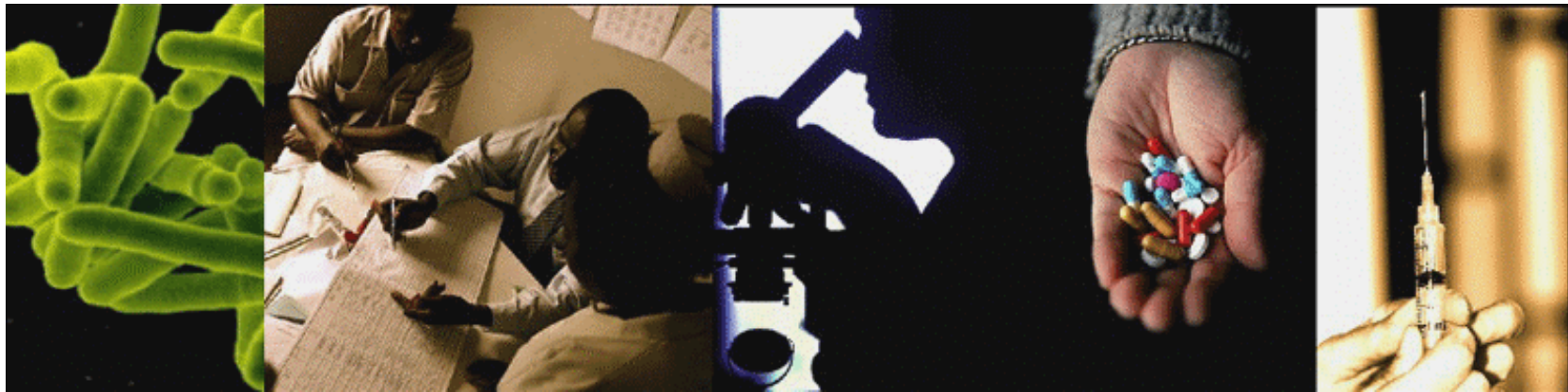


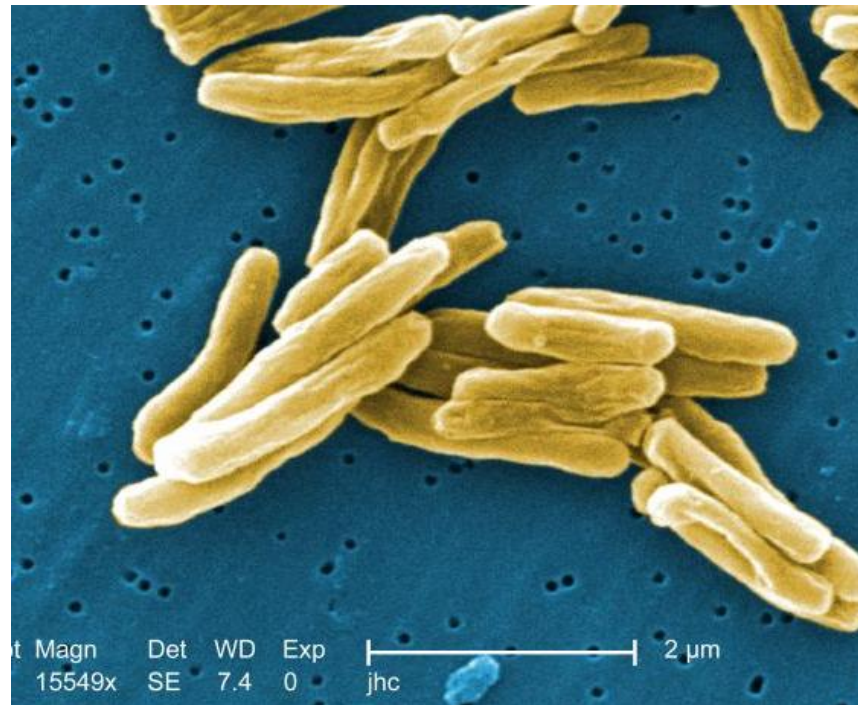
Chémia v biológii

Ako sa dostať bacilom pod kožu...



Katarína Mikušová, Katedra biochémie PriF UK, mikusova@fns.uniba.sk

Kochov bacil – *Mycobacterium tuberculosis*



www.textbookofbacteriology.net/tuberculosis.html

Robert Koch – objavitel' pôvodcu tuberkulózy

- 24. marec 1882, seminár Fyziologickej spoločnosti v Berlíne



Nový spôsob farbenia baktérií!

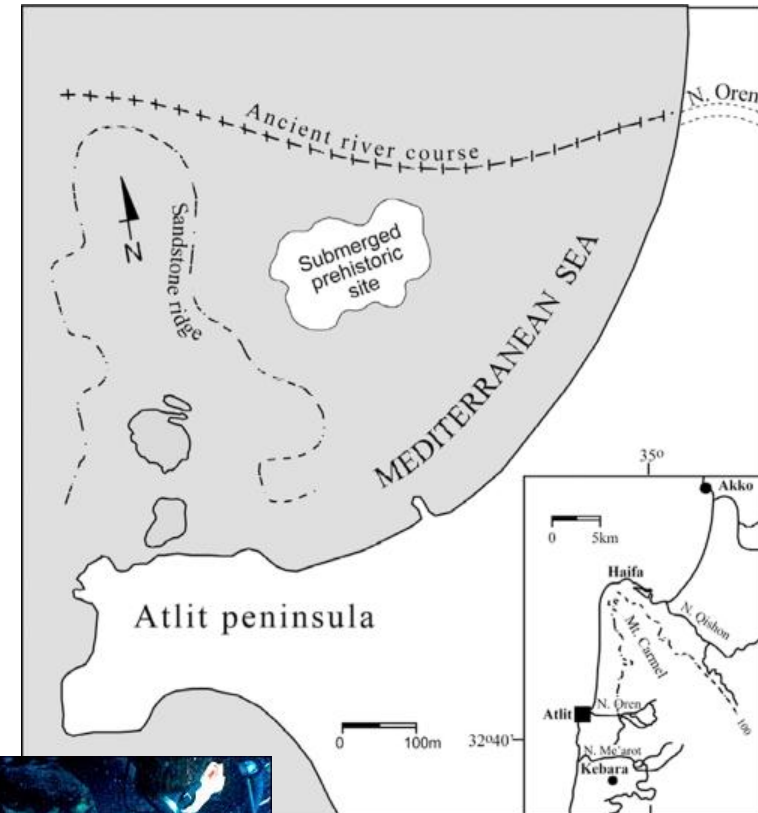
www.answers.com/topic/tuberculosis

Tuberkulóza v minulosti...

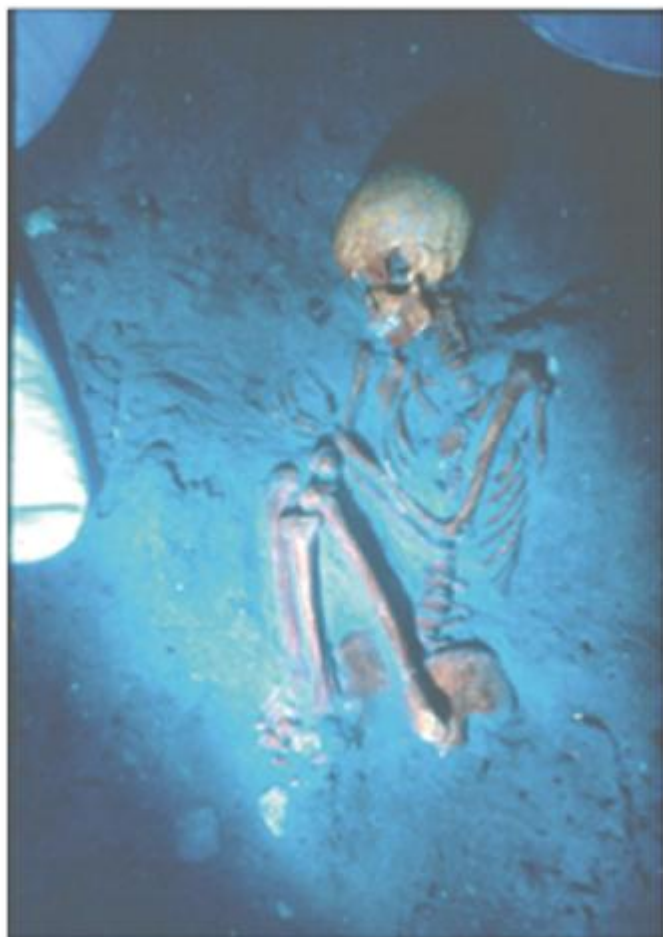
HersHKovitz I, Donoghue HD, Minnikin DE, Besra GS, Lee OY, Gernaey AM, Galili E, Eshed V, Greenblatt CL, Lemma E, Bar-Gal GK, Spigelman M.

