

## **2. INTRODUCCIÓN**

### **2.1 La Tuberculosis**

La tuberculosis (TB) es una enfermedad crónica infecciosa que en las últimas décadas se ha convertido en un problema de salud mundial debido al aumento de nuevos casos cada año. Se calcula que en la actualidad, aproximadamente un tercio de la población en el mundo está infectada con el bacilo de TB, pero sólo entre un 5 y 10 por ciento desarrollan la enfermedad en algún momento de su vida. La Organización Mundial de la Salud (OMS) estimó que en el año 2002 surgieron 8.8 millones de casos, de los cuales 3.8 millones desarrollaron la enfermedad y 1.8 millones murieron a causa de ella (WHO 2002). El mayor número de muertes se registró en la zona del sureste de Asia; sin embargo, la tasa más grande de defunciones per cápita se localiza en África, debido en gran parte al crecimiento del número de personas infectadas con VIH (WHO 2003).

El gran número de casos de TB se debe a que ésta es una enfermedad muy contagiosa. Similar al resfriado común, la TB se transmite por el aire. Cuando una persona infectada tose, estornuda, habla o escupe, dispersa por el aire los bacilos causantes de la TB, contagiando entre 10 y 15 personas por año según cálculos de la OMS.

### **2.2 *Mycobacterium tuberculosis***

La tuberculosis es causada principalmente por el agente infeccioso *Mycobacterium tuberculosis*, un microorganismo que posee la propiedad de la tinción ácido-alcohol resistente debido a la gran cantidad de lípidos presentes en su superficie. Es una

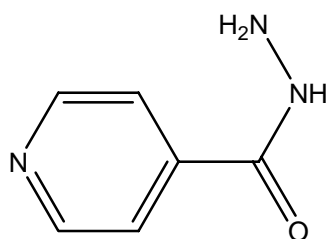
micobacteria aerobia de crecimiento lento debido al carácter hidrofóbico de su pared celular, la cuál está formada por cuatro capas principales: una interna de peptidoglicano (unidades alternadas de N-acetilglucosamina y ácido N-glicolilmurámico) que le brinda forma y rigidez a la bacteria; una segunda capa constituida de polímeros de arabinosa y galactosa, la cuál es recubierta a su vez por una tercera formada por ácidos micólicos; y por último, una capa externa superficial hecha con base en lípidos, también llamados “factor cuerda”, que permiten la formación de agregados longitudinales de cadenas de bacterias, hecho que ha sido correlacionado con la virulencia de las mismas (Brock 1999, Meneses 2002, Tello 2003).

### **2.3 La Isoniazida**

En la actualidad, la forma más eficaz de combatir la tuberculosis es utilizando una estrategia de proyección internacional conocida por sus siglas en inglés como DOTS (Direct Observed Therapy). Esta técnica consiste en un plan integral de control de la TB, comenzando con la detección a tiempo de la enfermedad por medio de un análisis microscópico del esputo en el paciente, seguido de un tratamiento estandarizado de seis a ocho meses con observación directa de la terapia durante los primeros sesenta días. Esto aunado al compromiso directo de los gobiernos de proveer los recursos para financiar dicha terapia y para un constante suplemento de los medicamentos anti-TB básicos (WHO 2003).

El tratamiento estándar se basa en la quimioterapia de combinación, la cuál utiliza fármacos antituberculosos de primera y segunda línea que, aplicados simultáneamente y en dosis estratégicas, reducen la posibilidad de desarrollar resistencias al bacilo. Los medicamentos primarios poseen un alto índice de

eficacia/riesgo, por lo que deben ser empleados en primera instancia: isoniazida, rifampicina, etambutol, estreptomina y pirazinamida. Los secundarios presentan un índice menor, pero pueden ser muy eficaces si se utilizan como complemento de los primarios: capreomicina, kanamicina, etionamida, ácido paraaminosalicílico y ciclosedrina (Florez et al 1992).



**Figura 1:** Isoniazida (INH)

La isoniazida es la hidrazida del ácido isonicotínico. Es una molécula hidrofílica ( $\text{LogP}_{\text{exp}} = -0.7$ ) (Hansch, 1995) que penetra al *Mycobacterium TB* de forma pasiva a través de los poros de agua contenidos en su pared celular.

