



# **CHAPERONAS FARMACOLÓGICAS COMO POSIBLE TERAPIA PARA LOS TRASTORNOS POR DEPÓSITO LISOSOMAL**

*Tutor: Ricardo Reyes Rodríguez*

*Área: Biología Celular*

*Departamento: Bioquímica, Microbiología, Biología Celular y Genética.*

*Curso: 2020/21*

Lucia Isa Roiz de la Parra

## ÍNDICE

<b>1. RESUMEN</b> .....	2
<b>2. INTRODUCCIÓN</b> .....	3
<b>3. ORIGEN Y FUNCIÓN DE LOS LISOSOMAS EN LA CÉLULA ANIMAL</b> .....	3
<b>4. ALTERACIONES DE LA FUNCIÓN DEL LISOSOMA</b> .....	5
<b>5. ENFERMEDADES POR DEPÓSITO LISOSOMAL (LSD)</b> .....	5
<b>6. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVO</b> .....	7
<b>7. MATERIAL Y MÉTODOS</b> .....	7
<b>8. ABORDAJES TERAPEÚTICOS DE LAS ENFERMEDADES POR DEPÓSITO LISOSOMAL</b> .....	8
8.1 Terapia de reemplazo enzimático (ERT).....	8
8.2 Terapia de reducción de sustrato (SRT).....	8
8.3 Terapia Génica .....	9
8.4 Terapia con células madre hematopoyéticas (HSCT).....	9
<b>9. CHAPERONAS MOLECULARES: FUNCIÓN EN LA BIOLOGÍA DE LA CÉLULA</b> .....	10
<b>10. CHAPERONAS FARMACOLÓGICAS COMO OPCIÓN TERAPEÚTICA EN EL TRATAMIENTO DE LAS LSD</b> .....	10
<b>11. FARMACOLOGÍA DE LAS CHAPERONAS FARMACOLÓGICAS</b> .....	12
<b>12. CHAPERONAS FARMACOLÓGICAS: PERSPECTIVAS FUTURAS EN EL TRATAMIENTO DE LAS LSD</b> .....	13
<b>13. CONCLUSIONES</b> .....	14
<b>14. BIBLIOGRAFÍA</b> .....	15

## 1. RESUMEN

Las enfermedades por depósito lisosomal (LSD), se caracterizan por el acúmulo patológico de sustratos en la célula, y agrupa a un conjunto de enfermedades monogénicas causadas por mutaciones en genes que codifican proteínas lisosomales y que afectan en ocasiones al plegamiento y la conformación de las mismas. Clínicamente heterogéneas tanto en su debut como en su desarrollo, existen formas infantiles y adultas con afectación de numerosos sistemas y aparatos. Su difícil diagnóstico y el manejo clínico basado en tratamientos sintomáticos como la terapia de reemplazo enzimático o la de reducción de sustrato, están dirigidos a reducir o eliminar los depósitos patológicos para controlar la sintomatología. El objetivo de este trabajo ha sido la revisión del estado actual de las terapias disponible para el tratamiento de las LSD, haciendo especial hincapié en el tratamiento basado en las chaperonas farmacológicas, moléculas que estabilizan la conformación de las proteínas mutantes, recuperando total o parcialmente su funcionalidad. Las chaperonas farmacológicas han abierto una nueva vía para el manejo terapéutico de determinadas LSD que no responden adecuadamente a otros tratamientos.

**Palabras clave:** Lisosomas, hidrolasas, chaperonas, enfermedades por depósito lisosomal

## ABSTRACT

Lysosomal deposition diseases (LSD) are characterized by the pathological accumulation of substrates in the cell, and comprise a set of monogenic diseases caused by mutations in genes that encode lysosomal proteins and that sometimes affect the folding and conformation of cells themselves. Clinically diverse both in debut and development, there are child and adulthood forms with involvement of different organic systems and apparatus. Its precise diagnosis is difficult and clinical management based on symptomatic treatments, such as enzyme replacement therapy or substrate reduction therapy, are aimed at reducing or eliminating pathological deposits trying to control symptoms. The objective of this work has been review the current state of the therapies available for the treatment of LSD, with special emphasis on treatment based on pharmacological chaperones, molecules that stabilize the conformation of mutant proteins, fully or partially recovering their functionality. Pharmacological chaperones have opened a new therapeutic option for the management of several LSD that do not respond adequately to other treatments.

**Key words:** Lysosomes, hydrolases, chaperones, lysosomal storage disorder

## 2. INTRODUCCIÓN

El estudio de los lisosomas comenzó con las observaciones microscópicas del microbiólogo Iliá Méchnikov a finales del siglo XIX. Él y sus contemporáneos describieron la absorción de partículas extrañas por las células y su posterior digestión. Metchinikoff observó asimismo que las partículas ingeridas experimentaban un cambio de color, deduciendo que se producía un cambio de pH en el ambiente que las rodeaba (Maxfield, 2016).