Detection and molecular characterization of 9,000-year-old *Mycobacterium tuberculosis* from a Neolithic settlement in the Eastern Mediterranean.

PLoS ONE. 2008;3(10):e3426. Epub 2008 Oct 15.



Tuberkulóza v minulosti...

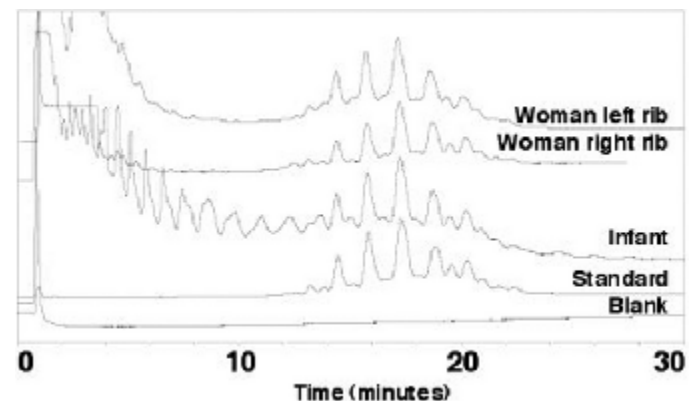


Ľudské kostry z náleziska Atlit-Yam

Tuberkulóza v minulosti...

„... Je fascinujúce, že patogén, ktorý ženu a dieťa infikoval, je skutočne ľudský kmeň *Mycobacterium tuberculosis*, čo vyvracia doposiaľ prijímanú teóriu, že sa tuberkulóza preniesla na ľudí z hovädzieho dobytku po domestikácii zvierat...“ Dr. Donoghue

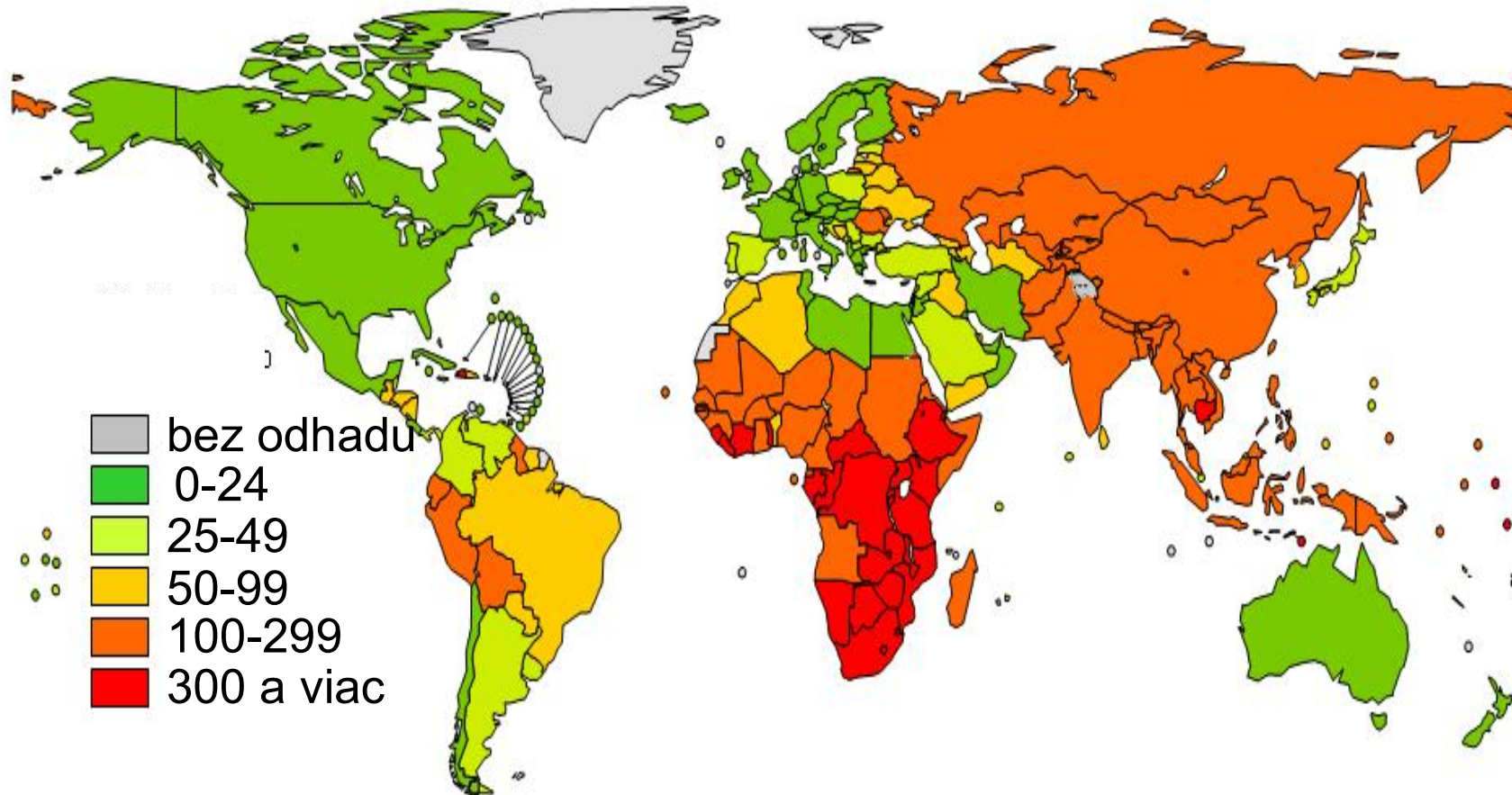
- Prítomnosť *Mycobacterium tuberculosis* v kostiach vykopávok z Atlit-Yam bola potvrdená
 - Analýzou DNA
 - Analýzou lipidového profilu



Tuberkulóza dnes...

- 1/3 svetovej populácie je infikovaná *Mycobacterium tuberculosis*; predpokladá sa, že u 5 – 10 % z nich počas života prepukne aktívne ochorenie
- V roku 2006 pribudlo **9,2 milióna** nových prípadov TBC; **1,7 milióna** ľudí TBC podľahlo
- Tuberkulóza dnes patrí medzi najrozšírenejšie infekčné ochorenia

Tuberkulóza dnes...



Počet nových prípadov TBC na 100 000 obyvateľov v roku 2005 (WHO,2006)

Problémy súčasnej TBC

- Mnohonásobne rezistentné kmene (MDR) *Mycobacterium tuberculosis*
- Dlhá a náročná liečba existujúcimi liekmi
 - Štandardná liečba:
 - 4 druhy liekov počas 6-9 mesiacov
 - DOTS (directly observed therapy, shortcourse)
 - Liečba MDR:
 - Lieky druhej línie – nižšia účinnosť, vyššia toxicita, predĺženie terapie až na 2 roky



