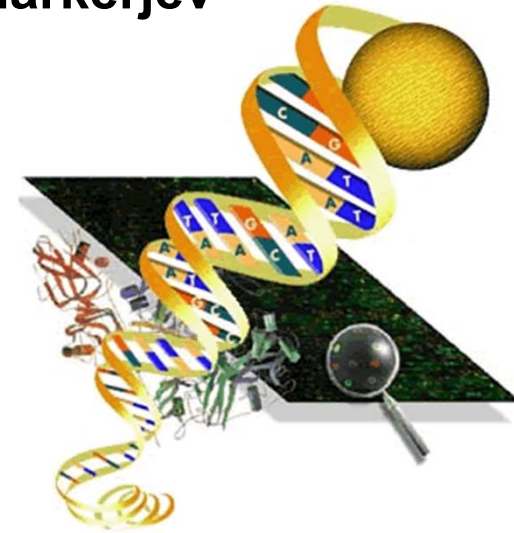
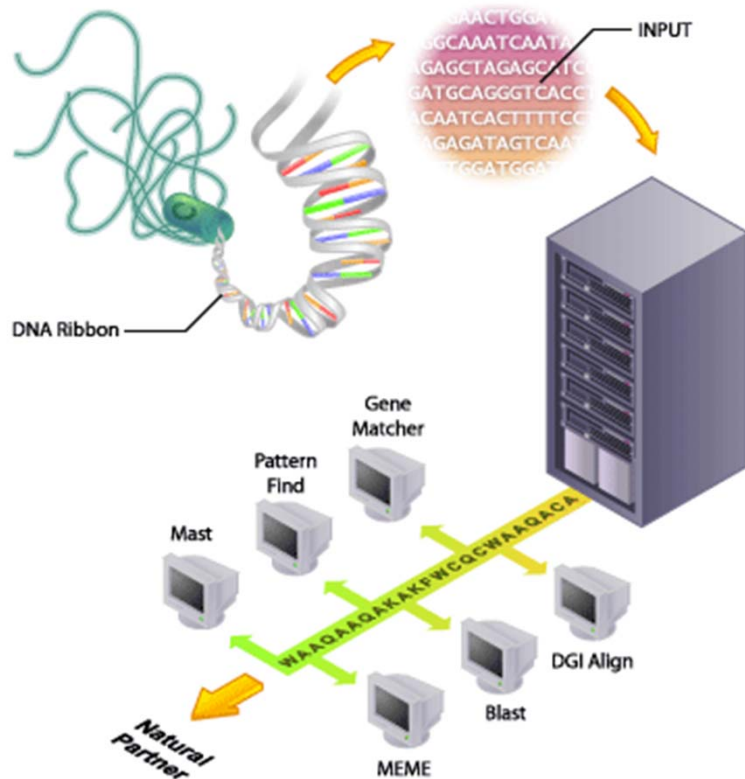


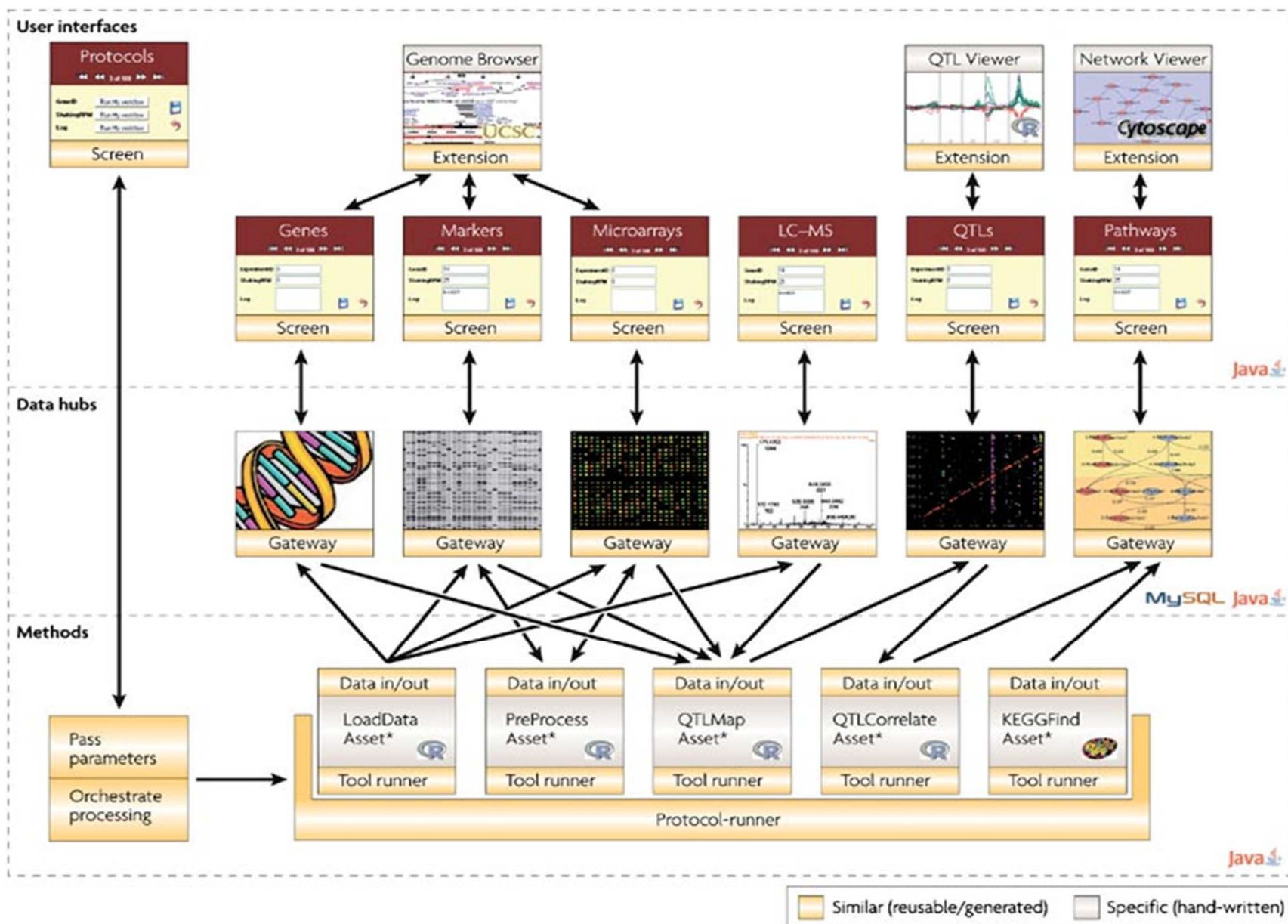
Pomen bionformatike pri iskanju bolezenskih markerjev (in tarč za zdravila)



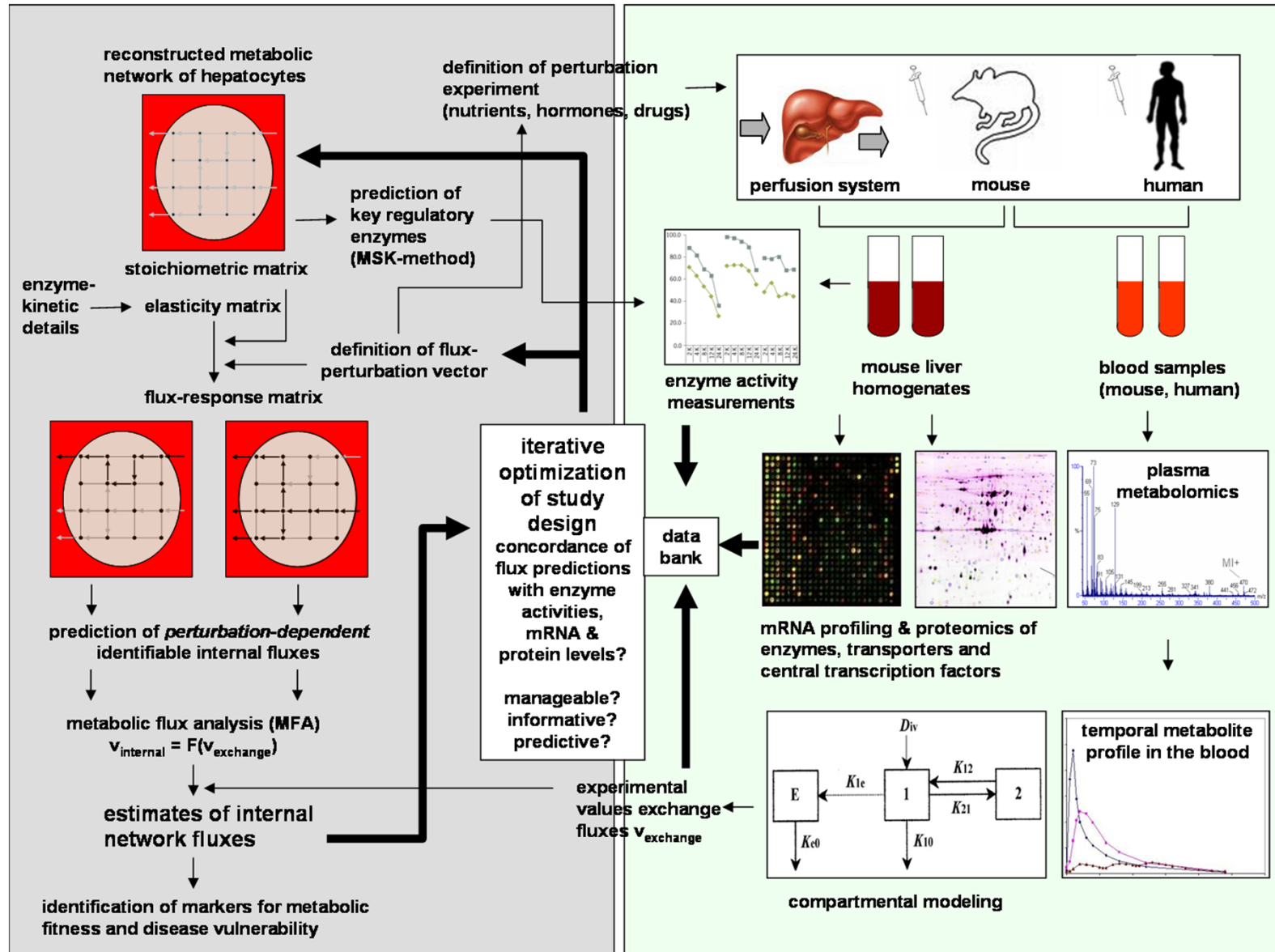
www.gwumc.edu

Integrirane raziskave, kjer poleg genoma, transkriptoma, proteoma preiskujemo še druge “ome” in skušamo celostno razumeti dogajanje v celici, opišemo z izrazom ***systemska biologija***

Izzivi povezovanja podatkov



Primer projekta sistemske biologije za odkrivanje bolezenskih markerjev nealkoholne bolezni jeter



Bioinformatika, računska biologija

Bioinformatika ureja enormne količine podatkov, ki jih proizvedejo “omike” , projekti sekvenciranja in druge visokozmogljivostne metode.