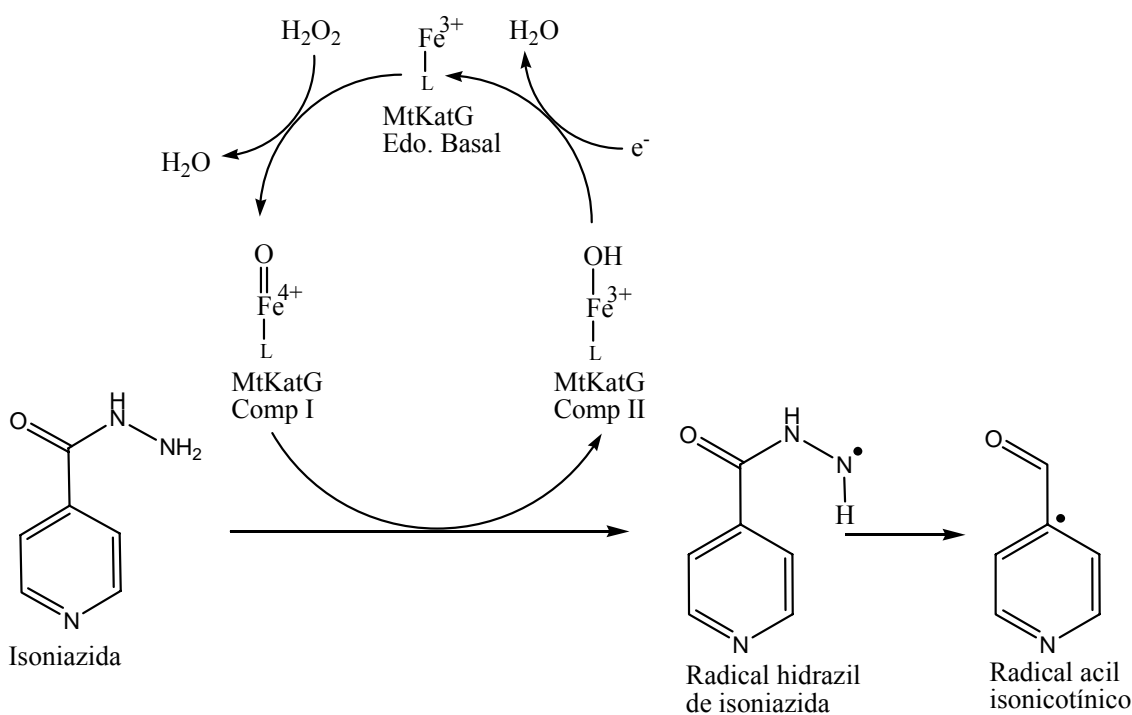
## 2.4 La Enzima KatG

La KatG es una enzima hemo-dependiente y multifuncional que pertenece al grupo de las catalasas-peroxidasas (Bertrand *et al* 2004). Es una proteína de 80 KDa que posee una protoporfirina IX en su sitio activo (Wengenack y Rusnak 2001). Su estructura cristalina reportada por Bertrand *et al* 2004, muestra que es un homodímero funcional, donde cada monómero está formado por 740 aminoácidos y un grupo hemo, además de 703 moléculas de agua asociadas con el mismo. Existen también 3 moléculas de glicerol dentro de la estructura de cristalización, las cuales son un residuo

de la solución crio-buffer utilizada para obtener la difracción de rayos X (Bertrand *et al* 2004).

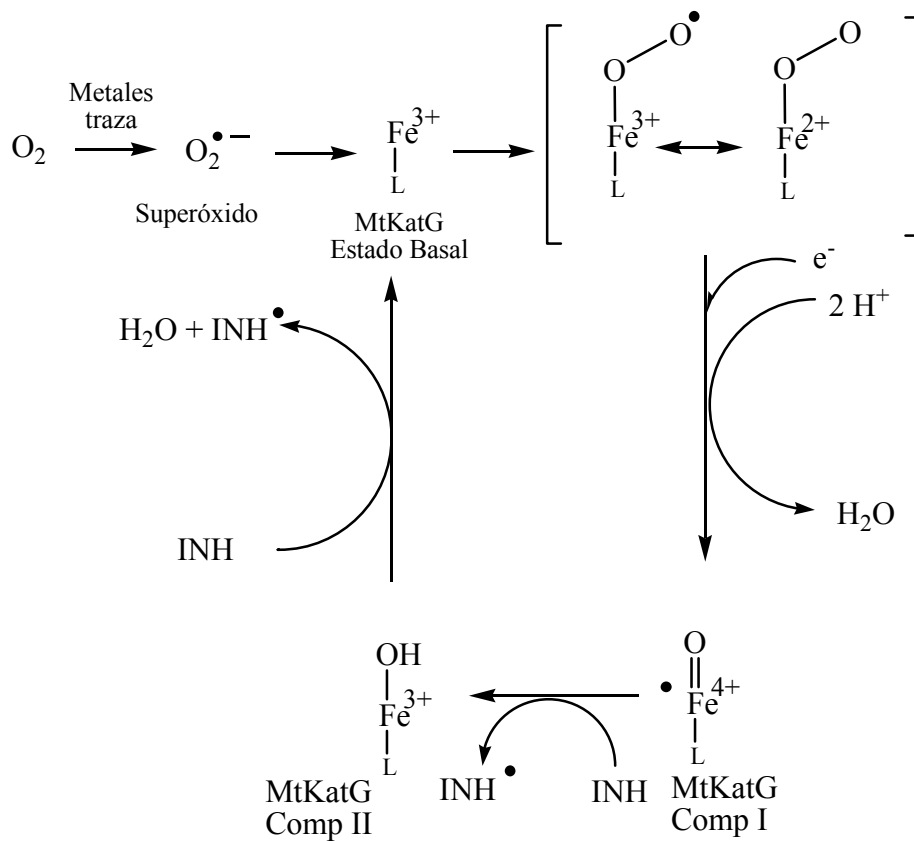
## 2.5 Activación de la Isoniazida por la KatG

