

## Seguridad, eficacia y fundamentos moleculares de la supervisión farmacológica de la galactosidasa humana

## Safety, effectiveness, and molecular underpinnings of pharmacological supervision of human -galactosidase

**Nathaniel Garman\***

Department of Biochemistry and Molecular Biology, University of Massachusetts Amherst, USA

**\*Correspondencia:**

Nathaniel Garman

**Fecha de recibido:** 08-Aug-2022, Manuscript No. IPADM-22-13222; **Fecha del Editor asignado:** 11-Aug-2022, PreQC No. IPADM-22-13222(PQ); **Fecha de Revisados:** 25-Aug-2022, QC No. IPADM-22-13222; **Fecha de Revisado:** 05-Sep-2022, Manuscript N o. IPADM-22-13222(R); **Fecha de Publicación:** 12-Sep-2022, DOI: 10.36648/1698-9465.22.18.1560

✉ garman.nat@biochem.edu

### Resumen

Los pacientes con enfermedad de Fabry muestran una reducción en la actividad del catalizador lisosomal -galactosidasa (-GAL o -Gal A). La terapia farmacológica con chaperonas es una opción para tratar la infección de Fabry. En este método, un átomo diminuto equilibra la proteína -GAL para promover una mayor actividad enzimática. Demostramos la estabilización de la glicoproteína -GAL humana por las chaperonas farmacológicas 1-desoxigalactonojirimicina (DGJ) y galactosa utilizando energía proteica, fluorescencia de triptófano, dicroísmo circular y medidas de proteólisis. La explicación subatómica de la mayor fuerza de DGJ sobre la galactosa tiene sentido por los diseños de gemas de los edificios de -GAL y chaperonas. Demostramos la mayor intensidad de los resultados de DGJ de una comunicación iónica con D170 usando mutagénesis coordinada en el sitio. Sugerimos que la protonación de D170 en condiciones ácidas da como resultado una restricción de DGJ más delicada. Los hallazgos proporcionan una justificación bioquímica para la terapia con chaperonas farmacéuticas que es aplicable a otras enfermedades de plegamiento incorrecto de proteínas.

**Palabras clave:** Galactose, Hydrolysis, Galactosidase.

### Abstract

Patients with Fabry disease exhibit a reduction in the activity of the lysosomal catalyst -galactosidase (-GAL or -Gal A). Pharmacological chaperone therapy is one option for treating Fabry infection. In this method, a tiny atom balances out the -GAL protein to promote increased enzymatic activity. We demonstrate the stabilisation of the human -GAL glycoprotein by the pharmacological chaperones 1-Deoxygalactonojirimycin (DGJ) and galactose using protein energy, tryptophan fluorescence, roundabout dichroism, and proteolysis measurements. The subatomic explanation for the higher strength of DGJ over galactose is made sense of by gem designs of the buildings of -GAL and chaperones. We demonstrate the higher intensity of DGJ results from an ionic communication with D170 using site-coordinated mutagenesis. We suggest that protonation of D170 under acidic conditions results in more delicate DGJ restricting. The findings provide a biochemical justification for pharmaceutical chaperone therapy that is applicable to other protein misfolding diseases.

**Keywords:** Galactose, Hydrolysis, Galactosidase.

## Introducción

La  $\alpha$ -galactosidasa ( $\alpha$ -GAL, también llamada  $\alpha$ -galactosidasa An o  $\alpha$ -GAL A; Comisión de enzimas una glucosidasa lisosomal que separa macromoléculas complejas para su reutilización celular.  $\alpha$ -GAL cataliza la hidrólisis de los galactósidos terminales  $\alpha$  conectados a partir de macromoléculas. En las personas, la falta del compuesto  $\alpha$ -GAL causa la enfermedad de Fabry, una enfermedad de almacenamiento lisosomal descrita por la agregación en constante evolución de metabolitos en las células, lo que provoca daños en los tejidos y una posible decepción en los órganos. Se han identificado numerosas transformaciones que causan la enfermedad de Fabry en la calidad GLA que codifica la proteína  $\alpha$ -GAL, la mayor parte de las cuales altera el centro hidrofóbico de la proteína, lo que aparentemente provoca el plegamiento incorrecto de la proteína y la corrupción en el retículo endoplásmico (RE). Por lo tanto, la enfermedad de Fabry es básicamente una infección por mal plegamiento de proteínas [1].

El principal tratamiento respaldado en la actualidad para la enfermedad de Fabry es el tratamiento de sustitución de compuestos, en el que el catalizador recombinante se administra por vía intravenosa a los pacientes para restablecer la capacidad enzimática faltante. La ERT ha mostrado una disminución del sustrato agregado en los tejidos, lo que ha provocado una mejoría clínica en los pacientes con la enfermedad de Fabry, y se ha propuesto para la gran mayoría de las infecciones metabólicas adquiridas [2].