Bioinformatika in **računska biologija** vključujeta uporabo tehnik uporabne matematike, informatike, statistike in računalniških znanosti, s ciljem reševanja bioloških vprašanj.

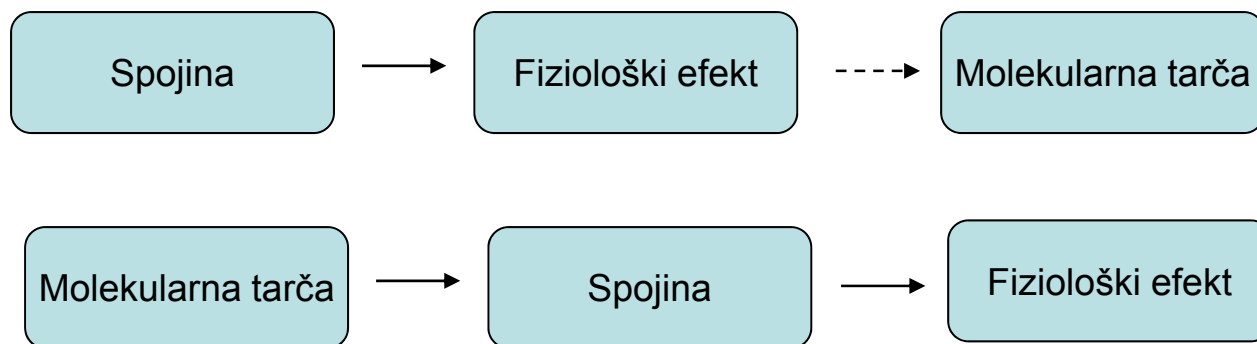
Pojma bioinformatika in računska biologija sta izmenljiva.

Bioinformatika se načelno bolj osredotoča na razvoj novih algoritmov in računskih metod. Računska biologija naj bi bila namenjena bolj testiranju hipotez in odkrivanju novih spoznanj v bioloških domenah.

V slovenščini je za obe aplikaciji bolj uporabljan izraz bioinformatika.

Razvoju zdravil v pogenomskem obdobju

- Farmakologija – veda, ki se ukvarja z odkrivanjem, kemijo, sestavo, razpoznavanjem, biološkimi in fiziološkimi efekti, uporabo in proizvodnjo zdravil
- Kandidati za zdravila morajo učinkovito modulirati svoje tarče (proteine, encime)
- Morajo imeti primerne lastnosti, da dosežejo tarče



Molekularna tarča – protein (encim), z znano 1D - 3D strukturo

```
>P24941|CDK2_HUMAN Cell division protein kinase 2 - Homo sapiens  
(Human) .  
MENFQKVEKIGEGTYGVVYKARNKLTGEVVALKKIRLDTETEGVPSTAIRESISLLKELNHPNIVKLLD  
VIHTENKLYLVPEFLHQDLKPFMDASALTGIPLPLIKSYLFLQLLQGLAFCHSHRVLHRDLKPNLLIN  
TEGAIKLADFGLARAFGVFVRTYTHEVVTWYRAPEILGCKYYSTAVDIWSLGCIFAEMVTRRALFP  
GDSEIDQLFRI PRTLGTPEVVWPGVTSMPDYKPSFPKWARQDFSKVVPPLDEDGRSLLSQMLHYDEN  
KRISAKAALAHPPFFQDVTKPVPHLRL
```

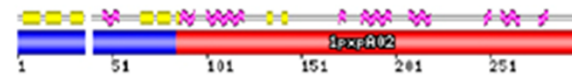
Sequence

```
[LIVMFYC] -x- [HY] -x-D- [LIVMFY] -K-x(2) -N- [LIVMFYCT] (3)
```

Motif

2.7.11.22

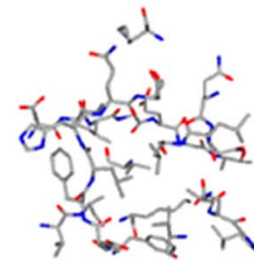
E.C. number



2-D structure

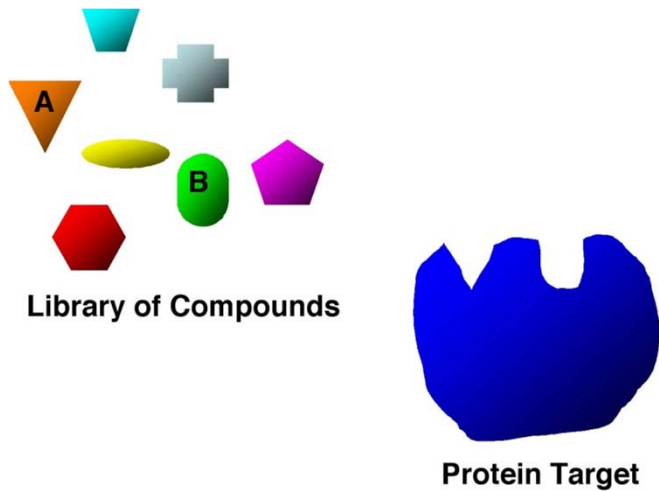


3-D structure



Ligand binding site

Analize SAR – povezava med strukturo molekule in njeno aktivnostjo



Analitske metoda za določevanje aktivnosti

Iskanje struktrnih značilnosti aktivnih spojin s SAR

Pomembne proteinske družine, ki so tarča zdravil:

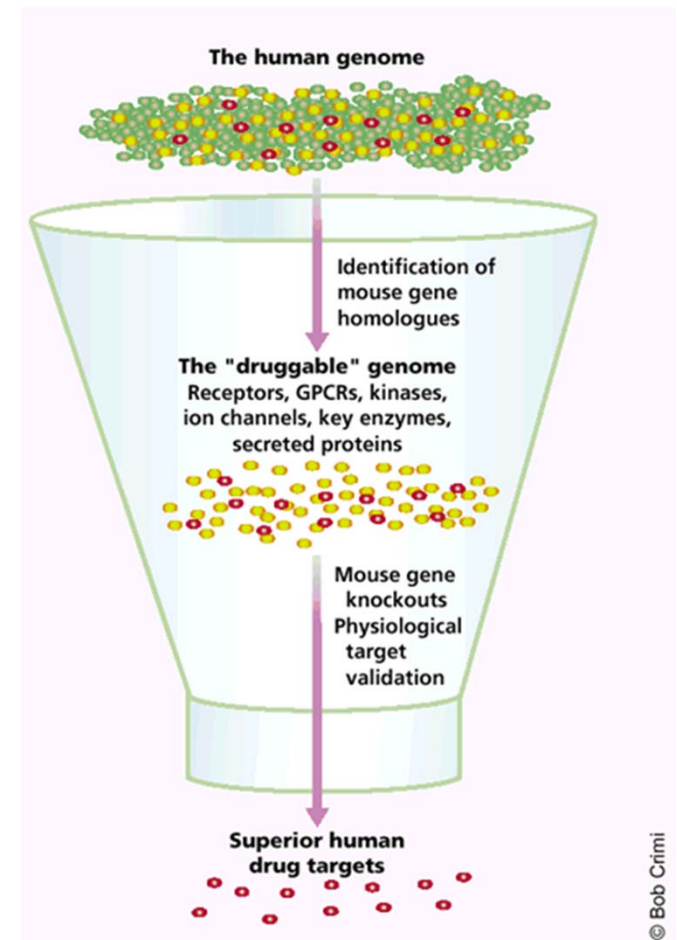
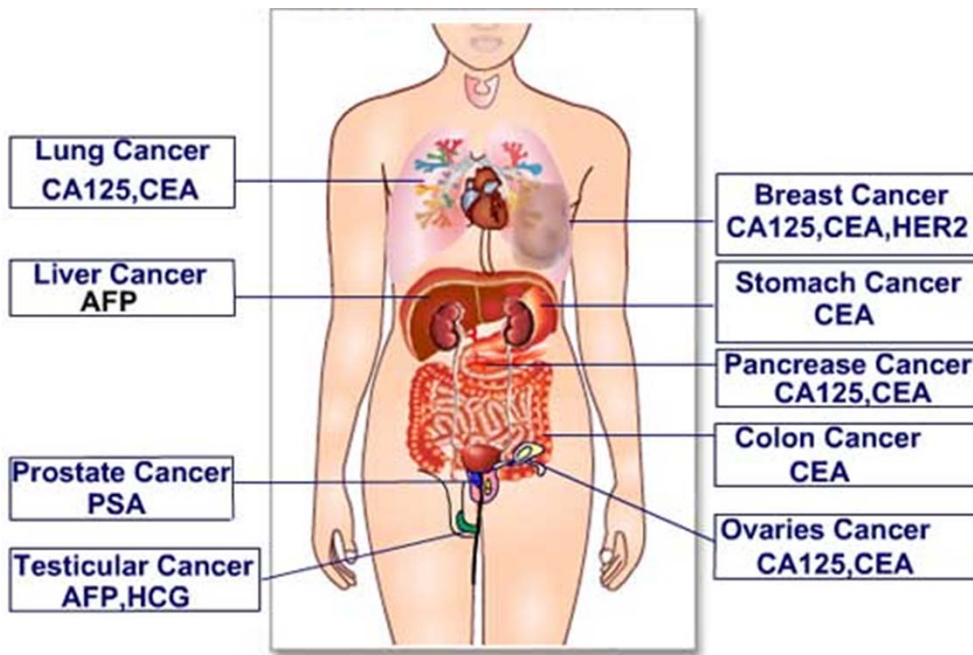
- Z G-proteini povezani receptorji
- ST/Y Kinaze
- Jedrni hormonski receptorji
- Proteinaze in peptidaze
- Fosfodiesteraze



