), con el vector conteniendo la variante objeto de estudio (2ª columna) y con el vector control (3ª columna). His379Asn

## CONCLUSIONES

- ✓ Se anotó una nueva mutación del gen ALPL caracterizada por la pérdida de uno de los dos sitios de unión a Zinc de la TNSALP.
- ✓ Dado que estos sitios son esenciales para la función de la proteína, sugerimos que esta mutación es la responsable de la drástica reducción de la actividad enzimática que se asocia a una sintomatología de moderada a grave de HPP en el adulto.
- ✓ Los periodos de gestación y postgestación se asocian a una mejoría de la sintomatología posiblemente por el aumento de los niveles de fosfatasa alcalina provenientes de la isoforma placentaria.

## METODOLOGÍA

Se estudió la historia clínica del paciente afectado. Se realizaron pruebas de caracterización fenotípica expresando la variante descrita en cultivos de células embrionarias de riñón HEK293T para determinar la actividad fosfatasa alcalina (ALP).

Mediante estudios bioinformáticos se representaron los modelos estructurales 3D de las proteínas wild-type y mutante mediante las herramientas SWISS MODEL y UCSF Chimera.



**CEEBI**  
CONGRESO ESTATAL DE ESTUDIANTES DE BIOCIENCIAS

Congreso Estatal de Estudiantes de Biociencias 2022

**ibs.GRANADA**  
INSTITUTO DE INVESTIGACIÓN BIOSANITARIA

**Junta de Andalucía**

GOBIERNO DE ESPAÑA  
MINISTERIO DE ECONOMÍA, INDUSTRIA Y COMPETITIVIDAD  
Instituto de Salud Carlos III

UNIÓN EUROPEA  
Fondo Europeo de Desarrollo Regional  
"Una manera de hacer Europa"