

Avances terapéuticos en errores innatos del metabolismo: pequeñas moléculas.

Autor: Dra. Antonieta Mahfoud Hawilou ¹

Recibido para publicación: 15 de junio 2017

Aceptado para publicación: 10 de julio 2017

Resumen

La mayoría de los Errores Innatos del Metabolismo (EIM) no tienen un tratamiento efectivo. Las terapias tradicionales tratan de reducir los sustratos, reemplazar el producto no formado, que puede ser esencial y suplementar con cofactores. También se emplea la activación de vías alternativas para la eliminación de productos intermedios tóxicos, como en el caso de los defectos del ciclo de la urea y para algunas condiciones, se dispone de la terapia de reemplazo enzimático (TRE), del trasplante de células hematopoyéticas y del trasplante hepático. En los últimos años se han desarrollado nuevas estrategias eficaces para tratar estas enfermedades. Con esta revisión, se busca explicar de forma sencilla las distintas opciones terapéuticas más recientes, y en algunos casos, tratamientos prometedores para ciertos errores innatos de metabolismo (EIM). En concreto se hará referencia en primer lugar al uso terapéutico de pequeñas moléculas activas, que han surgido en las últimas dos décadas como un enfoque promisorio para el tratamiento de este heterogéneo grupo de trastornos, que incluyen terapia para restauración de la lectura, chaperonas farmacológicas, reguladores de la proteostasis, inhibidores de sustrato e inductores de autofagia. Estas pequeñas moléculas actúan en diferentes niveles celulares, y el conocimiento de los distintos procesos proporciona nuevas herramientas para establecer un tratamiento innovador.

Palabras clave: errores innatos del metabolismo, inductores de la lectura genética, inhibidores de las proteasas, inhibidores del sustrato, inductores de autofagia.

Abstract

Most Inborn Errors of Metabolism diseases do not have an effective treatment. Traditional therapies try to reduce substrates, replace non-formed product, which may be essential and supplement with cofactors. Activation of alternative routes for the disposal of toxic intermediates is also employed, as in the case of urea cycle defects for some conditions, enzyme replacement therapy (ERT), Hematopoietic Cell Transplantation and liver transplantation are available. In recent years new effective strategies have been developed to treat these diseases. This review seeks to explain in a simple way the different therapeutic options and, in some cases, promising treatments for certain inborn errors of metabolism (IEM). Specifically, reference will be made first to the therapeutic use of small active molecules, which have emerged in the last two decades as a promising approach for the treatment of this heterogeneous group of disorders, including: read-through therapy, pharmacological chaperones, protease inhibitors, substrate inhibitors and autophagy inducers. These small molecules act on different cellular levels, and the knowledge of the different processes provides new tools to establish an innovative treatment.

Key words: inborn metabolic errors, read-through therapy, protease inhibitors, substrate inhibitors and autophagy inducers.

Conflictos de interés: El autor certifica que no existen conflictos de interés que impida la correcta publicación de este artículo y que el artículo es original y no ha sido publicado previamente en ninguna revista científica médica.