Knjižnice (zbirke) kemijskih spojin z znanimi biološkimi profili (aktivnostjo)

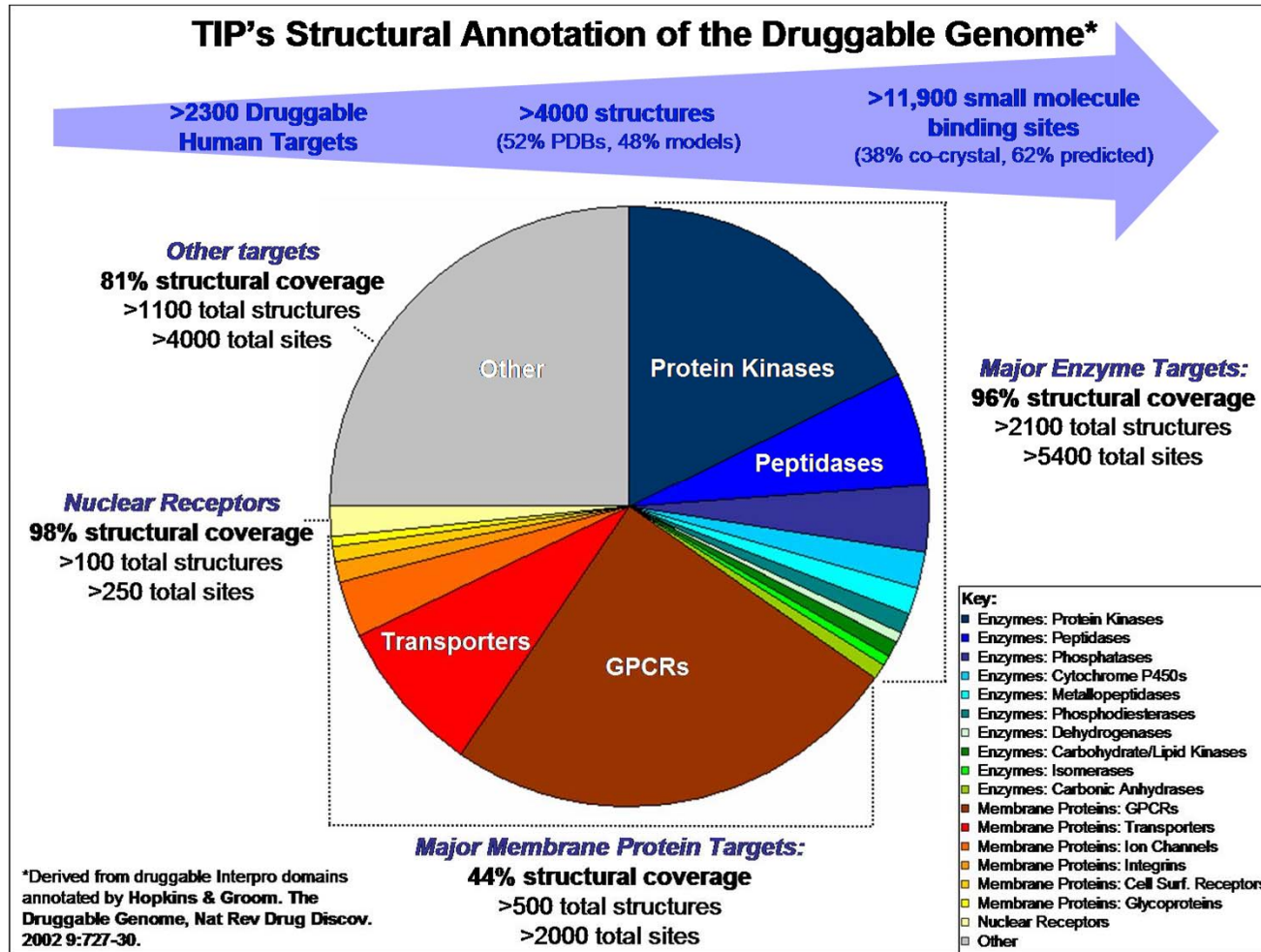
Pomen proteinov (in encimov) v medicinski diagnostiki in pri zdravljenju

Tumorski markerji so različni proteini

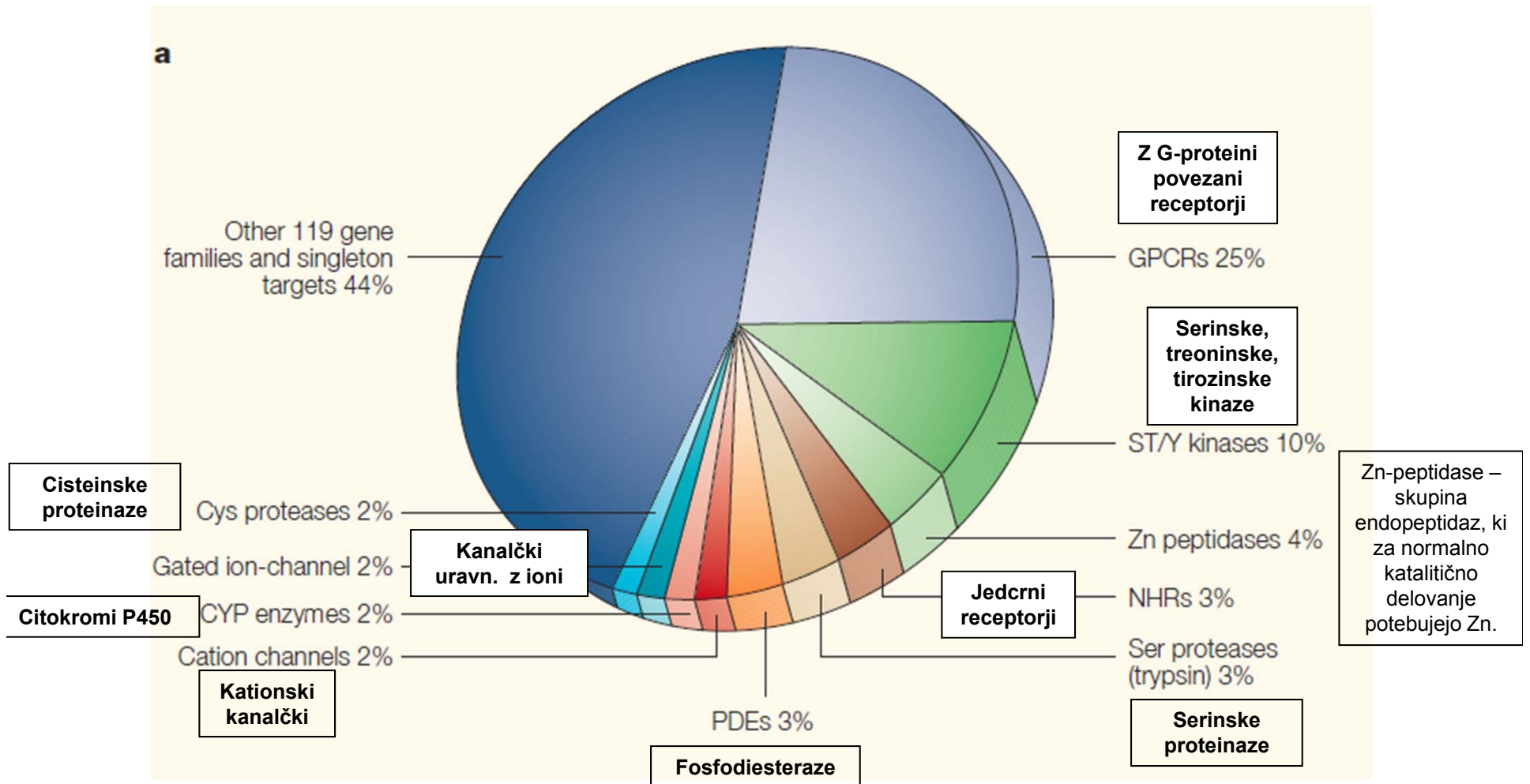


“Genom, ki ga lahko zdravimo”

