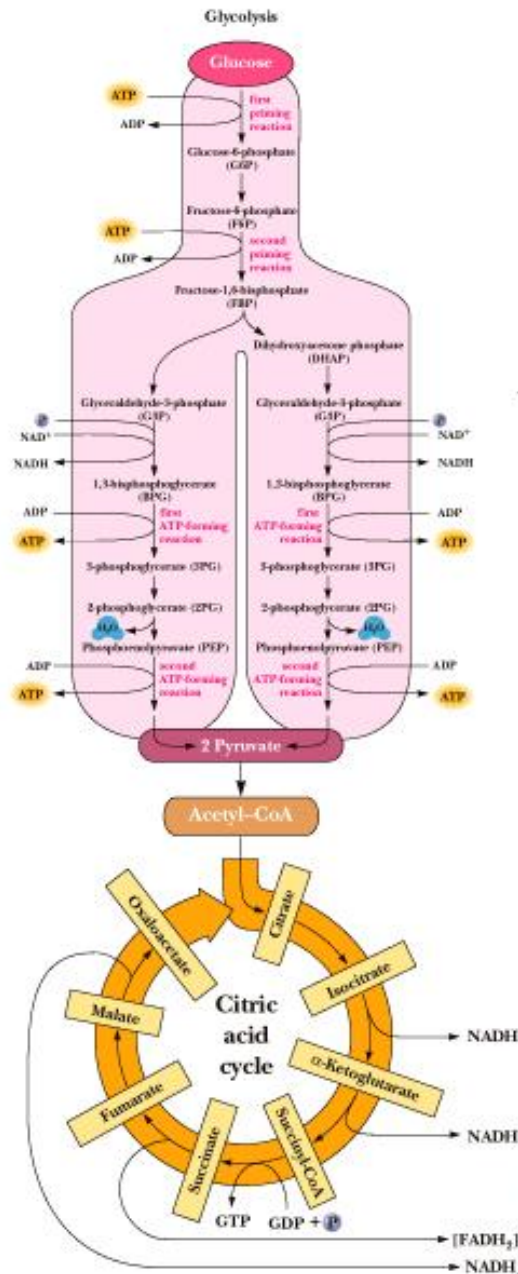




Cadeia de transporte de elétrons

Fosforilação oxidativa

Carla Bittar
Bioquímica e Metabolismo Animal



Pequenas quantidades de ATP produzidas diretamente

Produção indireta pela oxidação de coenzimas reduzidas

Some Important Reactions Catalyzed by NAD(P)H-Linked Dehydrogenases

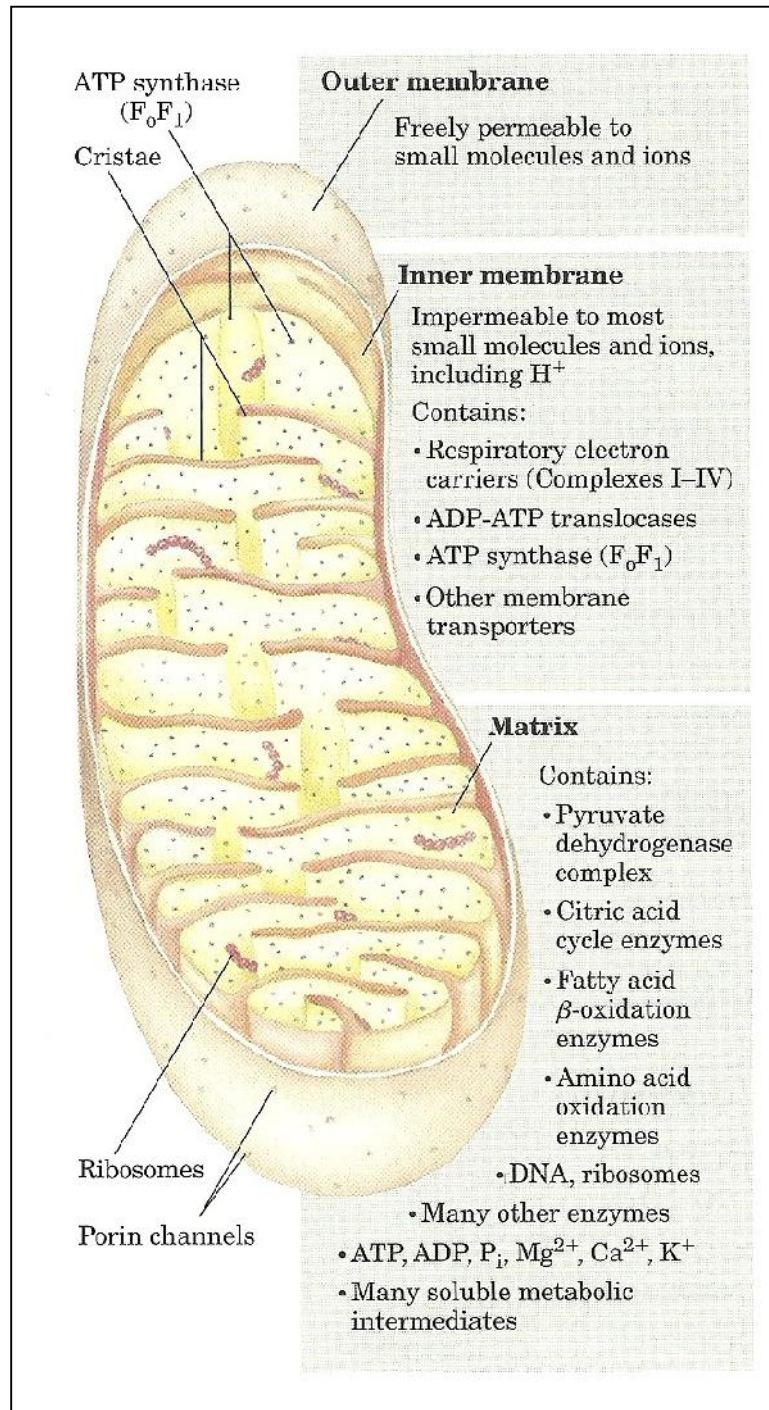
Reaction*	Location†
NAD-linked	
α -Ketoglutarate + CoA + NAD ⁺ $\rightleftharpoons$ succinyl-CoA + CO ₂ + NADH + H ⁺	M
L-Malate + NAD ⁺ $\rightleftharpoons$ oxaloacetate + NADH + H ⁺	M and C
Pyruvate + CoA + NAD ⁺ $\rightleftharpoons$ acetyl-CoA + CO ₂ + NADH + H ⁺	M
Glyceraldehyde 3-phosphate + P _i + NAD ⁺ $\rightleftharpoons$ 1,3-bisphosphoglycerate + NADH + H ⁺	C
Lactate + NAD ⁺ $\rightleftharpoons$ pyruvate + NADH + H ⁺	C
β -Hydroxyacyl-CoA + NAD ⁺ $\rightleftharpoons$ β -ketoacyl-CoA + NADH + H ⁺	M
NADP-linked	
Glucose 6-phosphate + NADP ⁺ $\rightleftharpoons$ 6-phosphogluconate + NADPH + H ⁺	C
NAD- or NADP-linked	
L-Glutamate + H ₂ O + NAD(P) ⁺ $\rightleftharpoons$ α -ketoglutarate + NH ₄ ⁺ + NAD(P)H	M
Isocitrate + NAD(P) ⁺ $\rightleftharpoons$ α -ketoglutarate + CO ₂ + NAD(P)H + H ⁺	M and C

*These reactions and their enzymes are discussed in Chapters 15 through 18.

†M designates mitochondria; C, cytosol.

Proteínas e lipídeos sem função
enzimática ou de transporte
Porina: proteínas integrais

75% das proteínas envolvidas no
transporte de elétrons e oxidação
fosforilativa



Reações de oxido-redução



doador de elétrons $\longrightarrow$ aceptor de elétrons
(redutor) (oxidante)

Tendência do doador perder elétrons: *Potencial-padrão de redução*
($E^{\circ'}$)

Padrão: Força eletromotora gerada por célula referência padrão de Hidrogênio sob condições controladas



Quanto maior o potencial-padrão de redução, maior a afinidade da forma oxidada do par redox em aceitar elétrons e se tornar reduzida

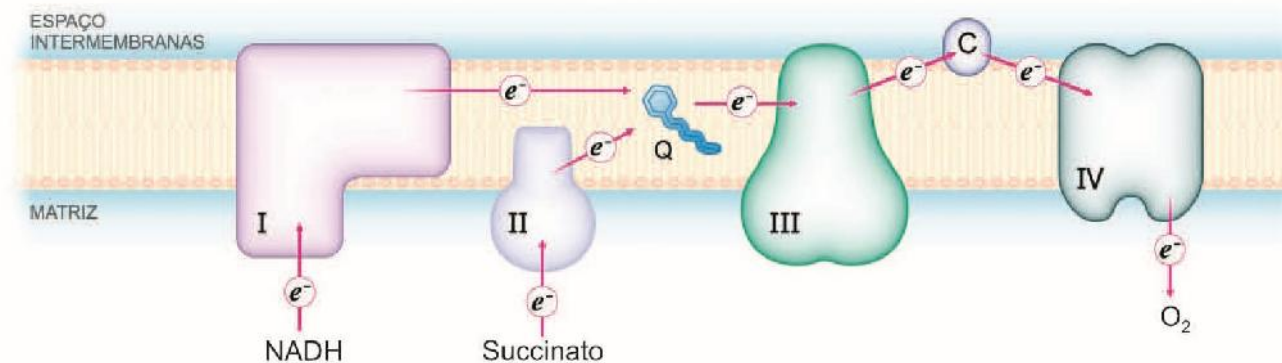
Tabela 8.1 – Potenciais-padrão de redução ($E^{\circ'}$) de algumas reações parciais bioquímicas.

Par redox	$E^{\circ'}$ (V)
Succinato + $\text{CO}_2 + 2e^- \rightleftharpoons \alpha$ -cetoglutarato	-0,67
$2\text{H}^+ + 2e^- \rightleftharpoons \text{H}_2$	-0,42
α -Cetoglutarato + $\text{CO}_2 + \text{H}^+ + 2e^- \rightleftharpoons$ isocitrato	-0,38
Acetoacetato + $2\text{H}^+ + 2e^- \rightleftharpoons \beta$ -hidroxibutirato	-0,35
$\text{NAD}^+ + 2\text{H}^+ + 2e^- \rightleftharpoons \text{NADH} + \text{H}^+$	-0,32
Lipoato + $2\text{H}^+ + 2e^- \rightleftharpoons$ diidrolipoato	-0,29
Acetaldeído + $2\text{H}^+ + 2e^- \rightleftharpoons$ etanol	-0,20
Piruvato + $2\text{H}^+ + 2e^- \rightleftharpoons$ lactato	-0,19
Oxaloacetato + $2\text{H}^+ + 2e^- \rightleftharpoons$ malato	-0,17
Coenzima Q (oxid) + $2\text{H}^+ + 2e^- \rightleftharpoons$ coenzima Q (red)	0,10
Citocromo <i>b</i> (Fe^{3+}) + $e^- \rightleftharpoons$ citocromo <i>b</i> (Fe^{2+})	0,12
Citocromo <i>c</i> (Fe^{3+}) + $e^- \rightleftharpoons$ citocromo <i>c</i> (Fe^{2+})	0,22
Citocromo <i>a</i> (Fe^{3+}) + $e^- \rightleftharpoons$ citocromo <i>a</i> (Fe^{2+})	0,29
Citocromo <i>a</i> ₃ (Fe^{3+}) + $e^- \rightleftharpoons$ citocromo <i>a</i> ₃ (Fe^{2+})	0,39
$\frac{1}{2} \text{O}_2 + 2\text{H}^+ + 2e^- \rightleftharpoons \text{H}_2\text{O}$	0,82

Cadeia mitocondrial transportadora de elétrons (cadeia respiratória)



- ▶ Transferência de elétrons de NADH e FADH_2 para O_2
- ▶ Seqüência de reações de oxido-redução



- ▶ Complexos multienzimáticos
- ▶ Potencial-padrão de redução crescente
- ▶ Grupos prostéticos capazes de aceitar ou doar elétrons

Tabela 11.1 Potenciais de redução padrão ($E^{\circ'}$) dos componentes da cadeia de transporte de elétrons

	Par oxidado/reduzido	$E^{\circ'}$ (volts)
	NAD ⁺ /NADH	-0,32
Complexo I	FMN/FMNH ₂	-0,30
	Centros Fe-S ox/red ¹	-0,38 a -0,27
	Fumarato/Succinato	+0,03
Complexo II	FAD/FADH ₂	-0,04
	Centros Fe-S ox/red	-0,03 a +0,06
	Citocromo <i>b</i> ox/red	-0,08
	CoQ/CoQH ₂	+0,05
Complexo III	Citocromo <i>b</i> ₅₆₆ ox/red ²	-0,03
	Citocromo <i>b</i> ₅₆₂ ox/red	+0,03
	Centros Fe-S ox/red	+0,28
	Citocromo <i>c</i> ₁ ox/red	+0,22
	Citocromo <i>c</i> ox/red	+0,24
Complexo IV	Citocromo <i>a</i> ox/red	+0,29
	Cu ²⁺ /Cu ¹⁺	+0,34
	Citocromo <i>a</i> ₃ ox/red	+0,55
	O ₂ /H ₂ O	+0,82

¹As formas oxidada e reduzida dos centros Fe-S e citocromos contêm Fe⁺³ e Fe⁺², respectivamente.