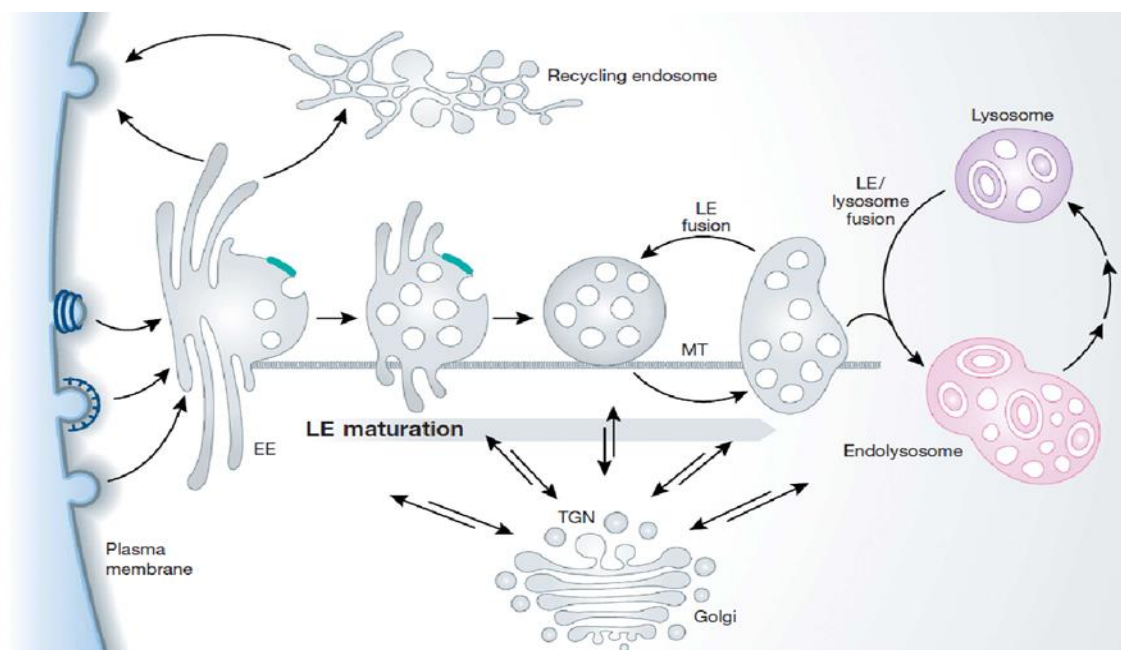
Ya a finales del siglo XIX hubo descripciones de diversas enfermedades de almacenamiento en las que se observaron acumulaciones celulares de material en el examen patológico de tejidos de pacientes afectados, entre ellas, enfermedades como las de *Gaucher*, *Tay-Sachs* y *Niemann-Pick* (Maxfield, 2016). En la década de 1950, el bioquímico belga Christian de Duve y sus colegas abrieron una nueva etapa en el estudio del lisosoma, a partir de la cual comenzó a plantearse la idea de que defectos en el funcionamiento de estos orgánulos podrían ser la causa subyacente de las enfermedades por depósito (De Duve, 2007). Fue sin embargo Hers quien proporcionó la primera evidencia de la relación entre una disfunción lisosomal y una enfermedad de este tipo, cuando demostró que la deficiencia de maltasa, una hidrolasa lisosomal, era la causa de una enfermedad caracterizada por el depósito anormal de glucógeno (Hers, 1963).

A partir de 1980, ha habido un crecimiento explosivo en la investigación de los lisosomas, lo que ha permitido profundizar en la comprensión de la bioquímica básica y la biología molecular de estos orgánulos celulares, así como en las alteraciones de su funcionamiento.

## 3. ORIGEN Y FUNCIÓN DE LOS LISOSOMAS EN LA CÉLULA ANIMAL

Los lisosomas se forman a partir de vesículas procedentes de la red trans del aparato de Golgi (TGN) conteniendo enzimas hidrolíticas que se fusionan con diferentes orgánulos de la vía endocítica, principalmente endosomas tardíos (LE) o cuerpos multivesiculares (Huotari y Helenius, 2011). Funcionalmente, tanto los lisosomas como los LE, son los principales orgánulos digestivos de las células eucariotas. Ambos contienen una gran variedad de enzimas y proteínas accesorias con capacidad para hidrolizar una enorme variedad de sustratos. Estos orgánulos mantienen un pH ácido necesario para la actividad de las enzimas lisosomales (hidrolasas ácidas). Los diferentes sustratos alcanzan el

lisosoma, ya sea mediante procesos endocíticos (endocitosis mediada por receptor, macropinocitosis y fagocitosis) o por procesos autofágicos, en los que, autofagosomas con diferente contenido celular se fusionan con dichos orgánulos. La endocitosis comienza con la formación de una vesícula endocítica revestida que emerge de la membrana plasmática y se fusiona con un endosoma temprano (EE) que posteriormente madura hacia LE, recibiendo a lo largo del proceso un aporte continuo de hidrolasas sintetizadas “de novo”, procedentes de la TGN (Figura 1) (Huotari y Helenius, 2011; Scott et al., 2014). La autofagia comienza con la encapsulación de partes del citoplasma por membranas de aislamiento procedentes de distintas partes de la célula, principalmente el retículo endoplasmático (RE), que se expanden hasta rodear por completo la porción a degradar, formando una vesícula de doble membrana llamada autofagosoma que se fusiona con lisosomas preexistentes, finalizando así el proceso, que se caracteriza por la degradación y el reciclaje al citoplasma del material degradado (Huotari y Helenius, 2011; Scott et al. 2014).