Problémy súčasnej TBC

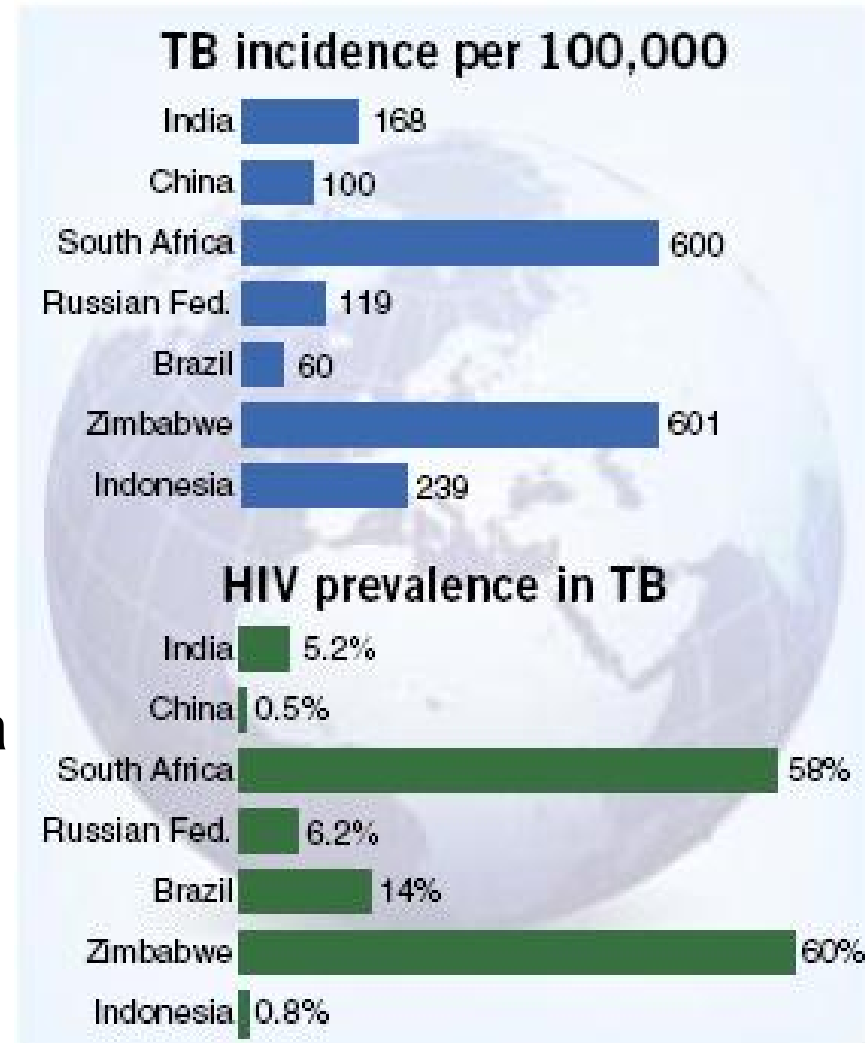
- Extrémne rezistentné kmene (XDR) *Mycobacterium tuberculosis* !!!
- Možnosti na liečbu – takmer žiadne!
- Identifikované: marec 2006, CDC (Centrum pre kontrolu chorôb)
- Prvá epidémia XDR: august 2006
 - poľnohospodárska provincia Kwazulu-Natal v južnej Afrike
 - Z 544 pacientov diagnostikovaných TB
 - 221 pacientov MDR, z nich 53 pacientov XDR
 - z 53 XDR pacientov bolo 44 súčasne infikovaných HIV



(Emergence of XDR-TB, WHO 2006)

Problémy súčasnej TBC

- HIV a TBC sa vzájomne podporujú
- TBC je najčastejšou príčinou smrti pacientov chorých na AIDS



A. Mandavilli v Nature Medicine, 13 (3), 2007, p. 269

TBC - globálny problém...

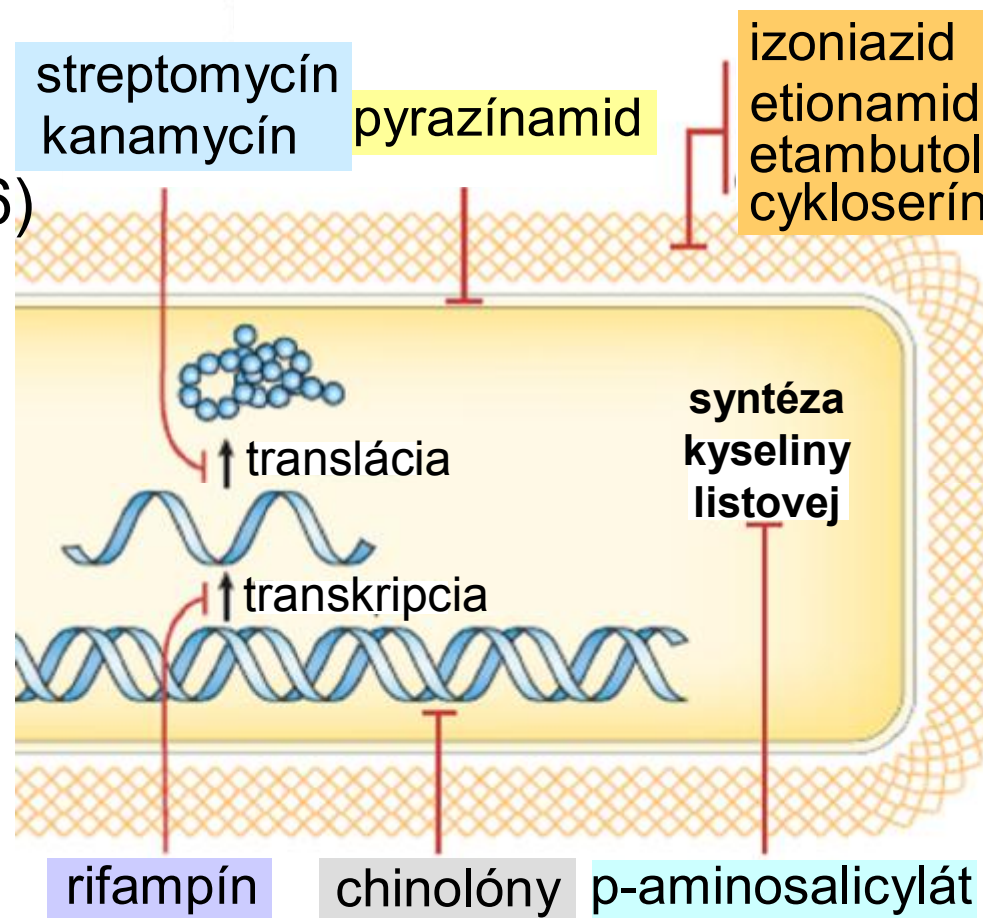


Manny Francisco, Manila, The Phillippines 2007

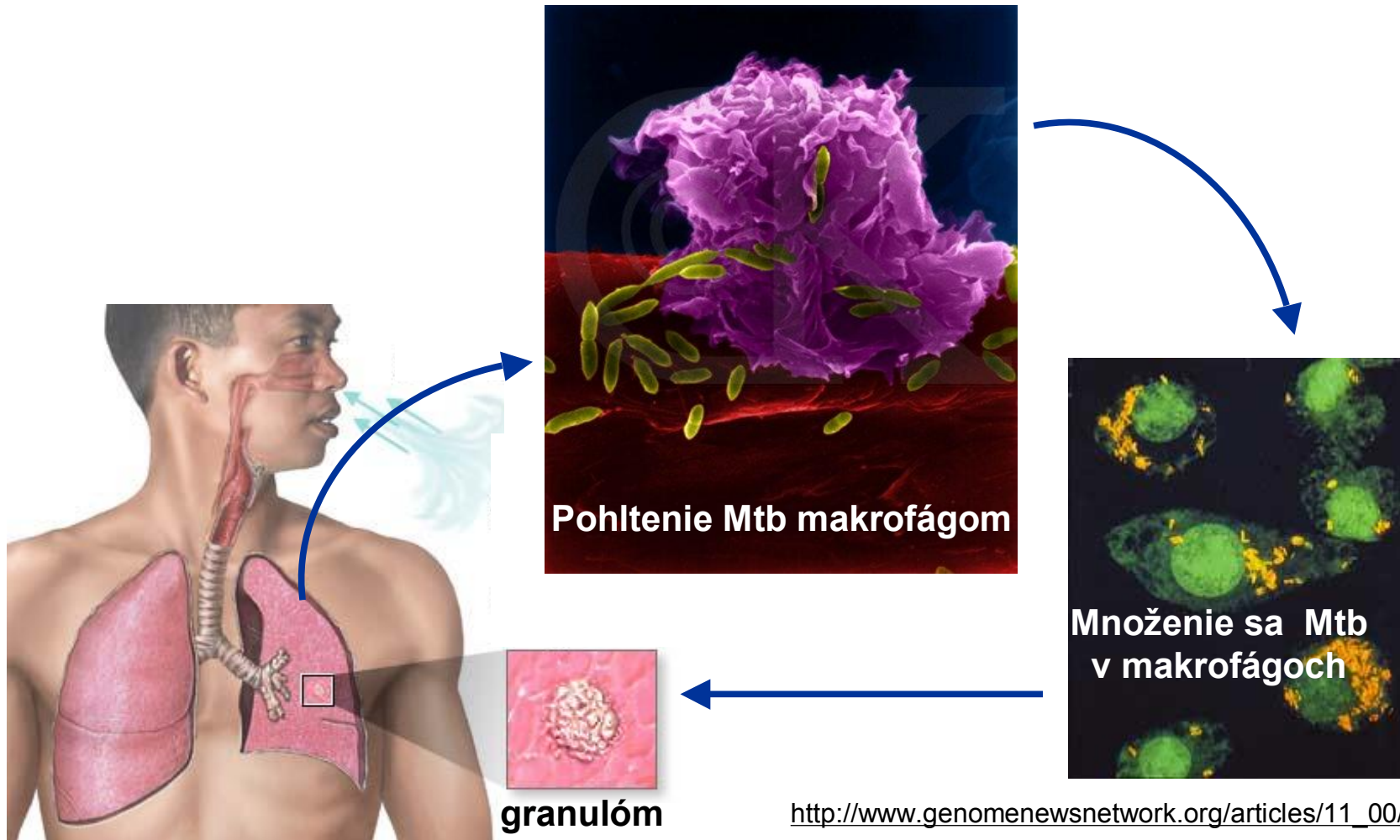
http://www.classbrain.com/artteensb/publish/deadly_african_TB_strain.shtml