²Os citocromos *b*₅₆₆ e *b*₅₆₂ também são chamados de *b*_L e *b*_H, devido ao valor baixo (*Low*) e alto (*High*), respectivamente, de seus potenciais de redução.

Grupos prostéticos

- ▶ FMN: Flavina mononucleotídeo
 - Complexo I
 - Capaz de receber 2 prótons e 2 elétrons

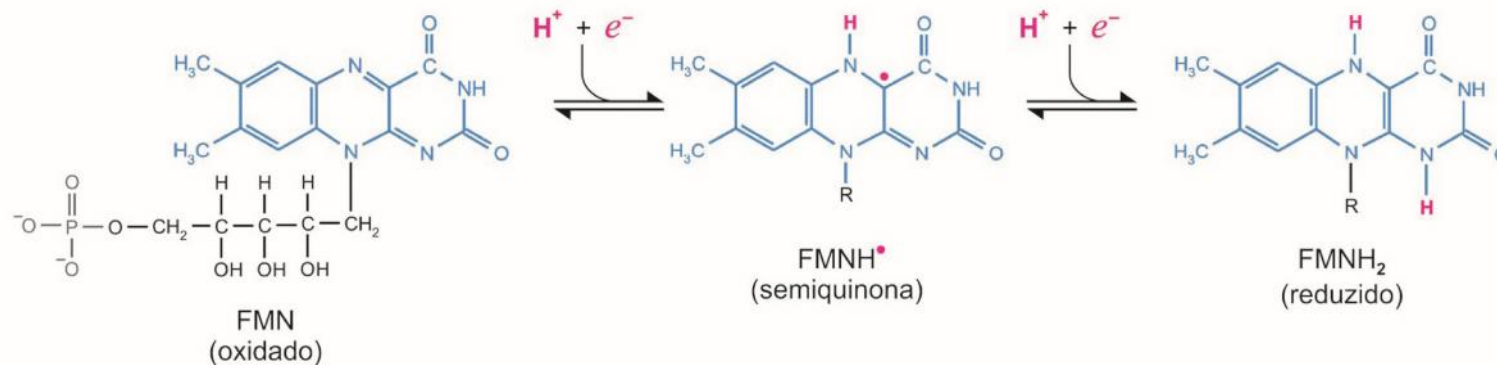
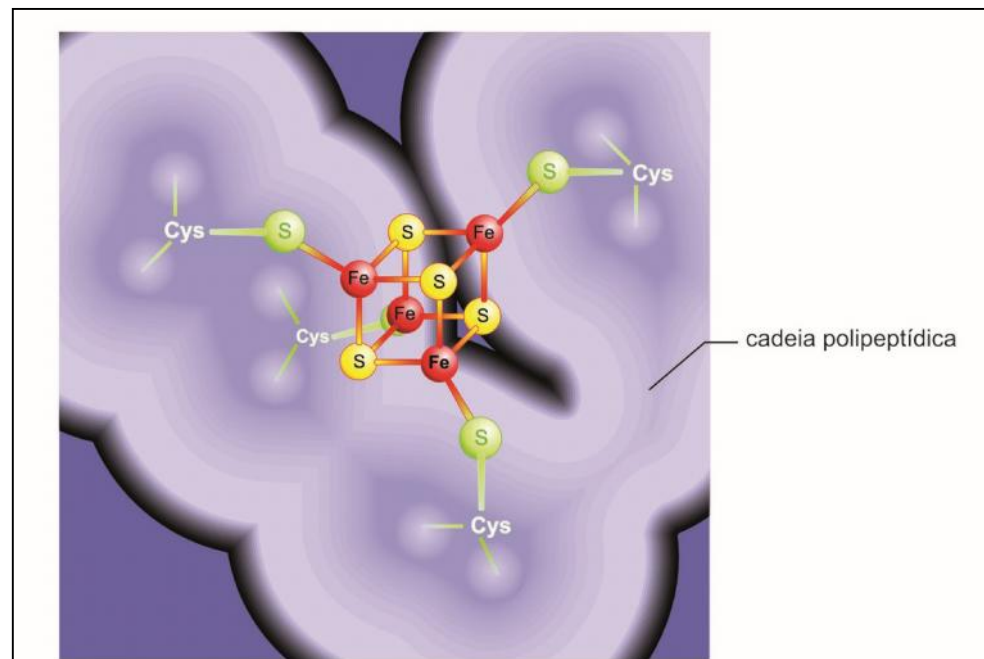


Fig. 11.2 Estruturas da flavina mononucleotídeo. A forma oxidada (FMN) reage com um próton e um elétron, convertendo-se na forma semiquinona (FMNH[•]); a incorporação de mais um próton e um elétron resulta na forma totalmente reduzida (FMNH₂).

Grupos prostéticos

- ▶ Centro Fe-S:
 - Complexos I, II e III
 - Diversas configurações: Fe-S, Fe₂-S₂, Fe₄-S₄
 - Ligados a cadeia por resíduos de cisteína
 - Não recebem prótons, só transportam elétrons



Grupos prostéticos

- ▶ Ubiquinona ou Coenzima Q
 - Família das quinonas com várias cadeias isoprênicas na cadeia lateral
 - É hidrofóbica: mobilidade na membrana
 - Recebe 2 prótons e 2 elétrons

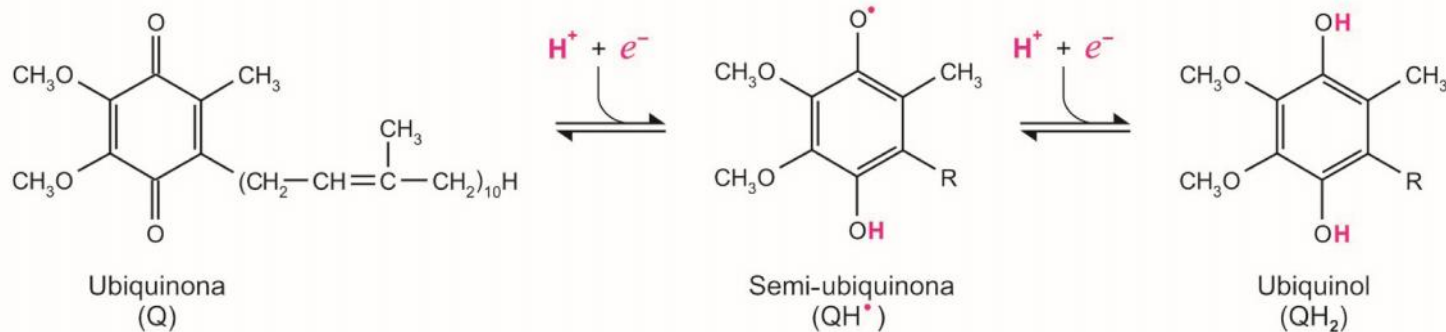


Fig. 11.4 Formas da coenzima Q. A forma oxidada, ubiquinona (Q), origina a semi-ubiquinona (QH[•]) ao receber um próton e um elétron; a reação com mais um próton e um elétron produz a forma reduzida, ubiquinol (QH₂).

Grupos prostéticos



- ▶ Citocromo: grupo heme
 - Classificação: a, b, c conforme o espectro de absorção
 - Sequência de aminoácidos característica
 - Citocromo c não é proteína integrada: periférica na face interna da membrana
 - recebe elétrons do complexo III e doa para IV

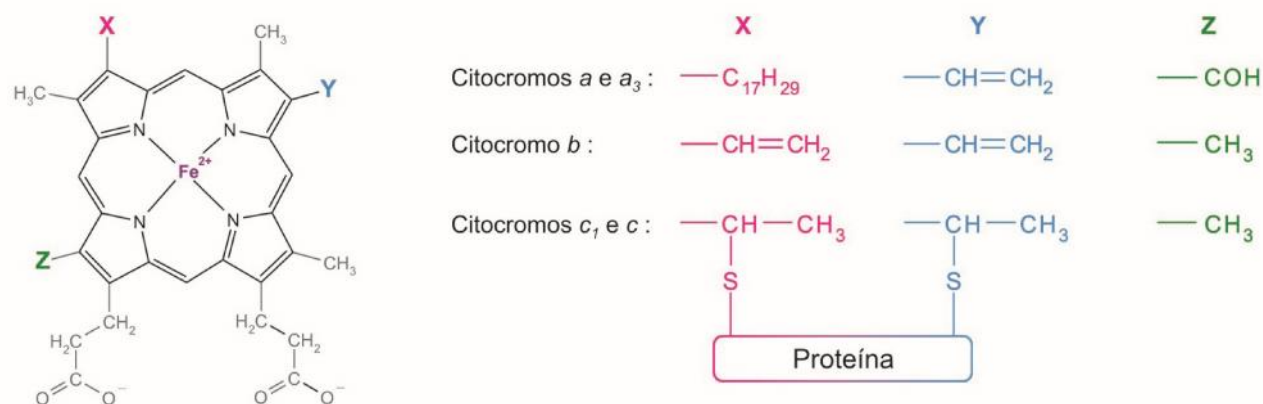


Fig. 11.5 Estrutura dos grupos prostéticos dos citocromos. Os citocromos dos tipos *a*, *b* e *c* apresentam o grupo heme caracterizado pelos substituintes X, Y, Z indicados na figura. Nos citocromos do tipo *c*, o grupo heme estabelece ligações tioéter com resíduos de cisteína da cadeia polipeptídica; nos outros dois tipos, a ligação é não-covalente.

Tabela 8.2 – Características dos componentes protéicos da cadeia mitocondrial transportadora de elétrons

Complexo enzimático	Grupo prostético
I (NADH-coenzima Q oxidorreductase)	FMN, FeS*
II (Succinato-coenzima Q oxidorreductase)	FAD, FeS
III (Coenzima Q-citocromo <i>c</i> oxidorreductase)	Citocromo <i>b</i> Citocromo <i>c</i> ₁ 1 FeS _R **
IV (Citocromo <i>c</i> oxidase)	Citocromo <i>a</i> Citocromo <i>a</i> ₃ Cu _A , Cu _B

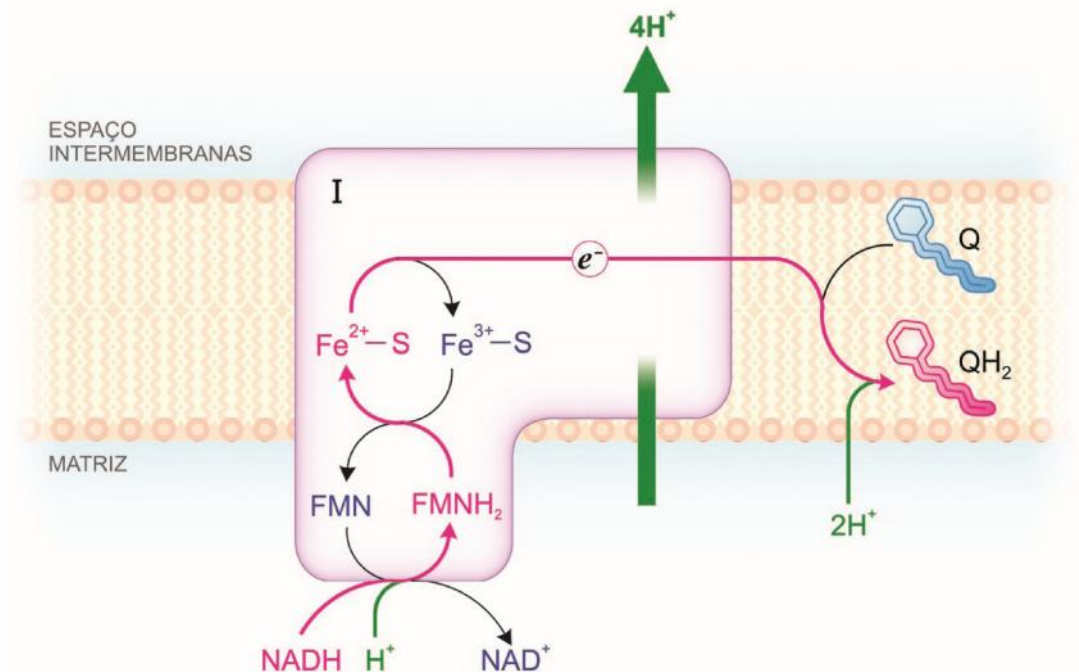
*FeS = grupo ferro-enzofre.