**Figura 1.** La vía endocítica con su maquinaria y elementos. El endosoma temprano (EE) se forma por la fusión de múltiples vesículas endocíticas provenientes de la membrana plasmática. El EE tiene a su vez reciclaje de su membrana hacia la membrana plasmática. Durante la maduración hasta endosoma tardío (LE), es movilizad o vía microtúbulos (MT), intercambiando vesículas bidireccionalmente con el aparato de Golgi. Finalmente, el LE puede unirse a un lisosoma formando un endolisosoma, o bien madurar hasta transformarse en un lisosoma. Tomado de Huotari y Helenius, (2011).

#### 4. ALTERACIONES DE LA FUNCIÓN DEL LISOSOMA.

La mayoría de las alteraciones de la función lisosomal, son consecuencia de mutaciones en genes que codifican proteínas lisosomales, tanto hidrolasas lisosomales como proteínas de la membrana lisosomal (LAMP). Estas alteraciones provocan defectos en el funcionamiento de una proteína específica y conllevan la acumulación de materiales no degradados en el interior del lisosoma, perturbando gravemente el funcionamiento de este orgánulo y en definitiva el funcionamiento celular (Platt et al., 2018). Debido a la acumulación de materiales no degradados, estas alteraciones se conocen como enfermedades por depósito lisosomal (LSD).

#### 5. ENFERMEDADES POR DEPÓSITO LISOSOMAL (LSD)

Hasta la fecha, se han descrito más de 70 trastornos de la función lisosomal (LSD) caracterizados por el depósito de diferentes sustratos (Syed Haneef & Priya Doss, 2016; Platt et al., 2018). La tabla 1 muestra una relación de las LSD más prevalentes, potencialmente tratables con chaperonas farmacológicas (PC), que son originadas por defectos en el plegamiento de las proteínas implicadas.

**Tabla 1.** LSD susceptibles de tratamiento con chaperonas farmacológicas. Tomado de Syed Haneef & Priya Doss, (2016).

Enfermedad	Enzima relevante	Mutación rescatada	Agente usado
Enfermedad de Fabry	$\alpha$ -Galactosidasa A	T194I, Q279E, R301Q, Q357X, V390fsX8	Deoxygalactonojirimicina
Enfermedad de Gaucher	$\beta$ -Glucosidasa	V15M, M123T, F213I, G202R, S364R, N370S	N-nonyl-deoxynojirimicina, N-octyl- $\beta$ -valienamina, N-butyl-deoxynojirimicina
GM <sub>1</sub> -Gangliosidosis	$\beta$ -Galactosidasa		N-octyl-4-epi- $\beta$ -valienamina
GM <sub>2</sub> -Gangliosidosis			
Enfermedad de Tay-Sachs	$\beta$ -Hexosaminidasa A	G269S	N-acetylglucosamina-thiazolina
Enfermedad de Sandhoff	$\beta$ -Hexosaminidasa A y B	P504S	N-acetylglucosamina-thiazolina

##### Enfermedad de Fabry

Es un trastorno que afecta al metabolismo de los glucoesfingolípidos. Se trata de una alteración genética ligada al cromosoma X, debida a mutaciones en el gen *GLA* que codifica la enzima  $\alpha$ -galactosidasa A (AGAL). La enzima escinde la globotriaosilceramida (Gb3) generando galactosa, que es un sustrato y un inhibidor reversible de la enzima. Clínicamente se caracteriza por acroparestesias (hormigueo de

las extremidades), angioqueratomas (endurecimiento de la piel), hipohidrosis (sudoración insuficiente) y problemas auditivos. Su incidencia es de 1 cada 40.000-60.000 nacidos vivos y es más frecuente en varones (Chan & Adam, 2018).

#### Enfermedad de Gaucher

Es un trastorno que afecta al metabolismo de los glucoesfingolípidos. Está causada por diferentes mutaciones en el gen *GBA 1* que dan como resultado la deficiencia enzimática de  $\beta$ -glucocerebrosidasa y el almacenamiento masivo de glucosilceramida. Agrupa diferentes entidades clínicas con signos y síntomas muy variados que pueden afectar tanto al sistema nervioso central (SNC) como a órganos viscerales extraneurales. Su incidencia es de 1 cada 10.000 nacidos vivos (Stirnemann et al., 2017).

#### Enfermedad de Pompe

Es un trastorno causado por la deficiencia de  $\alpha$ -glucosidasa, que provoca la acumulación anormal de glucógeno. Se hereda de forma autosómica recesiva, y cursa con miopatías, hipotonía, hepatomegalia, y cardiomegalia. Puede debutar a diferentes edades desde la infancia hasta la edad adulta. Su incidencia es de 1 cada 40.000 nacidos vivos (Kohler et al., 2018).

#### GM<sub>1</sub>-Gangliosidosis

Es una LSD causada por la deficiencia de  $\alpha$ -galactosidasa, que se caracteriza clínicamente por deterioro neurológico progresivo, principalmente en la infancia, además de otras manifestaciones somáticas. La incidencia estimada es de 1 cada 100.000-200.000 nacidos vivos. Se han identificado más de 160 mutaciones asociadas a esta enfermedad (Platt et al., 2018).

#### GM<sub>2</sub>-Gangliosidosis: Enfermedad de Tay-Sachs y Enfermedad de Sandhoff

La enfermedad de Tay-Sachs es una LSD caracterizada por el depósito de gangliósidos. Se hereda como un desorden autosómico recesivo. Se origina por mutaciones en el gen *HEXA* que causan deficiencia en la subunidad  $\beta$  de la Hexosaminidasa A, enzima que participa en la degradación de los gangliósidos, un tipo de esfingolípido que se acumula en las neuronas causando degeneración en el SNC. Presenta alta incidencia entre judíos asquenazíes. Clínicamente se caracteriza por alteraciones severas en el desarrollo

cognitivo, tensión y rigidez musculares, parálisis, demencia y ceguera (Solovyeva et al., 2018; Leal et al., 2020).

