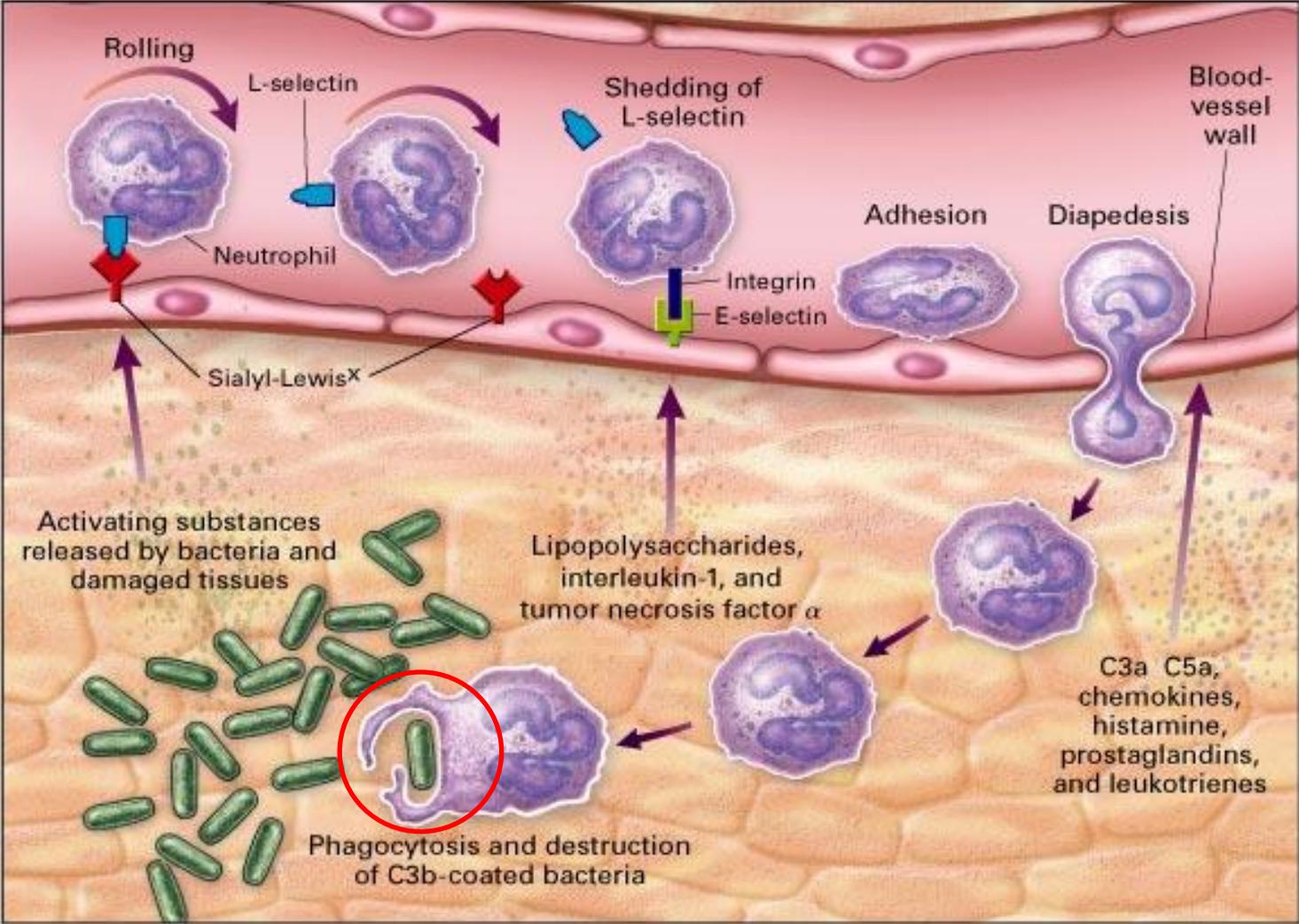


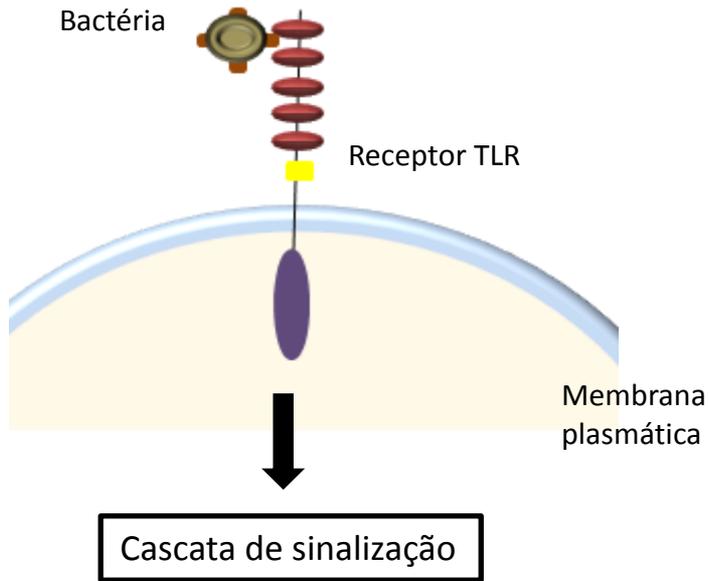
PARTE 2

NADPH oxidase e produção de espécies reativas do oxigênio

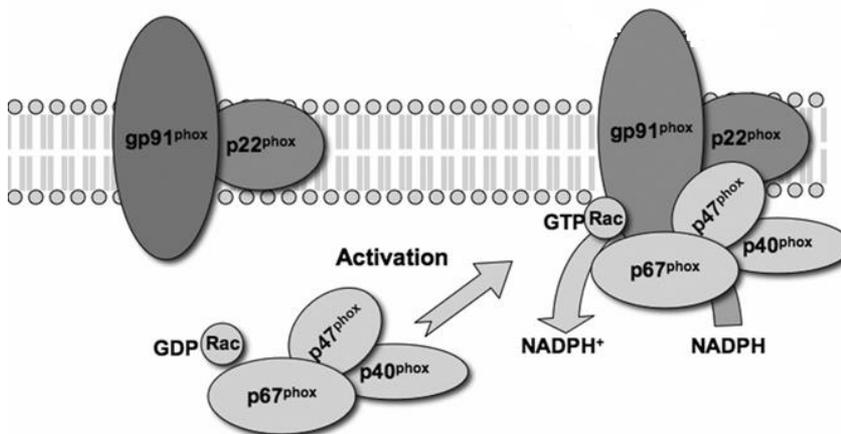
NADPH oxidase e produção de espécies reativas do oxigênio



