



Laboratório de Anaeróbios

SENSIBILIDADE AO OXIGÊNIO

Prof. Dr. Mario Julio Avila-Campos

<http://www.icb.usp.br/bmm/mariojac>

SUSCEPTIBILIDADE AO OXIGÊNIO

“ O OXIGÊNIO EXCESSIVO É TÃO PERIGOSO QUANTO A SUA DEFICIÊNCIA ” (Lavoisier, 1785)



Laboratório de Anaeróbios

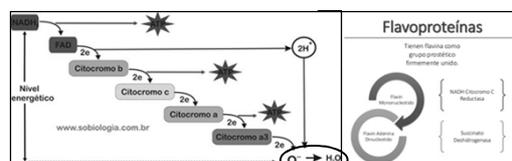
Tolerância ao Oxigênio

- A exposição ao O_2 produz várias reações químicas no interior celular mediadas pelas Flavoproteínas, resultando radicais carregados negativamente (O_2^-), H_2O_2 e outros produtos tóxicos derivados do O_2 .
- O_2 e H_2O_2 reagem em conjunto formando radicais hidroxilas livres ($H\cdot$) que são potentes oxidantes.
- O nível de SOD produzido está relacionado com a tolerância ao O_2 e a virulência.

Laboratório de Anaeróbios

Tolerância ao Oxigênio

- Flavoproteínas são proteínas ou flavoenzimas que contêm como cofator enzimático (Cu^{++} , Fe^{++} , Mg^{++}) um derivado nucleotídico da riboflavina ou vitamina B2: flavina adenina dinucleotídeo (FAD) ou flavina mononucleotídica (FMN)



Laboratório de Anaeróbios

RADICAIS LIVRES TÓXICOS

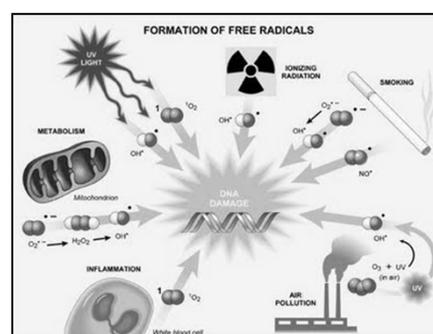
(Espécies oxigênio reativas - ROS)

➤ Sub-produtos do metabolismo bacteriano e oxidam proteínas, lipídeos e DNA:

- Anion superóxido: O_2^-
- Radical hidroxila: $OH\cdot$
- Peróxido de hidrogênio: H_2O_2
- Óxido nítrico: NO

Laboratório de Anaeróbios

Outras fontes de radicais livres



Laboratório de Anaeróbios

RADICAL LIVRE

- Artrite
- Inflamação
- Câncer
- Envelhecimento Precoce
- Problemas Cardiovasculares

Laboratório de Anaeróbios

MECANISMOS DE DEFESA CELULAR

*Reação de Fenton
** Reação de Haber-Weiss

Laboratório de Anaeróbios

MECANISMOS DE DEFESA CELULAR

- $O_2 \xrightarrow{SOD} O_2^- \xrightarrow{catalase} H_2O_2 \xrightarrow{H_2O} H_2O + O_2$
- Reação de Fenton (1894)**
 $O_2 \xrightarrow{Fe^{2+}} O_2^- + Fe^{3+} \xrightarrow{H_2O_2} OH^- + OH^+$
- Reação de Haber-Weiss**
 $2O_2^- + 2H^+ \xrightarrow{Fe^{2+}} O_2 + H_2O_2$
- $O_2 \xrightarrow{SOD} H_2O_2 \xrightarrow{2GSH} H_2O + GS-SH$
 (Enzyme: Glutathione peroxidase)

Laboratório de Anaeróbios

- **Superóxido dismutase (SOD):**
 $2 O_2^- + 2 H^+ \longrightarrow H_2O_2 + O_2$
- **Catalase:**
 $2 H_2O_2 \longrightarrow 2 H_2O + O_2$
- **Superóxido reductase (SOR): não há formação de O_2**
 $O_2^- + 2H^+ + \text{Cit. c (reduzido)} \longrightarrow H_2O_2 + \text{Cit. c (oxidado)}$
"SOR somente em anaeróbios"

Obs. Enzimas Oxireductases são observadas em células eucaróticas e bactérias aeróbias; ex. Ubiquinona oxidoreductase: 1a. Enzima de membrana na transferência de e⁻ em muitos aeróbios: oxida NADH e reduz a ubiquinona.