**FeS_R = centro de Rieske

Complexo I : NADH coenzima Q oxidante



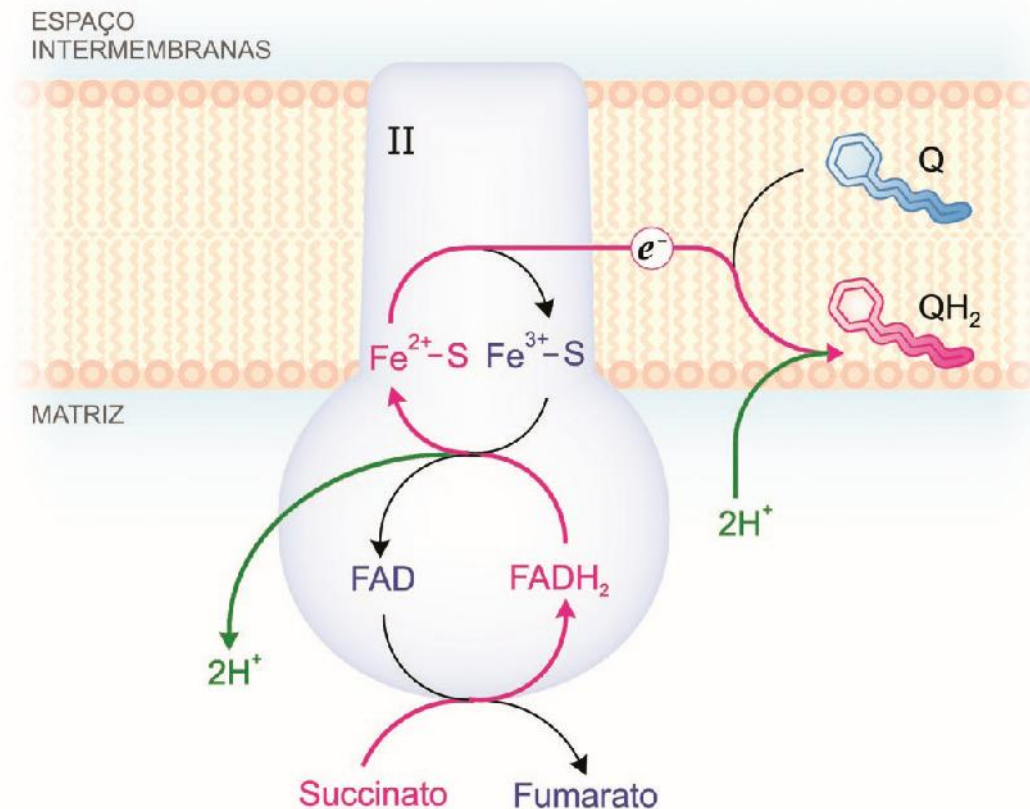
- ▶ $\text{NADH} + \text{H}^+ + \text{FMN} \longrightarrow \text{NAD}^+ + \text{FMNH}_2$
- ▶ FMNH_2 transfere elétrons para centro Fe-S
- ▶ Movimentação de prótons resultante de disposição alternada de transportadores de prótons e elétrons



Complexo II : succinato desidrogenase succinato-ubiquinona óxido-redutase



- ▶ Acopla oxidação de succinato em fumarato com redução de ubiquinona na membrana interna



Coenzima Q – ponto de convergência



- ▶ Glicerol 3-fosfato: metabolismo de TG
- ▶ Acil-coA: primeira reação de oxidação de AG
 - Ação de flavoproteína transferidora de elétrons (ETF)

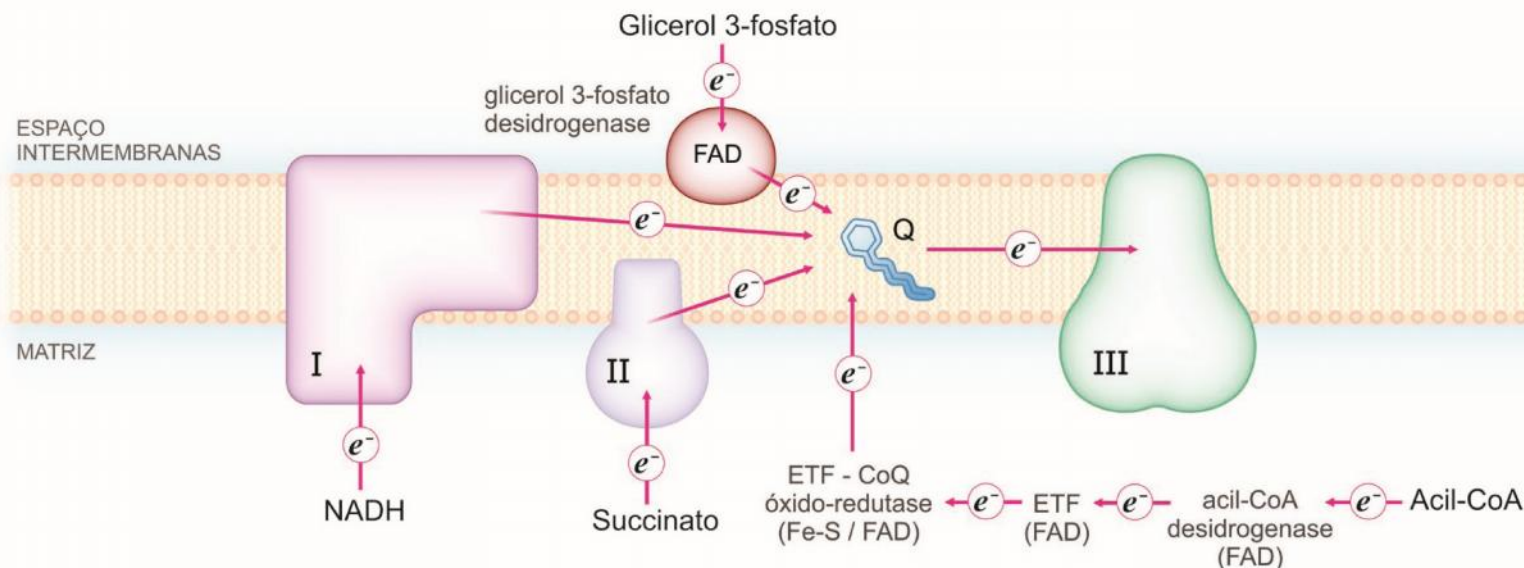
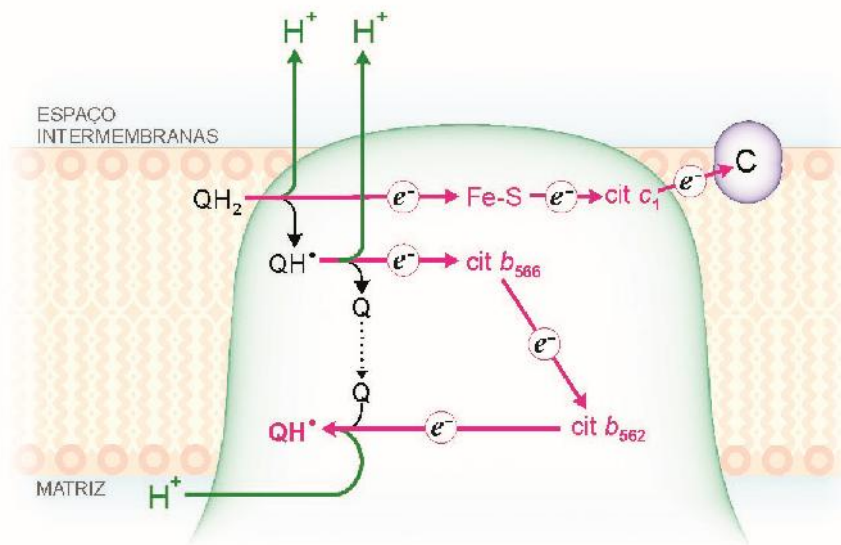


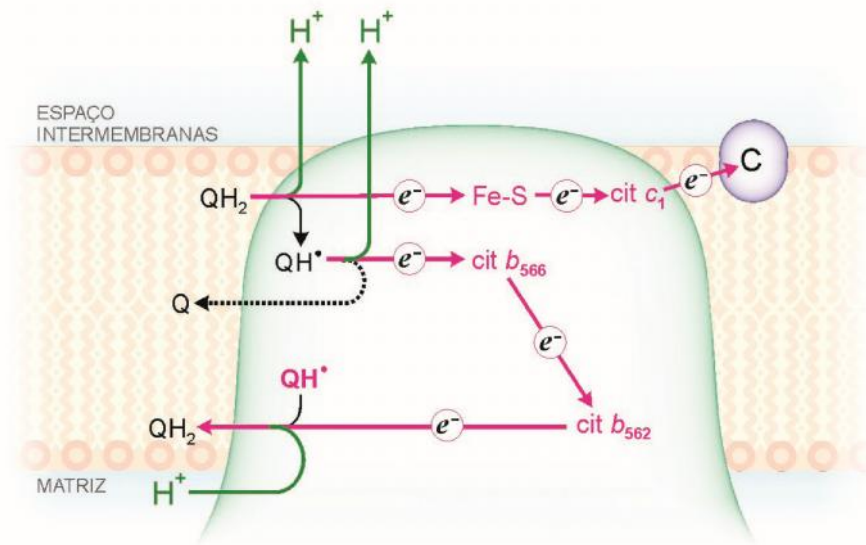
Fig. 11.8 A coenzima Q é o ponto de convergência dos elétrons provenientes do NADH (via Complexo I), do succinato (via Complexo II), do glicerol 3-fosfato e de acil-CoA. ETF: flavoproteína transferidora de elétrons.

Complexo III: ubiquinona citocromo c óxido-redutase

- ▶ Transfere elétrons da ubiquinona para o citocromo c, com movimentação de prótons



(a)



(b)

Complexo IV: citocromo c oxidase



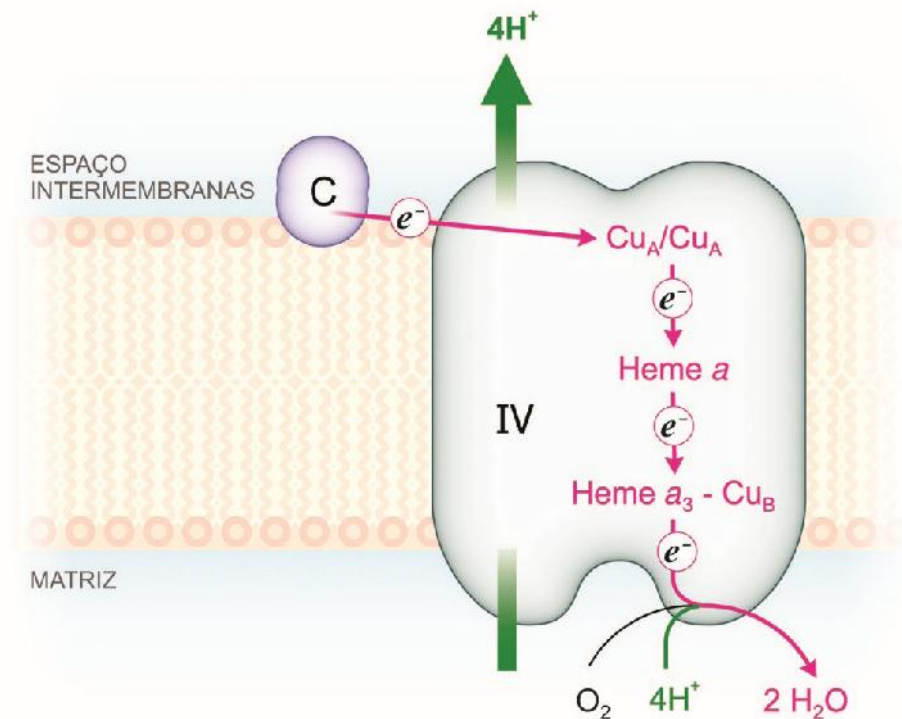
► Dímero

- Cada monômero com 13 subunidades

- 2 grupos heme: a e a₃
- 3 íons de cobre ($\text{Cu}^{+2}, \text{Cu}^{+1}$): $\text{Cu}_A / \text{Cu}_A, \text{Cu}_B$