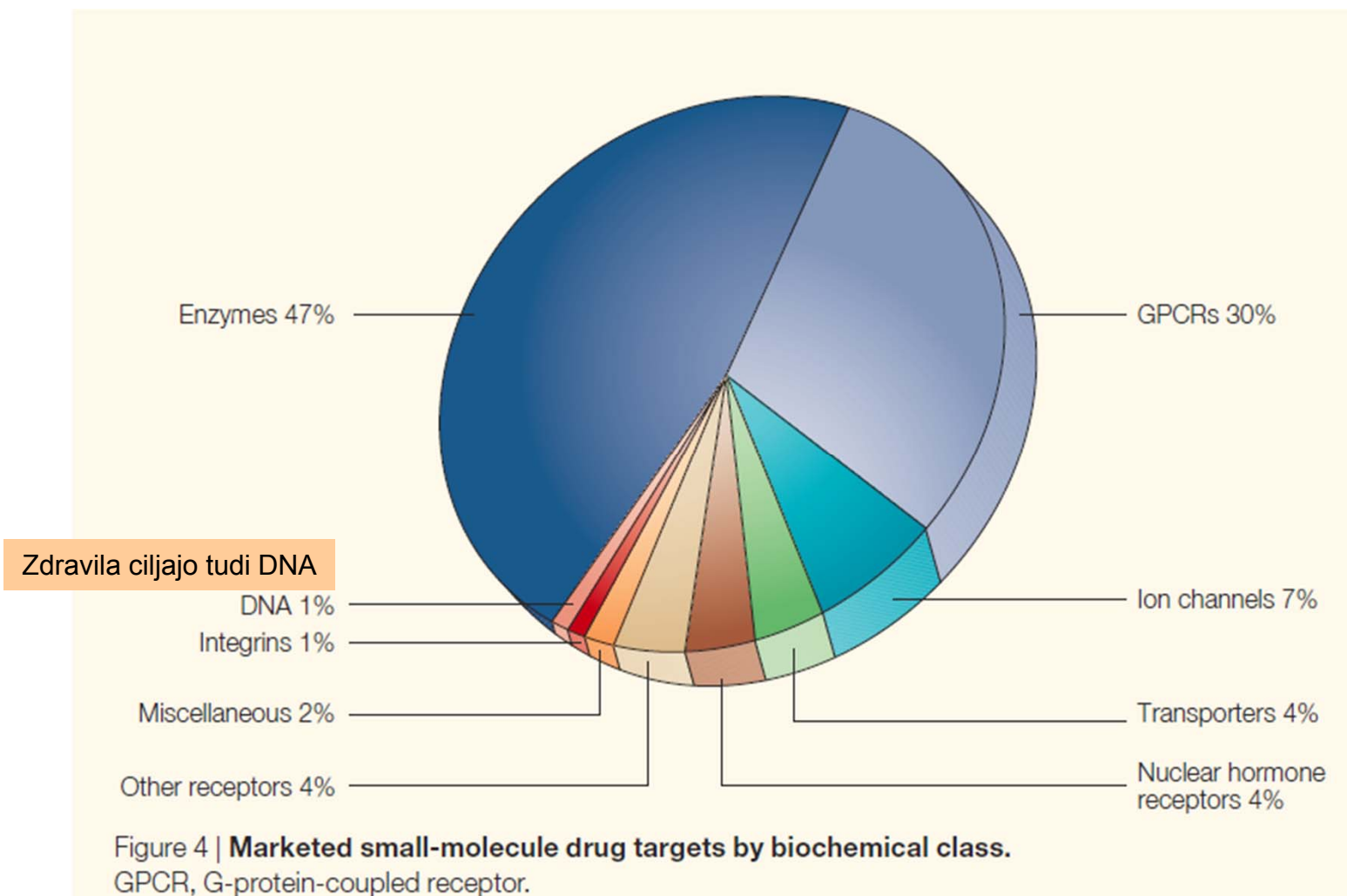
Zbirka človeških proteinov, ki vežejo spojine vodnice, imenujemo “genom, ki ga lahko zdravimo” (druggable genome).



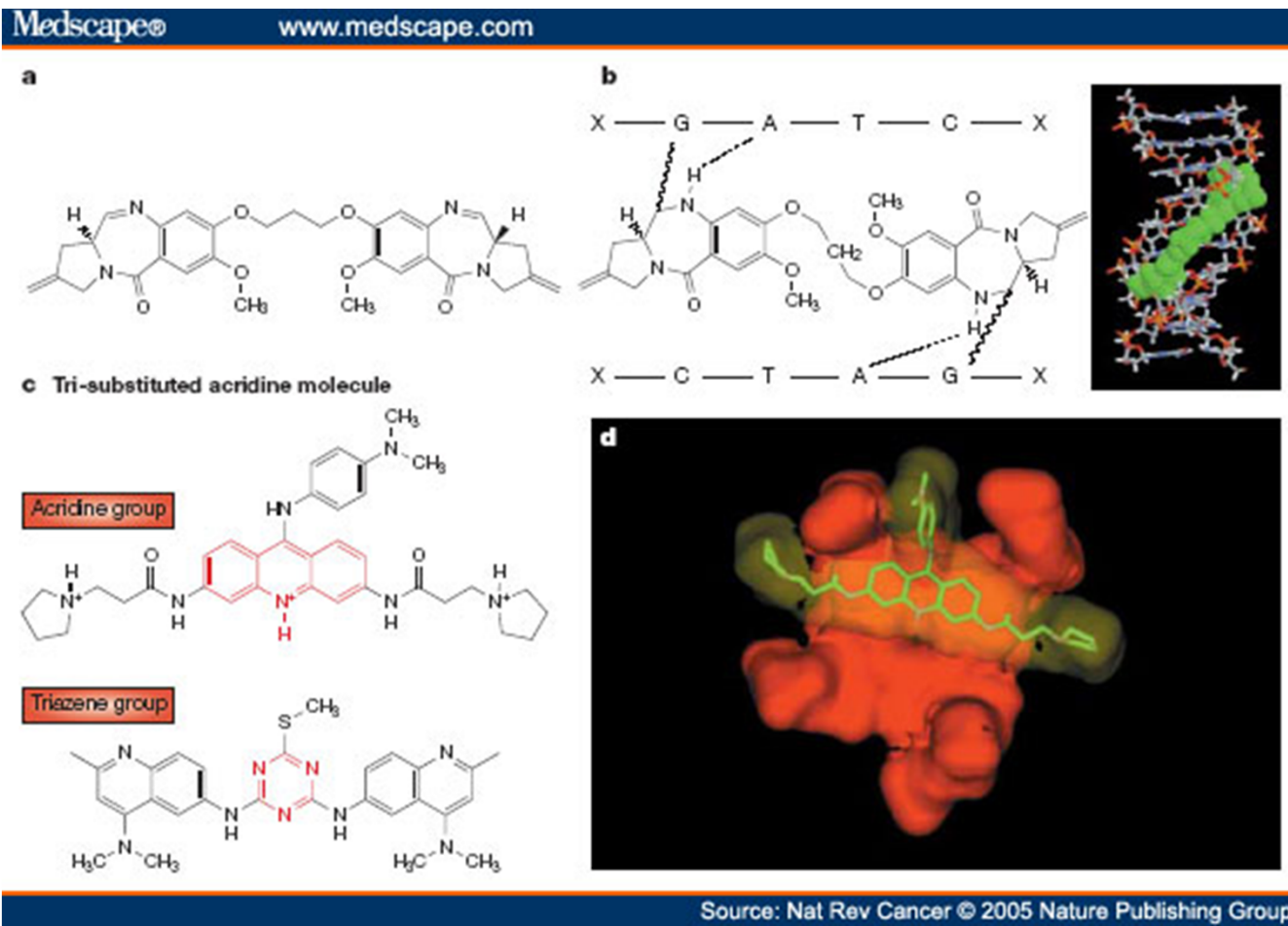
Molekularne tarče zdravil, ki so na tržišču



Funkcionalni razredi proteinov, ki jih ciljajo zdravila



Zdravila, katerih tarča je DNA

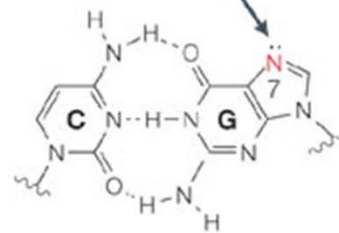


Zaradi vezave na DNA zavirajo transkripcijo in replikacijo v hitro rastočih tumorjih

Cisplatin – prva generacija kemoterapevtikov

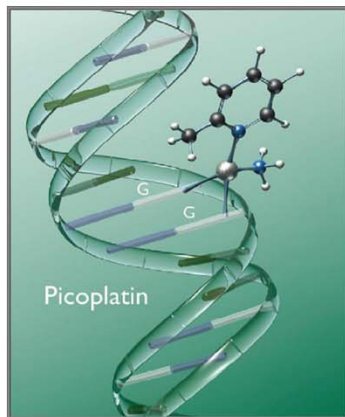


Guanine N⁷ position



↓

- Replication inhibition
- Transcription inhibition
- Cell-cycle arrest
- DNA repair
- Cell death



Predvideno število genov človeškega genoma in odstotek tarč, ki jih lahko ciljajo zdravila