NADPH oxidase e produção de espécies reativas do oxigênio



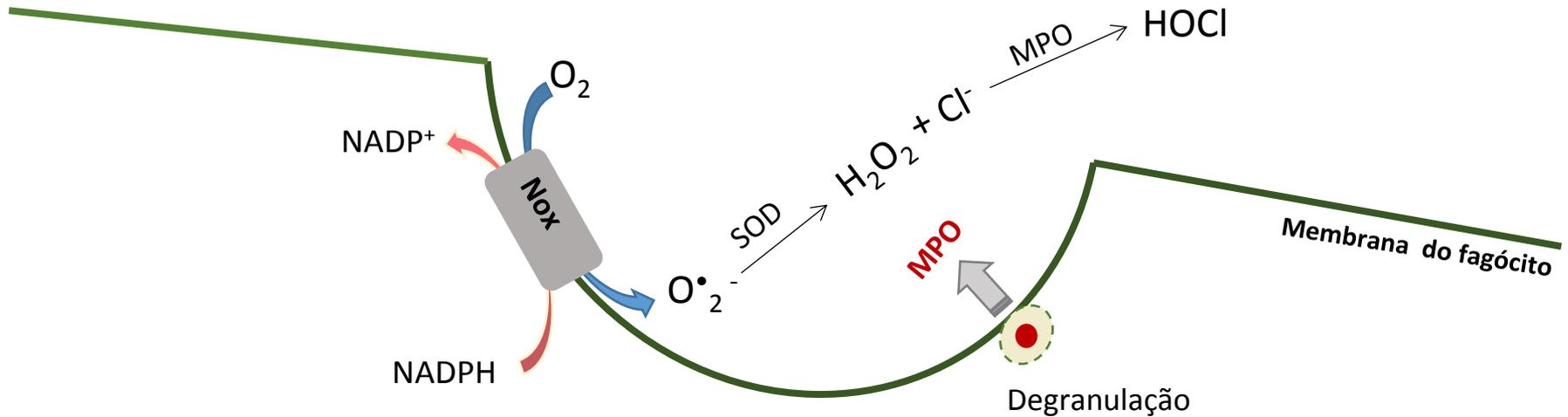
Durante a resposta imune inata, o reconhecimento do patógeno pelo fagócito do hospedeiro ativa uma cascata de sinalização que induz a montagem e ativa o complexo NADPH oxidase