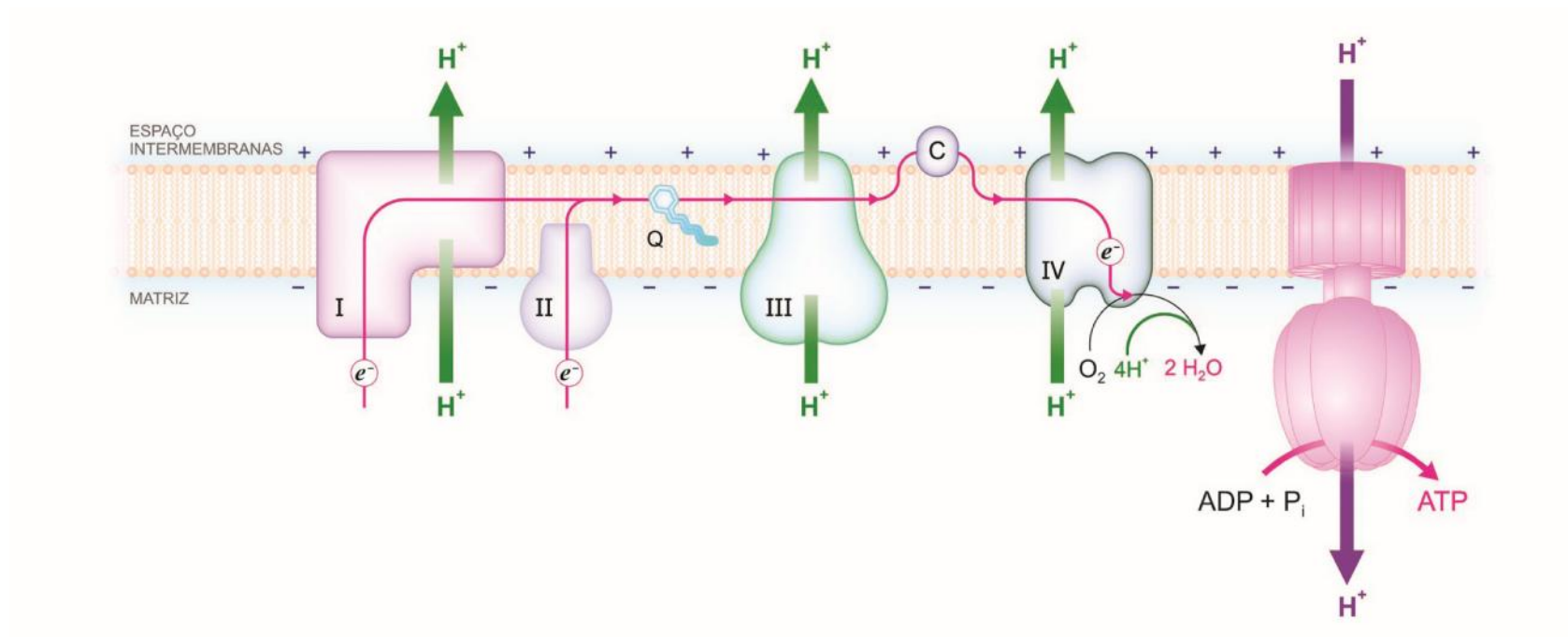
- Catalisa redução de O_2 , que recebe 4 elétrons e se liga a prótons da matriz convertendo-se em $2 \text{H}_2\text{O}$

- Oxidação concomitante de citocromo c

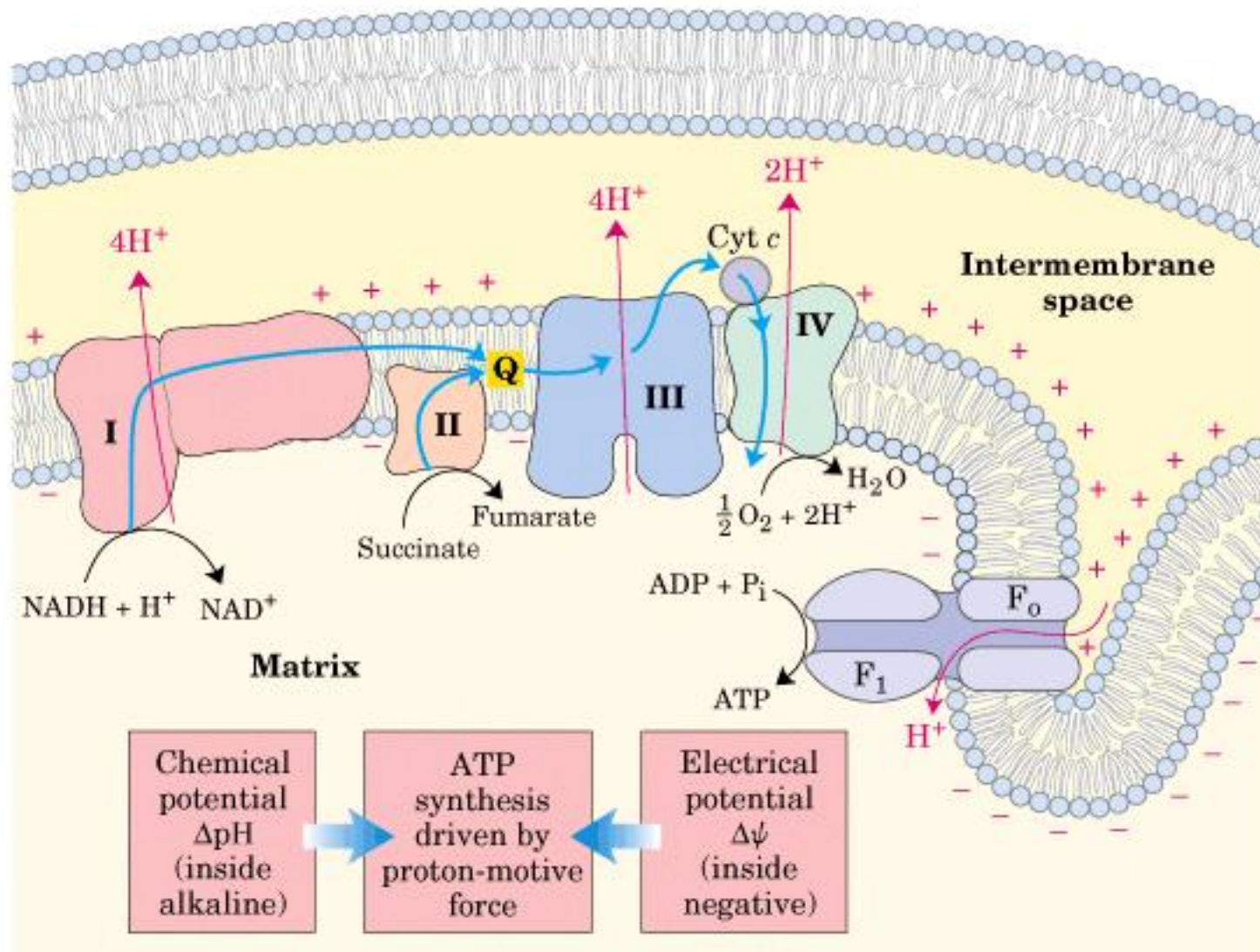


Fosforilação oxidativa

- ▶ Transferências de elétrons: reações favoráveis exergônica
- ▶ Fosforilação de ADP: utilização de energia liberada



Como ocorre o bombeamento?



Hipóteses de bombeamento



► Acoplamento direto

- Transportadores de elétrons envolvidos diretamente
 - Quando transportador é reduzido, ocorre captação de prótons os quais são liberados na matriz quando o elétron é transportado para complexo seguinte
 - Bomba de prótons e centro de óxido-redução são uma única estrutura
 - (?) Complexo IV tem somente transportador de elétrons...

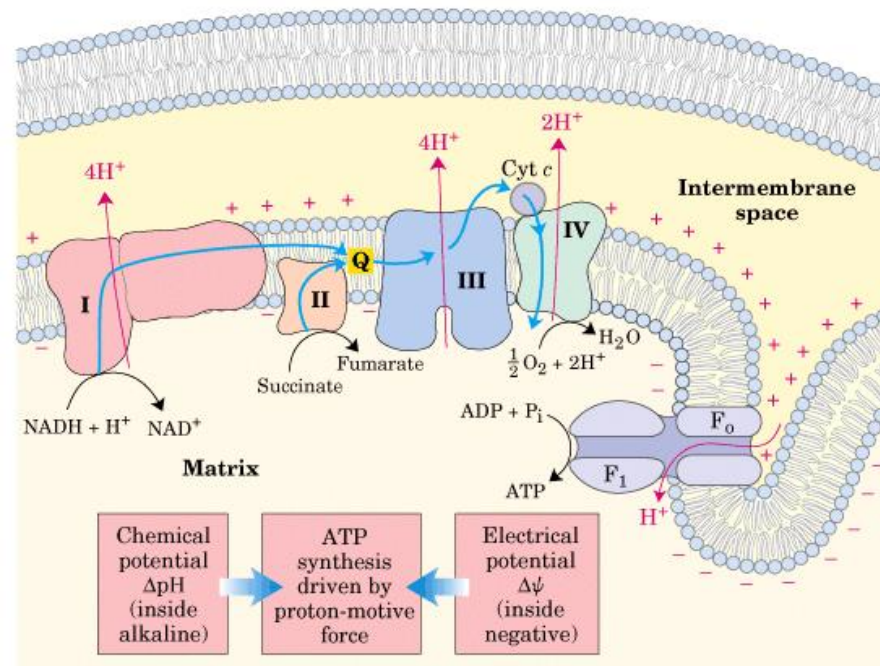
Hipóteses de bombeamento



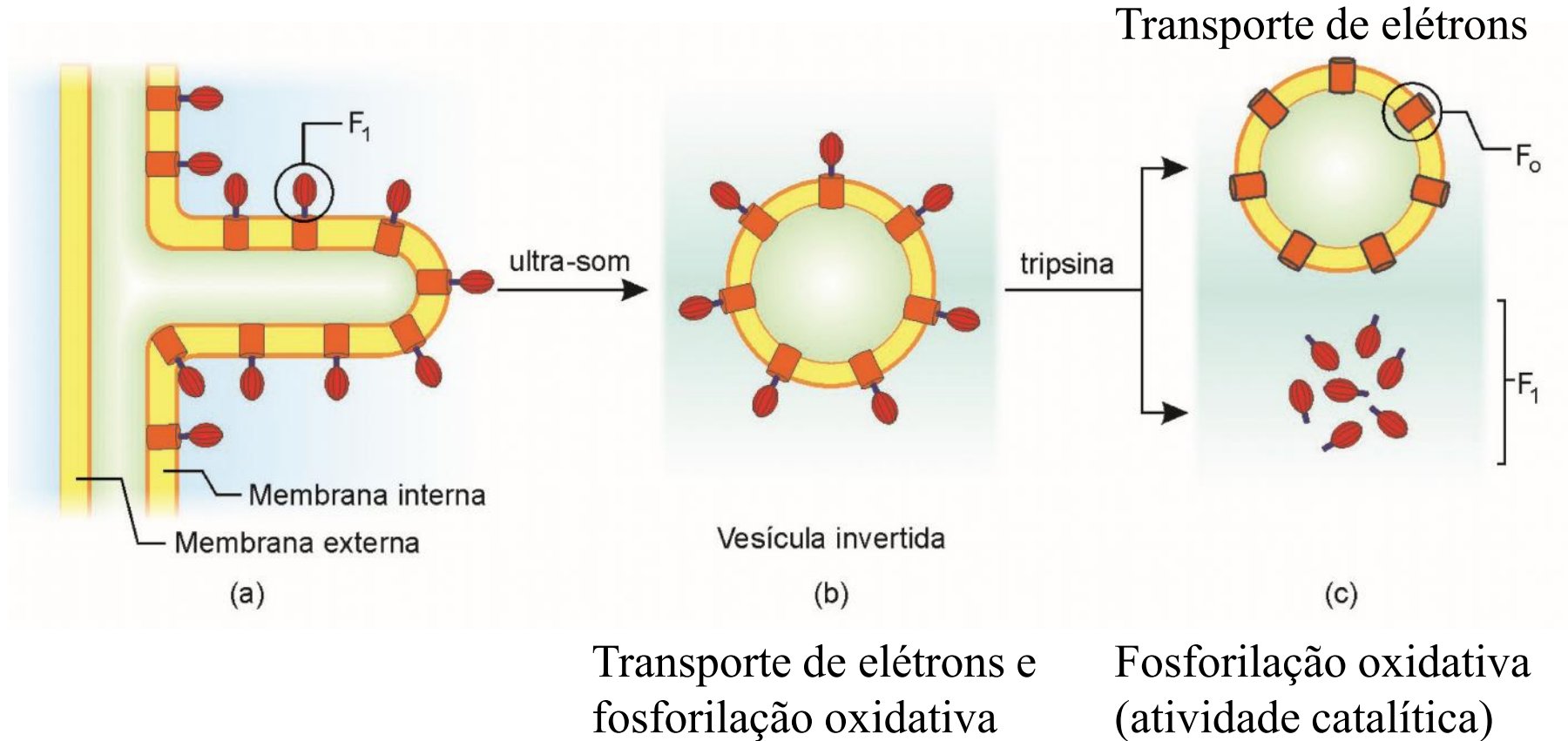
► Acoplamento indireto

- Estruturas distintas e distantes nos complexos
- Bombeamento ocorre devido a alterações conformacionais de acordo com estado reduzido ou oxidado
- Redução de pK_a de grupos ionizáveis de aminoácidos, cadeias ficam expostas a face interna e se ligam a prótons
- Normalização de pK_a com o transporte de elétrons e liberação de prótons na face externa