Súčasnú lieky proti TBC

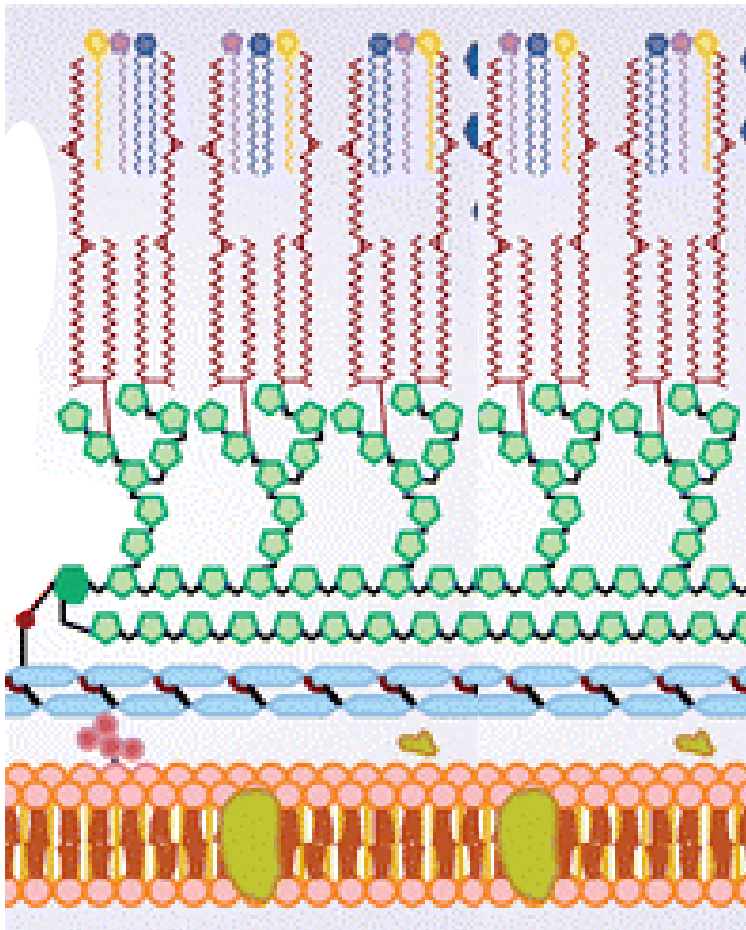
- streptomycín (1944)
- p-aminosalicylát (1946)
- izoniazid (1952)
- cykloserín (1952)
- pyrazínamid (1952)
- etionamid (1956)
- kanamycín (1957)
- etambutol (1961)
- chinolóny (1963)
- rifampín (1966)



Mycobacterium tuberculosis sa skrýva v makrofágoch



Mykobakteriálna bunková stena – „hrošia koža“ mykobaktérií



mykolové kyseliny

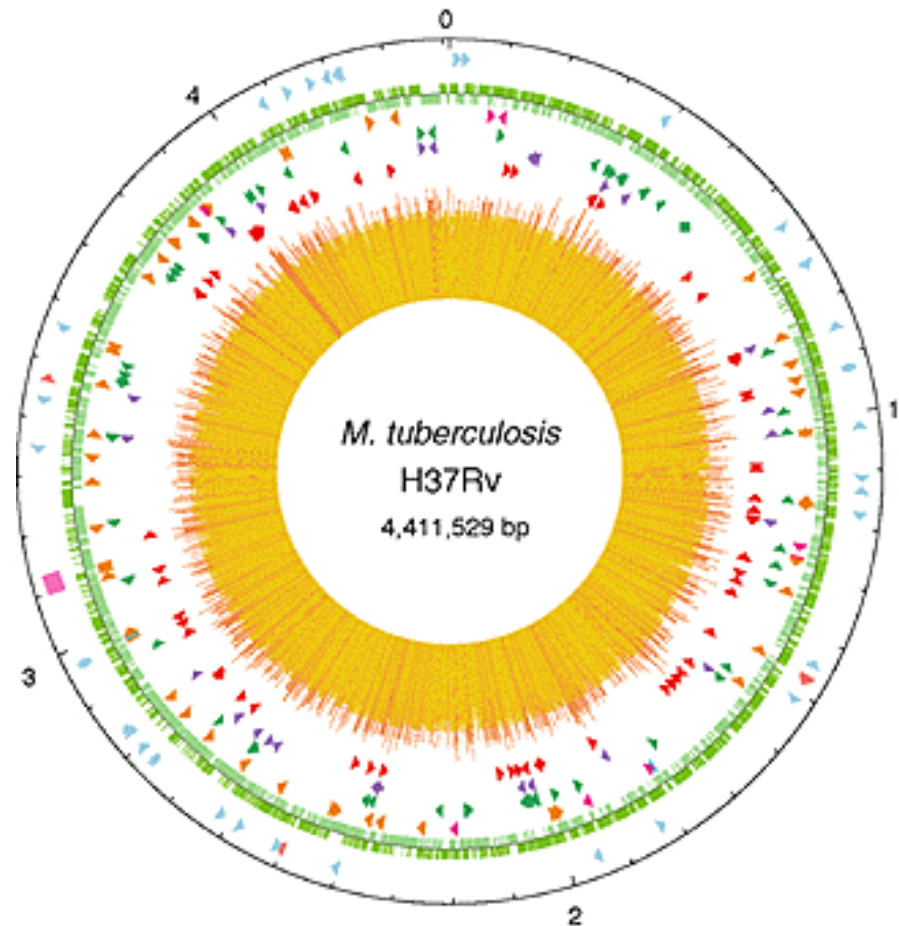
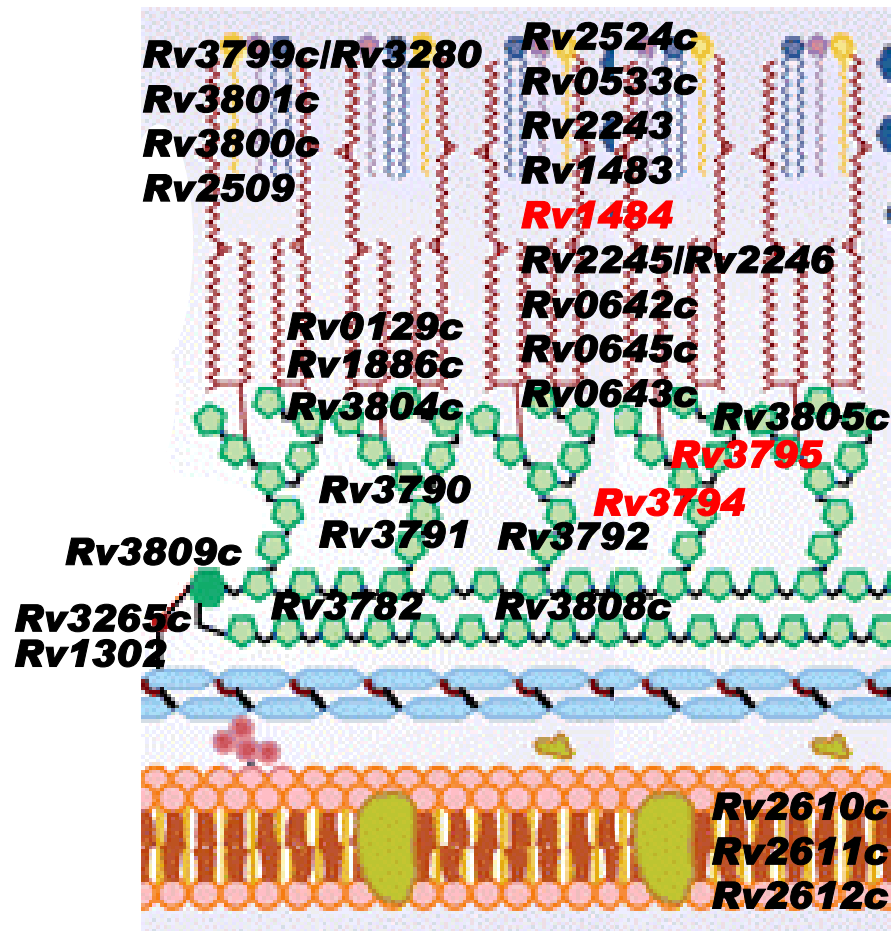
arabino-

