

## “Drug targeting”

O organismo selecionado para a realização de uma análise de *drug targeting* foi o *Mycobacterium tuberculosis*, uma bactéria patogénica da família Mycobacteriaceae. Descoberta em 1882 por Robert Koch, a também conhecida por bacilo de Koch, não apresenta os fatores de virulência clássicos de outros agentes patogénicos como as toxinas. Dada a sua fisiologia altamente aeróbia, necessita de altos níveis de oxigénio para sobreviver. Este agente patogénico encontra assim no sistema respiratório de mamíferos um habitat adequado para a sua proliferação.

No que respeita aos fatores de virulência associados a este microrganismo, enumeram-se os de maior relevo: capacidade de biossíntese de ácidos micólicos e de lípidos complexos, produção de reguladores da expressão de genes, capacidade de interrupção do processo normal de maturação de fagócitos e capacidade de inibição da fusão entre fagossomas e lisossomas.

Em relação aos antibióticos mais frequentemente usados no tratamento de infeções por *Mycobacterium tuberculosis*, têm-se a isoniazida e rifampicina (dois dos principais antibióticos de primeira linha que inibem a síntese de DNA). No entanto, verifica-se que existem estirpes deste microrganismo são resistentes a estes antibióticos.

Na tentativa de solucionar este problema e encontrar novos alvos terapêuticos que impeçam o crescimento e proliferação deste organismo, procedeu-se a uma análise *in silico* com o auxílio do package MEWpy, uma ferramenta bioinformática de engenharia metabólica.

Primeiramente, após carregar o modelo da *Mycobacterium tuberculosis* através do método `load_cbmodel()` do módulo `reframed.io.sbml`, criou-se um objeto `simulator` e procedeu-se a uma simulação fenotípica com o algoritmo FBA (Flux Based Analysis) através de métodos disponibilizados pelo MEWpy. Verificou-se, então, qual a função objetivo (“*objective*”) e quais as condições de crescimento (“*status*”), sendo que, por defeito, o modelo se encontra otimizado para a produção de biomassa em condições ótimas. Verificou-se ainda a quantidade de metabolitos, reações e genes presentes no modelo, obtendo-se respetivamente valores de 826, 1022 e 0 para cada um deles (**Anexo 1**).

Após uma primeira análise exploratória do modelo, averiguou-se quais os principais metabolitos excretados pelo microrganismo nas condições referidas anteriormente, tendo-se obtido 7 metabolitos distintos (**Anexo 2**).

Posteriormente, e ainda com o auxílio do objeto `simulator` analisou-se quais as reações e genes essenciais do sistema em estudo. Esta informação é de relevo para a descoberta de novos fármacos já que nos possibilita identificar alvos terapêuticos para os mesmos. No total, obtiveram-se 0 genes essenciais e 314 reações essenciais (**Anexo 3**), duas das quais foram objeto de análise mais aprofundada, a “R\_AACPS11”, ausente em humanos, e a “R\_EX\_glyc\_LPAREN\_e\_RPAREN\_”, presente em humanos. É importante referir que a primeira seria mais adequada como potencial alvo de um fármaco já que não afetaria o metabolismo do hospedeiro, neste caso o ser humano.

Finalmente, verificou-se qual o impacto do knockout de cada uma dessas reações no crescimento microbiano e noutras reações essenciais presentes no modelo. Tanto o knockout da reação “R\_AACPS11” como da reação “R\_EX\_glyc\_LPAREN\_e\_RPAREN\_” provocaram a interrupção do crescimento de *Mycobacterium tuberculosis* (**Anexo 4**). Relativamente ao

impacto nas restantes reações essenciais, o knockout de ambas as reações provocou um decréscimo acentuado na grande maioria dos fluxos (**Anexo 5** e **Anexo 6**). No entanto, cerca de 10% das reações viram os seus fluxos aumentados em mais de 1000%.

**Trabalho realizado por:**

- André Silva (*PG45464*)
- António Duarte (*PG45462*)
- Roberto Bullitta (*PG45474*)
- Rute Castro (*PG45475*)
- Vânia Miguel (*PG45971*)