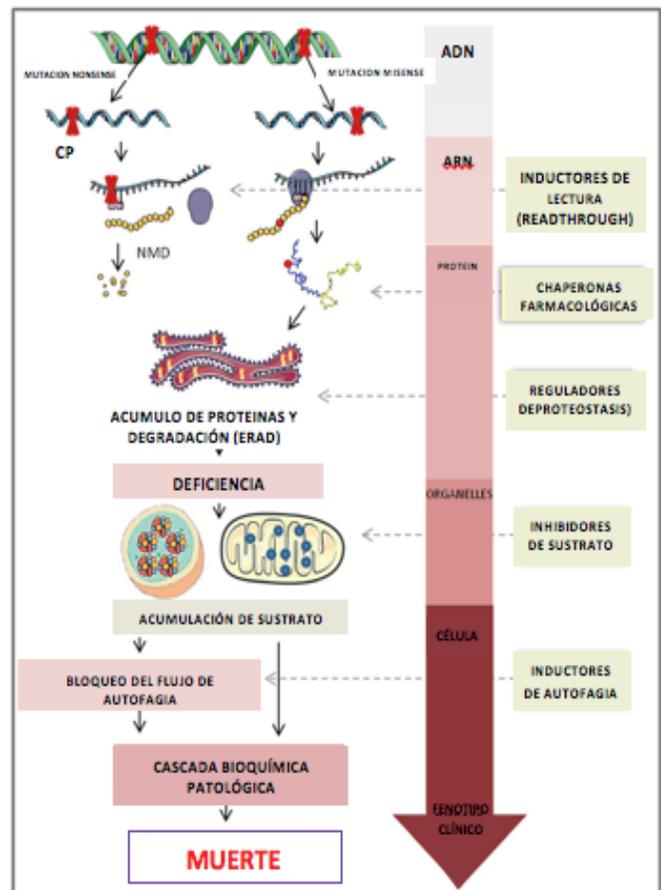
¹ Unidad de Errores Innatos del Metabolismo, Instituto de Estudios Avanzados-IDEA, Carretera Nacional Hoyo de la Puerta, Sartenejas, Baruta, Caracas 1080, Venezuela. Correo electrónico: amahfoud@gmail.com

Introducción

Los errores innatos del metabolismo (EIM) comprenden un grupo heterogéneo de trastornos causados por mutaciones que producen un defecto en una enzima o en un transportador, lo que conlleva a la alteración de la vía metabólica regulada por dicha proteína. Como consecuencia, se van a producir tres posibles efectos: acúmulo del sustrato, déficit del producto o una activación de rutas metabólicas alternativas con producción de metabolitos tóxicos, con consecuencias deletéreas sobre la homeostasis celular. Estas alteraciones se traducen en alteraciones clínicas y bioquímicas y un estado de enfermedad que puede ir de leve a letal. Aunque individualmente raras o poco frecuentes, su incidencia colectiva se estima que es de 1 en 800 recién nacidos.^{1,2} Los mecanismos patológicos implicados en EIM son complejos, por lo que es muy importante el conocimiento específico de la fisiopatología de cada enfermedad para descubrir terapias adecuadas. Se estima que alrededor del 12% de los EIM son tratados con éxito, en un 45% se obtienen beneficios parciales del tratamiento y en un 34% no se consigue respuesta alguna.²

Las terapias tradicionales tratan de reducir los sustratos, reemplazar el producto no formado, que puede ser esencial y suplementar con cofactores. También se emplea la activación de vías alternativas para la eliminación de productos intermedios tóxicos, como en el caso de los defectos del ciclo de la urea y para algunas condiciones, se dispone de la terapia de reemplazo enzimático (TRE), del trasplante de células hematopoyéticas y del trasplante hepático.³⁻⁵

En los últimos años se han desarrollado nuevas estrategias eficaces para tratar estas enfermedades. Uno de los enfoques prometedores en el corto plazo es el uso de agentes capaces de interactuar con proteínas para estabilizarlas, inhibirlas o activarlas. Es aquí donde entra el concepto de “pequeñas moléculas”; es muy amplio y abarca un elevado número de compuestos químicos de bajo peso que comprende tanto moléculas naturales como sintetizables, que cuando se combinan con propiedades químicas adecuadas tales como la polaridad, podrían cruzar pasivamente la barrera hematoencefálica (BHE). Así, en comparación con terapias pre-existentes, las moléculas pequeñas podrían representar tratamientos innovadores y útiles para las enfermedades del sistema nervioso central (SNC). Entre las terapias de pequeñas moléculas que se describen en la literatura tenemos las chaperonas farmacológicas, los inductores de lectura, inhibidores de sustrato, reguladores de la proteostasis y los inductores de autofagia.^{6,7} En la figura 1 se puede observar los mecanismos moleculares y las terapias relacionadas con cada alteración.



(Reproducida con permiso de la Dra. Matalonga y colaboradores)

Fig 1. Mecanismos moleculares involucrados en Errores Innatos del Metabolismo (EIM) y los diferentes enfoques terapéuticos abordados con pequeñas moléculas: Inductores de lectura, chaperonas farmacológicas, reguladores de la proteostasis, inhibidores de sustrato e inductores de la autofagia.