Približno 10% genov ali njihovih produktov lahko predstavlja tarče za zdravila

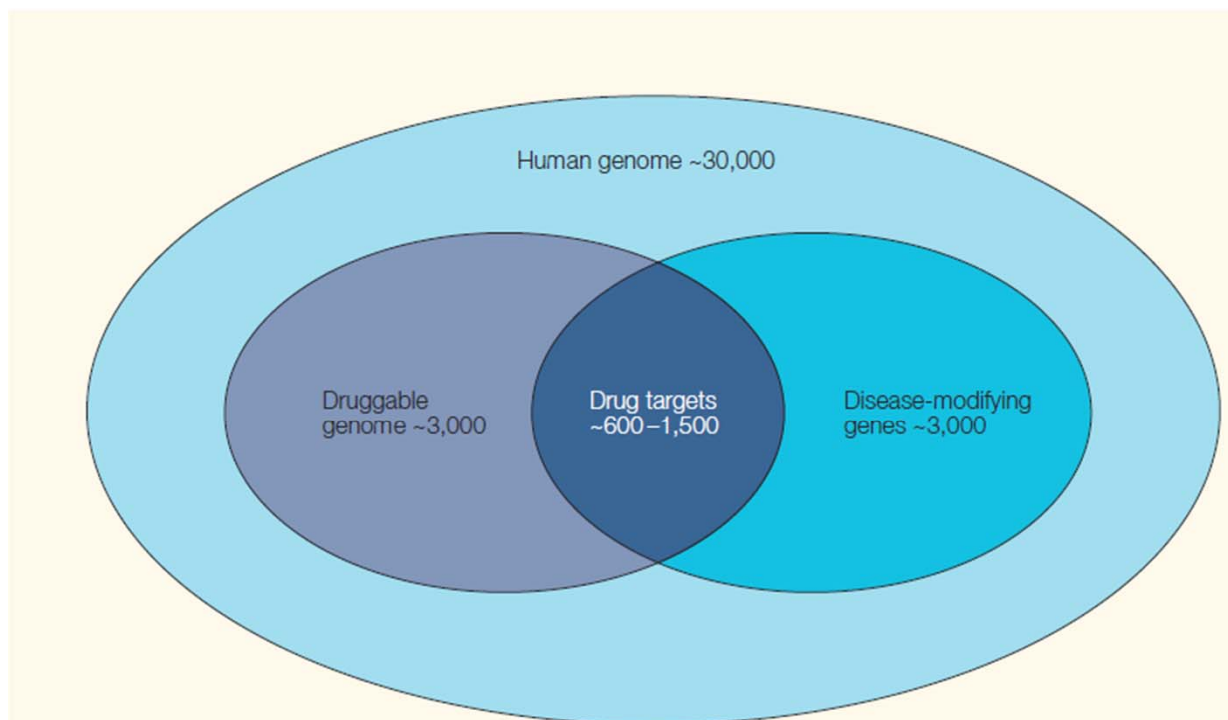
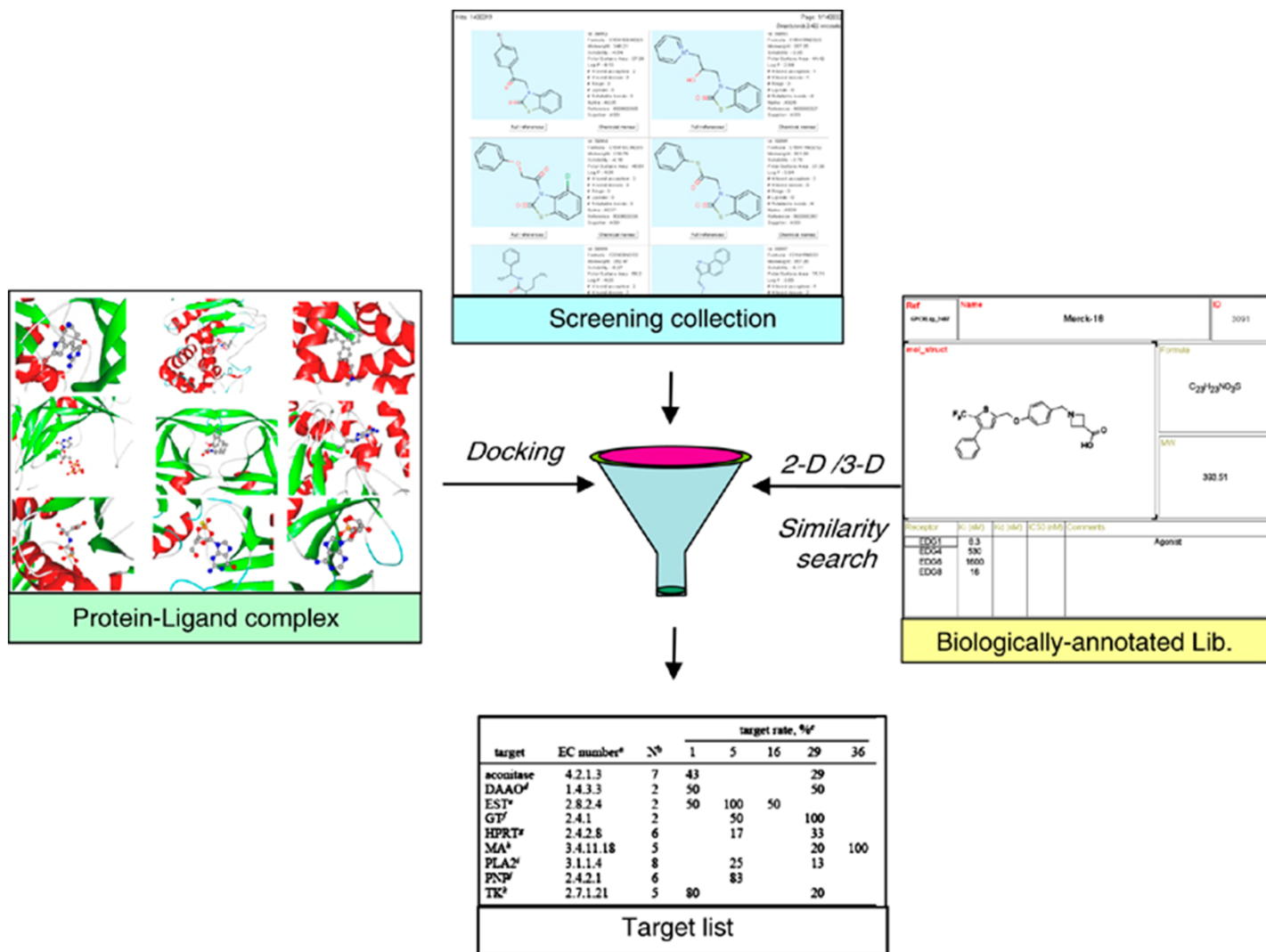


Figure 2 | **Number of drug targets.** The effective number of exploitable drug targets can be determined by the intersection of the number of genes linked to disease and the 'druggable' subset of the human genome.

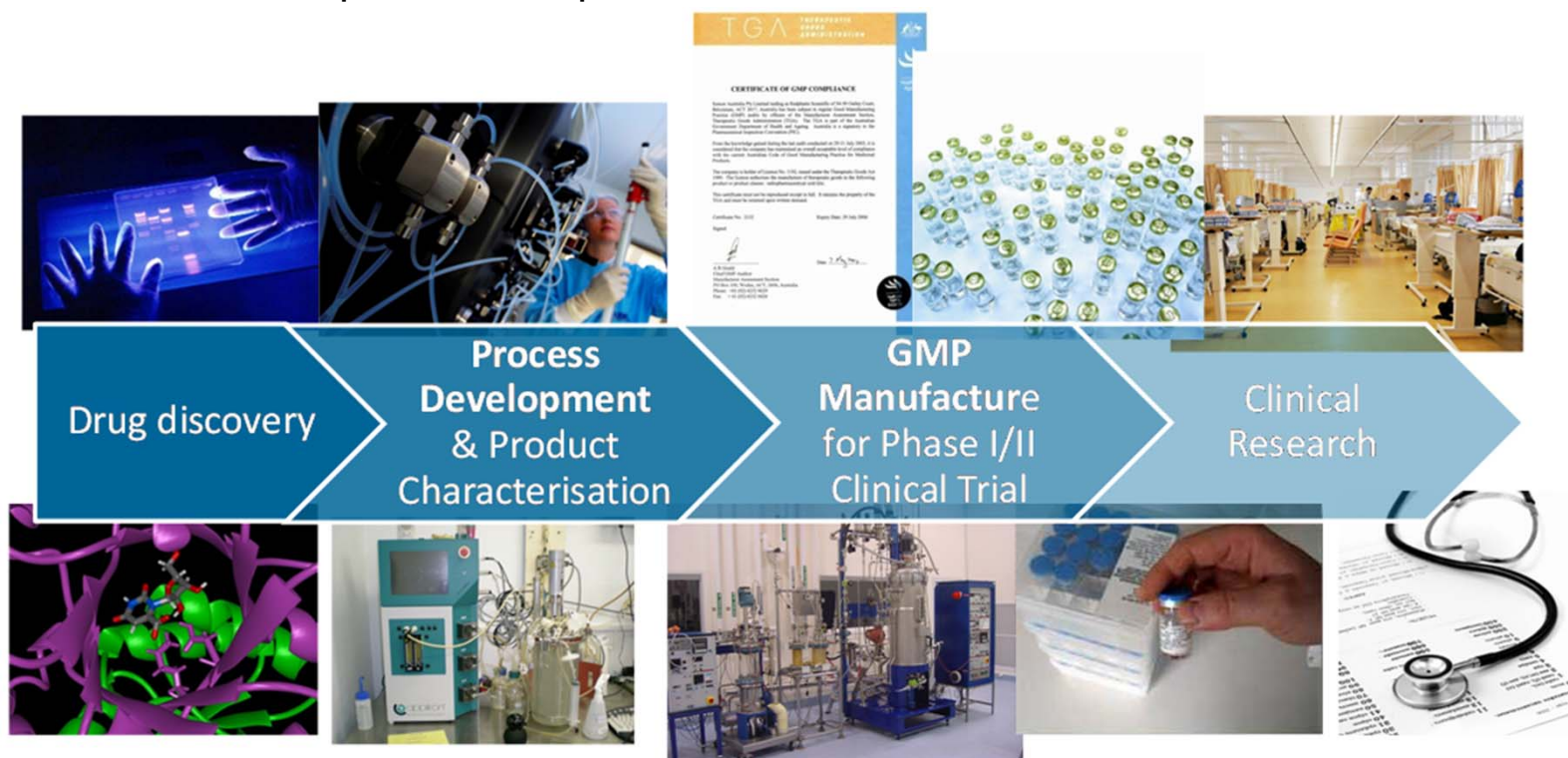
In silico ribarjenje pri iskanju ligandov in proteinskih tarč



Uporaba algoritmov strojnega učenja, Bayesove statistike, itd. za iskanje prstnih odtisov molekul v biološko dobro anotiranih podatkovnih zbirkah.

Obstoječi izzivi hitrejšega razvoja zdravil

- Ključ za izboljšanje odkrivanja zdravil je v organizaciji verige funkcijskih raziskav
- Informacije se morajo pretakati iz osnovnih raziskav analize genoma, proteinov, metabolitov, kemijskih spojin, itd., do stopnje kliničnih raziskav in sprostitve zdravila na trg.
- Združevanje tako različnih področjih naravoslovnih in matematično-informatičnih znanosti predstavlja še vedno velik izziv.
- Potrebni so mostovi, ki pomagajo raziskovalcem enega področja pri komunikaciji z drugimi raziskovalci interdisciplinarnih skupin.