Laboratório de Anaeróbios

Potencial de Óxido-Redução

- O Eh ou E_h é expresso em Voltios (V) ou milivoltios (mV)
- O E_h sofre influência do pH ou íons H₂; por isso, o E_h é comumente expresso em pH neutro (pH=7.0).
- Meios de cultivo são adicionados de agentes redutores para manter o E_h baixo ou o ambiente reduzido.
- Exemplos de E_h baixo são observados em: abscessos, tecidos necróticos, ou meios ricos em H₂ atingem E_h = -420 mV; e no intestino grosso de -250 mV.

Laboratório de Anaeróbios

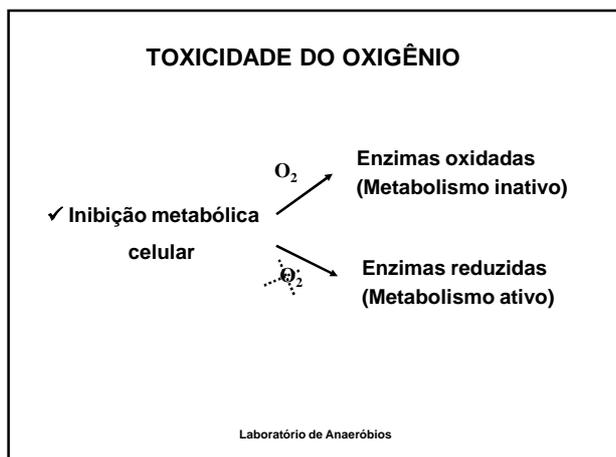
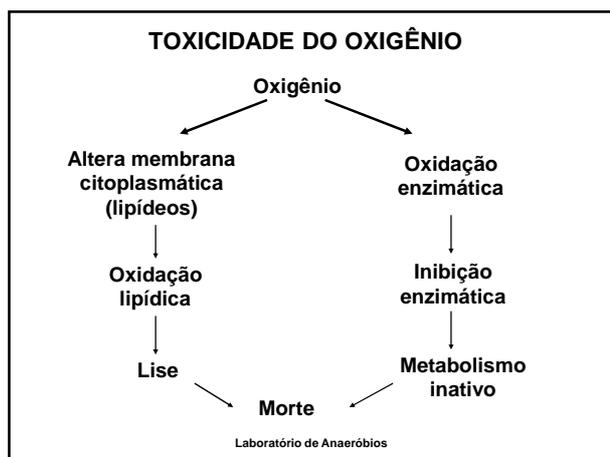
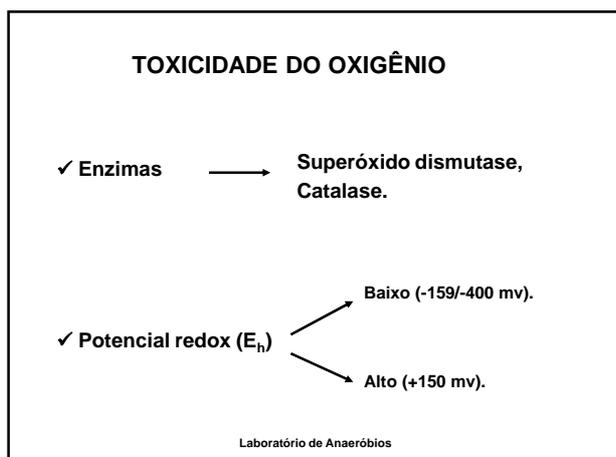
PROCESSOS DE ÓXIDO-REDUÇÃO

REDUÇÃO
Ganho de elétrons

OXIDAÇÃO
Perda de elétrons

E_h positivo ou elevado (Oxidado) → E_h negativo ou baixo (Reduzido)

Laboratório de Anaeróbios



- ### CLASSIFICAÇÃO SEGUNDO A SENSIBILIDADE AO OXIGÊNIO
1. Anaeróbios Obrigatórios
 - a. Anaeróbios estritos: não crescem $O_2 > 0,5\%$
 - b. Anaeróbios intermediários ou moderados: crescem 2 a 8% O_2
 2. Aerotolerantes: crescem em anaerobiose e viáveis por várias horas na presença de O_2 .
 3. Microaerófilos: baixa tensão de O_2
 4. Capnofílicos: adição de 5 - 10% CO_2
- Laboratório de Anaeróbios