Terapia con moléculas pequeñas

1. Terapia de restauración de la lectura

Son moléculas diseñadas para que sean complementarias a una secuencia específica de un gen, es decir, para que sean capaces de unirse a una determinada secuencia génica del ARN mensajero (ARNm), evitando con ello la transcripción de la información alterada, es decir, evita que se produzca una proteína anómala. El uso de estas moléculas está dirigido a aquellas mutaciones que producen un codón de parada prematura (CPP).

Los codones de parada (CP) corresponden a un triplete de nucleótidos de la cadena de ARNm que detienen la traducción en el proceso de síntesis proteica. Aproximadamente el 30% de las mutaciones que causan enfermedades genéticas conducen a codones de parada prematura (CPP)-mutaciones sin sentido.

Son alteraciones en el ADN que al transcribir la información al ARNm, introducen un CPP. Este cambio detiene el proceso de traducción en el ribosoma, en un sitio anterior a lo normal, y trae como consecuencia la degradación del ARNm por el mecanismo NMD o a una proteína truncada. El NMD es un mecanismo de control de calidad que degrada selectivamente ARNm que albergan CPP. Este proceso protege al organismo de proteínas truncadas en trastornos hereditarios recesivos.⁸

Entre los compuestos usados como terapia antisentido se describen los aminoglicósidos, entre ellos la gentamicina,⁹⁻¹¹ y moléculas no-aminoglicósidos como el PTC124 (Ataluren),¹² que son moléculas pequeñas capaces de inducir los CPP permitiendo la formación de ARNm estables que codifican entonces una proteína activa. Sin embargo, existe evidencia creciente de que solo un pequeño grupo de mutaciones generadas por codones de parada prematura (CPP) se beneficiarían de la gentamicina o PTC124. Por otra parte, los efectos secundarios graves de la gentamicina impiden su uso como agente terapéutico potencial a largo plazo.^{13,14}

En la Tabla 1 se muestran los fármacos de lectura más relevantes reportados para EIM. Los estudios pre-clínicos mostraron que estos compuestos son capaces de aumentar la lectura del codón de parada y ser utilizados como agentes terapéuticos para EIM y otras enfermedades genéticas. Dos estudios recientes han demostrado la eficacia potencial de Ataluren para la Lipofuscinosis Ceroida Neuronal (LCN) infantil clásica y en la infantil tardía, observando incrementos en la actividad enzimática después del tratamiento en líneas celulares de linfoblastos derivados de pacientes.¹⁵ Además, se obtuvo una respuesta favorable in vivo en un modelo murino recientemente desarrollado Cln1R151X.¹⁶

Tabla 1. Pequeñas moléculas que actúan como inductores de lectura en Errores innatos del metabolismo

| | MOLÉCULA | MODELO USADO | ENFERMEDAD |
|---------------------------|-------------------------------------|--|---|
| AMINOGLICÓSIDOS | GENTAMICINA | RATONES PACIENTES | FIBROSIS QUÍSTICA |
| | PARAMOMICINA | LINEAS CELULARES | D. M. DUCHENNE |
| | CLORANFENICOL PTC 124 (ATALUREN) | LINEAS CELULARES RATONES PACIENTES (FASE III) | HURLER D.M. DUCHENNE FIBROSIS QUÍSTICA |
| NO-AMINOGLICÓSIDOS | PTC (ATALUREN) | RATON LINEAS CELULARES | LIPOFUSCINOSIS CEROIDEA NEURONAL (LCN) infantil clásica e infantil tardía |
| | PTC 414 | LINEAS CELULARES | COROIDEREMIA |
| | RTC 13 / RTC 14 | LINEAS CELULARES | ATAXIA-TELANGIECTASIA |

El PTC124 (Ataluren) es seguro, tiene efectos secundarios mínimos fuera del blanco, no tiene efectos antibacterianos y se administra vía oral. Por esa razón, su uso ha sido ampliamente extendido en diferentes ensayos clínicos.¹²