- ▶ Cada NADH (transporte de 2 elétrons)
 - 2,5 (3)ATP
 - Elétrons passam por três complexos
 - Eficiência da fosforilação
 - Número de ATP formado e O_2 consumido
 - P/O (phosphate/oxygen)
- ▶ Succinato ($FADH_2$): complexo I não participa: 1,5 (2) ATP



ATP sintase

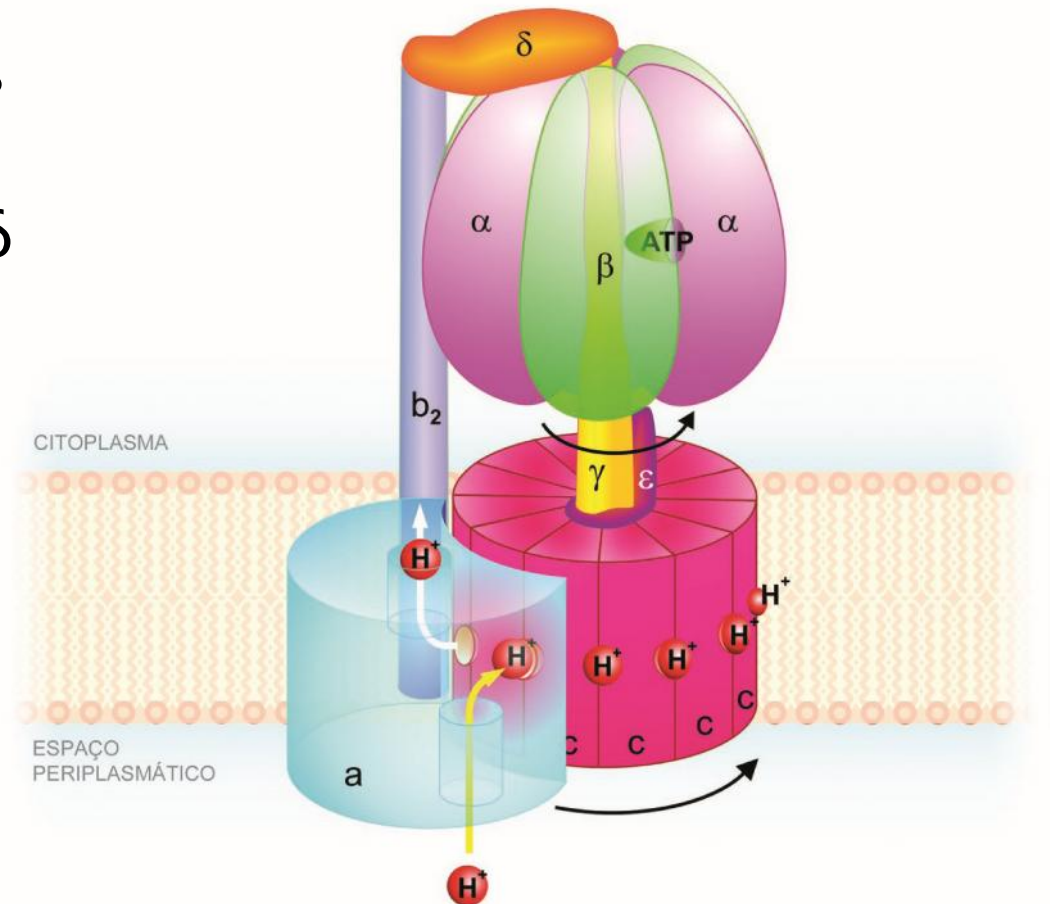


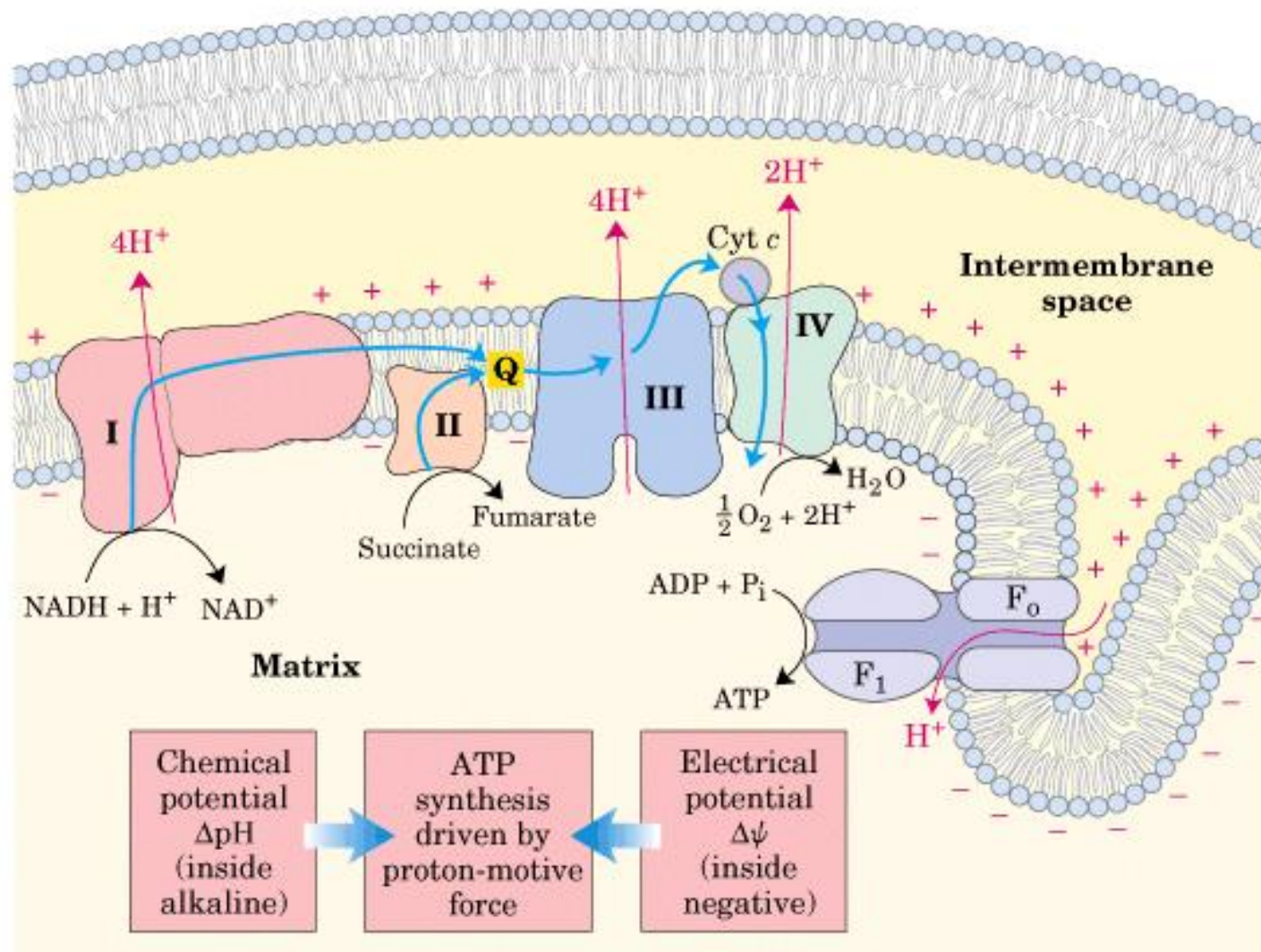
Porção periférica F_1 : fator de acoplamento

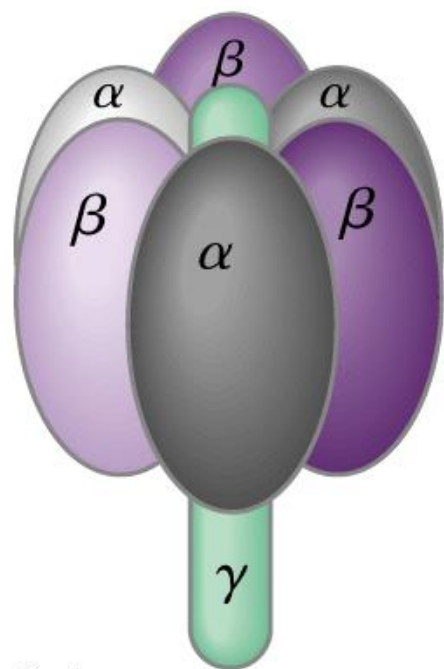
Porção integrada F_0 : inclui porção que se liga a oligomicina

ATP sintase – E. coli

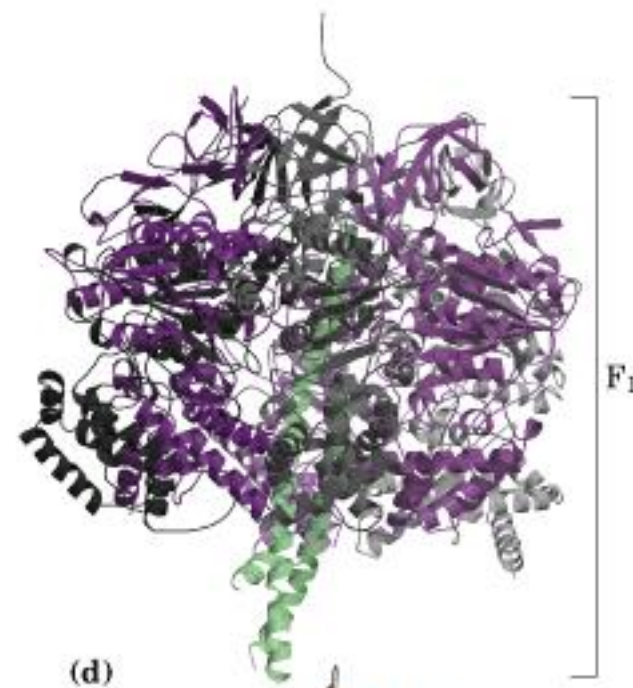
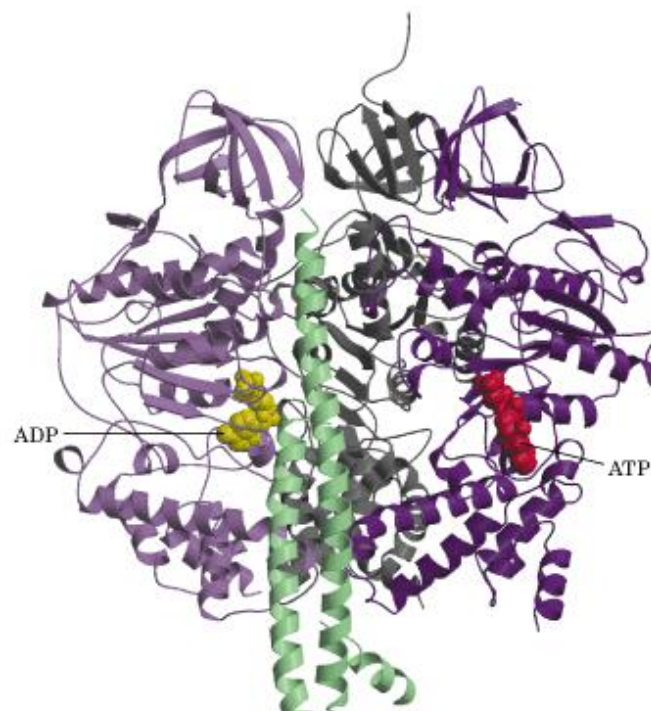
- ▶ Formada por subunidades
- ▶ F_1
 - 3 α e 3 β :alternadas
 - γ está associada a ϵ
 - α e β associados a δ
- ▶ F_o
 - a, b₂ e c (10)