Bactérias Anaeróbias

Classificação

- Divididas em dois grupos:

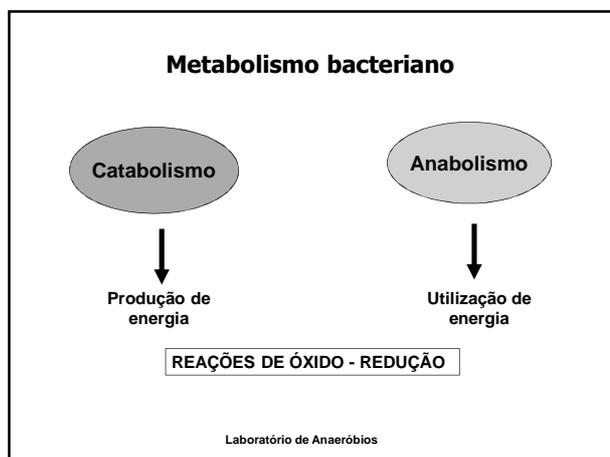
1. Obrigatórios: estritos e moderados

Ex. Estritos: *Clostridium haemolyticum*, *C. novyi tipo B*, *Selenomonas ruminatum* e *Treponema denticola*.

Ex. Moderados: *Bacteroides fragilis*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Fusobacterium nucleatum*, *Clostridium perfringens*.
2. Aerotolerantes

Ex. *Clostridium carnis*, *C. histolyticum*, *C. tertium*

Laboratório de Anaeróbios



Metabolismo anaeróbio

- Reações químicas que ocorrem nas células para obter e armazenar energia.
- Produção de energia pela respiração anaeróbia.
- Aceptor final de elétrons é uma substância inorgânica: NO_3 , SO_4 , CO_3
- Geração de ATP pela fosforilação em nível do substrato.

Laboratório de Anaeróbios

Produção de Energia Anaeróbia

Metabolismo

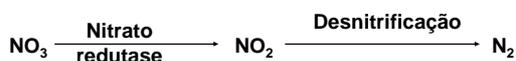
- Não existe participação do oxigênio
- Realizado por três processos:
 - » Respiração Anaeróbia
 - » Fermentação
 - » Fotossíntese

Laboratório de Anaeróbios

Respiração anaeróbia

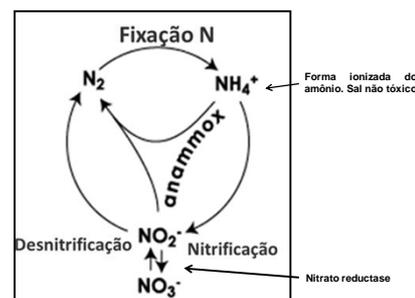
Metabolismo

- » Produção de energia e aceptor final de elétrons não é o oxigênio, e sim um substrato inorgânico: NO_3 , SO_4 , CO_3 .
- » Não há Cadeia Respiratória, nem Ciclo de Krebs, porque A-CoA em baixo Eh é *inativo*.
- » Processo lento, formação de somente 2 ATP.