Los resultados publicados hasta la fecha señalan que los CPP pueden ser suprimidos eficazmente, dependiendo de la enfermedad y del contexto genético de cada paciente. Es adecuado cuando el aumento de una pequeña cantidad de proteína activa es suficiente para la recuperación de la función de la misma y para mejorar el fenotipo clínico. Por lo tanto, la búsqueda de nuevas moléculas con mayor actividad de lectura es un reto todavía pendiente en el desarrollo de terapias eficaces para el tratamiento de enfermedades causadas por mutaciones debidas a un CPP.^{17,18}

2. Chaperonas farmacológicas y Reguladores de la Proteostasis

En este segmento entran los términos de plegado de las proteínas, sistemas de control de calidad, proteostasis y enfermedades conformacionales.

Las proteínas son largas cadenas de aminoácidos unidos entre sí, y para que esta cadena de aminoácidos pueda desarrollar su función como proteína ha de plegarse hasta lograr una estructura tridimensional que le dará la estabilidad adecuada, así como su función. Durante el proceso de plegado de las proteínas, se activan un grupo de moléculas complejas llamadas chaperonas, cuya función es acompañar a la proteína para su adecuada estructura conformacional. Así, las proteínas con mutaciones de sentido erróneo, incluso si esas mutaciones no afectan el sitio activo, fallan en alcanzar su estado nativo funcional, desencadenando su degradación.^{19,20} Por otra parte, es importante señalar que la integridad y funcionamiento celular depende de una adecuada proteostasis. Este término define una red elaborada e integrada que administra o regula la vida de las proteínas para lograr un equilibrio correcto entre la síntesis, el plegado, el tráfico y la degradación de las mismas.²¹

Las condiciones asociadas a un mal plegado de las proteínas o a la alteración de la proteostasis, dan origen a las llamadas Enfermedades Conformacionales. Estas enfermedades desde el punto de vista fisiopatológico, pueden ser debidas a ganancia de la función, como por ejemplo la enfermedades de Alzheimer, Parkinson o Huntington, o por pérdida de la función debido a un plegamiento ineficiente y / o a la degradación acelerada, donde están incluidos la mayoría de los EIM.²⁰

En años recientes han emergido las llamadas chaperonas farmacológicas (CFs) como una opción terapéutica en algunos EIM. Estas moléculas son específicas y eficaces a bajas concentraciones. Muchos ligandos naturales, como cofactores o sustratos que se unen a las enzimas, pueden actuar como CFs.^{20,22,23}

Hasta el año 2014 se habían descrito alrededor de 30 CF con demostrada eficacia en el tratamiento de 17 EIM,²⁰ en su mayoría enfermedades de depósito lisosomal.²⁴ Moléculas tales como Miglustat para enfermedad de Fabry, pirimetamina para gangliosidosis GM2, y 1-deoxinojirimicina para enfermedad de Pompe, se encuentran bajo estudios clínicos.²⁵⁻²⁷

Dos CFs han sido aprobadas para uso clínico, Tafamidis (Vindaquel®; Fx-1006A) para el tratamiento de la amiloidosis hereditaria de tipo transtiretina²⁸ y el diclorhidrato de sapropterina (Kuvan®) para el tratamiento de la fenilcetonuria. Esta última es el cofactor de la enzima fenilalanina hidroxilasa (tetrahidrobiopterina), y ha demostrado ser efectivo en cerca de la mitad de los pacientes PKU estabilizando la proteína mal plegada.^{20,29} Como se comentó al inicio, la proteostasis es un proceso celular importante. El uso de pequeñas moléculas que intervienen como reguladores de la proteostasis (RP) (Tabla 2) parece ser un enfoque terapéutico prometedor, observando que estos compuestos actúan más en la red de homeostasis de las proteínas que directamente sobre una proteína determinada. Por lo tanto, son útiles para un grupo de enfermedades que alteran un proceso particular de manera similar. Entre ellos se describen los inhibidores del proteasoma, como por ejemplo el MG-132 y los reguladores del calcio intracelular. El proteasoma constituye la mayor vía celular por la cual se degradan las proteínas mal plegadas durante el proceso de síntesis.^{7,20}