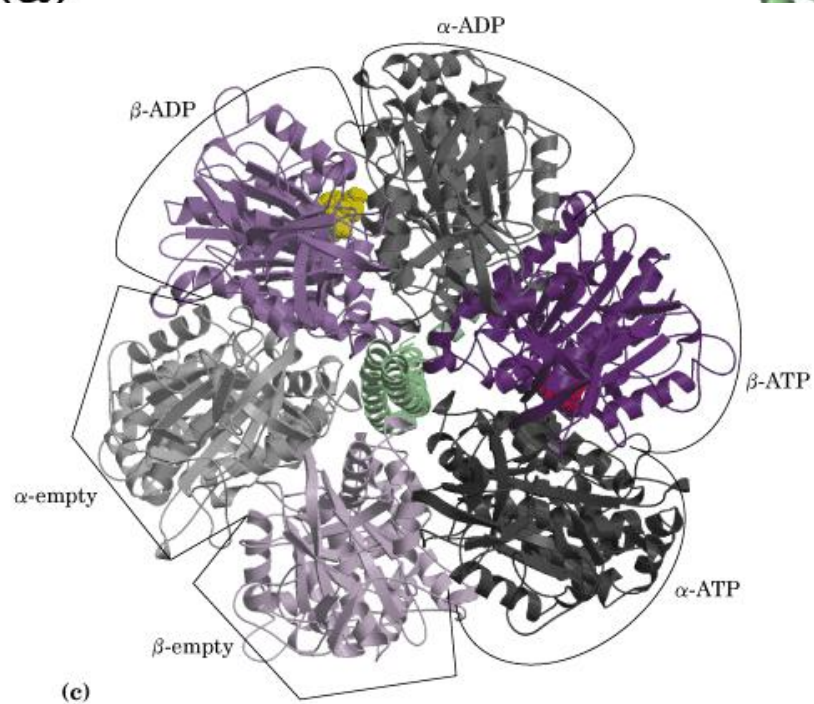




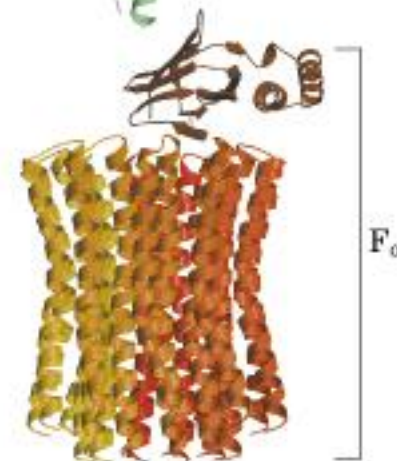
(a)



(d)



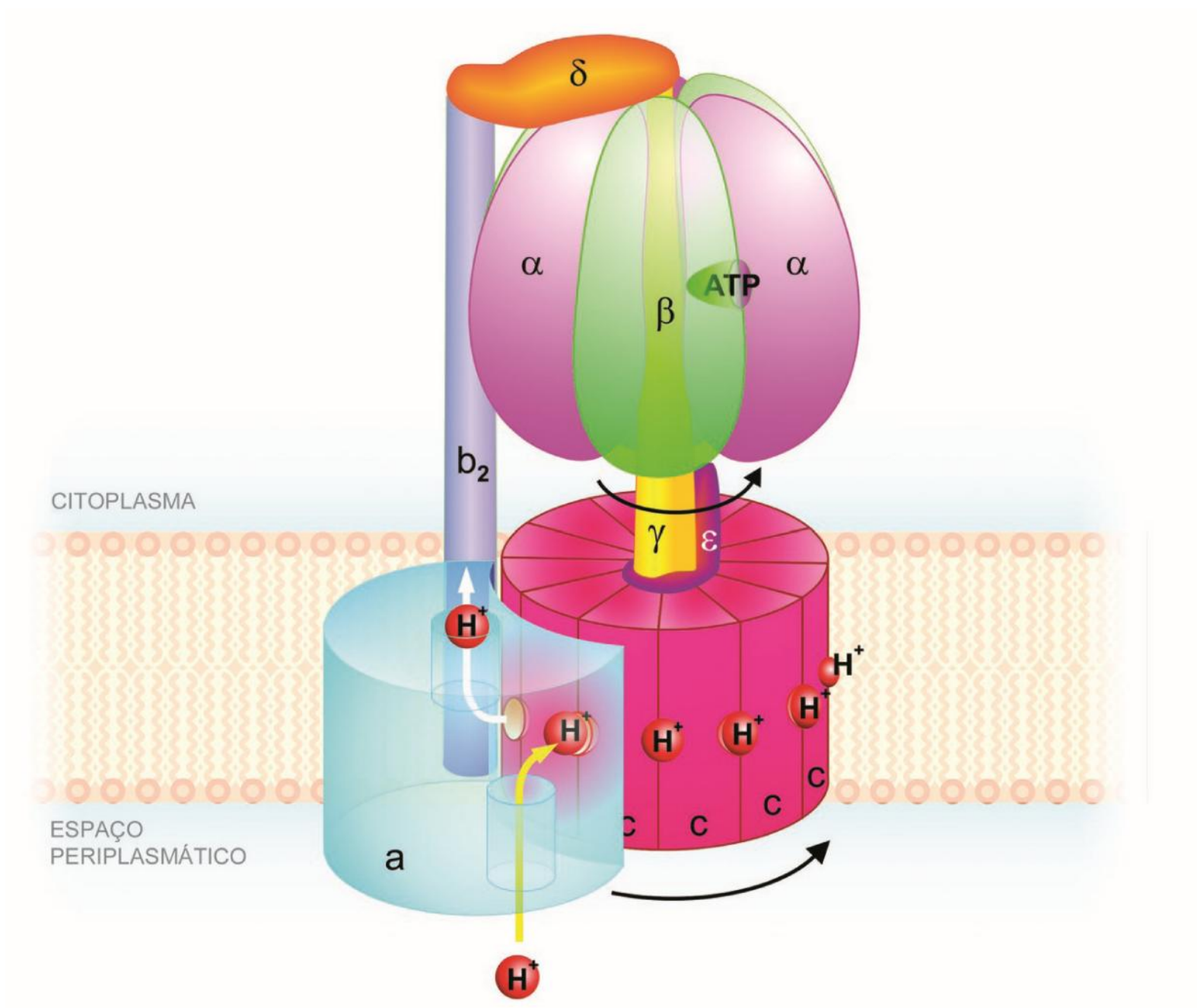
(c)

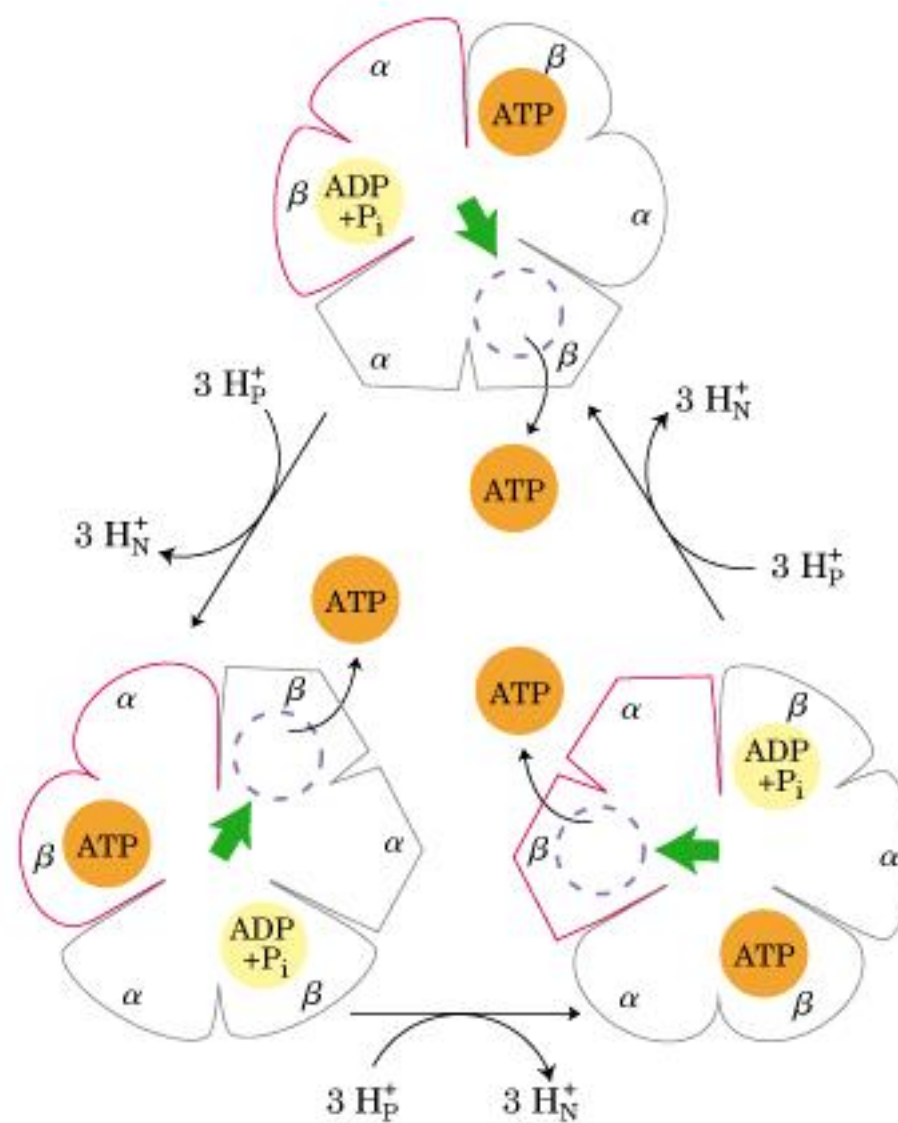


Conversão de energia química em energia mecânica



- ▶ Reação em 3 etapas
- ▶ 3 sítios catalíticos podem apresentar 3 conformações diferentes
 - Cada um dos sítios assume sequencialmente uma conformação
 - Etapas diferentes ocorrendo em cada um dos sítios
 - Ligação dos substratos
 - Formação da ligação
 - Liberação do ATP sintetizado







Controle respiratório

- ▶ Coordenação da velocidade de transporte de elétrons e síntese de ATP
- ▶ Processos intimamente relacionados:
 - Só há oxidação de NADH e FADH_2 se houver síntese de ATP
- ▶ Controle: consumo de oxigênio
 - Adição de ADP: conversão em ATP
 - ADP estimula ATP sintase
 - Redução de gradiente eletroquímico devido a passagem de H^+ pela enzima
 - Estímulo as bombas de prótons na cadeia de transporte

Inibidores



Inibidores da cadeia de transporte de elétrons

Inibidores	Complexo
Barbituratos (hipnóticos)	I
Rotenona (inseticida)	I
Malonato (inibidor da succinato desidrogenase)	II
Antimicina A (atb)	III
Cianeto (CN^-), monóxido de carbono (CO), azida (N_3^-)	IV

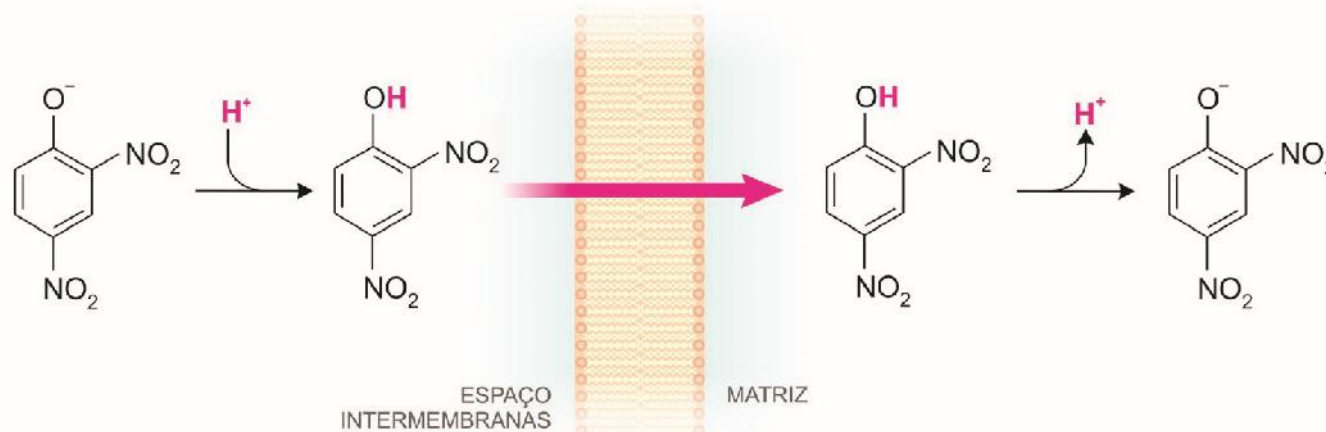
Inibidores: paralisam transferência de elétrons e vias que dependem de coenzimas oxidadas