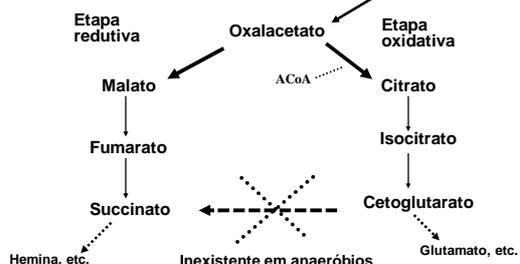
Laboratório de Anaeróbios

Processo de desnitrificação



Laboratório de Anaeróbios

Ciclo de Krebs em *E. coli* Crescida em Anaerobiose



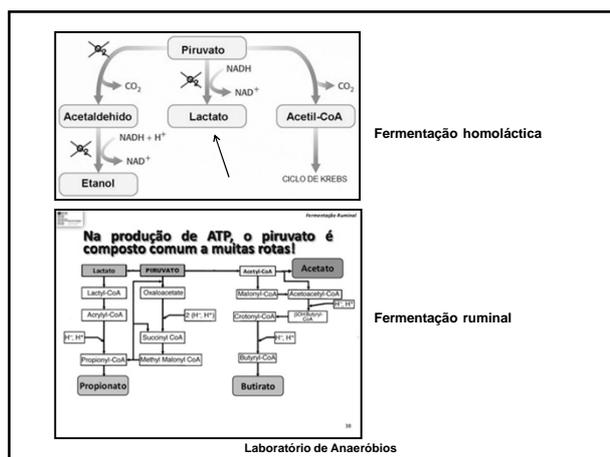
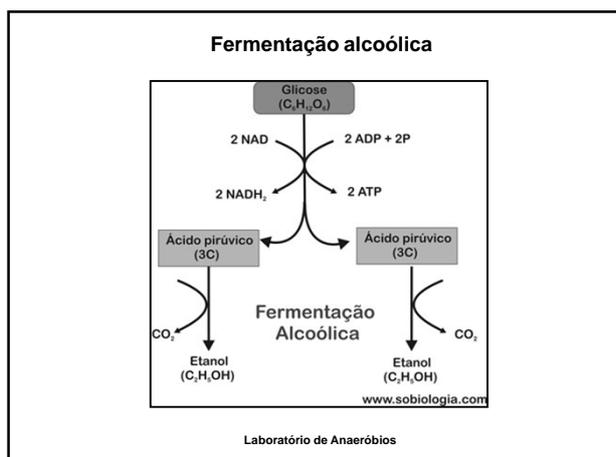
Laboratório de Anaeróbios

Fermentação

Metabolismo

- Não há aceptor final de elétrons, Cadeia Respiratória, nem transporte de elétrons.
- Pequena liberação de energia pela Fosforilação ao nível do substrato.
- Compostos orgânicos são aceptores e doadores de elétrons.
- » Tipos de Fermentação:
 1. Fermentação láctica: Acidifica produtos lácteos
 - Fermentação homoláctica: produz só ác. láctico
 - Fermentação heteroláctica: ác. láctico, acético, fórmico, etc.
 2. Fermentação alcoólica: Produz álcool

Laboratório de Anaeróbios



Fermentação

- Qualquer processo metabólico que libere energia de um açúcar ou outra molécula orgânica; não requer oxigênio (anaeróbico) ou um sistema transportador de elétrons; uma molécula orgânica é o produto final do processo;
- Produz menos energia do que o metabolismo oxidativo (cadeia respiratória);
- Cada molécula de glicose gera 2 moléculas de ATP;
- O transportador de elétrons (NADPH) e reciclado após oxidação do receptor final de elétrons.

Laboratório de Anaeróbios

Fotossíntese

Metabolismo

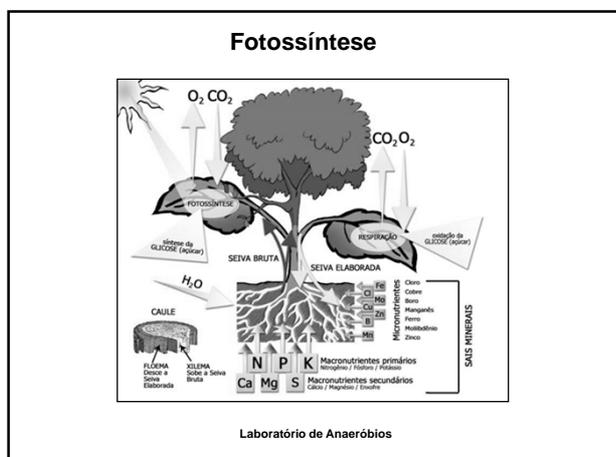
- Dependente da luz solar, utilizado por plantas e algumas bactérias.
- Luz solar transformada em Energia Química, usada para reduzir CO₂ para carboidrato.

Plantas, algas, cianobactérias $\xrightarrow{\text{Luz solar}}$ CO₂ $\xrightarrow{\text{Redução}}$ Carboidrato

- Bacterioclorofila (Membrana plasmática)
- Clorofila (Cloroplastos)

$6 \text{ CO}_2 + 12 \text{ H}_2\text{O} + \text{Energia luminosa} \rightarrow \text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 + 6 \text{ O}_2 + 6 \text{ H}_2\text{O}$

Laboratório de Anaeróbios



Questões para estudo

1. Qual o significado da relação E_h vs O₂ na sobrevivência de anaeróbios?.
2. Por quê alguns anaeróbios resistem tanto tempo à ação do O₂?.
3. Quais as características principais de processos infecciosos pro anaeróbios?.
4. Qual a importância de estudar essas bactérias?.

Laboratório de Anaeróbios