Tabla 2. Pequeñas moléculas que actúan como inhibidores de sustrato en errores innatos del metabolismo

| ENFERMEDAD | MOLÉCULA | MODELO |
|--------------------|---------------------------|----------------------------------|
| CISTINOSIS | CISTEAMINA | PACIENTES |
| FABRY | GENZ-682452 | RATONES |
| GAUCHER | MIGLUSTAT | LC-R-P ⁽¹⁾ |
| | ELIGLUSTAT GENZ-682452 | LC-R-P ⁽¹⁾ RATONES |
| MPS ⁽²⁾ | GENISTEÍNA | FIBROBLASTOS PACIENTES |
| LCN ⁽³⁾ | CISTEAMINA | LÍNEAS CELULARES Y PACIENTES |
| NIEMANN-PICK C | MIGLUSTAT | PACIENTES |
| SANDHOFF | MIGLUSTAT | RATONES Y PACIENTES |
| TAY-SACHS | MIGLUSTAT | ATAXIA-TELANGIECTASIA |

(1) LÍNEAS CELULARES, RATONES Y PACIENTES; (2) MUCOPOLISACARIDOSIS; (3) LIPOFUSCINOSIS CEROIDEA NEURONAL

A este respecto, estudios previos en enfermedad de Gaucher mostraron que el uso de MG-132-inhibidor del proteasoma junto con Celastrol, mejoró la conformación, el tráfico y la actividad de la enzima glicosilceramidasa que portaba diferentes variantes sin sentido.³⁰

Macías-Vidal y colaboradores observaron que el Bortezomib redujo la acumulación de colesterol en fibroblastos de pacientes con Niemann-Pick type C.³¹ De igual manera, el uso de los reguladores del calcio intracelular está siendo investigado con resultados prometedores utilizando lacidipina en la enfermedad de Gaucher.³²

Es importante señalar la sinergia que se describe sobre el uso combinado de la terapia de reemplazo enzimático (TRE) y las CFs. Como es de nuestro conocimiento, el tratamiento principal para las EDL lo constituye la TRE. Sin embargo, no sólo las enzimas afectadas por mutaciones, sino también las enzimas recombinantes usadas para TRE muestran una baja estabilidad y, por lo tanto, también son degradadas. Por otra parte, el uso de CFs como monoterapia no ha mostrado ser muy eficaz; así, la aplicación combinada de TRE con una chaperona farmacológica en la enfermedad de Fabry y en la enfermedad de Pompe demostró un aumento en la actividad enzimática y una disminución en la acumulación de sustrato.^{33,34} De igual manera, Mu y colaboradores observaron que al combinar CFs y RP, aumentó la actividad enzimática en fibroblastos procedentes de pacientes con enfermedad de Gaucher y Tay-Sachs.³⁰

3. Inhibidores de sustrato (Terapia de Reducción de Sustrato - TRS)

La TRS busca disminuir la síntesis o producción de sustrato que no se degrada y por lo tanto se acumula. Usando este método, se disminuye la síntesis de una molécula particular con el objetivo de crear un mejor equilibrio entre síntesis, que controla la producción de sustrato, y degradación, que controla cuánto necesita ser degradados y almacenado.

La primera molécula aprobada y utilizada para tal fin ha sido el Miglustat, para el tratamiento de pacientes con enfermedad de Gaucher. Actúa como un inhibidor competitivo y reversible de la enzima glucosil-ceramida sintetasa, la enzima inicial en una serie de reacciones que conducen a la síntesis de la mayoría de los glicoesfingolípidos. El objetivo del tratamiento con miglustat es reducir la tasa de la biosíntesis de glicoesfingolípidos de manera que la cantidad de sustrato de los mismos se reduzca a un nivel que permita la actividad residual de la enzima glucocerebrosidasa deficiente para ser más eficaz (Figura 2). Venier e Igdoura reportaron una franca disminución tanto de los biomarcadores como de la hepatoesplanomegalia observada en pacientes con enfermedad de Gaucher tratados con Miglustat.³⁵ Esta molécula actúa también como una CF en algunas variantes mutadas de la enzima glucocerebrosidasa.³⁶