Os componentes citoplasmáticos regulatórios p47^{phox}, p40^{phox}, p67^{phox} e uma GTPase migram para a membrana plasmática da célula ou do fagolisossoma, onde se associam ao heterodímero gp91^{phox} p22^{phox} (proteínas integrais de membrana contidas no flavocitocromo b₅₅₈, que compõem a subunidade catalítica), já ligados à membrana.

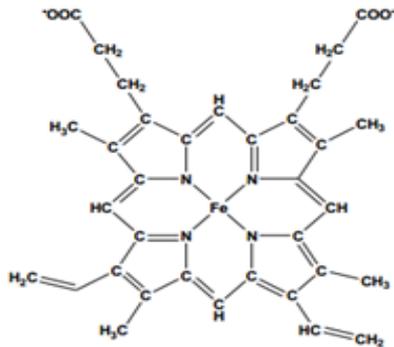
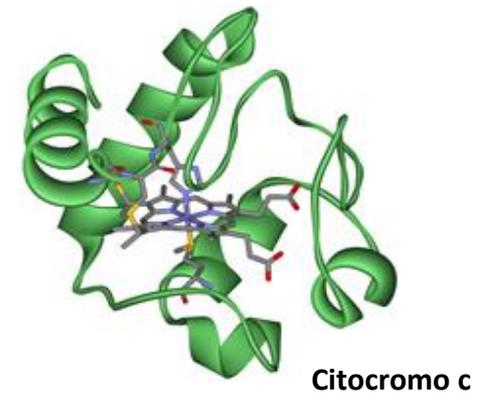
NADPH oxidase e produção de espécies reativas de oxigênio

NADPH oxidase é uma fonte importante de espécies reativas de oxigênio (EROs) ao converter oxigênio em radical superóxido (ou peróxido de hidrogênio quando usa 2 elétrons). O peróxido também pode ser produzido na presença de superóxido dismutase (SOD). Em neutrófilos, ainda há degranulação de grânulos ricos em mieloperoxidase (MPO), enzima que cataliza a reação do peróxido com cloreto, formando o ácido hipocloroso.

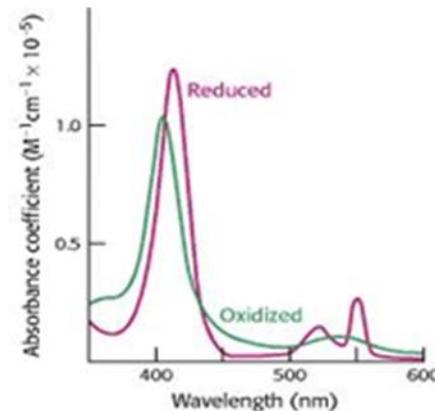


Quantificação de superóxido pela redução do citocromo c

- A aferição dos níveis de O_2^- na suspensão celular é uma forma fácil e acurada de quantificar o *burst* oxidativo e isso pode ser feito através da redução do citocromo c
- Na reação, o O_2^- presente na amostra é o doador de elétrons e o ferro central do grupo heme do citocromo c é reduzido a Fe^{2+} . O total de citocromo c reduzido pode ser determinado medindo a absorbância da amostra a 550 nm



Esquema do grupo heme com o átomo de ferro central



Espectro de absorvância do citocromo c

Quantificação de ácido hipocloroso pela cloração da taurina

- A MPO catalisa a reação entre o ânion cloreto (Cl^-) e o peróxido de hidrogênio (H_2O_2) levando à formação do ácido hipocloroso.
- Essa atividade da enzima, denominada de clorinante, pode ser avaliada pela medida da cloração do aminoácido taurina:
 - O HOCl reage rapidamente com a taurina para formar um oxidante estável denominado taurina cloroamina (Tau-Cl)



- A Tau-Cl é capaz de oxidar o ácido 5-tio-2-nitrobenzoico (TNB) ao ácido ditionitrobenzoico (DTNB). O TNB possui absorvância máxima em 412 nm, enquanto o DTNB é incolor nesse comprimento