La enfermedad de Sandhoff es muy similar a la enfermedad de Tay-Sachs. En este caso, mutaciones en el gen *HEXB*, que codifica la subunidad  $\beta$  de las Hexosaminidasas A y B, causan la deficiencia de actividad de dichas enzimas. La enfermedad de Sandhoff no está asociada a ningún grupo étnico específico. Los individuos afectados sufren discapacidad intelectual progresiva, ceguera e hiperacusia, problemas óseos y hepatomegalia (Leal et al., 2020).

## 6. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVO

Las LSD son un grupo heterogéneo de enfermedades que son raras individualmente, pero comunes colectivamente. Es decir, consideradas individualmente presentan una baja incidencia, pero consideradas globalmente, presentan una incidencia aproximada de 1 cada 7.000 nacidos vivos (Meickle et al., 1999).

Si bien las características clínicas varían entre las diferentes LSD, todas comparten un curso progresivo. Actualmente existen diferentes opciones terapéuticas para el manejo clínico de las mismas, no obstante, mantienen una morbilidad y mortalidad significativas. Una de las terapias aplicadas con perspectivas de futuro desarrollo, dada su eficacia y sus bajos efectos secundarios, son las PC. Teniendo en esto cuenta, el objetivo general planteado en este trabajo de revisión bibliográfica ha sido:

- Revisar el estado actual de conocimiento de las terapias utilizadas en las principales LSD, haciendo especial hincapié en la terapia con PC, sus características, ventajas e inconvenientes, así como sus perspectivas futuras.

## 7. MATERIAL Y MÉTODOS

La información para la elaboración de este trabajo ha sido obtenida mediante búsqueda bibliográfica seleccionando diferentes artículos científicos y textos especializados, disponibles en la sección de bibliografía. La búsqueda se ha hecho empleando diferentes buscadores como PUBMED, Google Scholar y SCOPUS. Se han usado como palabras clave: Pharmacological chaperones, lysosomal storage disorders, enzymatic replacement therapy, substrate reduction therapy, gene therapy, stem cell tehrapy, solas o en diferentes combinaciones. Del total de artículos encontrados, se seleccionaron principalmente



artículos de revisión que incluían en el resumen los términos pharmacological chaperones y/o lysosomal storage disorders.

## **8. ABORDAJES TERAPEÚTICOS DE LAS ENFERMEDADES POR DEPÓSITO LISOSOMAL**

Actualmente existen distintas aproximaciones terapéuticas en el abordaje de las LSD como son:

- 8.1 Terapia de reemplazo enzimático (ERT).
- 8.2 Terapia de reducción de sustrato (SRT).
- 8.3 Terapia génica.
- 8.4 Terapia con células madre hematopoyéticas.
- 8.5 Terapia con chaperonas farmacológicas (PCs).

### 8.1 Terapia de reemplazo enzimático (ERT)

En este enfoque, la enzima deficiente se reemplaza por una enzima funcional aislada de un organismo apropiado u obtenida *in vitro*. Las dosis administradas y la frecuencia de las mismas difieren de una enfermedad a otra. La enzima deficitaria se administra por infusión intravenosa con una pauta que puede ser semanal o quincenal, debido a su corta vida media (Ortiz et al., 2018; Germain et al., 2019). La ERT puede causar reacciones inmunológicas no deseadas entre otros efectos adversos. Esta terapia no trata la condición genética subyacente en estas enfermedades, simplemente consigue normalizar de forma transitoria la concentración de la enzima deficitaria. El mayor inconveniente de la ERT es su dificultad para cruzar la barrera hematoencefálica (BHE), lo que limita su uso en LSD que afectan al SNC (Rastall & Amalfitano, 2017; Li, 2018; Sheth & Nair, 2020). Actualmente existen en Estados Unidos 11 ERT aprobadas por la FDA.

### 8.2 Terapia de reducción de sustrato (SRT)

En las LSD, el sustrato degradado por la enzima deficitaria tiende acumularse en los lisosomas. La SRT se basa en inhibir farmacológicamente la producción del sustrato no degradado para evitar con ello los depósitos patológicos del mismo (Radin, 1996; Coutinho et al., 2016; Rastall & Amalfitano, 2017; Sheth & Nair, 2020). En teoría, este enfoque presenta una serie de ventajas potenciales en comparación con la ERT, como son

la administración oral, la ausencia de reacción inmunológica, el uso de un solo fármaco para tratar un grupo de enfermedades y la posibilidad de reducir los depósitos patológicos en el SNC, dado que la mayoría de estos fármacos atraviesa la BHE (Platt & Jeyakumar, 2008). Actualmente existen en Estados Unidos 2 SRT aprobadas por la FDA.