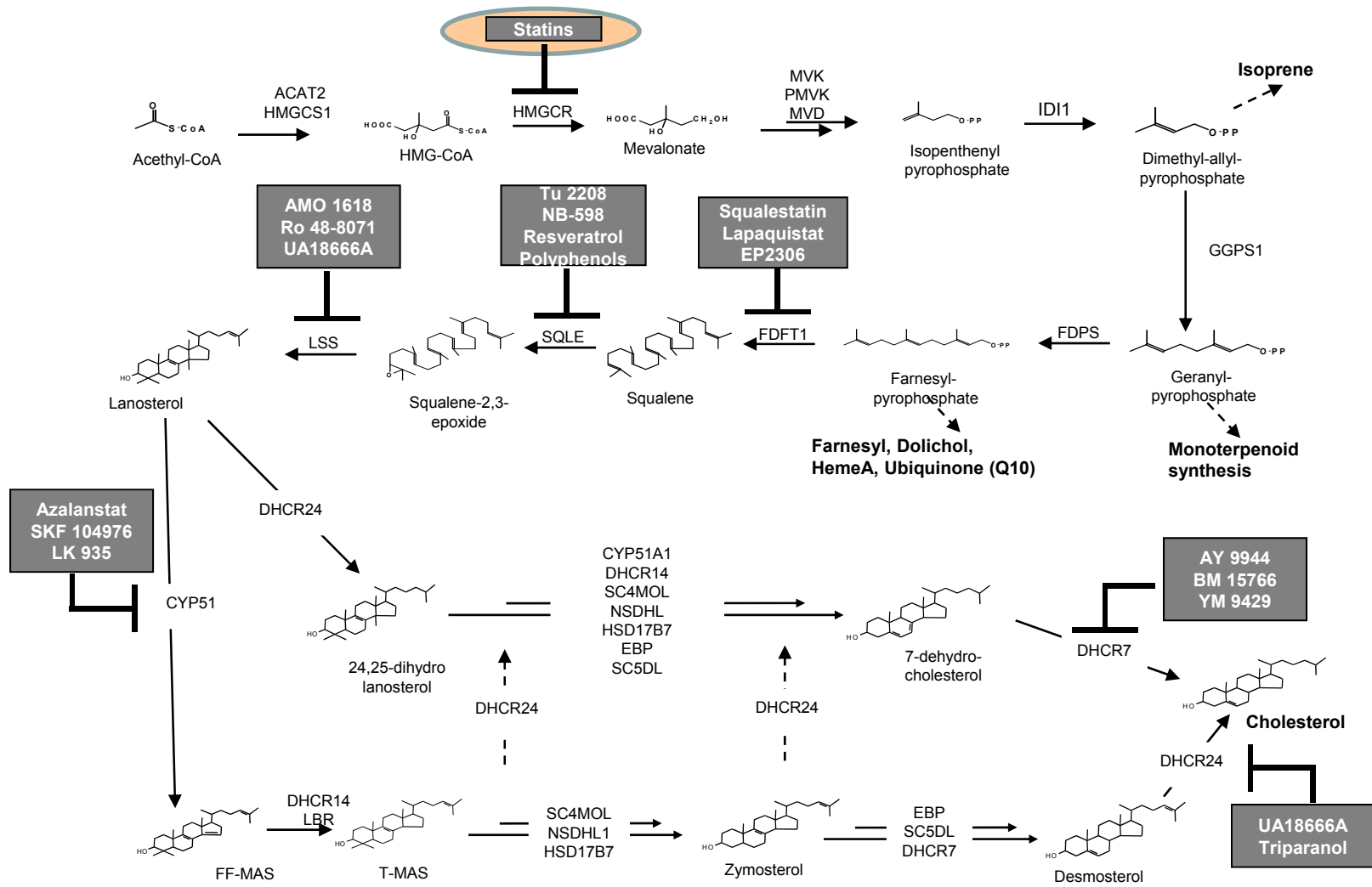


Optimizem pri razvoju novih zdravil

- Znano je zaporedje človeškega genoma
- Genomske in proteomske tehnologije se hitro razvijajo
- Pristopi sistemske biologije so vse bolj napredni
- Razvijajo se napredne tehnike medicinske vizualizacije
- Napredek je v nanotehnologiji in tkivnem inženirstvu
- Napredek v kombinatorni kemiji in rešetanju spojin na mikro skali
-



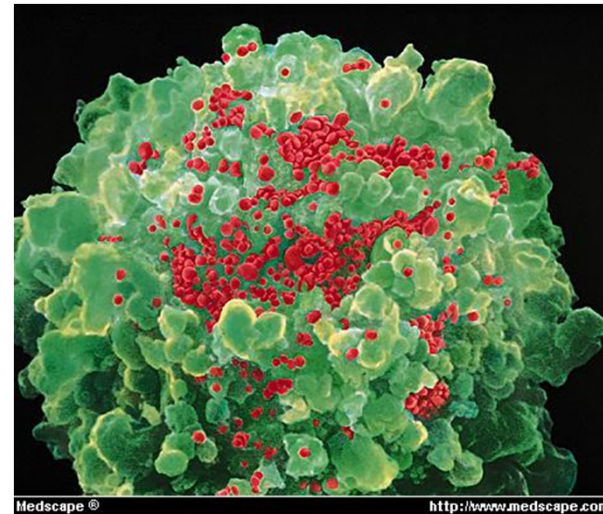
Zdravljenje hiperlipidemij – encim HMGCR kot tarča statinov (kompetitivna inhibicija)



Razredi zdravil za paciente, okužene s HIV

Klasifikacija glede na encime faz retrovirusnega življenjskega cikla, ki jih zdravila zavirajo:

- **Inhibitorji nukleotidnih reverzних transkriptaz** – med reverzno transkripcijo se vgradijo v nukleotidno verigo in povzročijo konec prepisovanja (terminacija).
- **Inhibitorji virusnih proteinaz** – inhibirajo encime, ki so vključeni v nastanek proteinskega plašča virusa in nastanek novih virionov.
- **Inhibitorji integracije** – preprečujejo vključitev virusne DNA v genom okuženih celic (šele od 2007 dalje)
- Inhibitorji vstopa virusa
- Inhibitorji dozorevanja virusa.
-



Kombinacije fiksnih doz – več protivirusnih zdravil, združenih v eni tableti

Komerično ime	Ime zdravila	Datum odobritve FDA
Combivir	zidovudine + lamivudine	September 26, 1997
Trizivir	abacavir + zidovudine + lamivudine	November 15, 2000
Kaletra	lopinavir + ritonavir	September 15, 2000
Epzicom (in USA) Kivexa (in Europe)	abacavir + lamivudine	August 2, 2004
Truvada	emtricitabine + tenofovir	August 2, 2004
Atripla	efavirenz + emtricitabine + tenofovir	July 12, 2006



Problem terapije: individualnost posameznikovega genoma;
interakcije med zdravili



European Perspectives in Personalised Medicine

Brussels, Belgium 12-13 May 2011

- Le 30 – 60% terapij je uspešnih

ZAKAJ??

Ni le ene Alzheimerjeve bolezni, enega raka na prsni, enega revmatoidnega artritisa, enega AIDS, itd.....

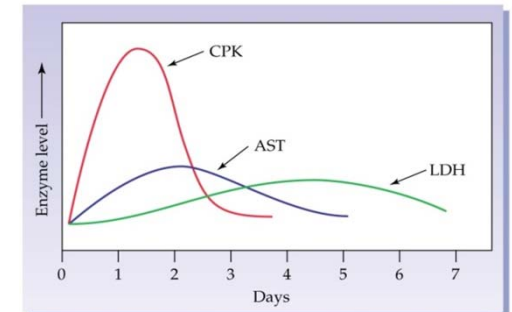
To spoznanje le počasi prihaja v zavest in bo v prihodnjem desetletju pomembno vplivalo na razvoj medicine.

Encimi v medicinski praksi

Encimi kot tarča zdravil

Encimi kot diagnostični indikatorji (markerji)

- zmanjšana aktivnost holinesteraz pri zastrupitvi z organofosfati (pesticidi, bojni strupi...)
- ala-transaminaza (ALT) in asp-transaminaza (AST)– razpad jeter (ciroza, rak...)
- alkalna fosfataza v krvi – kostne in jetrne bolezni
- kislja fosfataza v krvi – rak prostate
- specifični srčni encimi (LDH, CPK, AST) – infarkt
- lipaza in amilaza – pankreatitis
- Etc., etc.....

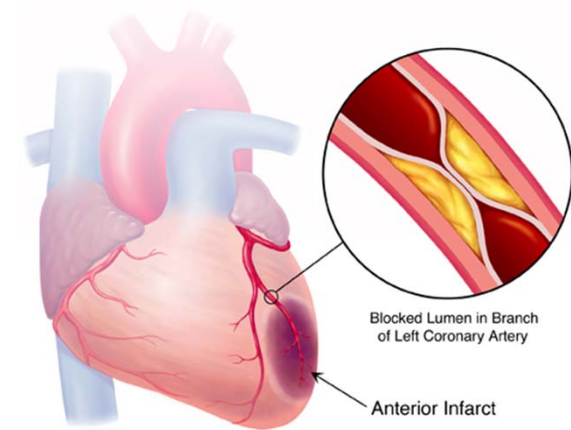
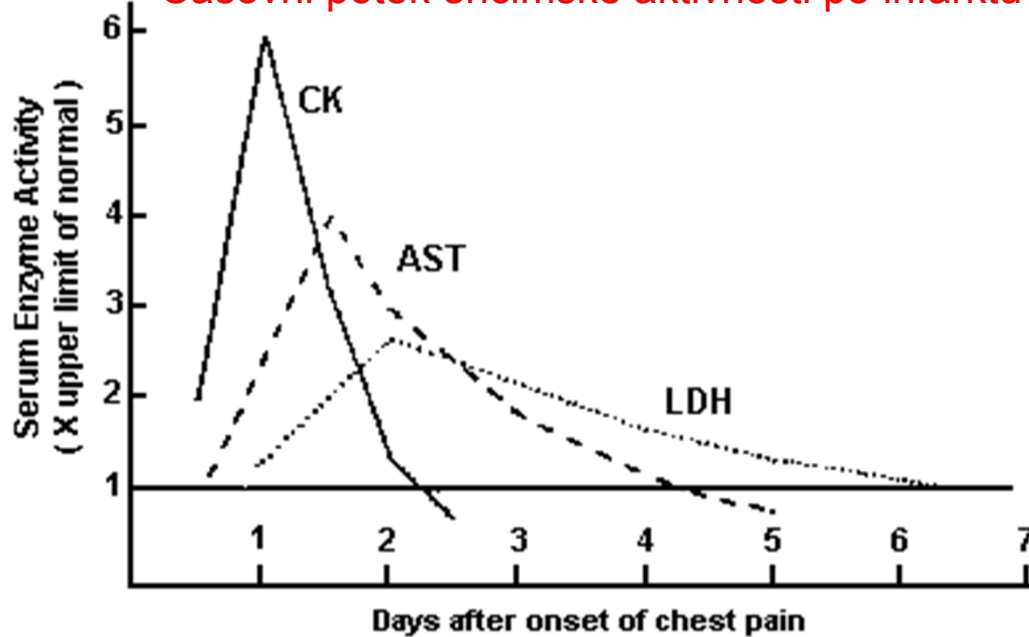


Encimi kot zdravila

- streptokinaza, aktivator plazminogena razgradnja strdkov v krvi
- asparagina
- za razgrajuje Asp, ki ga nujno rabi 'levkemično tkivo' za rast
- Dodajanje encimov zaradi pomanjkanja (genske napake, itd.)
- Biološka zdravila (protitelesa).