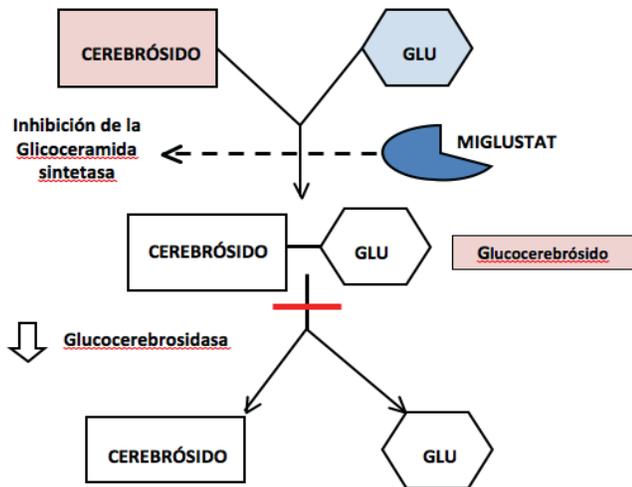


Fig 2. Terapia por inhibición de sustrato en la Enfermedad de Gaucher

Recientemente, la Agencia Europea de Medicamentos aprobó el uso de Eliglustat, un inhibidor más específico y más potente que Miglustat, y constituye una terapia alternativa a la TRE para el tratamiento a largo plazo de adultos con enfermedad de Gaucher tipo 1.³⁷ Actualmente, nuevas moléculas capaces de atravesar la barrera hemato-encefálica BHE se encuentran bajo investigación (GZ161, GENZ-682452 y GZ / SAR402671) para las enfermedades de Gaucher y Fabry.³⁸ El GZ / SAR402671 se está evaluando en diferentes ensayos clínicos (<https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02906020>).

Otra molécula que está siendo investigada es la Genisteína, un isoflavonoide derivado de la soya, que actúa reduciendo el nivel de glicosaminoglicanos (GAGs). Los estudios iniciales en fibroblastos de pacientes con varias formas de MPS, a saber, tipos I, II, IIIA y IIIB fueron en realidad bastante prometedores, ya que la genisteína mostró que inhibe la síntesis de GAGs. También han observado una clara reducción en el almacenamiento de GAGs en las células afectadas, lo cual podría explicarse debido a la degradación de GAGs acumulados por la actividad residual de la enzima deficiente.³⁹ Además, se comprobó que la genisteína era capaz de cruzar la BHE y disminuir los niveles de GAG urinario y de tejido in vivo cuando se trataron ratones MPS II con esa isoflavona. Después de 10 semanas de tratamiento, los niveles de GAG urinario disminuyeron y, en algunos animales, incluso los depósitos de GAG en el cerebro se redujeron por el tratamiento con genisteína.⁴⁰

4. Inductores de autofagia

La autofagia es la principal vía catabólica para los agregados de proteínas y las organelas dañadas, y su activación o inhibición se ha relacionado con diversas enfermedades. En los últimos años, esta estrategia también ha sido investigada para algunos EIM, más específicamente, para enfermedades de depósito lisosomal (EDL). Investigando esta función celular, se busca

modular la exocitosis lisosómica para promover la depuración celular en las enfermedades de almacenamiento lisosomal, lo que sugiere una estrategia alternativa para tratar los trastornos debidos a las EDL. Estas estrategias tendrán que ser probadas a largo plazo en estudios in vivo en modelos animales para verificar el potencial terapéutico de este descubrimiento.⁴¹