### 8.3 Terapia Génica

Se han desarrollado y ensayado diferentes enfoques terapéuticos utilizando terapia génica (GT) en diferentes modelos animales de LSD (Ellinwood et al., 2004). La GT podría suponer una solución definitiva para estas alteraciones. Las aproximaciones experimentales desarrolladas para implementar esta terapia son: la terapia génica *in vivo*, mediante transferencia por infusión directa de vectores virales que contienen los genes que codifican las enzimas deficitarias (genes terapéuticos), y terapia génica *ex vivo* en la que las células se modifican *in vitro* mediante transfección con vectores virales que contienen los genes terapéuticos, y posteriormente son administradas al paciente. La GT plantea una serie de retos aún no resueltos del todo como son: el acceso a las células diana, la correcta integración en el genoma de los genes terapéuticos, el mantenimiento de una expresión sostenida en el tiempo de la enzima deficitaria y el desarrollo de reacciones inmunológicas a corto y largo plazo (Haskins, 2009; Sheth & Nair, 2020).

### 8.4 Terapia con células madre hematopoyéticas (HSCT)

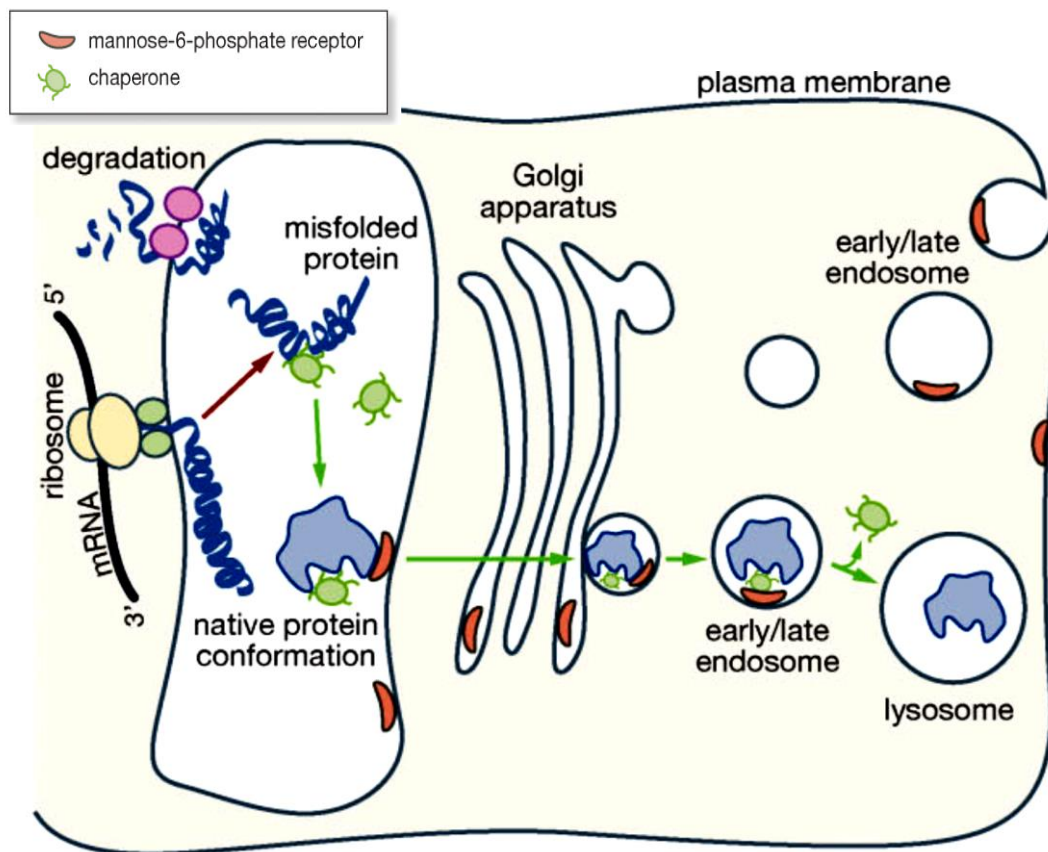
El concepto que subyace a la HSCT es que células madre hematopoyéticas de un donante compatible sano pueden producir la enzima deficitaria en el paciente afectado por la LSD, que posteriormente es captada por las células de este (Tan et al., 2019). La ventaja de la HSCT sobre la ERT, radica en que las células del donante pueden migrar y atravesar la BHE diferenciándose en células de microglía que producen y secretan la enzima deficiente en el SNC, mejorando los síntomas cognitivos (Tan et al., 2019). La HSCT presenta como principal inconveniente el rechazo del trasplante, un bajo nivel de producción de enzima por las células trasplantadas, y problemas para la integración de las mismas en algunos tejidos (Sheth & Nair, 2020).

## **9. CHAPERONAS MOLECULARES: FUNCIÓN EN LA BIOLOGÍA DE LA CÉLULA**

Las chaperonas moleculares son en esencia proteínas que ayudan a otras proteínas a alcanzar su conformación nativa. Actualmente, las chaperonas agrupan diferentes familias de proteínas conservadas y no relacionadas que poseen la capacidad de reconocer y unirse selectivamente a estados no nativos de proteínas celulares, en condiciones fisiológicas y de estrés. Alternativamente, pueden definirse como proteínas que ayudan al plegamiento correcto y al ensamblaje no covalente de otras proteínas *in vivo*, pero que en sí mismas no forman parte del producto final durante las funciones biológicas normales (Bose & Chakrabarti, 2017).