galaktán

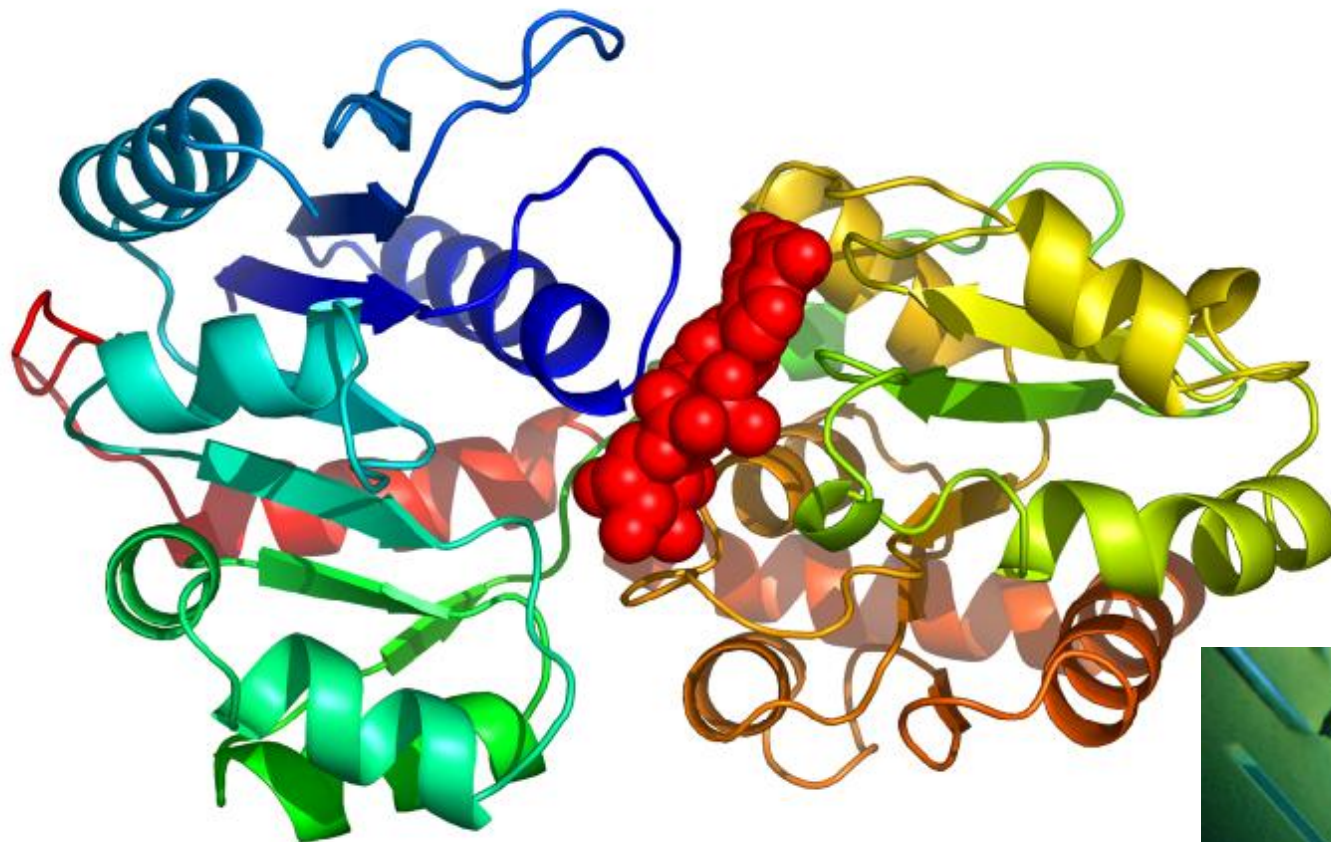
peptidoglykán

plazmatická membrána

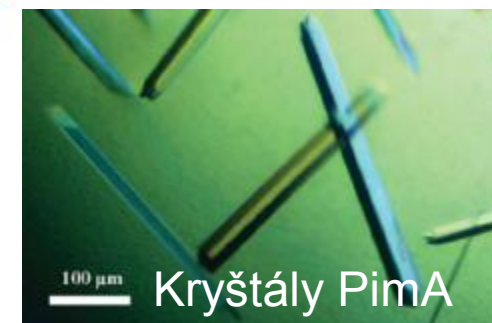
Mykobakteriálna bunková stena - od štruktúry ku génom



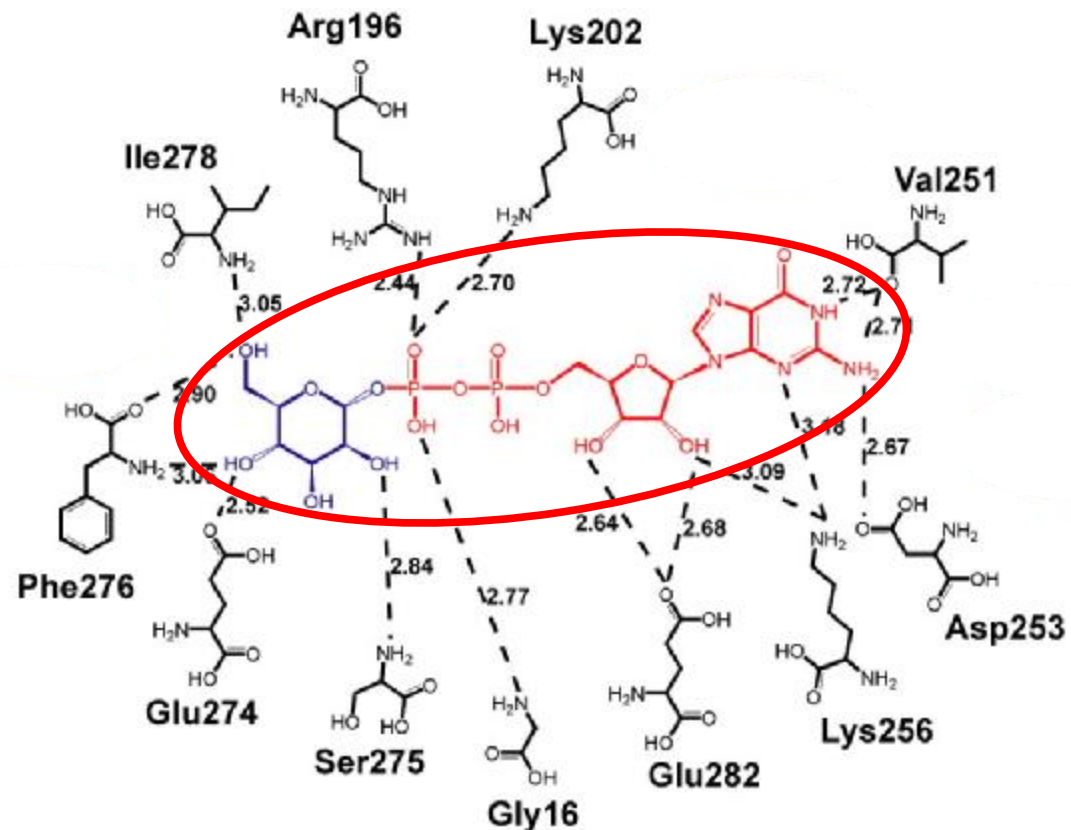
Racionálny design liečiv – vyžaduje informácie o štruktúre proteínu