Se ha propuesto un tratamiento electivo, el tratamiento farmacológico con chaperonas, para la enfermedad de Fabry y otras enfermedades por mal plegamiento de proteínas. En lugar de involucrar pequeñas partículas vagas para el tratamiento con chaperonas sintéticas, el tratamiento con PC para la infección por Fabry utiliza una chaperona explícita en el sitio que funciona, como el elemento reactivo galactosa, o un elemento simple, como el azúcar imino 1-desoxigalactonojirimicina (DGJ, ahora en estadio III preliminares clínicos). En el tratamiento con PC, se teoriza que la pequeña partícula equilibra el químico colapsado, moviendo la armonía colapsada hacia la proteína colapsada apropiadamente y disminuyendo la evacuación del polipéptido a través de la corrupción relacionada con ER. Las computadoras, como la DGJ y la galactosa, son competidores clínicos prometedores, pero su sistema bioquímico no se conoce con seguridad; se han propuesto para acelerar el colapso de su objetivo, ralentizar el despliegue del objetivo, equilibrar el objetivo, considerar el colapso legítimo, promover la alteración postraduccional o potencialmente permitir la restricción de un cómplice al objetivo. Además, sigue sin resolverse cómo la restricción enzimática despiadada provoca una acción ampliada. Debido a su verdadera capacidad para tratar una amplia gama de enfermedades de plegamiento incorrecto de proteínas, las PC se destacan [3].

En esta revisión, examinamos el motivo bioquímico y biofísico por el que la PC se restringe a la  $\alpha$ -GAL humana. Mostramos a

través de exámenes bioquímicos que DGJ se une y sedimenta  $\alpha$ -GAL con mayor intensidad que la galactosa. Examinamos el impacto del pH en las afinidades limitantes de DGJ y galactosa y mostramos que las chaperonas equilibran  $\alpha$ -GAL más a un pH no partidista cercano que a un pH ácido. Los diseños de gemas de  $\alpha$ -GAL en complejo con las PC DGJ y la galactosa descubrieron una colaboración iónica básica clave para la intensidad expandida de DGJ. Finalmente, realizamos exámenes bioquímicos en una variación D170A de  $\alpha$ -GAL, distinguiendo sin ambigüedades la asociación nuclear responsable de la fuerza expandida de DGJ sobre la galactosa [4].

El uso de una chaperona farmacológica para tratar una infección por colapso de proteínas presenta un enigma subatómico: para expandir la acción del químico, se utiliza un inhibidor despiadado del catalizador. Probamos el instrumento atómico del Catch 22 utilizando enfoques bioquímicos y biofísicos en  $\alpha$ -GAL humana, incluida la energía compuesta, la desnaturalización sintética observada por fluorescencia, la desnaturalización en caliente comprobada por dicroísmo redondo, debilidad de proteasa y cristalografía de haz X. Nuestros estudios muestran que la 1-desoxigalactonojirimicina, que es solo dos grupos utilitarios diferentes de la galactosa, es un sujetador 400,000 veces mejor. Teorizamos que una sola comunicación iónica es responsable de la mayor fuerza de DGJ. Probamos la especulación utilizando un  $\alpha$ -GAL extraño D170A sin la conexión iónica, que pierde la alta fuerza de DGJ. Investigamos la dependencia del pH de la restricción farmacológica de chaperonas, ya que las chaperonas deben separarse de  $\alpha$ -GAL en el bajo pH del lisosoma. En este artículo, desacreditamos un sistema de actividad propuesto (que la protonación del pequeño átomo provoca una restricción más frágil en el lisosoma) y recomendamos que la protonación del nucleófilo reactivo D170 provoca una restricción de DGJ más vulnerable a pH bajo [5].

## Referencias

1. Asano N, Ishii S, Kizu H, Ikeda K, Yasuda K. In vitro inhibition and intracellular enhancement of lysosomal  $\alpha$ -galactosidase A activity in Fabry lymphoblasts by 1-deoxygalactonojirimycin and its derivatives. *Eur J Biochem* 2000; 267: 4179-4186.
2. Brady RO, Gal AE, Bradley RM, Martensson E, Warshaw AL. Enzymatic defect in Fabry's disease. Ceramidetrihexosidase deficiency. *N Engl J Med* 1967; 276: 1163-1167.
3. Desnick RJ, Ioannou YA, Eng CM. Galactosidase A deficiency: Fabry disease. *Metab Mol Bases of Inherited Disease* 2001:3733-3774.
4. Eng CM, Guffon N, Wilcox WR, Germain DP, Lee P. Safety and efficacy of recombinant human  $\alpha$ -galactosidase A-replacement therapy in Fabry's disease. *N Engl J Med* 2001; 345: 9-16.
5. Fan JQ. A counterintuitive approach to treat enzyme deficiencies: use of enzyme inhibitors for restoring mutant enzyme activity. *Biol Chem* 2008; 389: 1-11.