Določanje kreatinske kinaze (CK), ala- in asp-transaminaz (ALT, AST) in laktatne dehidrogenaze (LH) v serumu po infarktu

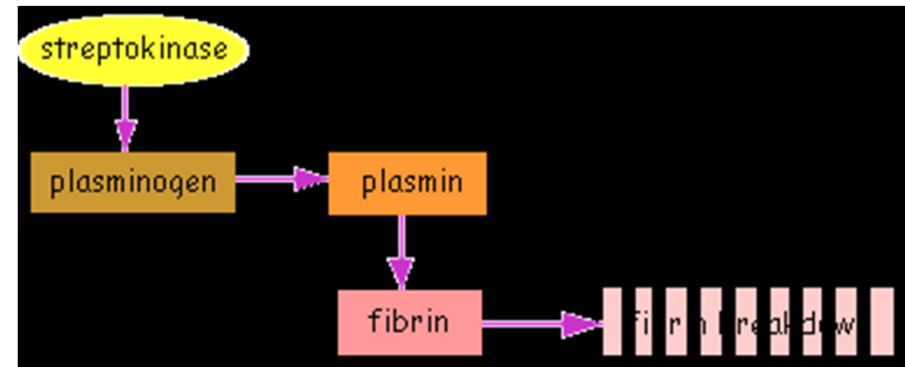
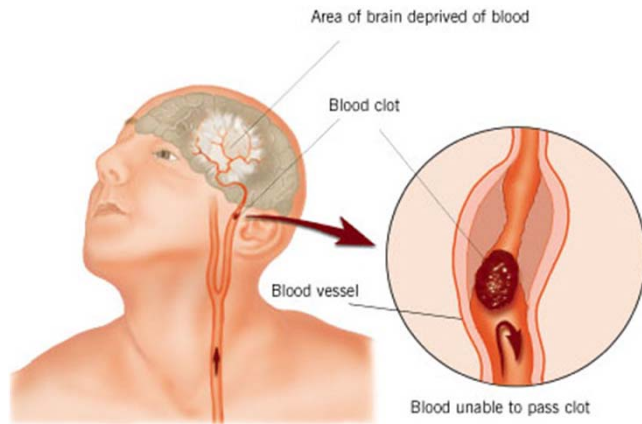
Časovni potek encimske aktivnosti po infarktu



Razpolovne dobe izoencimov

mitochondrijska AST	1 h
LDH-5 (M4)	12 h
CK	18 h
citoplazemska AST	1 dni
ALT	2 dni
LDH-1 (H4)	5 dni

Encimi kot zdravila: trombolitična (fibrinolitična) sredstva



razgradni produkti

- Tkivni plazminogeni aktivator tPA (serinska proteinaza)
- Streptokinaza (SK), and
- Urokinaza (UK).

- **Streptokinaza** je hemolitični encim bakterije iz rodu *Streptococcus*
- Je aktivator plazminogena in sodeluje v razgradnji strdkov v krvi
- -----
- Medicinska uporaba - razgradnja krvnih strdkov, npr. pri akutnem miokardnem infarktu

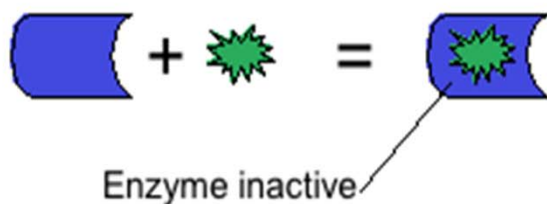
- Stranski učinki – notranje krvavitve zaradi proteolize.

Terapija kroničnih vnetij – inhibicija proteolitičnih encimov z anti-proteinazami

Alpha1antitrypsin: **INACTIVATES**

Trypsin, Chymotrypsin, Elastase,
Collagenase, Pancreatin (mixture)

Does not bind external enzymes!!!

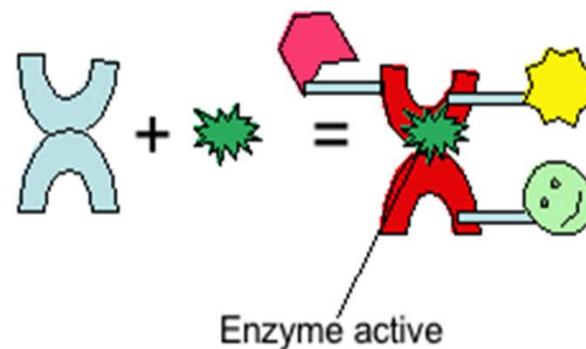


Alpha2macroglobulin: **TRANSPORTS**

Bromelain, Papain, Nattokinase,
Serrapeptase, Ficin

Trypsin, Chymotrypsin and other enzymes
from plants and animals which arrive the
blood by our nutrition



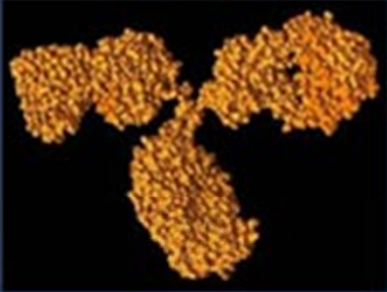



**After binding with enzymes, a2M gets
activated: can bind cytokines!!!**



Druge pomembne skupine proteinov, ki se uporabljajo v zdravljenju

TABLE 9–4	Some Recombinant DNA Products in Medicine
Product category	Examples/uses
Anticoagulants	Tissue plasminogen activator (TPA); activates plasmin, an enzyme involved in dissolving clots; effective in treating heart attack patients.
Blood factors	Factor VIII; promotes clotting; it is deficient in hemophiliacs; treatment with factor VIII produced by recombinant DNA technology eliminates infection risks associated with blood transfusions.
Colony-stimulating factors	Immune system growth factors that stimulate leukocyte production; treatment of immune deficiencies and infections.
Erythropoietin	Stimulates erythrocyte production; treatment of anemia in patients with kidney disease.
Growth factors	Stimulate differentiation and growth of various cell types; promote wound healing.
Human growth hormone	Treatment of dwarfism.
Human insulin	Treatment of diabetes.
Interferons	Interfere with viral reproduction; used to treat some cancers.
Interleukins	Activate and stimulate different classes of leukocytes; possible uses in treatment of wounds, HIV infection, cancer, and immune deficiencies.
Monoclonal antibodies	Extraordinary binding specificity is used in: diagnostic tests; targeted transport of drugs, toxins, or radioactive compounds to tumors as a cancer therapy; many other applications.
Superoxide dismutase	Prevents tissue damage from reactive oxygen species when tissues briefly deprived of O ₂ during surgery suddenly have blood flow restored.
Vaccines	Proteins derived from viral coats are as effective in “priming” an immune system as is the killed virus more traditionally used for vaccines, and are safer; first developed was the vaccine for hepatitis B.

Biološka zdravila

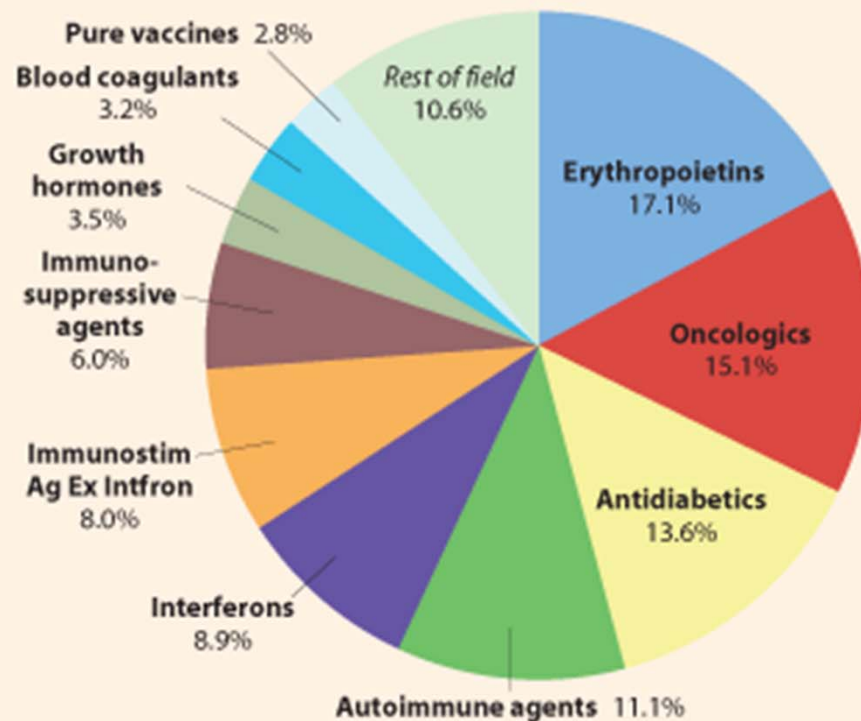
Size & Complexity – Small Molecule Drugs & Proteins			
	Small Molecule Drug	Large Molecule Drug	Large Biologic
Size	<p>Aspirin 21 atoms</p> 	<p>hGH ~ 3000 atoms</p> 	<p>IgG Antibody ~ 25,000 atoms</p> 
Complexity	<p>Bike ~ 20 lbs</p> 	<p>Car ~ 3000 lbs</p> 	<p>Business Jet ~ 30,000 lbs (without fuel)</p> 

Razredi bioloških zdravil

IMS examines top biologic therapy classes

A look at the top 10 therapy classes of biologic drugs demonstrates a large and growing market.