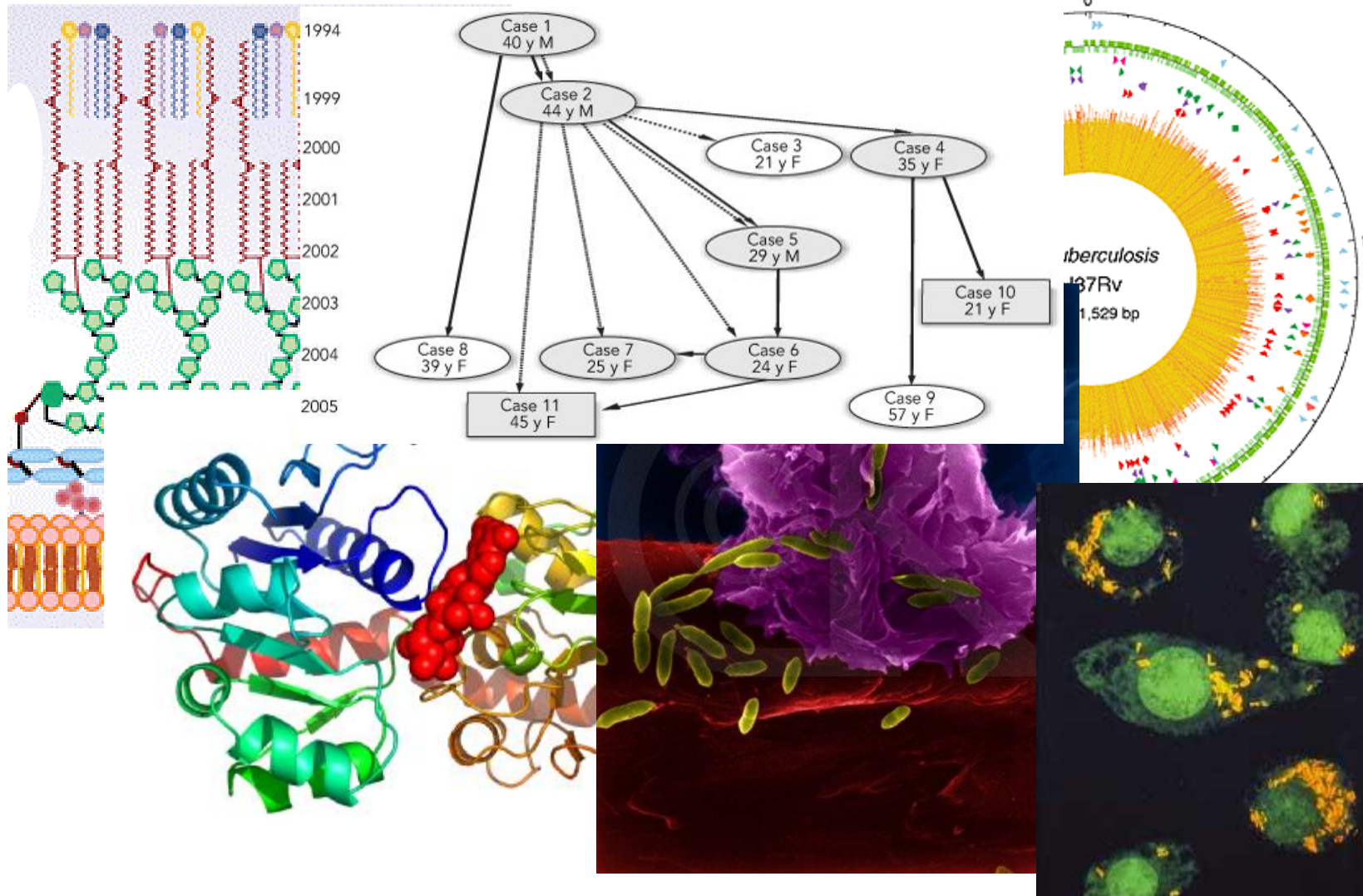
Manozyltransferáza PimA



Štruktúra aktívneho miesta PimA



O mykobaktériách vieme veľa...



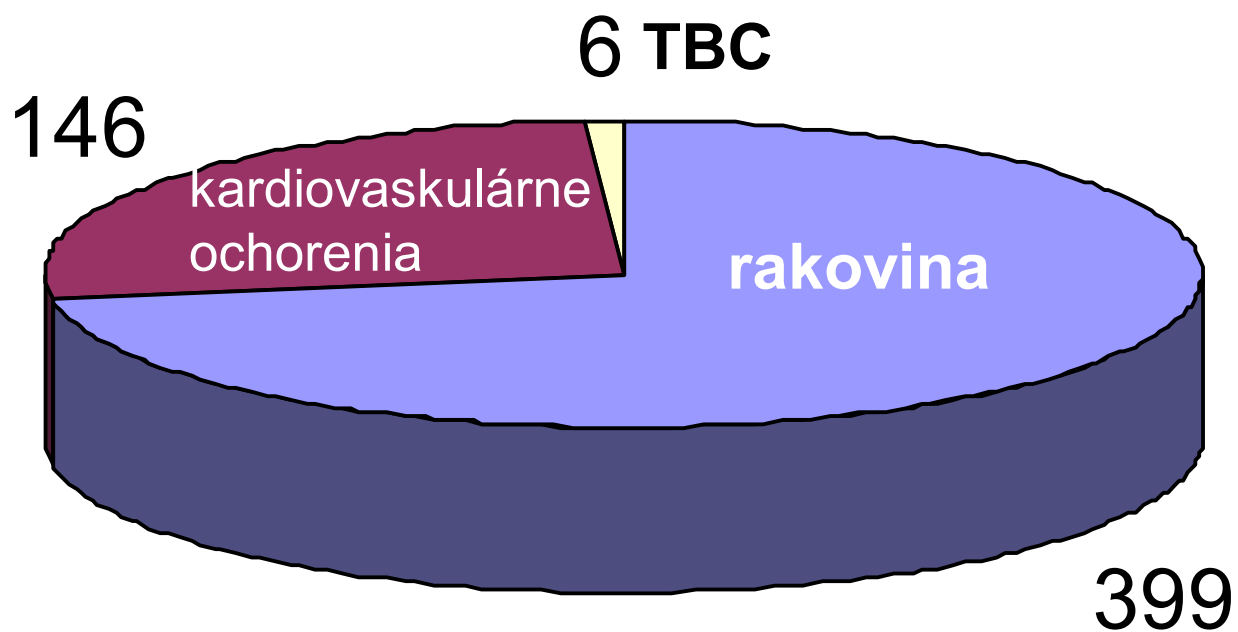
Máme šance poraziť TB?

- Potreba vývoja nových liekov, ktoré
 - skrátia dobu liečby
 - budú pôsobiť proti latentnej infekcii
 - budú účinkovať voči rezistentným kmeňom *M. tb*
 - budú kompatibilné s liekmi proti AIDS
- Moderné prístupy vývoja nových liečiv:
 - Racionálny design
 - Skríning inhibítorov na rastúcich bakteriálnych kultúrach (whole-cells approach)
 - Modifikácia existujúcich liečiv

Antituberkulotiká vo vývoji...