Referencias

- Sanderson S, Green A, Preece MA, Burton H. The incidence of inherited metabolic disorders in the West Midlands, UK. *Arch Dis Child.* 2006; 91(11): 896-9.
- Pampols T. Inherited metabolic rare disease. *AdvExp Med Biol.* 2010; 686:397-431.
- Boneh A. Dietary protein in urea cycle defects: How much? Which? How? *Mol Genet Metab.* 2014;113(1-2):109-12
- Parini R, Rigoldi M, Tedesco L et al. Enzymatic replacement therapy for Hunter disease: Up to 9 years experience with 17 patients. *Mol Genet Metab Rep.* 2015;22(3):65-74.
- Foschi FG, Morelli MC, Savini S et al. Urea cycle disorders: a case report of a successful treatment with liver transplant and a literature review. *World J Gastroenterol.* 2015; 21(13):4063-8.
- Gámez A, Yuste-Checa P, Brasil S, Briso-Montiano Á, Desviat LR, Ugarte M, Pérez-Cerdá C, Pérez B. Protein misfolding diseases: prospects of pharmacological treatment. *Clin Genet.* 2017 Jul 3. doi: 10.1111/cge.13088. [Epub ahead of print] Review.
- Matalonga L, Gort L, Ribes A. Small molecules as therapeutic agents for inborn errors of metabolism. *J Inherit Metab Dis.* 2017;40(2):177-193.
- Mendell JT, Dietz HC. When the message goes awry: disease producing mutations that influence mRNA content and performance. *Cell.* 2001;107(4):411-414.
- Hermann T. Aminoglycoside antibiotics: old drugs and new therapeutic approaches. *Cell Mol Life Sci.* 2007; 64(14): 1841-52.
- Lee HL, Dougherty JP. Pharmaceutical therapies to recode nonsense mutations in inherited diseases. *Pharmacol Ther.* 2012;136(2):227-66.
- Pérez B, Rodríguez-Pombo P, Ugarte M, Desviat LR. Readthrough strategies for therapeutic suppression of nonsense mutations in inherited metabolic disease. *Mol Syndromol.* 2012; 3(5):230-6.
- Welch EM, Barton ER, Zhuo J et al. PTC124 targets genetic disorders caused by nonsense mutations. *Nature* 2007; 447(7140):87-91.
- Black FO, Pesznecker S, Stallings V. Permanent gentamicin vestibulotoxicity. *OtolNeurotol.* 2004;25(4):559-69.
- Sarva H, Panichpisal K. Gentamicin-induced myoclonus: a case report and literature review of antibiotics-induced myoclonus. *Neurologist.* 2012;18(6):385-8.