Top 10 therapy classes



Percent of growth in constant US \$

Global biotech market	12.5
Erythropoietins	-9.0
Oncologics	24.2
Antidiabetics	14.6
Autoimmune agents	24.5
Interferons	2.3
Immunostim Ag Ex Intfron	5.0
Immunosuppressive agents	19.6
Growth hormones	12.0
Blood coagulants	9.6
Pure vaccines	172.4

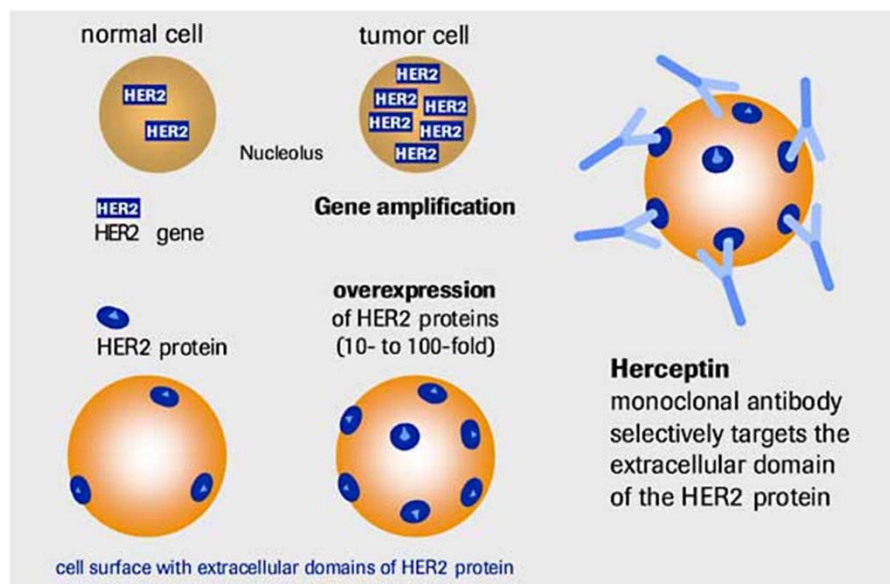
Source: IMS Health

Zdravljenje raka z biološkimi zdravili– zgodba o Herceptinu

- Gen *HER2* kodira receptor človeškega epidermalnega rastnega faktorja EGFR
- HER2 je človeški onkogen, ki je prekomerno izražen pri cca 25% rakov na prsih.
- Herceptin je eno od prvih bioloških zdravil (Ulrich Axel, Max Planck inštitut).

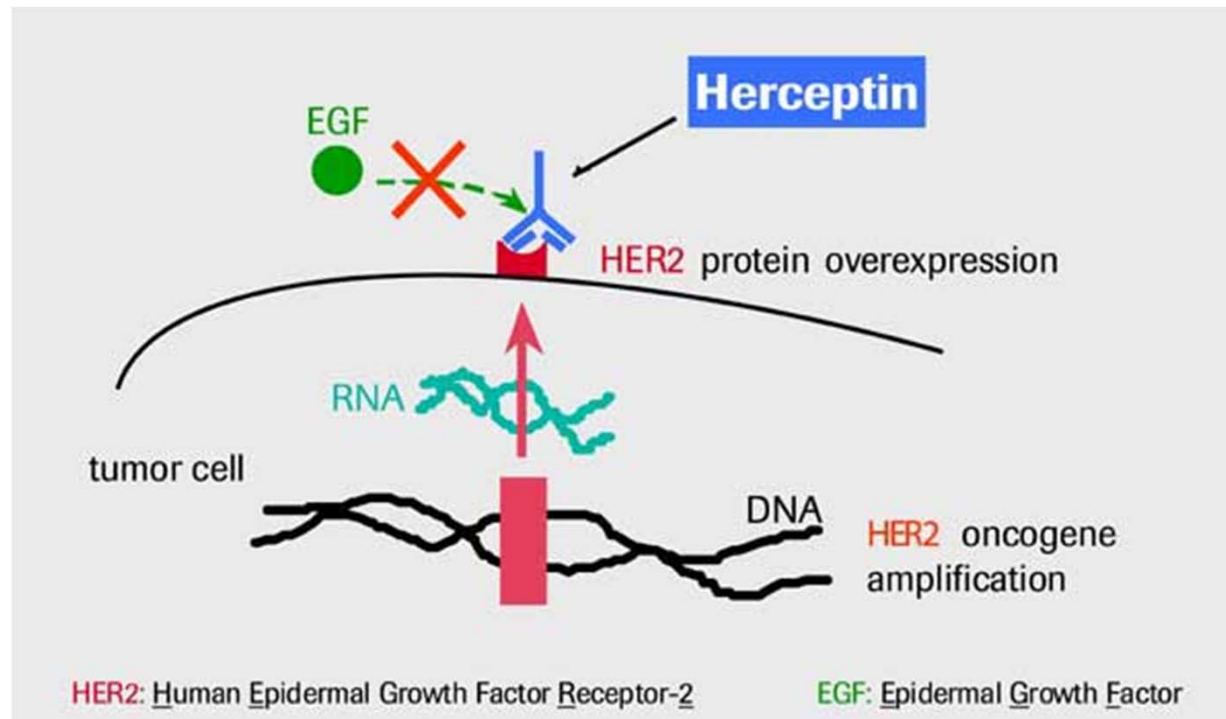
Trastuzumab (komercialno ime **Herceptin**) je monoklonsko protitelo, ki reagira z HER2 receptorjem. Zelo drago zdravilo.

Pomen laboratorijskega testiranja: le ženske, ki imajo povečano izražanje tega onkogenega je smiselno zdraviti s Herceptinom (določevanje s qPCR)



Herceptin: Cena zdravljenja: nekaj 10 000 eur/pacientko.....

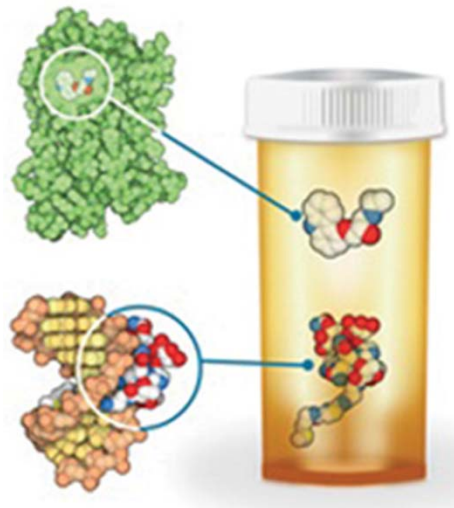
Mehanizem delovanja Herceptina



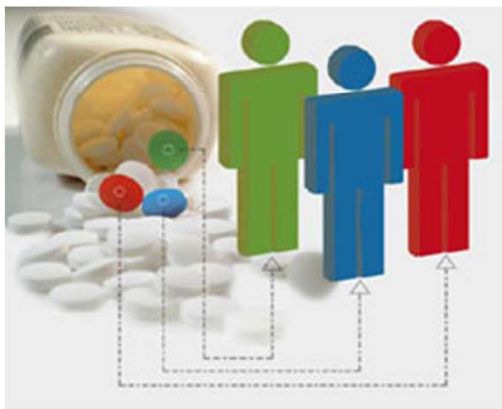
Pomen proteinov v medicinski praksi - povzetek

- Encimi so pomembne tarče številnih zdravil. Najpomembnejši razredi so GPCR, kinaze, jedrni receptorji....Pristopi funkcijske genomike pomembno prispevajo k razvoju novih učinkovin.
- Encimi so lahko diagnostični indikatorji (markerji) – za njihovo detekcijo v telesnih tekočinah so na voljo diagnostični kompleti.
- Encimi in drugi proteini so vse pomembnejši kot zdravila (biološka zdravila)

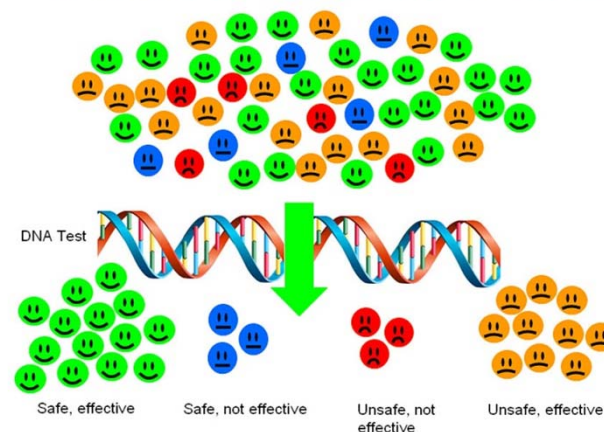
Poleg proteinov je lahko tarča terapij tudi DNA.



Problem terapij: individualnost posameznikovega genoma odloča, ali bo pacient odreagirjal na zdravila in kakšne bodo neželjene interakcije z drugimi zdravili



Your DNA Affects Your Response to Drugs



Prihodnost:

Osebna medicina, kjer bomo na podlagi podatkov o posameznikovem genomu (ali delu genoma) lahko natančneje opredelili diagnozo, boljše napovedali prognozo obolenja kot tudi uspeh zdravljenja.