## **10. CHAPERONAS FARMACOLÓGICAS COMO OPCIÓN TERAPÉUTICA EN EL TRATAMIENTO DE LAS LSD**

El término chaperona farmacológica fue introducido por Morello en el año 2000 (Morello et al., 2000). Las PC o farmacoperonas son ligandos de bajo peso molecular que atraviesan la membrana plasmática y se unen de forma reversible a proteínas durante su síntesis para facilitar su biogénesis y estabilización (Parenti, 2009; Hou et al., 2018). La capacidad de las PC para prevenir el plegamiento incorrecto y la agregación de proteínas mutantes, promoviendo un aumento del tráfico desde el retículo endoplasmático (RE) hacia adelante en la vía secretora (Figura 2), y ayudando a evitar la degradación prematura de las mismas, ha abierto nuevas vías para el tratamiento de enfermedades conformacionales como algunas LSD y otras como la fibrosis quística (Pastores & Sathe, 2006; Leidenheimer, 2018).



**Figura 2. Degradación de proteína mutante y rescate por la acción de chaperonas farmacológicas** Las chaperonas farmacológicas favorecen el plegamiento de enzimas mutadas que retienen su actividad catalítica, e impiden su reconocimiento por el sistema de control de calidad de la célula. La enzima mutada unida a la chaperona se entrega al compartimento lisosómico donde la chaperona se desplaza del sitio activo de la enzima por el exceso de sustrato natural. Modificado de Parenti, (2009).

Un grupo de LSD (ver Tabla 1), causadas por fallos en el plegamiento de determinadas hidrolasas lisosomales, constituyen el objetivo terapéutico de las PC. El uso de PC en estas entidades clínicas es promover una conformación funcional de las enzimas mutantes para mejorar la capacidad hidrolítica dentro del lisosoma y, por lo tanto, favorecer la eliminación de depósitos patológicos de sustrato en la célula (Pastores & Sathe, 2006; Leidenheimer, 2018).

Las características ideales de los agentes candidatos a PC para el tratamiento de las LSD deben ser:

- a) Presentar una unión reversible y específica a la proteína diana (mutante) dentro del compartimento celular apropiado, el RE, donde las proteínas mutantes quedan retenidas, y permitir la restauración sostenida de la actividad funcional dentro del lisosoma.

- b) Tener la capacidad de rescatar un conjunto de mutaciones que causan enfermedad dentro de un intervalo terapéutico seguro y sin interferir con otros procesos celulares.
- c) Experimentar un metabolismo mínimo o nulo, no generando subproductos tóxicos y de fácil eliminación por la orina o las heces. Además, los fármacos de elección deben tener un amplio volumen de distribución y capacidad para atravesar la BHE de cara a su aplicación en subgrupos neurodegenerativos (Pastores & Sathe, 2006).

Con respecto a las dosis y frecuencia de administración del fármaco, deben ser ajustadas para alcanzar concentraciones terapéuticas en los tejidos afectados, suficientes para promover un aumento de la actividad enzimática residual por encima de un cierto umbral permitiendo un mayor y mejor aclaramiento del sustrato depositado. Obviamente, para que el tratamiento sea eficaz, los depósitos deben ser fácilmente hidrolizables y estar confinados dentro de los límites de la membrana lisosomal. Asimismo, los tejidos afectados deben mantener la capacidad de reparación y restauración de la función celular normal, por lo tanto, los órganos que presenten una alteración significativa con necrosis o fibrosis excesiva pueden mostrar una respuesta limitada a las PC (Pastores & Sathe, 2006; Liguori et al., 2020).

## **11.FARMACOLOGÍA DE LAS CHAPERONAS FARMACOLÓGICAS**

Los mecanismos que subyacen al efecto de las PC han sido objeto de especulación durante años. Se han propuesto dos modelos alternativos según los cuales las chaperonas pueden estabilizar el estado nativo o un estado próximo al nativo de las proteínas o, alternativamente, unirse a proteínas en estado no nativo y facilitar su transición a la conformación nativa (Arakawa et al., 2006).

Las PC están diseñadas para unirse de forma selectiva y reversible con alta afinidad a los sitios activos de algunas formas mutantes de las enzimas lisosomales, cuyos genotipos se denominan mutaciones susceptibles de responder al tratamiento. La unión de la chaperona estabiliza estas formas mutantes en el RE y facilita su adecuada circulación hacia los lisosomas. Una vez en los lisosomas, la disociación de la chaperona restablece la actividad de la enzima, lo que conduce al catabolismo de los sustratos depositados (Liguori et al., 2020).

Existe un único tratamiento aprobado con PC para la enfermedad de Fabry, el Migalastat (Galafold®), un iminoazúcar análogo de la galactosa (Suzuki, 2013; Platt et al., 2018). El Miglustat®, aprobado como SRT para la enfermedad de Gaucher tipo 1, se ha comprobado *in vitro* que actúa como PC con algunas mutaciones de la  $\beta$ -glucocerebrosida (Alfonso et al., 2005), aunque su uso no está aprobado como tal. El Migalastat y otros fármacos de acción similar conocidos como PC de primera generación se caracterizan por su mecanismo de acción como inhibidores competitivos. Paradójicamente, al unirse a los sitios activos, estos inhibidores estabilizan el plegamiento de la enzima mutada y rescatan parcialmente su actividad. Entre sus ventajas destacan la vía de administración (*per os*), la capacidad para atravesar la BHE y acceder al SNC, y los bajos costos de fabricación que los hace económicamente accesibles. Su principal limitación radica en el equilibrio entre el aumento y la inhibición de la actividad enzimática, inclinándose en algunos casos hacia la acción inhibidora. Por esta razón se ha propuesto la búsqueda de ligandos alostéricos “no inhibidores” que estabilicen el plegamiento sin unirse al sitio activo y, por tanto, sin afectar la actividad de la enzima, como la N-butyl-deoxyojirimycina (NB-DNJ) y la N-acetylcysteina (NAC) ensayadas con resultados prometedores en la enfermedad de Pompe (Porto et al., 2009, 2012). Por ello, las líneas actuales de investigación están centradas en la identificación de moléculas que se ajusten a estas características (Thirumal et al., 2019).