Trieda	Názov	Mechanizmus pôsobenia	Spôsob objavenia	Fáza klinického testovania
chinolóny	Moxifloxacín Gatifloxacín	Inhibítor DNA-gyrázy	Využitie existujúceho ATB	III
nitroimidazoly	PA824 OPC67683	neznámy	Skríning látok na TB kultúrach	II
diarylchinolíny	TMC207	Inhibítor ATP-syntázy	Skríning látok na TB kultúrach	II
diamín	SQ109	neznámy	Modifikácia existujúceho ATB	I

Antituberkulotiká vo vývoji...



Podľa E.Check v Nature Medicine, 13 (3), 2007, p. 266

NM4TB – New Medicines for TB



Benzotiazinóny účinne inhibujú rast *Mycobacterium tuberculosis*

Látky nasyntetizoval:

Dr. Vadim Makarov

Minimálna inhibičná koncentrácia pre *M.tb*:

Isoniazid	50 ng/ml	!
BTZ	0,75 ng/ml	

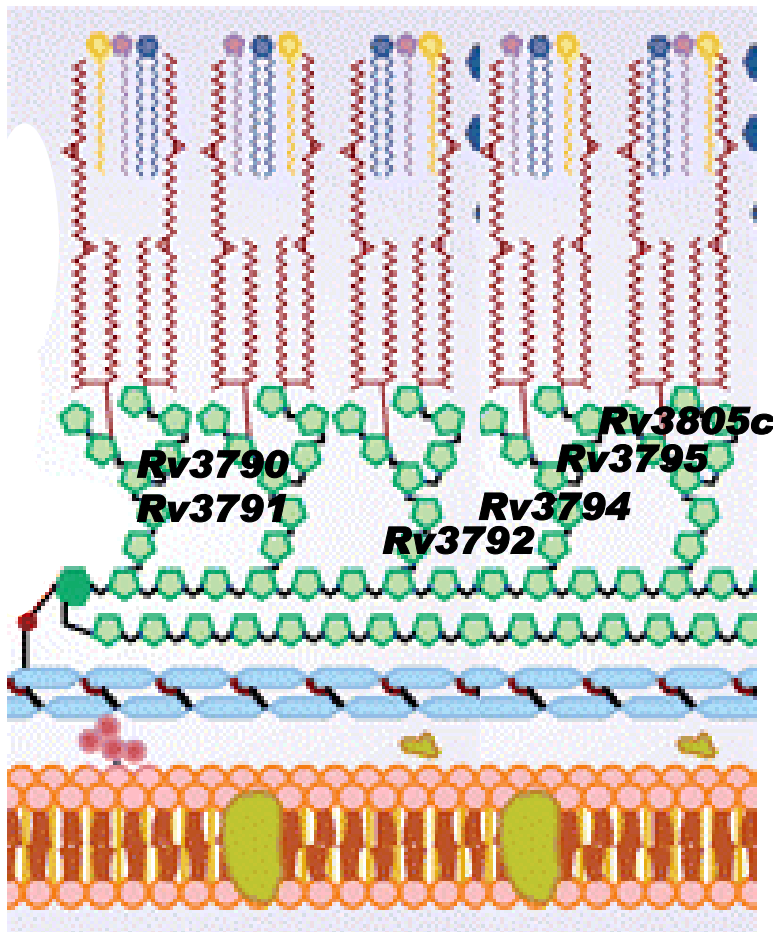
(Prof. Giovanna Riccardi; Giulia Manina)

Aký je mechanizmus pôsobenia BTZ?

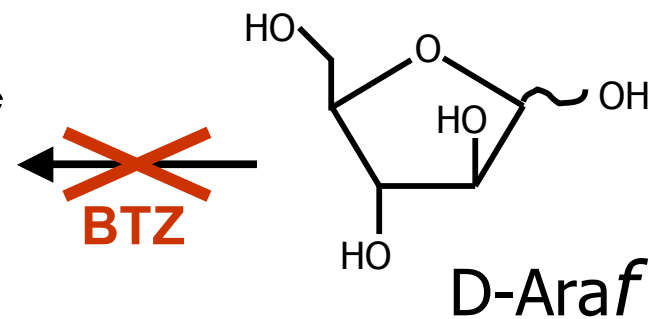
- Inhibujú BTZ výstavbu štruktúr mykobakteriálnej bunkovej steny?
- Zistenie:
 - Zníženie obsahu arabinózy v bunkách v prítomnosti BTZ

Ale prečo???

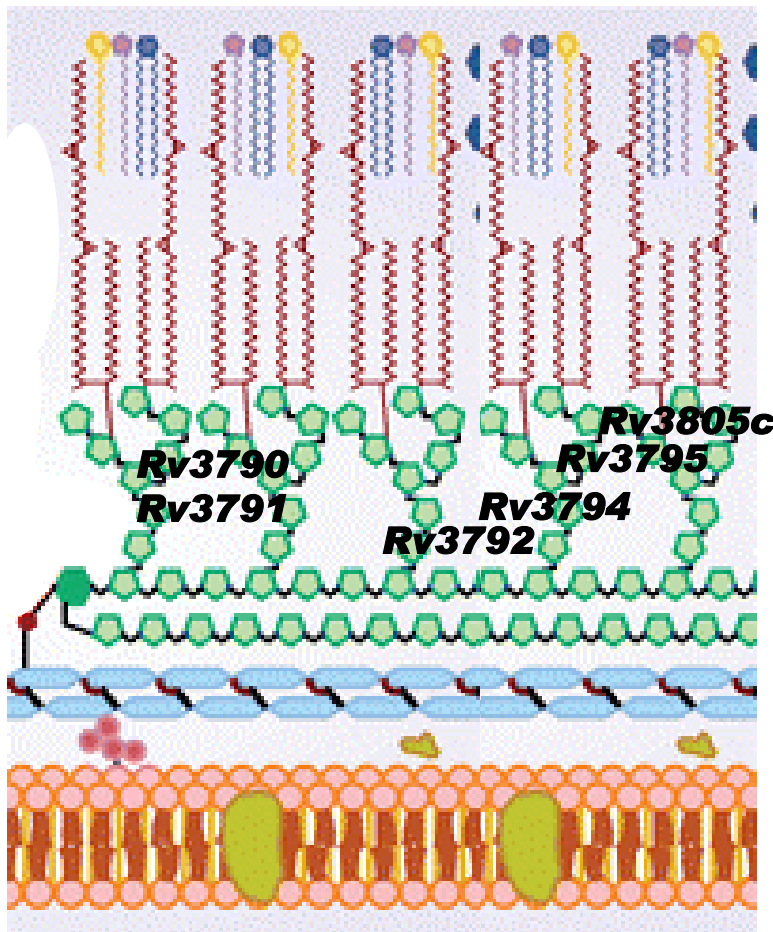
Aký je mechanizmus pôsobenia BTZ?



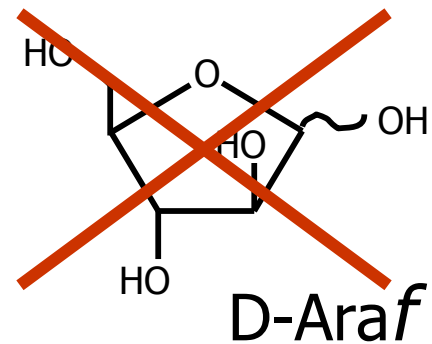
1. Inhibícia arabinozyltransferáz?