15. Sarkar C, Zhang Z, Mukherjee AB. Stop codon read-through with PTC124 induces palmitoyl-protein thioesterase-1 activity, reduces thioester load and suppresses apoptosis in cultured cells from INCL patients. *Mol Genet Metab*. 2011;104(3):338–45.
16. Miller JN, Kovacs AD, Pearce DA. The novel Cln1R151X mouse model of infantile neuronal ceroidlipofuscinosis (INCL) for testing nonsense suppression therapy. *Hum Mol Genet*. 2014; 24(1):185–96.
17. Pibiri I, Lentini L, Melfi Retal. Enhancement of premature stop codon readthrough in the CFTR gene by Ataluren (PTC124) derivatives. *Eur J Med Chem*. 2015; 101:236-44.
18. Keeling KM. Nonsense Suppression as an Approach to Treat Lysosomal Storage Diseases. *Diseases*. 2016;4(4)pii: 32. doi: 10.3390/diseases4040032. Epub 2016 Oct 19.
19. Brandvold KR, Morimoto RI. The Chemical Biology of Molecular Chaperones-Implications for Modulation of Proteostasis. *J Mol Biol* 2015; 427(18):2931-47.
20. Muntau AC, Leandro J, Staudigl M, Mayer F, Gersting SW. Innovative strategies to treat protein misfolding in inborn errors of metabolism: pharmacological chaperones and proteostasis regulators. *J Inher Metab Dis* 2014; 37(4):505–523.
21. Triana-Martínez F, Gómez-Quiroz LE, Königsberg Fainstein M. El flujo de la información y la proteostasis. *REB* 2012; 31(4): 136-144.
22. Leandro P, Gomes CM. Protein misfolding in conformational disorders: rescue of folding defects and chemical chaperoning. *Mini Rev Med Chem* 2008;8 (9): 901-11.
23. Underhaug J, Aubi O, Martinez A. Phenylalanine hydroxylase misfolding and pharmacological chaperones. *Curr Top Med Chem*. 2012; 12(22): 2534-45.
24. Valenzano KJ, Khanna R, Powe AC et al. Identification and characterization of pharmacological chaperones to correct enzyme deficiencies in lysosomal storage disorders. *Assay Drug Dev Technol* 2011; 9(3):213–235.
25. Giugliani R, Waldek S, Germain DP et al. A Phase 2 study of migalstat hydrochloride in females with Fabry disease: selection of population, safety and pharmacodynamic effects. *Mol Genet Metab* 2012; 109(1):86–92.
26. Maegawa GH, Tropak M, Buttner J et al. Pyrimethamine as a potential pharmacological chaperone for late-onset forms of GM2 gangliosidosis. *J Biol Chem* 2007;282(12):9150–916.
27. Parenti G, Fecarotta S, la Marca G et al. A chaperone enhances blood α -glucosidase activity in Pompe disease patients treated with enzyme replacement therapy. *Mol Ther*. 2014; 22(11):2004-12.
28. Bulawa CE, Connelly S, Devit M et al. Tafamidis, a potent and selective transthyretin kinetic stabilizer that inhibits the amyloid cascade. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2012; 109(24):9629–9634.
29. Trefz FK, Burton BK, Longo N et al. Efficacy of sapropterindihydrochloride in increasing phenylalanine tolerance in children with phenylketonuria: a phase III, randomized, double-blind, placebo-controlled study. *J Pediatr* 2009; 154(5); 700-7.
30. Mu TW, Ong DS, Wang YJ et al. Chemical and biological approaches synergize to ameliorate protein-folding diseases. *Cell*. 2008; 5; 134(5):769-81.
31. Macías-Vidal J, Girós M, Guerrero M et al. The proteasome inhibitor bortezomib reduced cholesterol accumulation in fibroblasts from Niemann-Pick type C patients carrying missense mutations. *FEBS J*. 2014; 281(19):4450-66.
32. Wang F, Chou A, Segatori L. Lacidipine remodels protein folding and Ca²⁺ homeostasis in Gaucher's disease fibroblasts: a mechanism to rescue mutant glucocerebrosidase. *Chem Biol*. 2011; 24; 18(6):766-76.
33. Porto C, Ferrara MC, Meli M et al. Pharmacological enhancement of α -glucosidase by the allosteric chaperone N-acetylcysteine. *Mol Ther*. 2012; 20(12): 2201-11.
34. Benjamin ER, Khanna R, Schilling A et al. Co-administration with the pharmacological chaperone AT1001 increases recombinant human α -galactosidase A tissue uptake and improves substrate reduction in Fabry mice. *Mol Ther*. 2012; 20(4):717-26.
35. Alfonso P, Pampín S, Estrada J et al. Miglustat (NB-DNJ) works as a chaperone for mutated acid beta-glucosidase in cells transfected with several Gaucher disease mutations. *Blood Cells Mol Dis* 2005; 35(2):268–276.
36. Venier RE, Igdoura SA. Miglustat as a therapeutic agent: prospects and caveats. *J Med Genet*. 2012; 49(9):591–597.
37. Belmatoug N, Di Rocco M, Fraga C et al. Management and monitoring recommendations for the use of eliglustat in adults with type 1 Gaucher disease in Europe. *Eur J Intern Med*. 2017; 37:25-32.
38. Marshall J, Sun Y, Bangari DS et al. CNS-accessible Inhibitor of Glucosylceramide Synthase for Substrate Reduction Therapy of Neuronopathic Gaucher Disease. *Mol Ther*. 2016; 24(6):1019-29.
39. Piotrowska E, Jakóbkiewicz-Banecka J, Baraska S et al. Genistein-mediated inhibition of glycosaminoglycan synthesis as a basis for gene expression-targeted isoflavone therapy for mucopolysaccharidoses. *Eur. J. Hum. Genet*. 2006; 14(7):846–852.
40. Friso A, Tomanin R, Salvalaio M, Scarpa M. Genistein reduces glycosaminoglycan levels in a mouse model of Mucopolysaccharidosis type II. *Br J Pharmacol*. 2010; 159(5):1082–1091.
41. Medina DL, Fraldi A, Bouche V et al. Transcriptional activation of lysosomal exocytosis promotes cellular clearance. *Dev Cell*. 2011; 13;21(3):421-30.