Sem transporte de elétrons não se tem gradiente eletroquímico

Desacopladores



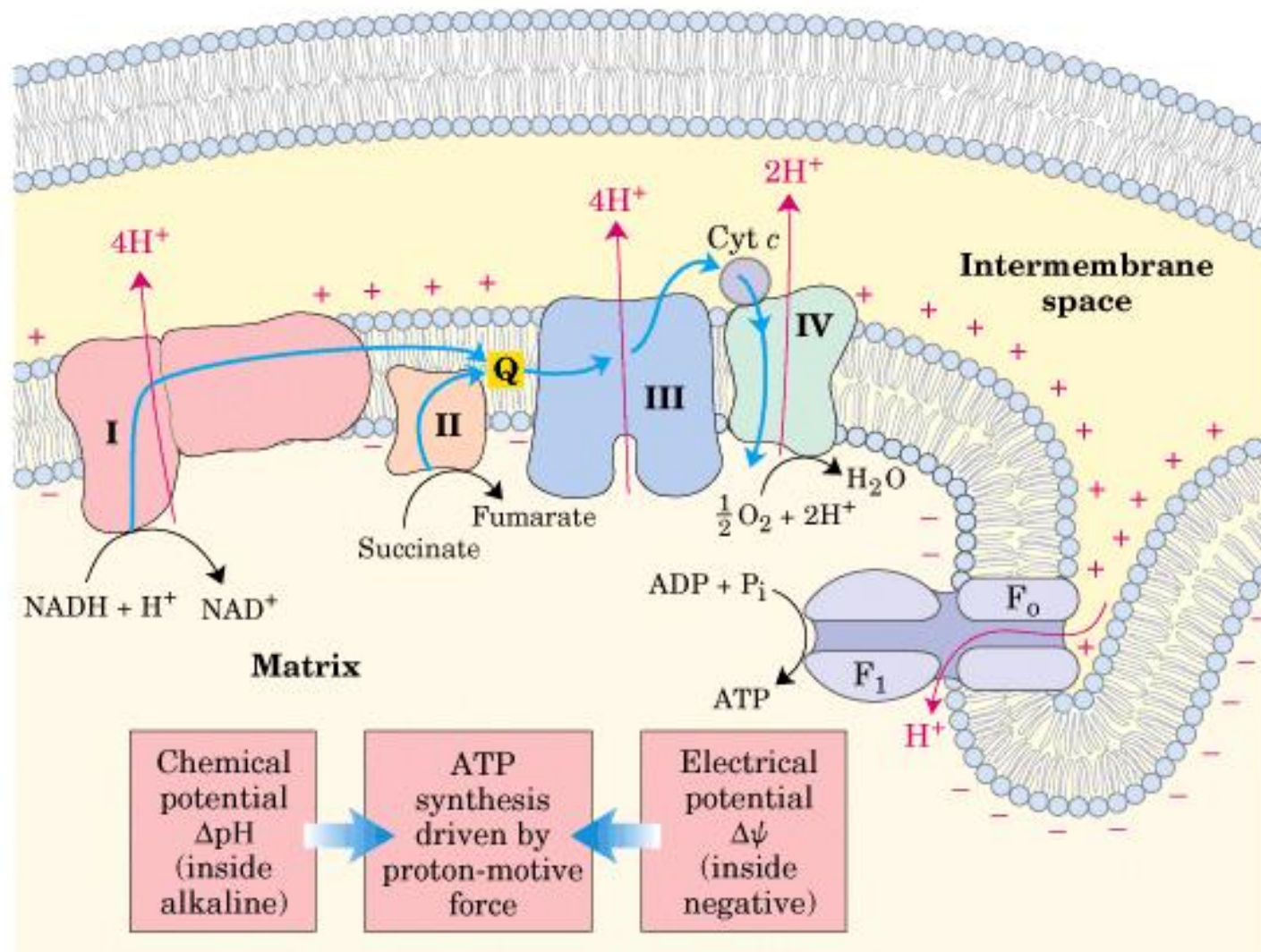
- ▶ Desacoplam o transporte de elétrons da síntese de ATP
 - Síntese é paralizada, mas transporte pode prosseguir
 - Substância lipofílicas como dinitrofenol (DNP) atravessa membrana, se associa a prótons e os libera na matriz: não permite formação de gradiente: energia dissipada como calor



Desacopladores fisiológicos



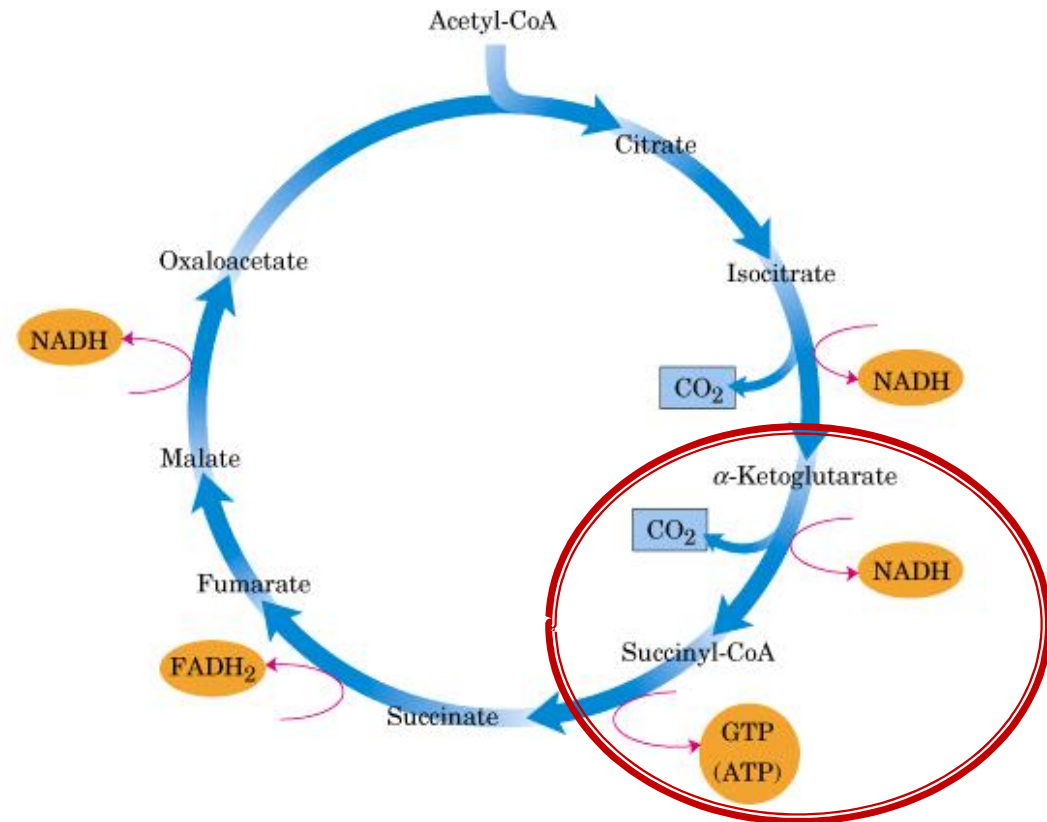
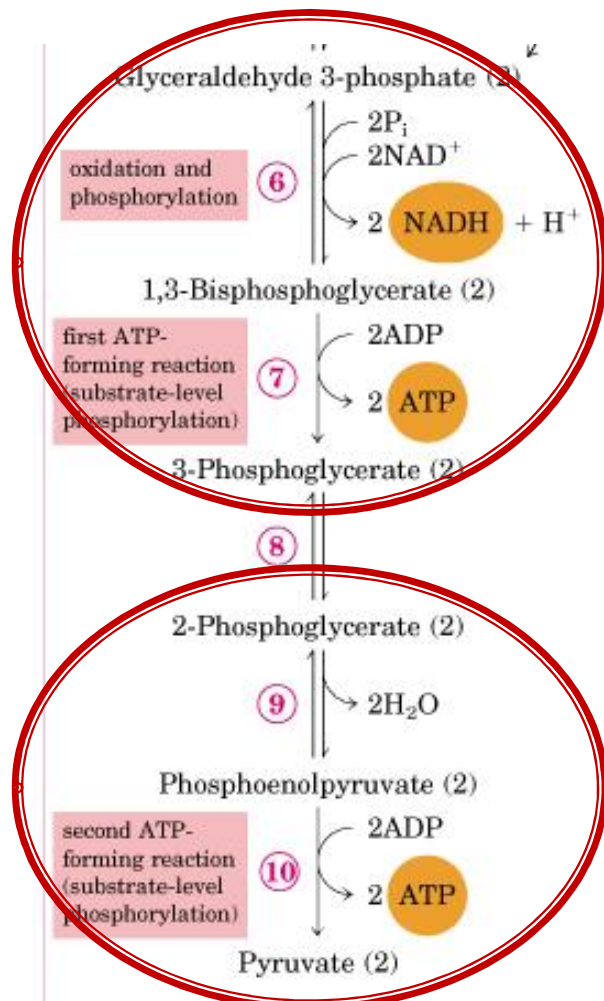
- ▶ Tecido adiposo marrom
 - ATP sintase
 - Termogenina ou proteína desacopladora 1 (UCP1)
- ▶ Gradiente de H^+ não se estabelece eficientemente
 - Grande parte da energia dissipada como calor
 - Animais de clima frio
 - Recém-nascidos
- ▶ Regride com a idade e UCP1 não é encontrada em adultos
 - UCP2 (geral), UCP3 (coração e músculos), UCP4 e UCP5 (cérebro)



Fosforilação no nível do substrato



- ▶ Reações da glicólise e ciclo de Krebs sempre precedidas de óxido-redução



Independente do transporte de elétrons: não é afetada por desacopladores

Oxidação de NADH citossólico

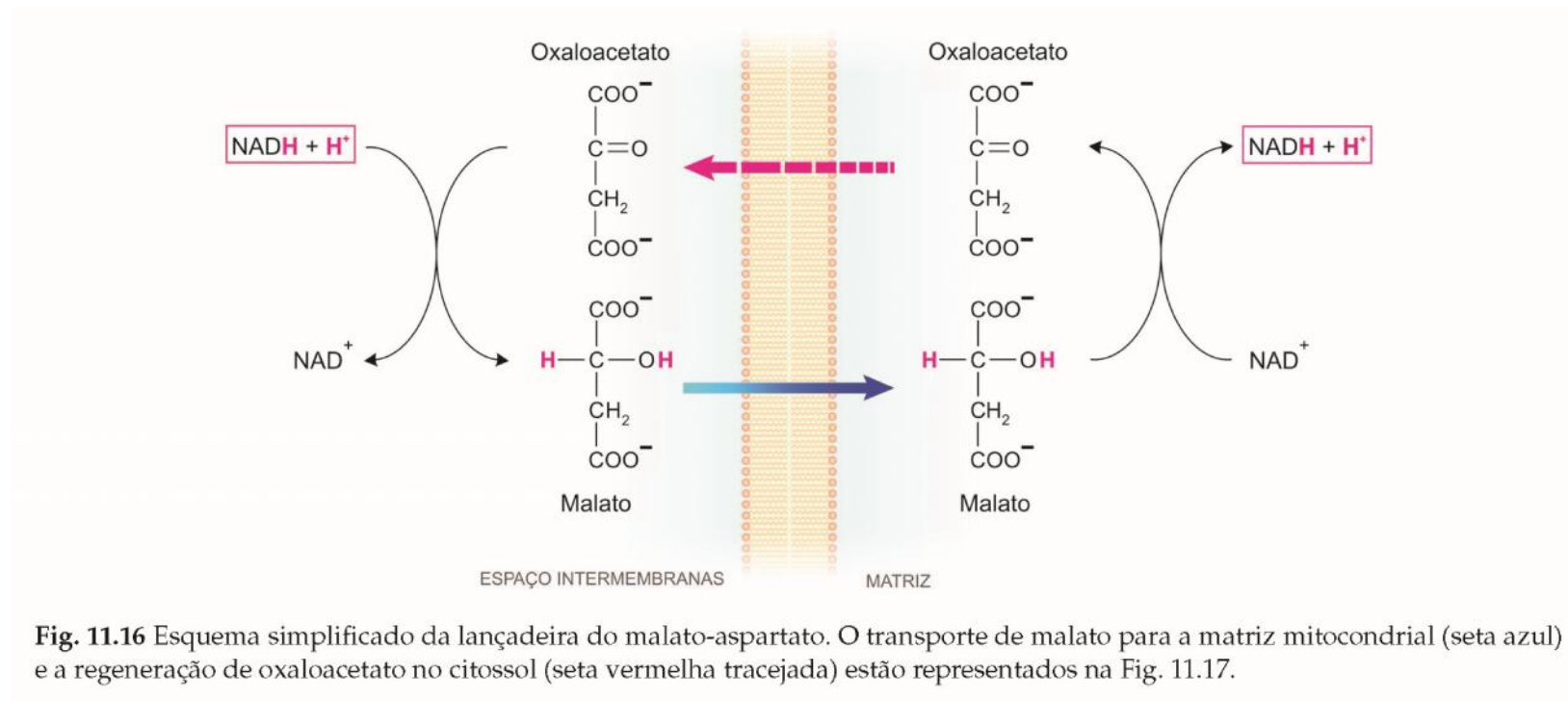


- ▶ Membrana interna mitocondrial é impermeável a NAD e NADH
- ▶ Oxidação indireta através de sistema de *lançadeiras*
 - Composto citossólico capaz de atravessar a membrana
 - Elétrons doados a composto que pode reduzir componente da membrana interna