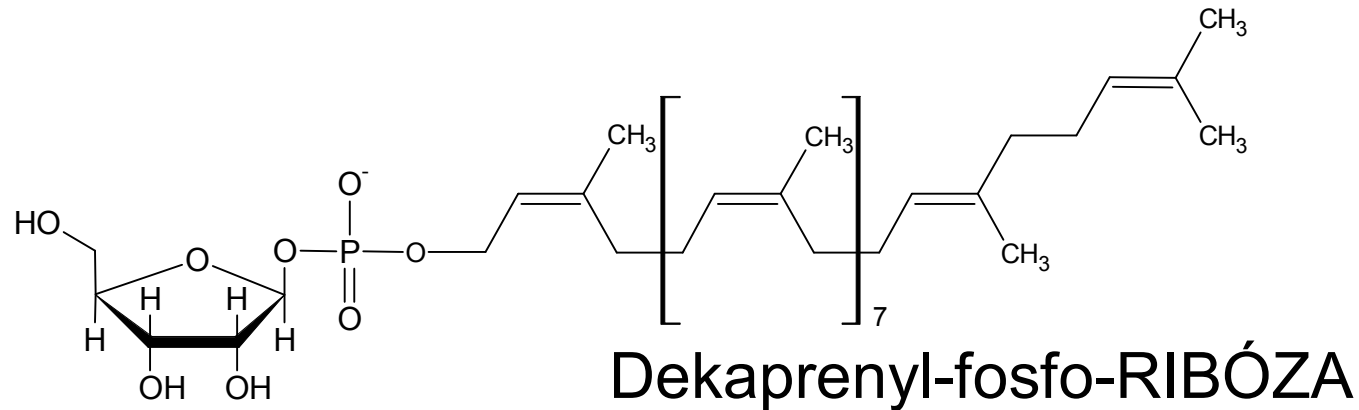
Aký je mechanizmus pôsobenia BTZ?



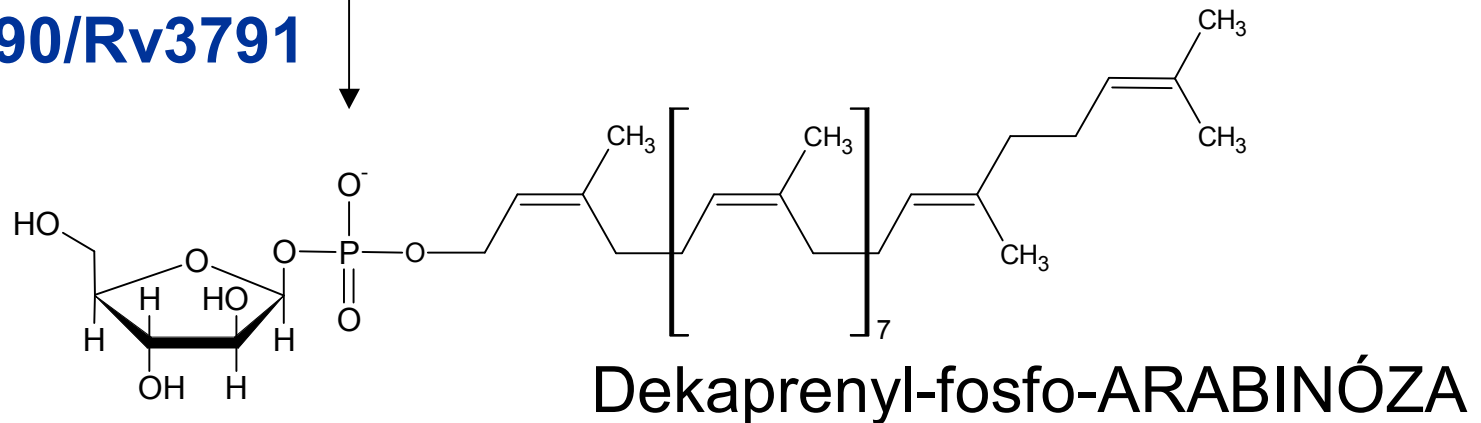
1. Inhibícia arabinozyltransferáz?
2. Blok produkcie substrátu pre arabinozyltransferázy?



Funkcia génov *Rv3790/Rv3791*

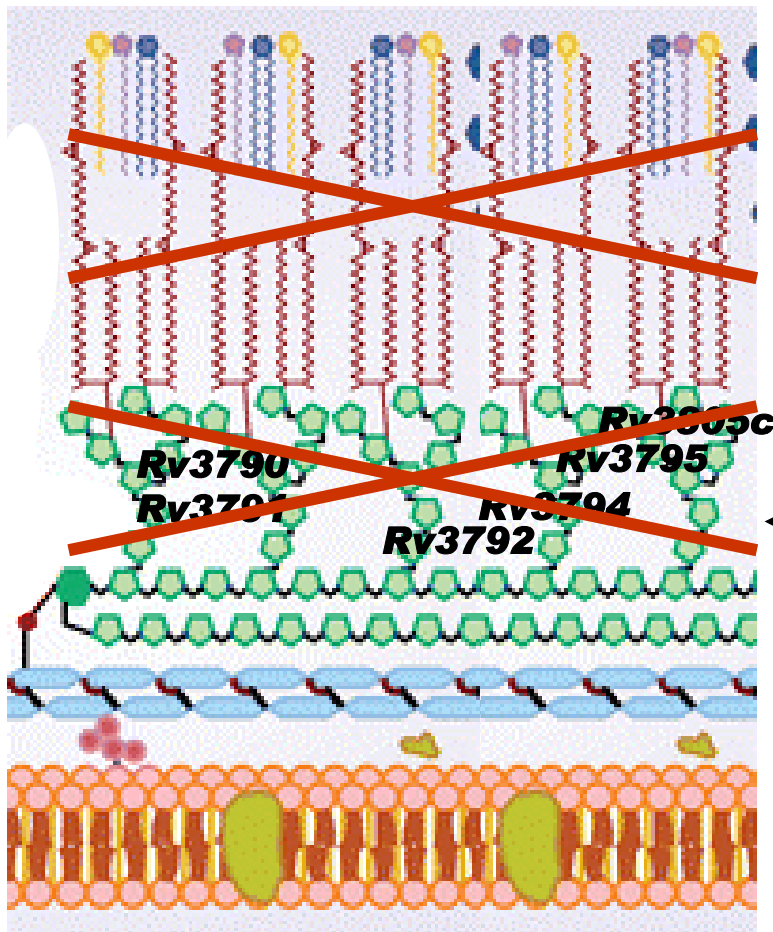


Rv3790/Rv3791



Donor arabinózy na syntézu arabinánových polymérov bunkových stien

Aký je mechanizmus pôsobenia BTZ?



Dekaprenyl-fosfo-RIBÓZA

~~↓~~ **Rv3790/Rv3791**

Dekaprenyl-fosfo-ARABINÓZA

~~←~~

Biológia + chémia

NOBELOVE CENY ZA CHÉMIU

- **2008** Osamu Shimomura, Martina Chalifie, Roger Y Tsien - za *objavenie a rozvoj využitia zeleného fluorescenčného proteínu*
- **2006** Roger G Kornberg – za *štúdium molekulárnej podstaty eukaryotickej transkripcie*
- **2004** Aaron Ciechanover, Avram Hershko, Irwin Rose – za *objav degradácie proteínov sprostredkovanej ubiquitínom*
- **2003** Peter Agre – za *objav vodných kanálov*
Robert MacKinnon – za *štruktúrne a mechanistické štúdie iónových kanálov*

„Vedci a technici roky pracujú – proti všetkej logike – za nízke platy a bez záruky na úspech. Ich motívy sú rôzne, no jedným z nich je aj nádej, že pomôžu iným, že vyliečia chorobu, že odvrátia smrť.“

Carl Sagan (1934 - 1996), americký astrofyzik

Pod'akovanie

- [Univerzita Komenského, PriF UK,](#) • [University of Pavia](#)
 - Katedra biochémie
 - Giovanna Riccardi
 - Giulia Manina
 - Anna Milano
 - Silvia Buroni
 - Edda DeRossi
 - Marilyna Pasca
- Marta Kollárová
- Jana Korduláková
- Martina Beláňová
- Petronela Dianišková
- Zuzana Svetlíková
- Adela Bobovská
- [EPFL, Lausanne](#)
 - [Bakch Institute of Biochemistry, Moscow](#)
 - Vadim Makarov
 - Olga Ryabova
- [Colorado State University, Fort Collins, USA](#)
 - [Hans-Knoll Institute, Jena](#)
 - Ute Möllmann
 - [Pasteur Institute, Paris](#)
 - Brigitte Gicquel
 - Pedro Alzari, Marcelo Guerin
- Patrick J. Brennan
- Michael McNeil
- Mary Jackson