## 12. CHAPERONAS FARMACOLÓGICAS: PERSPECTIVAS FUTURAS EN EL TRATAMIENTO DE LAS LSD

Veinte años después de su conceptualización formal, las PC han evolucionado rápidamente hacia una opción terapéutica basada en moléculas orgánicas pequeñas para muchas enfermedades conformacionales principalmente LSD. La comercialización en 2018 de Galafold® para la enfermedad de Fabry demostró el potencial clínico completo de la llamada primera generación (Lendheimer, 2018). El desarrollo emergente de chaperonas de segunda generación, definidas como PC no inhibitoras, es, por tanto, una estrategia extremadamente prometedora. Como ocurre con las PC de primera generación, las enfermedades conformacionales más estudiadas son las LSD y, más concretamente, las enfermedades de Gaucher y Fabry. La búsqueda de pequeñas moléculas desprovistas de cualquier acción inhibitoria sobre la enzima diana mal plegada sigue siendo muy compleja y exigente, pero los prometedores avances de los últimos años indican que este

desafío puede superarse. Una comprensión más profunda de los mecanismos de acción de las PC, tanto a nivel molecular como celular, la caracterización de los sitios de unión alostéricos y el desarrollo de ensayos biológicos para la cuantificación directa de su eficacia son pasos que contribuirán sin duda al desarrollo de nuevas PC de segunda generación con un fuerte potencial terapéutico (Tran et al., 2020).

### **13.CONCLUSIONES**

Las conclusiones del presente trabajo han sido las siguientes:

1. Las PC constituyen un tratamiento seguro y eficaz para LSD causadas por defectos en el plegamiento de enzimas lisosomales.
2. La terapia con PC constituye una opción terapéutica válida para ciertos pacientes que no puedan someterse a terapias como la ERT o la SRT.
3. La terapia con PC presenta ventajas frente a otros tratamientos para LSD, entre ellas, la vía de administración y la capacidad para atravesar la BHE.
4. El mecanismo de acción de las PC basado en la inhibición competitiva condiciona su eficacia y constituye su principal desventaja.
5. La aparición de nuevas PC basadas en un mecanismo de acción alostérico “no inhibitorio”, hace de estas una de las opciones terapéuticas como mayor potencial de futuro para las LSD causadas por defectos de plegamiento.

## 14.BIBLIOGRAFÍA

Alfonso P, Pampín S, Estrada J, Rodríguez-Rey JC, Giraldo P, Sancho J et al. Miglustat (NB-DNJ) works as a chaperone for mutated acid betaglucosidase in cells transfected with several Gaucher disease mutations. *Blood Cells. Molecules & Diseases*. 2005; 35(2): 268-276.

Arawakawaa T, Ejimab D, Kitaa Y, Tsumoto K. Small molecule pharmacological chaperones: from thermodynamic stabilization to pharmaceutical drugs. *Biochimica et Biophysica Acta*.2006; 1764(11):1677-1688.

Barranger JA, Cabrera-Salazar MA. *Lysosomal Storage Disorders: A Personal reminiscence*; Springer: NY, USA. 2007. 1-5

Bose D, Chakrabarti A. Substrate specificity in the context of molecular chaperones. 2017; 69(9):647-659.

Chan B, Adam DN. A Review of Fabry Disease. *Skin Therapy Lett*. 2018; 23(2):4-6.

Coutinho MF, Santos JI, Alves S. Less is more: Substrate Reduction Therapy for Lysosomal Storage Disorders. *Int J Mol Sci*. 2016; 17(7):1065

Ellinwood NM, Vite CH, Haskins ME. Gene therapy for lysosomal storage diseases: the lessons and promise of animal models. *J Gene Med*. 2004 May 6; (5): 481-506.

Germain DP, Elliott PM, Falissard B, Fomin VV, Hilz MJ, Jovanovic et al. The effect of enzyme replacement therapy on clinical outcomes in male patients with Fabry disease: A systematic literature review by a European panel of experts. *Mol Genet Metab Rep*. 2019; 19:100454

Haskins M. Gene therapy for lysosomal storage diseases (LSDs) in large animal models. *ILAR J*. 2009; 50(2): 112-121.



Hers HG. Alpha-Glucosidase deficiency in generalized glycogen storage disease (Pompe's disease). *Biochem.* 1963; 86: 11-16.

Hou ZS, Ulloa-Aguirre A, Tao YX. Pharmacoperone drugs: targeting misfolded proteins causing lysosomal storage, ion channels, and G protein -coupled receptors- associated conformational disorders. *Expert Rev Clin Pharmacol.* 2018; 11(6): 611-624.