Siguiendo el ciclo típico de las peroxidasas, la KatG en su estado basal férrico (+3) cataliza la heterólisis del enlace O-O del peróxido de hidrógeno, formándose agua y el Compuesto I, un catión radical oxiferril porfirina  $\pi$  (Figura 2). La reducción de este compuesto por un electrón produce el Compuesto II, el cual finalmente es reducido de nuevo al estado férrico aceptando un electrón adicional (Chouchane *et al* 2000, Wengenack, 2000).



**Figura 2:** Activación catalítica de la INH por MKatG para formar el radical acil isonicotínico (Scior *et al* 2002).

Existe evidencia de que KatG puede activar la isoniazida tanto por el mecanismo antes mencionado como por una vía que involucra al superóxido (Figura 3). Mediante estudios en la mutante S315T de KatG, se ha propuesto que la vía de las peroxidasas no es significativa para la actuación de la isoniazida *in vivo* y que la vía del superóxido correlaciona adecuadamente con la resistencia observada en dicho mutante (Wengenack *et al* 1999, 2000).



**Figura 3:** Activación de la INH por KatG a través de superóxidos (Scior *et al* 2002).

## 2.6 Modelo QSAR

La Química Computacional es un área de la ciencia que se utiliza como herramienta para representar estructuras moleculares en forma de modelos numéricos, simulando luego su comportamiento con ecuaciones pertenecientes a la Mecánica Cuántica o a la Física Clásica. Actualmente, existen programas de cómputo que nos permiten generar y presentar fácilmente datos moleculares (tales como geometrías, energías y otras propiedades), para después obtener de ellos información específica.

Un ejemplo de lo anterior es la búsqueda de una relación estructura-actividad (SAR, del inglés “Structure-Activity Relationship”), la cual se establece cuando un conjunto de propiedades de una serie de compuestos explica su actividad o respuesta biológica. De esta forma, un análisis cuantitativo de esta relación (QSAR) tiene como objetivo encontrar relaciones consistentes entre las variaciones en los valores de las propiedades moleculares (o descriptores) de un conjunto de compuestos y su actividad biológica, y generalmente toma la forma de una ecuación lineal:

$$\text{Actividad Biológica} = C_0 + (C_1 \bullet P_1) + (C_2 \bullet P_2) + (C_3 \bullet P_3) + \dots$$

donde los parámetros  $P_1, P_2, \dots, P_n$ , representan los diferentes descriptores calculados para cada molécula en la serie, y los coeficientes  $C_0, C_1, \dots, C_n$ , son obtenidos para tomar en cuenta las variaciones de dichos descriptores y de la actividad biológica.

Un modelo QSAR puede tener como objetivos:

- Diseñar fármacos con actividad óptima
- Estudiar o proponer un mecanismo de acción

- Predecir la actividad de compuestos estructuralmente afines
- Establecer qué propiedades físicas comunes a compuestos estructuralmente diferentes son responsables de un efecto biológico idéntico.

Establecer una relación QSAR consta de ocho etapas:

- Planteamiento de los objetivos
- Determinación de la actividad biológica
- Estudio bibliográfico de los posibles mecanismos de acción
- Selección de los posibles descriptores útiles
- Descripción de los compuestos
- Análisis estadístico
- Interpretación de la relación establecida
- Predicción de actividades