Lançadeira do malato-aspartato



- ▶ NADH citossólico reduz OAA a malato
- ▶ Malato atravessa membrana e se converte a OAA, com produção de NADH



Lançadeira do malato-aspartato

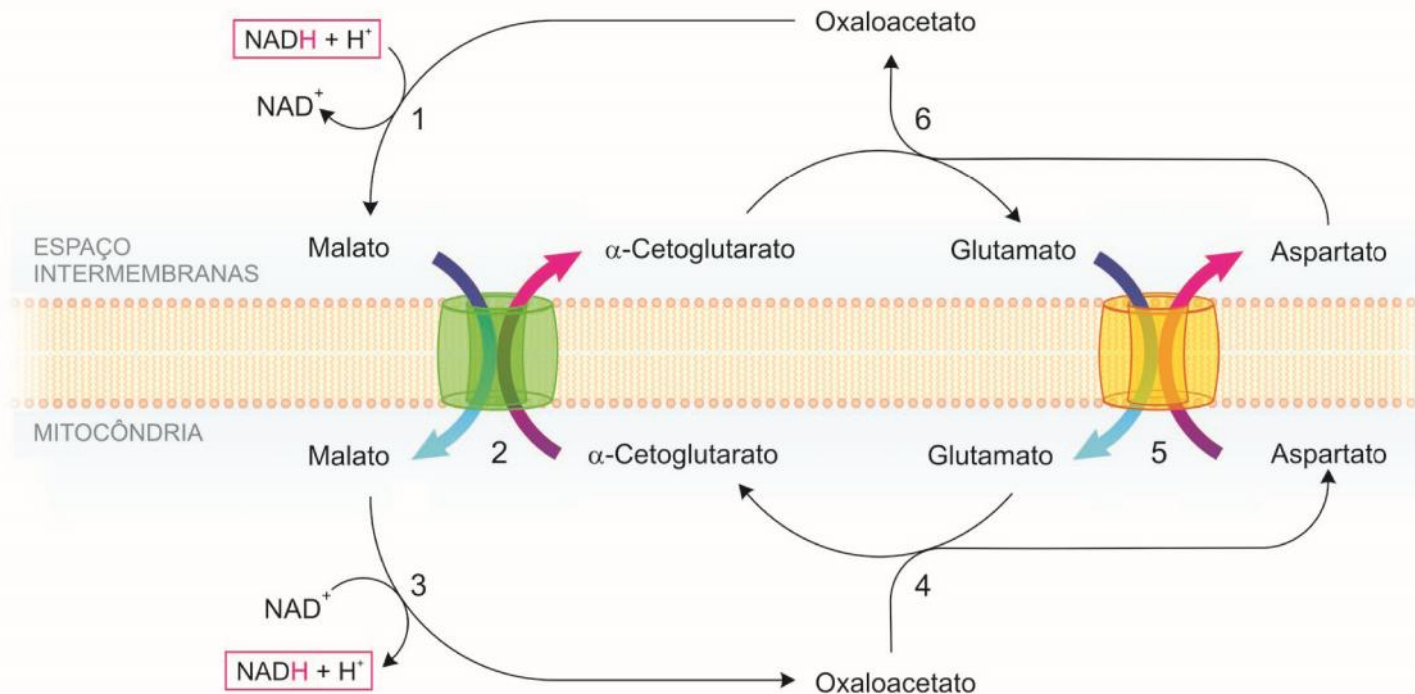


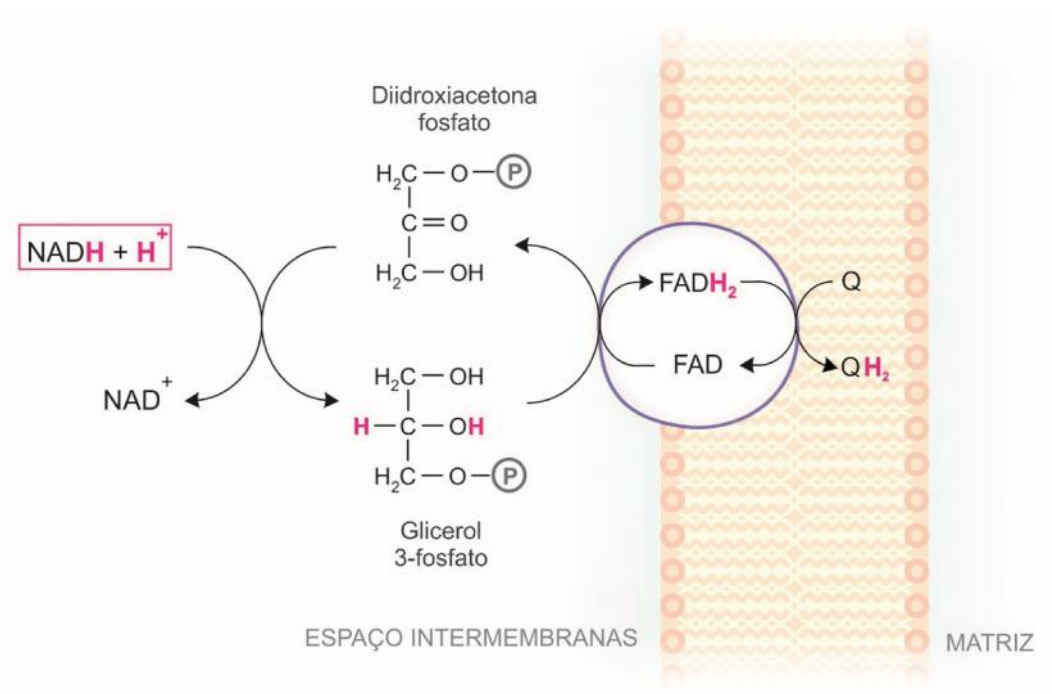
Fig. 11.17 Lançadeira do malato-aspartato. As enzimas e translocases (Seção 11.10) que participam da lançadeira são: (1) malato desidrogenase citossólica; (2) dicarboxilato translocase; (3) malato desidrogenase mitocondrial; (4) aspartato aminotransferase mitocondrial; (5) aspartato-glutamato translocase e (6) aspartato aminotransferase citossólica.

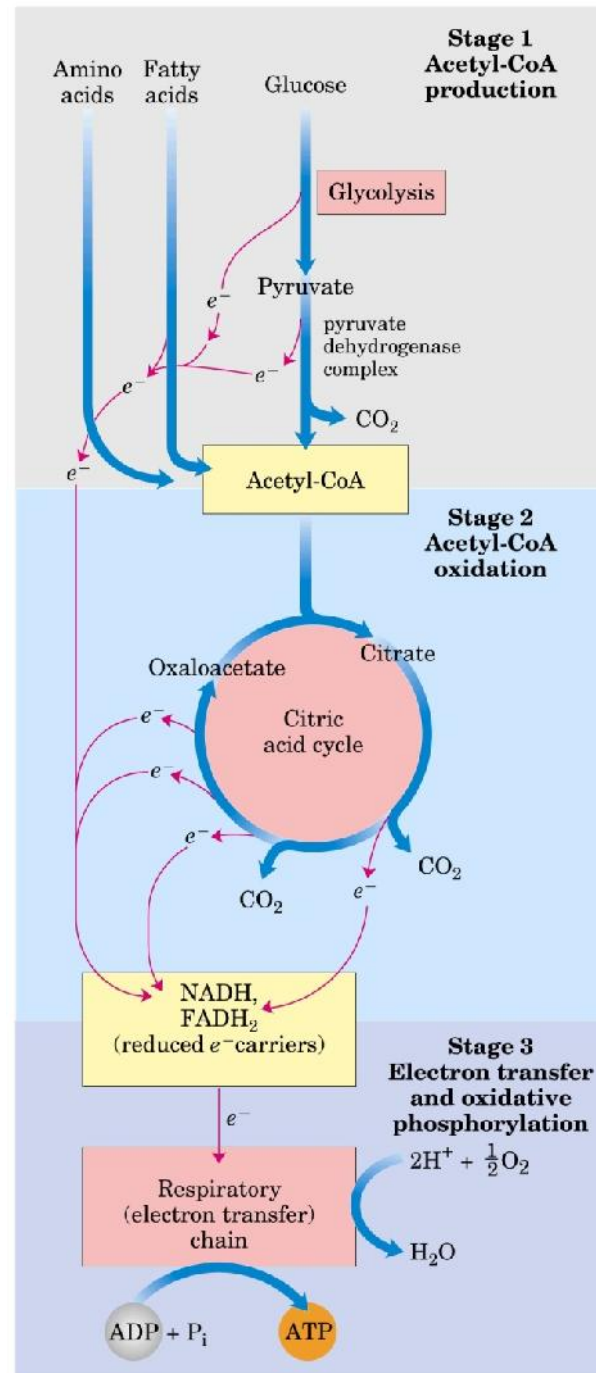
- ▶ Lançadeira é reversível: direção depende dos níveis de NADH citossólico e mitocondrial
- ▶ Células hepáticas, cardíacas e renais

Lançadeira do glicerol fosfato



- ▶ NADH reduz diidroxiacetona P a glicerol 3P
- ▶ Glicerol 3 P difunde-se a face externa da membrana onde se localiza G3P desidrogenase (FAD como grupo prostético)
- ▶ Diidroxiacetona P é regenerada produzindo FADH_2







Literatura sugerida

- ▶ Marzzoco & Torres. Bioquímica Básica.
- ▶ Apostila Prof. Gutierrez
- ▶ David L. Nelson & Michael M. Cox
Lehninger –Princípios de Bioquímica.

Cellular energy expenditure and the importance of uncoupling¹

M.-E. Harper², A. Antoniou, L. Bevilacqua, V. Bezaire, and S. Monemdjou

Department of Biochemistry, Microbiology and Immunology, Faculty of Medicine, and
Centre for Catalysis Research and Innovation, University of Ottawa, Ottawa, Canada K1H 8M5

ABSTRACT: Just as total body energy expenditure in animals can be broken down into that which supports resting energy metabolism, work, growth, and so on, cellular energy expenditure can similarly be subclassified. The objective in this review is to examine the metabolic origins of cellular energy expenditure, with an emphasis on mitochondrial uncoupling. Mitochondrial uncoupling refers to the dissociation of energy substrate oxidation from the mitochondrial synthesis of ATP. Uncoupling can occur during states of high energy expenditure, as in brown adipose tissue (BAT), or during states of metabolic rest, as in many other tissues. In BAT, uncoupling protein 1 (UCP1) activity can cause very high rates of energy expenditure for the purpose of thermogenesis (heat production). While mitochondrial uncoupling also occurs in other cells of the body, it is of greatest importance to fractional rates of energy

expenditure during periods of relative metabolic rest. The latter form of uncoupling is referred to as *mitochondrial proton leak* and is estimated to account for roughly 20 to 25% of the resting metabolic rate. Leak activity is correlated with thyroid hormone status; scales roughly in proportion with the well-known differences in mass-specific basal metabolic rate in mammals of different body size, and is related to differences in basal metabolic rate between ectothermic and endothermic animals. Proposed functions for mitochondrial uncoupling through proton leak include thermogenesis, energy balance, control of oxidative phosphorylation efficiency, and protection from reactive oxygen species. The mechanisms of mitochondrial proton leak are not well understood; the recently identified uncoupling proteins may play some role, but one or more of these proteins may have other physiological functions, such as fatty acid translocation.

Key Words: Energy Expenditure, Heat Production, Metabolism, Mitochondria, Proton Pump, Proteins



ACTA VET. BRNO 2015, 84: 43–46; doi:10.2754/avb201585010043

Coenzyme Q 10 – its biochemical and related aspects

Vladimír Kopřiva¹, Petr Dvořák¹, Jana Pokorná², Michal Žďárský¹

University of Veterinary and Pharmaceutical Sciences Brno, Faculty of Veterinary Hygiene and Ecology,
¹Department of Biochemistry and Biophysics, ²Department of Vegetable Foodstuffs Hygiene and Technology,
Brno, Czech Republic

Received June 12, 2014

Accepted November 26, 2014