Kohler L, Puertollano R, Raben N. Pompe Disease: From Basic Science to Therapy Neurotherapeutics. 2018;15(4): 928-942

Leal AF, Benincore-Flórez E, Solano-Galarza D, Garzón Jaramillo RG, Echeverri-Peña OY, Suarez DA et al. GM2 Gangliosidoses: Clinical Features, Pathophysiological Aspects, and Current Therapies. *Int J Mol Sci.*2020; 21(17):6213

Li M, Ann P. Enzyme Replacement Therapy: A Review and Its Role in Treating Lysosomal Storage Diseases.2018; 47(5): 191-197

Liguori L, Monticelli M, Alloca M, Hay Mele B, Lukas J, Cubellis MV et al. Pharmacological Chaperones: A Therapeutic Approach for Diseases Caused by Destabilizing Missence Mutations. *Int. J. Sci.* 2020; 21(489): 1-20

Maxfield RF. Introduction to Lysosomes: In. *Lysosomes: Biology, Diseases, and Therapeutics.* Maxfield RF, Willard JM, LU S Eds. First Edition (NJ): Jonh Wiley & Sons;2016

Meikle PJ, Ranieri E, Ravenscroft EM, Hua CT, Brooks DA, Hopwood JJ. Newborn screening for lysosomal storage disorders. *Southeast Asian. J Trop Med Public Health.*1999; 30(2): 104-110

Morello JP, Salahpour A, Laperriere A, Bernier V, Arthus MF, Lonergan M et al. Pharmacological chaperones rescue cell-surface expression and function of misfolded V2 vasopressin receptor mutants. *J Clin Invest.* 2000; (105): 887-895.

Ortiz A, Germain DP, Desnick RJ, Politej J, Mauer M, Burlina A et al. Fabry disease revisited: Management and treatment recommendations for adult patients. *Mol Genet Metab.* 2018; 123(4): 416-427.

Parenti G. Treating Lysosomal storage diseases with pharmacological chaperones: from concept to clinics. *EMBO Mol Med.* 2009; 1: 268-279.

Pastores GM, Sathe SA. Chaperone-Mediated Approach to Enzyme Enhancement as a Therapeutic Option for the Lysosomal Storage Disorders. *Drugs RD.* 2006; 7(6): 339-348.

Platt FM, Jeyakumar M. Substrate reduction therapy. *Acta Paediatr.* 2008; 97 (457): 88-93.

Platt FM, d'Azzo A, Davidson BL, Neufeld EF, Tiffit CJ. Lysosomal storage diseases. *Nat Rev Dis Primers.* 2018; 4(1):27.

Porto C, Cardone M, Fontana F, Rossi B, Tuzzi MR, Tarallo A et al. The pharmacological chaperone N-butyldeoxyjirimycin enhances enzyme replacement in Pompe disease fibroblasts. *Molecular Therapy: The Journal of the American Society of Gene Therapy.* 2009; 17(6); 964-971.

Porto C, Ferrara MC, Meli M, Acampora E, Avolio V, Rosa M et al. Pharmacological enhancement of  $\alpha$ -glucosidase by the allosteric chaperone N-acetylcysteine. *Molecular Therapy.* 2012; 20 (12): 2201-2211.

Rastall DPW, Amalfitano A. Current and Future Treatments for Lysosomal Storage Disorders. *Curr Treat Options Neurol.* 2017; 19(12):45

Scott CC, Vacca F, Gruenberg J. Endosome maturation, transport and functions. *Seminars in Cell & Developmental Biology.* 2014;(31): 2-10.

Sheth J, Nair A. Treatment for Lysosomal Storage Disorders. *Curr Pharm Des.* 2020;26 (40): 5110-5118.

Solovyera VV, Shaimardanova AA, Chulpanova DS, Kitaeva KV, Chakrabarti L, Rizvanov AA. New Approaches to Tay-Sachs Disease Therapy. *Front Physiol.* 2018;9: 1663.

Stirnemann J, Belmatoug N, Camou F, Serratrice C, Froissart R, Caillud C et al. A review of Gaucher Disease Pathophysiology, Clinical Presentation and Treatments. *Int J Mol Sci.* 2017; 18(2): 441.

Suzuki Y. Chaperone therapy update: Fabry disease, GM1-Gangliosidosis and Gaucher disease. *Brain & Development.* 2013; 35(16): 515-523.

Suzuki Y. Emerging novel concept of chaperone therapies for protein misfolding diseases. *Jpn Acad Ser B Phys Biol Sci.* 2014; 90(5): 145-162.

Syed Haneef SA, Priya Doss CG. Personalized Pharmacoperones for Lysosomal Storage Disorder: Approach for Next-Generation. In: Rossen Donev. *Advances in Protein Chemistry and Structural Biology.* India: Elsevier; 2016:225-265

Tan EY, Boelens JJ, Jones SA and Wynn RF. Haematopoietic Stem Cell Transplantation in Inborn Errors of Metabolism. *Front Pediatr.* 2019 October 25;(7): 1-6.

Thirumal Kumar D, Iyer S, Christy JP, Siva R, Tayubi IA, George Priya Doss C et al. A comparative computational approach toward pharmacological chaperones (NN-DNJ and ambroxol) on N370S and L444P mutations causing Gaucher's disease. *Adv Protein Chem Struct Biol.* 2019; 114:315-339.

Tran ML, Génisson Y, Ballereau S, Dehoux C. Second-Generation Pharmacological Chaperones: Beyond Inhibitors. *Molecules.* 2020; 25(14):3145.